



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO - UFOP
Escola de Nutrição



**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA DE PROGENITORAS SOBRE O
CONSUMO ALIMENTAR E A COMPOSIÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO
DA PROLE F2**

Fabiane Lorena Andrade Silva

Ouro Preto, MG
2019

Fabiane Lorena Andrade Silva

**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA DE PROGENITORAS SOBRE O
CONSUMO ALIMENTAR E COMPOSIÇÃO TECIDO ADIPOSE DA
PROLE F2**

Trabalho apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso – TCC003, do curso de Nutrição, da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição

Orientadora: Andréia Carvalho Alzamora

Ouro Preto
2019

S586e Silva, Fabiane Lorena Andrade.
Efeitos da dieta hiperlipídica de progenitoras sobre o consumo alimentar e a composição do tecido adiposo da Prole F2 [manuscrito] / Fabiane Lorena Andrade Silva. - 2019.

51f.: il.: color; graf; tabs.

Orientadora: Doutora Andréia Carvalho Alzamora.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Departamento de Nutrição .

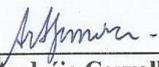
1. Dieta hiperlipídica. 2. Tecido adiposo. 3. Prole F2. 4. Obesidade. 5. Efeitos multigeracionais. I. Alzamora, Andréia Carvalho. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 612.39

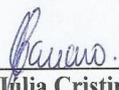
**Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado:
"Efeitos da dieta hiperlipídica de progenitoras sobre o consumo alimentar e a composição
do tecido adiposo da prole F2".**

Aos 11 dias do mês de julho de 2019, no Auditório da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso da estudante **Fabiane Lorena Andrade Silva** orientada pela **Prof^ª. Andréia Carvalho Alzamora**. A defesa iniciou-se pela apresentação oral feita pela estudante, seguida da arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVAR a estudante.

Membros da Banca Examinadora:



Prof^ª. Andréia Carvalho Alzamora
Presidente (DECBI/ICEB/UFOP)



Prof^ª. Júlia Cristina Cardoso Carraro
Examinadora (DENCs/ENUT/UFOP)



Prof. Elísio Alberto Evangelista
Examinador (DECBI/ICEB/UFOP)

Trabalho desenvolvido no **Laboratório de Hipertensão** da Universidade Federal de Ouro Preto, com auxílio financeiro da CAPES, REDE TOXIFAR, INCT-FAPEMIG-CNPQ, PRONEX-FAPEMIG, PROPP-NUPEB-UFOP.

Dedico este trabalho à minha família: meus pais, Dalmo e Tânia; e ao meu irmão Filipe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar a força e lucidez necessárias para vencer os obstáculos durante essa jornada, e por me fazer lembrar que sou mais forte do que penso.

Aos meus pais, Dalmo e Tânia, pelo carinho, amor, exemplo de humildade e todo apoio necessário para que eu chegasse até aqui.

Ao meu irmão, Filipe, por ser um espelho ao qual me orientei durante a vida acadêmica.

À minha orientadora, prof^a. Andréia Alzamora por me dar a oportunidade de ingressar no Laboratório de Hipertensão (LH), e por aceitar a me orientar como estudante de iniciação científica e na realização deste trabalho. Muito obrigada pela paciência, disponibilidade, orientação e todo o conhecimento compartilhado.

À Claudiane e Maria Andréa, pela coorientação, e por sempre estarem dispostas a me ajudar. Obrigada pelas conversas e apoio. Agradeço também ao restante da equipe do LH: Karina, Rosana, Taynara, Vívian e Sr. Wilson. Com a companhia de todos vocês, tive momentos incríveis de descontração e aprendizagem, que levarei por toda a vida!

Aos amigos de longa data, Angélica, Thiago e Vanessa, por ainda estarem comigo.

A Lily, Duque e Zeus, cuja inocente alegria me proporciona dias mais tranquilos e felizes.

Aos amigos da UFOP: Elvis, Kátia, Laísa, Taty e Val. Eu jamais vou esquecer dos momentos que passamos durante esses quatro anos. Sem vocês, os dias na UFOP não teriam sido tão alegres. Obrigada por tudo!

Aos professores Elísio Evangelista e Júlia Carraro, por terem aceitado a fazer parte da banca examinadora e pelas contribuições acrescentadas a esse trabalho.

As professoras da ENUT, por contribuírem para minha formação e por serem exemplos de profissionais nutricionistas que espero seguir nessa nova fase que se inicia.

Aos animais utilizados nesse estudo, gratidão e respeito pelo sacrifício em nome da ciência.

A CAPES, REDE TOXIFAR, INCT-FAPEMIG-CNPQ, PRONEX-FAPEMIG PROPP-NUPEB-UFOP pelo financiamento.

“Educar-se é impregnar de sentido cada momento da vida, cada ato cotidiano.”

(Paulo Freire)

RESUMO

Dietas hiperlipídicas (H) consumidas por progenitores podem determinar o risco de desenvolvimento de síndrome metabólica e complicações cardiovasculares em seus descendentes. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da dieta H com 60% de lipídios submetida a ratas durante o acasalamento, gestação e lactação sobre o consumo alimentar e a composição do tecido adiposo (TA) da prole F2 adulta. Para isso, ratos Fischer machos (M) e fêmeas (F) não consanguíneos (G0), foram submetidos à dieta H ou controle (C) durante os períodos de acasalamento (10 dias), gestação (28 dias) e lactação (21 dias), dando origem à prole G1. A prole G1 gerou a prole F2. Após o desmame, as proles G1 e F2 consumiram a dieta C por um período de 90 dias. A prole F2 foi dividida em grupos de animais descendentes de progenitoras que ingeriram a dieta H (F2HM e F2HF), e descendentes de progenitoras que ingeriram a dieta C (F2CM e F2CF). Foram avaliados parâmetros nutricionais, parâmetros biométricos, relação tecido adiposo visceral e tecido adiposo subcutâneo (TAV/TAS), teor de lipídios e quantidade de colesterol no TA retroperitoneal. Foi considerado como valor significativo $p < 0,05$. Os resultados mostraram que, as proles F2HM ($n = 12$) e F2HF ($n = 11$) apresentaram aumento da ingestão alimentar ($233 \pm 6,7$ e $176 \pm 6,2$ g, respectivamente); ingestão calórica ($812 \pm 13,4$ e $608 \pm 11,6$ Kcal, respectivamente); eficiência alimentar ($0,68 \pm 0,03$ e $0,51 \pm 0,01$ Kcal/g, respectivamente); ingestão de água ($257 \pm 10,2$ e $188 \pm 8,1$ mL, respectivamente), da massa corporal ($336 \pm 2,55$ e $209 \pm 2,07$ g, respectivamente), do depósito de gordura inguinal ($3,24 \pm 0,12$ e $2,23 \pm 0,08$ g/100g, respectivamente), depósito de gordura retroperitoneal ($4,75 \pm 1,12$ e $4,02 \pm 0,11$ g/100g, respectivamente); depósito de gordura epididimal ($5,65 \pm 0,31$ g/100g), peso relativo do fígado ($3,40 \pm 0,10$ e $3,04 \pm 0,03$, g/100g respectivamente); índice de adiposidade ($13,4 \pm 0,23$ e $7,71 \pm 0,13$), teor de lipídios no TA retroperitoneal ($58,5 \pm 2,2$ e $70,1 \pm 2,0$ %, respectivamente); e do conteúdo de colesterol total no depósito de gordura retroperitoneal ($87,6 \pm 9,8$ e $63,3 \pm 3,9$ mg/dL, respectivamente), comparados aos seus respectivos grupo controle F2CM ($n = 11$) e F2CF ($n = 12$). Os ratos F2HM apresentaram aumento da relação TAV/TAS ($1,45 \pm 0,06$) em comparação ao grupo controle F2CM ($n = 11$). Diante dos dados apresentados, é possível que a dieta H administrada a progenitores durante os períodos de acasalamento, gestação e lactação, induziu alterações multigeracionais nos parâmetros nutricionais e na composição do tecido adiposo da geração F2, mesmo esses animais tendo consumido uma dieta adequada nutricionalmente.

Palavras chaves: dieta hiperlipídica, tecido adiposo, prole F2, obesidade, efeitos multigeracionais.

ABSTRACT

High fat diets (H) consumed by progenitors can determine the risk of developing metabolic syndrome and cardiovascular complications in their offspring. The goal of this study was to evaluate the effect of the H diet with 60% lipids submitted to rats during mating, gestation and lactation upon dietary intake and the adipose tissue (TA) of adult F2 offspring's composition. For this reason, male (M) and female (F) nonconsanguineous *Fischer* rats (G0) were submitted to the H diet or to the control diet (C) during mating (10 days), gestation (28 days) and lactation, originating the G1 offspring. The G1 rats generated offspring F2. After weaning, offspring G1 and F2 consumed the C diet for a period of 90 days. The F2 offspring were divided into groups of offspring of progenitors that ingested the H diet (F2HM and F2HF), and offspring of progenitors that ingested the C diet (F2CM and F2CF). Nutritional parameters, biometric parameters, visceral adipose tissue and subcutaneous adipose tissue ratio (TAV/TAS), lipid content and content of cholesterol in retroperitoneal TA were evaluated. It was considered as a significant value $p < 0.05$. The results showed that the F2HM ($n = 12$) and F2HF ($n = 11$) offspring had increased food intake (233 ± 6.7 and 176 ± 6.2 g, respectively); caloric intake (812 ± 13.4 and 608 ± 11.6 Kcal, respectively); water intake (257 ± 10.2 and 188 ± 8.1 mL, respectively), body mass (336 ± 2.55 and 209 ± 2.07 g, respectively), inguinal fat deposit (3.24 ± 0.12 and 2.23 ± 0.08 g / 100g, respectively), retroperitoneal fat deposit (4.75 ± 1.12 and 4.02 ± 0.11 g / 100g, respectively); epididymal fat deposit (5.65 ± 0.31 g / 100g), relative liver weight (3.40 ± 0.10 and 3.04 ± 0.03 , g / 100g respectively); adiposity index (13.4 ± 0.23 and 7.71 ± 0.13), lipid content in retroperitoneal TA (58.5 ± 2.2 and $70.1 \pm 2.0\%$, respectively); and total cholesterol content in the retroperitoneal fat deposit (87.6 ± 9.8 and 63.3 ± 3.9 mg / dL, respectively), compared to their respective control group F2CM ($n = 11$) and F2CF ($n = 12$). The F2HM rats showed an increase in the TAV/TAS ratio (1.45 ± 0.06) compared to the F2CM control group ($n = 11$). In view of the results showed in this study, it is possible that the H diet administered to progenitors during the mating, gestation and lactation induced multigenerational changes in the nutritional parameters and in the adipose tissue composition of the F2 generation, even though these animals have consumed a nutritionally adequate diet.

Key words: High fat diet, adipose tissue, F2 offspring, obesity, multigenerational effects.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição corporal dos tecidos adiposos marrom (TAM), visceral (TAV) e subcutâneo (TAS) em humanos e em roedores.....	19
Figura 2 – Padrão de gordura corporal de acordo com o sexo.	19
Figura 3 - Delineamento experimental.	27
Figura 4 - Relação TAV/TAS das proles F2.	32
Figura 5 - Teor de lipídios no depósito de gordura retroperitoneal das proles F2.	33
Figura 6 - Conteúdo de colesterol total do depósito de gordura retroperitoneal das proles F2.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da dieta padrão Nuvilab® e da dieta hiperlipídica Pragsoluções®.....	25
Tabela 2 – Avaliação dos parâmetros nutricionais da prole F2.....	30
Tabela 3 – Parâmetros biométricos das proles F2.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

µm – Micrômetros;

AGL – Ácidos graxos livres;

ANG II – Angiotensina dois;

ARC – Núcleo Arqueado;

ATP – Adenosina trifosfato;

C – Dieta controle;

CCA – Centro de Ciência Animal;

cm – Centímetros;

DM2 – Diabetes mellitus tipo 2;

EA – Eficiência alimentar;

EPM – Erro padrão da média;

F2 – Animais descendentes dos progenitores G0 e de genitores G1, e que após o desmame receberam a dieta controle por 90 dias;

F2C – Prole, machos e fêmeas, descendente de progenitores e genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, também recebeu a dieta controle por 90 dias;

F2CF – Prole fêmea descendentes de progenitores e genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, também recebeu a dieta controle por 90 dias;

F2CM – Prole macho descendentes de progenitores e genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, também recebeu a dieta controle por 90 dias;

F2H – Prole, machos e fêmeas, descendente de progenitores que ingeriram a dieta hiperlipídica de genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, recebeu a dieta controle por 90 dias;

F2HF – Prole fêmea descendentes de progenitores que ingeriram a dieta hiperlipídica, e de genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, recebeu a dieta controle por 90 dias;

F2HM – Prole macho descendentes de progenitores que ingeriram a dieta hiperlipídica, e de genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, recebeu a dieta controle por 90 dias;

g – Gramas;

G0 – Animais genitores dos animais G1 e progenitores dos animais F2, e que receberam a dieta hiperlipídica ou controle;

G1 – Animais genitores da prole F2, descendentes de ratos G0 que receberam a dieta hiperlipídica ou controle e que, após o desmame, receberam a dieta controle;

H – Dieta hiperlipídica;

IA – Ingestão alimentar;

IC – Ingestão calórica;

HDL – Lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein*);

HE – Hematoxilina e eosina;

Kcal – Quilocalorias;

Kg – Quilogramas;

LDL – Lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein*);

Min – Minutos;

mL – Mililitros;

mm – Milímetros;

NaCl – Cloreto de sódio;

NPY – Neuropeptídeo Y;

°C – Graus Celsius;

POMC – Pró-opiomelanocortina;

Rpm – Rotações por minuto;

SM – Síndrome metabólica;

SNC – Sistema nervoso central;

SNS – Sistema nervoso simpático;

SRA – Sistema renina angiotensina;

TA – Tecido adiposo;

TAB – Tecido adiposo branco;

TAG – Triacilglicerol;

TAM – Tecido adiposo marrom;

TAS – Tecido adiposo subcutâneo;

TAV – Tecido adiposo visceral;

UCP1 – Proteína desacopladora 1;

UFOP – Universidade Federal de Ouro Preto;

UN – Unidade;

VLDL – Lipoproteína de densidade muito baixa (*very-low density lipoprotein*);

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. JUSTIFICATIVA.....	23
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivos Gerais.....	24
3.2. Objetivos Específicos.....	24
4. MATERIAIS E METODOLOGIA.....	25
4.1. Definição das Dietas.....	25
4.2. Animais.....	25
4.3. Protocolo Experimental.....	26
4.4. Definição de Grupos.....	27
4.5. Avaliação dos Parâmetros Nutricionais.....	27
4.6. Avaliação dos Parâmetros Biométricos.....	28
4.7. Extração Lipídica.....	28
4.8. Análise do Conteúdo de Colesterol Total.....	28
4.10. Análise Estatística.....	29
5. RESULTADOS.....	30
5.1. Parâmetros Nutricionais.....	30
5.2. Parâmetros biométricos.....	30
5.3. Relação TAV/TAS.....	31
5.4. Teor de Lipídios.....	32
5.5. Conteúdo de Colesterol Total.....	33
6. DISCUSSÃO.....	35
7. CONCLUSÃO.....	41
8. REFERÊNCIAS.....	42
9. ANEXOS.....	50
ANEXO A – Documento de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Ouro Preto.....	50

1. INTRODUÇÃO

A exposição a diferentes condições ambientais, tais como o tipo de alimentação, pode promover alterações epigenéticas (SECKL e HOLMES, 2007), isto é, causar alterações na expressão gênica sem alterar o genótipo celular (SANTOS e cols., 2011; CHOI e cols., 2013).

Estudos epidemiológicos mostraram que o estado nutricional atual de um indivíduo pode estar relacionado com o tipo de dieta consumida pelos seus antecedentes, evidenciando a importância da epigenética no metabolismo (OZANNE e CONSTÂNCIA, 2007), que pode aumentar o risco de gerar obesidade e suas consequências após o nascimento e ao longo das gerações (DHASARATHY, ROEMMICH e CLAYCOMBE, 2017; FORD e ODHIAMBO, 2017; NICHOLAS e OZANNE, 2018). As alterações epigenéticas podem ocorrer por três mecanismos conhecidos até então: a metilação do DNA, modificação de histonas, e atividade RNA não codificante (microRNA) (DESAI, e cols., 2015). Essas modificações estão relacionadas diretamente com a estabilidade da estrutura da cromatina, inativação gênica, e no processo de *imprint* parental, onde as modificações epigenéticas expressas no DNA, são herdadas de cromossomos ligados aos genes paternos ou maternos (WEAVER, SUSIARJO e BARTOLOMEI, 2009), de modo que, o processo de alterações epigenéticas pode ser sexo específico (DESAI, e cols., 2015).

Apesar do mecanismo epigenético ainda não ser bem definido em humanos, em roedores foi possível observar que essas modificações ocorrem em decorrência da programação fetal, no qual, o consumo de uma dieta hipercalórica, gera um determinado estímulo durante a fase de desenvolvimento fetal, provocando mudanças reversíveis na estrutura e função de diversos órgãos e tecidos (OZANNE e CONSTÂNCIA, 2007; WELLS, CHOMTHO e FEWTRELL, 2007). Devido a programação fetal, é possível que animais expostos a uma dieta inadequada em ambiente intrauterino possam apresentar um grau de obesidade maior quando comparado a animais que não passaram pelo mesmo processo (LECOUTRE, e cols., 2018).

Já é estabelecido que as consequências metabólicas do alto consumo de dietas hiperlipídicas causam efeitos multigeracionais, ou seja, causam efeitos que persistem durante três gerações (AIKEN, TARRY-ADKINS e OZANNE, 2015), comprometendo a mãe (G0), o feto (G1), e as células germinativas do feto (F2); sendo possível então,

observar manifestações clínicas da síndrome metabólica (SM) em genitoras e suas gerações que foram afetadas pelo processo de programação fetal (LECOUTRE, e cols., 2018).

A SM é uma condição patológica caracterizada pelo aparecimento simultâneo de hipertensão arterial, dislipidemia, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), e obesidade (WANG e cols., 2010; de CASTRO, e cols., 2013; LI, e cols., 2017). O diagnóstico da SM é feito com a presença de três ou mais dessas manifestações clínicas (JAMA, 2001; SBC, 2005). Indivíduos com SM possuem o dobro de chances de desenvolvimento de doenças cardiovasculares em comparação a indivíduos que não possuem a SM (WANG e cols., 2010).

O risco de desenvolver a SM está diretamente relacionado ao grau de obesidade em que se encontra o indivíduo, e ao acúmulo de gordura corporal do tipo androide, onde há predomínio de depósitos de gordura na região abdominal (PRIMEAU, e cols., 2011). Devido a isso, o aumento desse depósito de gordura, também conhecido como tecido adiposo visceral, é considerado a principal evidência associada à SM (SHAH, e cols., 2014).

O tecido adiposo (TA) é uma estrutura composta de células (adipócitos) especializadas em estocar lipídios na forma de triacilglicerol (TAG) (AHIMA e FLIER, 2000) - composto formado por três moléculas de ácidos graxos conectados através de uma ligação éster a uma molécula de glicerol. Os lipídios consumidos da dieta são a principal fonte de TAG e que, para serem estocados, precisam passar por um complexo processo de digestão, absorção e transporte (NELSON e COX, 2014).

Devido à sua natureza hidrofóbica, os lipídios precisam estar ligados a lipoproteínas para serem transportados pelo sangue a outros tecidos. As principais lipoproteínas são os quilomícrons; lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL – *very-low density lipoproteins*); lipoproteína de baixa densidade (LDL – *low-density lipoproteins*); e lipoproteína de alta densidade (HDL – *high-density lipoprotein*) (RODWELL, e cols., 2017). A LDL e HDL são lipoproteínas produzidas pelo fígado compostas principalmente de colesterol. São responsáveis pelo transporte de colesterol a tecidos extra-hepáticos; e transporte reverso de colesterol, respectivamente (RODWELL, e cols., 2017). O aumento excessivo de LDL na corrente sanguínea está relacionado ao aumento da prevalência de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose e infarto agudo do miocárdio (SBC, 2005); enquanto o aumento

da HDL está relacionado a propriedades antiaterogênicas (LEWIS e RADER, 2005). O metabolismo dessas lipoproteínas é diferente em roedores. A maioria do colesterol nessa espécie é transportada para tecidos extra hepáticos na forma de HDL, diferente de humanos, onde esse papel pertence à LDL (PUJOL, 2014).

Quilomícrons e VLDL são ricos em TAG. Os quilomícrons são as primeiras lipoproteínas formadas após a digestão de lipídios da dieta. Já o VLDL, produto do metabolismo hepático, após formado, é direcionado a outros tecidos, onde o seu conteúdo poderá ser fonte de energia através da oxidação lipídica, ou para o tecido adiposo, onde será armazenado na forma de TAG (NELSON e COX, 2014).

Além das células especializadas no armazenamento de TAG, o TA também apresenta uma matriz com fibras colágenas e reticulares, inervação neuronal, células do estroma vascular, pré-adipócitos, nódulos linfáticos, fibroblastos e células da resposta imune (AHIMA, e cols., 2000).

A diferenciação do TA, processo chamado de adipogênese, ocorre em humanos por volta do segundo trimestre de gestação. Diferentemente, em roedores, essa diferenciação de adipócitos ocorre no período perinatal, mais precisamente, na última semana de gestação, ocorrendo de forma acelerada no período neonatal até o desmame. Em ambas as espécies, sob condições fisiológicas, o crescimento do TA ocorre de forma gradativa até a vida adulta, onde o número de células se torna constante, com uma média de renovação de 10-20% por mês em roedores, e 10% ao ano em humanos. Entretanto, estímulos ambientais, como o alto consumo de dietas hiperlipídicas, podem aumentar essa taxa de renovação, resultando em obesidade. Além disso, é suposto que o número de adipócitos é determinado durante o crescimento embrionário, presumindo que alterações epigenéticas, tais como a exposição a dietas hiperlipídicas por progenitoras possam predispor a prole ao aumento na taxa de diferenciação de adipócitos, gerando obesidade durante a puberdade e na vida adulta (LECOUTRE, e cols., 2018).

O TA é subdividido em tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo marrom (TAM). Os adipócitos presentes no TAB armazenam somente uma única gota de lipídio, que toma conta de praticamente toda o citoplasma da célula; enquanto no TAM, os adipócitos apresentam diversas gotículas de lipídios (AHIMA e FLIER, 2000).

O TAM é responsável pela geração de calor através da oxidação lipídica, um processo conhecido como termogênese (CHOE, e cols., 2016; BARBOSA, e cols.,

2018). Esse tecido é encontrado em roedores principalmente nas regiões cervical e interescapular durante todos os estágios da vida. Já em humanos, é majoritariamente observado, nas mesmas regiões, em recém-nascidos. Em adultos, encontra-se em menor quantidade, porém, possui importância no controle do metabolismo energético através da termogênese, característica que pode influenciar positivamente no controle da obesidade (CHECHI, NEDERGAARD e RICHARD, 2013). Tal característica é observada devido à presença da proteína desacopladora 1 (UCP1), presente em mitocôndrias nos adipócitos do TAM. Frente à ativação de termorreceptores na superfície corporal ao estímulo do frio; ou à ingestão alimentar, o sistema nervoso simpático (SNS) estimula a oxidação de lipídios, produzindo ácidos graxos livres (AGL), que irão servir de substrato para a ativação da UCP1 que, por sua vez, irá produzir calor ao dissipar a energia da fosforilação oxidativa, que seria utilizada para formar adenosina trifosfato (ATP) (LABBÉ, e cols., 2015).

O TAB atualmente não é só conhecido apenas como um depósito de energia, mas também como um órgão complexo (RIBEIRO FILHO, e cols., 2006), cuja múltiplas funções, lhe dá a propriedade de ser um órgão parácrino, endócrino e autócrino (SETHI, 2007; GOLLISCH, e cols., 2009). Através de substâncias secretadas, como as adipocinas, o TAB desempenha um papel crucial na regulação do metabolismo (RIBEIRO FILHO, e cols., 2006). As adipocinas representam um grupo de substâncias, que englobam hormônios, peptídeos e citocinas secretadas pelos adipócitos do TAB (CHOE, e cols., 2016). As adipocinas podem influenciar na pressão sanguínea, angiogênese, sensibilidade a insulina, regulação do apetite e saciedade, gasto energético, função endotelial, imunidade, inflamação, e metabolismo de lipídios, regulando assim, a homeostase do organismo (AGUILAR-VALLES, e cols., 2015; FASSHAUER e BLÜHER, 2015). A secreção de adipocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias pode ser a chave para o entendimento da etiologia da SM, uma vez que, o desequilíbrio na produção dessas citocinas aumentam o risco de resistência à insulina e de doenças cardiovasculares (do PRADO, e cols., 2009).

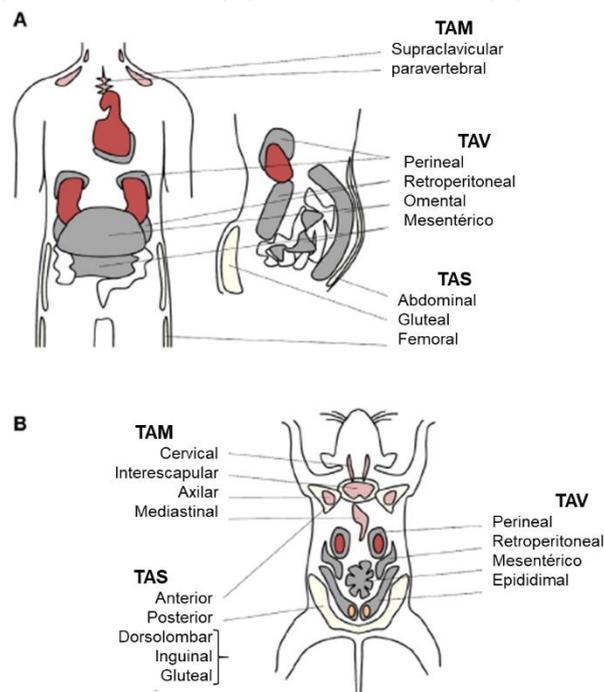
A leptina, a principal adipocina pró-inflamatória produzida pelo TAB, é secretada em resposta à ingestão alimentar, e atua na regulação do apetite através de receptores que atuam na região hipotalâmica, no sistema nervoso central (SNC). O controle neurológico do apetite acontece no Núcleo Arqueado (ARC), no hipotálamo. Esse controle é realizado através da interação de neurônios que

produzem neuropeptídios anorexígenos, que inibem a ingestão alimentar, como o pró-opiomelanocortina (POMC); e orexígenos, que estimulam a ingestão alimentar, como neuropeptídeo-Y (NPY) (DESAI, e cols., 2007; VALASSI, SCACCHI e CAVAGNINI, 2008).

Os níveis de leptina no organismo são proporcionais à quantidade de TA, evidenciando que indivíduos obesos produzem mais leptina em comparação a indivíduos eutróficos (SMITIKA e MAREŠOVÁ, 2015). Entretanto, apesar dos níveis elevados de leptina de acordo com o grau de adiposidade, indivíduos obesos não respondem a leptina da maneira esperada, devido a uma diminuição da sensibilidade à esse hormônio, um mecanismo conhecido como resistência à leptina. O mecanismo pelo qual esse processo ocorre ainda não é bem elucidado, mas é suposto que ocorra alguma falha na cascata de sinalização da leptina em seus receptores no ARC (AHIMA e FLIER, 2000; AGUILAR-VALLES, e cols., 2015; FASSHAUER e BLÜHER, 2015; CHOE, e cols., 2016; MANCUSO, 2016).

A produção de adipocinas pelo TA não é uniforme. Ela irá depender principalmente da localização do TAB no organismo. Essa localização irá influenciar, além da produção de citocinas, a composição celular, o número de células da resposta imune, e a proporção do número de adipócitos que compõem o TA (COELHO, OLIVEIRA e FERNANDES, 2013). Devido a essa diferença de localização, que confere uma diferença no metabolismo do tecido, o TAB pode ser subdividido em tecido adiposo visceral (TAV) e tecido adiposo subcutâneo (TAS). O TAV está localizado no interior da cavidade abdominal, circundando os órgãos que compõe essa cavidade. Em humanos, compreende os depósitos de gordura perirenal, retroperitoneal, omental e mesentérico, correspondendo a cerca de 10-20% da gordura corporal em homens, e 5-10% em mulheres. Em roedores, corresponde aos depósitos de gordura perirenal, retroperitoneal, mesentérico e epididimal (em machos). Já o TAS, corresponde a camada de gordura distribuída mais externamente ao longo do corpo, se concentrando principalmente na região abdominal e gluteofemoral, correspondendo a 80% do depósito de gordura corporal em humanos. Em roedores corresponde aos depósitos anterior, posterior (dorsolombar, inguinal e gluteal) (KAMINSKI e RANDALL, 2010; CHUSYD, e cols., 2016).

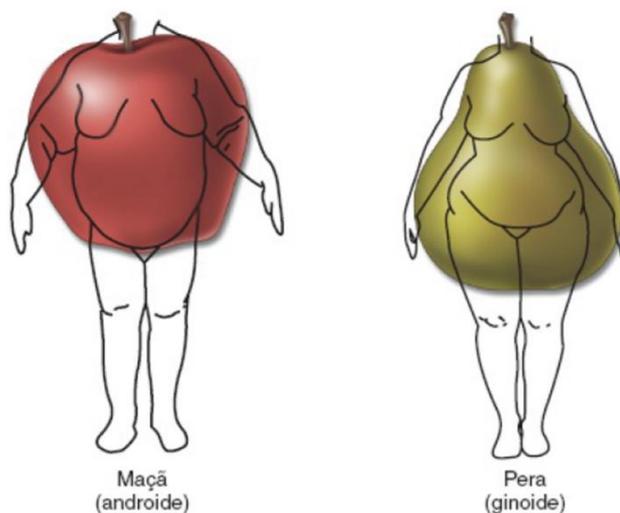
Figura 1 – Distribuição corporal dos tecidos adiposos marrom (TAM), visceral (TAV) e subcutâneo (TAS) em humanos (A) e em roedores (B).



Adaptado de CHOE, e cols., 2016.

A obesidade decorrente do TAV também é chamada obesidade central, ou do tipo androide (forma de “maçã”), e é mais observada no sexo masculino; enquanto o aumento do depósito do TAS, ou obesidade androide (forma de “pera”), é característica da obesidade observada no sexo feminino (BJÖRNTORP, e cols., 1989; KISSEBAH e KRAKOWER, 1994; GESTA, TSENG e KAHN, 2007)

Figura 2 – Padrão de gordura corporal de acordo com o sexo.



MCARDLE e KATCH: Nutrição para o esporte e exercício. 4ed, p. 621.

Alterações metabólicas são mais evidentes quando há um maior acúmulo de TAV em relação ao acúmulo de TAS. Adipócitos do TAV são metabolicamente mais ativos quando comparados aos adipócitos do TAS, sendo maiores, e mais sujeitos à atividade lipolítica. Devido à sua característica hiperlipolítica, possui a capacidade de liberar uma quantidade maior de AGL, contribuindo para o aumento de seus níveis circulantes. Esse aumento é prejudicial, uma vez que contribui para a deposição ectópica de TAG. Possuem também, maior correlação com a tendência de desenvolvimento de resistência à insulina, intolerância à glicose e hipertrigliceridemia. Além disso, indivíduos com excesso de TAV tem maior risco de desenvolverem hipertensão arterial, devido a um aumento da atividade do sistema renina angiotensina (SRA) do TA, além de uma ativação do SNS, que está conectado com a resistência à insulina (IBRAHIM, 2009).

As características patológicas atribuídas a obesidade central ocorrem principalmente pelo mecanismo de hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos. O armazenamento do excesso de TAG pelo TA na obesidade se dá através da hipertrofia, onde há aumento do volume celular; ou da hiperplasia, onde há uma maior diferenciação de adipócitos, expandindo o TA (GUSTAFSON, e cols., 2009). A hipertrofia contribui para uma infiltração de macrófagos, e conseqüente desequilíbrio de produção de citocinas, favorecendo a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Esse mecanismo antecede um processo inflamatório crônico de baixo grau (KALUPAHANA e cols., 2012).

Na obesidade, o processo hipertrófico é acompanhado por um estado de fibrose e hipóxia, responsáveis pela disfunção do tecido. A expansão rápida dos adipócitos devido ao estoque excessivo de TAG não é acompanhada de forma eficaz pela angiogênese (processo de formação de novos vasos sanguíneos) resultando em hipóxia e na eventual morte do adipócito, aumentando a resposta inflamatória (SUN, KUSMINSKI e SCHERER, 2011). Dessa maneira, a hipertrofia e o processo inflamatório contribuem para a disfunção do TA, que passa a ser mais susceptível a ação da lipólise, aumentando a deposição ectópica de gordura em órgãos importantes para o controle do metabolismo, como fígado, pâncreas e músculo esquelético; e contribui para a resistência à insulina (BAYS, e cols., 2008; GUSTAFSON, e cols., 2009).

Em contraste ao processo de hipertrofia, a hiperplasia pode ser considerada um mecanismo fisiológico de crescimento do TA, principalmente durante os primeiros anos de vida (DATTA, PODOLSKI e ATABAI, 2018). Entretanto, diante de ambientes obesogênicos, como o consumo exacerbado de dietas hiperlipídicas, a hiperplasia pode ultrapassar a taxa normal de renovação e diferenciação do TA, resultando em sobrepeso e obesidade (LECOUTRE, e cols., 2018). Sabe-se que, nessas circunstâncias, o processo hipertrófico antecede o processo de hiperplasia, que irá depender também da ação de células precursoras e da diferenciação de pré-adipócitos. Sendo assim, o processo hiperplásico ocorre nos estágios mais avançados do processo do acúmulo de gordura, e nesses casos, está associado com o grau de severidade da obesidade (KUSMINSKI, BICKEL e SCHERER, 2016; HACZEYNI, BELL-ANDERSON e FARRELL, 2017).

A maneira como os adipócitos irão responder a estímulos hipertróficos ou hiperplásicos irá depender de fatores genéticos e ambientais (BAYS, e cols., 2008). Supõem-se que a hipertrofia está mais correlacionada com a dieta, enquanto a hiperplasia precisa da interação entre predisposição genética e dieta (JO, e cols., 2009). Sabe-se que as alterações vistas no perfil do TA se devem, principalmente, ao elevado consumo de dietas hipercalóricas, uma vez que, elas promovem um balanço energético positivo, resultando em obesidade (ROCHA-RODRIGUES, e cols., 2018).

A correlação entre obesidade, dietas hiperlipídicas e predisposição genética tem sido alvo de inúmeros estudos nos últimos anos, principalmente devido à necessidade de se conhecer a etiologia de sua principal consequência, a SM. Estudos realizados em modelos animais mostraram que proles de ratas submetidas a dietas hiperlipídicas durante períodos críticos de demanda de energia, como a gestação e lactação, apresentaram alterações bioquímicas e metabólicas características da SM que, além da obesidade, incluíam: aumento da pressão arterial, dislipidemia, perda da sensibilidade à insulina e esteatose hepática não alcoólica (DESAI, e cols., 2014; HUANG, e cols., 2017). As mudanças metabólicas e sensoriais ocorreram mesmo quando a prole ingeria uma dieta equilibrada, comprovando a influência que a dieta hiperlipídica materna possui no estado nutricional da prole (HOWIE, e cols., 2009). Também foi observado em estudos com modelo animal, a preferência por alimentos mais palatáveis ricos em lipídios e carboidratos, além de um aumento na ingestão alimentar, demonstrando que a dieta hiperlipídica das genitoras também é capaz de

provocar mudanças gustativas e sensoriais, além de exercer certa influência no controle central do mecanismo de fome e saciedade da prole (VUCETIC, e cols., 2010).

Contudo, mesmo com o crescente número de estudos envolvendo dietas hipercalóricas e seus efeitos multigeracionais, poucos focaram na influência que a dieta hiperlipídica possui na segunda geração de animais provenientes de ratas que consumiram tais dietas.

Diante dessa possibilidade, esse estudo busca compreender se o consumo de dietas hiperlipídicas pelas progenitoras, durante o acasalamento, gestação e lactação, pode provocar alterações nos parâmetros nutricionais e também alterações na composição no TAB da segunda geração de ratos, podendo os tornar mais susceptíveis à obesidade, inflamação, e a distúrbios consequentes do processo de expansão do TA.

2. JUSTIFICATIVA

A obesidade pode ser entendida como expansão do TA, seja pelo aumento do número das células que o compõe – os adipócitos, ou pela sua expansão devido ao aumento do armazenamento de gordura. A expansão do TAV é extremamente prejudicial, uma vez que está relacionado com o aparecimento de doenças cardiovasculares e resistência à insulina.

O aumento do consumo de dietas hiperlipídicas pode gerar diversas complicações no organismo que caracterizam a SM. O consumo dessas dietas pode ainda ser mais danoso quando ingeridos em período de gravidez e lactação, uma vez que além de produzirem mudanças fisiológicas e metabólicas nas mães, essas mudanças também podem ser observadas na prole. Esse processo, chamado de programação fetal, compromete as duas futuras proles das progenitoras, e pode levar as proles a um risco maior de desenvolver obesidade e todas as suas consequências.

Como a maioria dos estudos nessa área focam apenas nas mudanças que ocorrem na primeira geração (F1), esse estudo busca entender se o consumo da dieta hiperlipídica por ratas durante os períodos de acasalamento, gestação e lactação, pode levar a segunda geração (F2) a mudanças nos parâmetros alimentares, e alterações no TA, como aumento de sua proporção e composição, uma vez que, essas mudanças nutricionais e metabólicas podem aumentar o risco de inflamação e predispor a prole a SM.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos Gerais

Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica ofertada a ratas durante o acasalamento, gestação e lactação sobre o consumo alimentar e a composição do tecido adiposo da prole F2 adulta.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica das progenitoras sobre os parâmetros nutricionais da prole F2;
- Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica das progenitoras sobre o peso relativo do fígado; dos tecidos adiposos retroperitoneal, inguinal e epididimal; e do tecido adiposo marrom da prole F2;
- Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica das progenitoras sobre a massa corporal e o índice de adiposidade da prole F2;
- Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica das progenitoras sobre a relação do tecido adiposo visceral com o tecido adiposo subcutâneo (TAV/TAS) na prole F2;
- Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica das progenitoras sobre o teor lipídico do depósito de gordura retroperitoneal e epididimal da prole F2
- Avaliar o efeito da dieta hiperlipídica das progenitoras sobre o conteúdo de colesterol total do tecido adiposo retroperitoneal das da prole F2;

4. MATERIAIS E METODOLOGIA

4.1. Definição das Dietas

Após os 90 dias de idade, os animais progenitores foram submetidos à dieta controle (C) Nuvilab® disponível no CCA/UFOP ou à dieta hiperlipídica (H) do fornecedor Pragsoluções®, que contém 30% de banha de porco, durante o período de acasalamento, gestação e lactação. Os animais do presente estudo receberam apenas a dieta C após o desmame. A composição das dietas está descrita na tabela abaixo:

Tabela 1 – Composição da dieta (g/100g) padrão Nuvilab® e da dieta hiperlipídica Pragsoluções®.

Dieta Nuvilab			Dieta Hiperlipídica		
Ingredientes	p/ 100g	UN	Ingredientes	p/ 100g	UN
Umidade	12,50	g	Leite Condensado	31,60	g
Proteínas	22,00	g	Caseína	18,00	g
Carboidratos	55,00	g	Frutose	3,35	g
Lipídios	4,50	g	Sacarose	7,00	g
Mix Mineral	10,00	g	Banha	30,00	g
Fibra bruta	8,00	g	Fibra (Cel. Microcrist.)	5,00	g
			L-cistina	0,30	g
			Bit. Colina	0,25	g
			BHT	0,00	g
			Mix mineral	3,50	g
			Mix vitamínico	1,00	g
TOTAL	100,0	g	TOTAL	100,0	g
Kcal/g	3,5		Kcal/g	4,9	
Macronutrientes	(% Kcal)		Macronutrientes	(% Kcal)	
Carboidratos	63,13		Carboidratos	22,84	
Proteínas	25,25		Proteínas	16,89	
Lipídios	11,62		Lipídios	60,27	
Poliinsaturados	60,0		Poliinsaturados	4,3	
Monoinsaturados	23,3		Monoinsaturados	4,2	
Saturados	15,2		Saturados	41,0	
Colesterol	0,0		Colesterol	33,0	

Composição da dieta (g/100g) consumidas pelos animais. A porcentagem de Kcal foi calculada com base nas calorias fornecidas por cada macronutriente, sendo: carboidratos 4 Kcal/g; proteínas 4 Kcal/g; e lipídios 9 Kcal/g. A porcentagem de gorduras poliinsaturadas, monoinsaturadas e saturadas foi calculada de acordo com a quantidade total de lipídios (g) fornecida em cada dieta.

4.2. Animais

Foram utilizados ratos *Fischer* machos e fêmeas, com 90 dias de idade. Os animais permaneceram em gaiolas de polipropileno (30 cm x 21 cm x 19 cm) com até

seis animais, em ciclo claro-escuro 12h – 12h no Centro de Ciência Animal da UFOP (CCA/UFOP), com livre acesso à água e às dietas. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as Diretrizes de Ética em Cuidados de Animais Experimentais. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética animal da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), com protocolo nº 2016/49 (Anexo A).

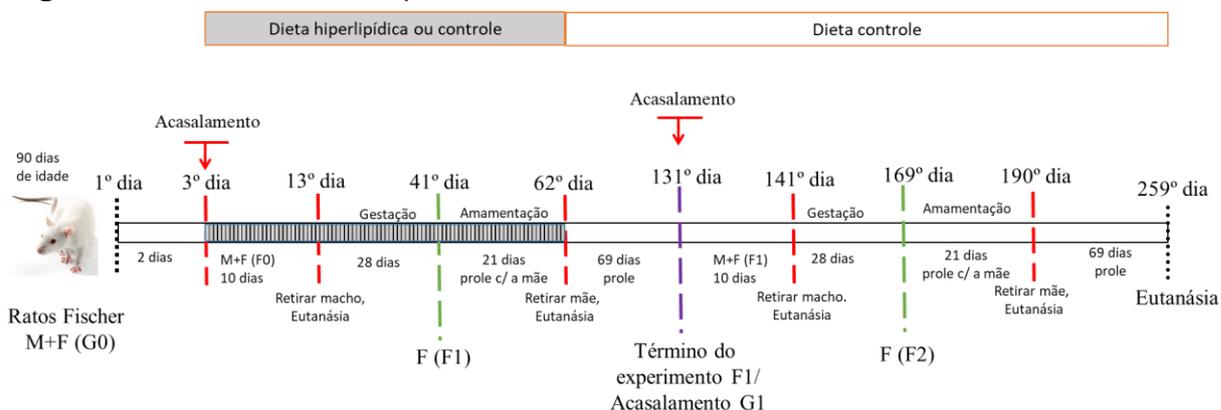
4.3. Protocolo Experimental

Durante o período de acasalamento (10 dias), uma fêmea e um macho virgens (animais G0/progenitores) com 90 dias de idade foram alocados em gaiolas de polipropileno e divididos em grupos de ratos que receberam a dieta H, e os que receberam a dieta C. Após esse período, os machos foram retirados e as fêmeas foram realocadas em gaiolas individuais, onde continuaram a receber a dieta H ou dieta C durante o período de gestação (28 dias) e de lactação (21 dias). Tomou-se o cuidado de evitar a consanguinidade entre os grupos

No nascimento, as ninhadas foram manipuladas de maneira que foram mantidos até oito filhotes por mãe a fim de garantir crescimento homogêneo das ninhadas. Após o término do período de lactação da prole machos e fêmeas foram divididos em dois grupos: um oriundo das progenitoras que receberam a dieta C, e outro proveniente de genitoras que receberam a dieta H. Esses animais foram realocados em gaiolas coletivas (3 a 6 animais por gaiola) e receberam a dieta C por 90 dias. No 90º dia, uma parte da prole foi separada e destinada a eutanásia para coleta de tecidos (prole F1); a outra parte foi destinada para o protocolo de acasalamento (prole G1), no qual uma fêmea e um macho de cada grupo foram acasalados, dando origem a geração F2.

Após o desmame, a prole (animais F2) oriunda dos animais G1, foram divididas em gaiolas coletivas de polipropileno (3 a 6 animais por gaiola), onde permaneceram recebendo a dieta C por 90 dias. O delineamento experimental encontra-se esquematizado na figura 1.

Figura 3 - Delineamento experimental.



Adaptado de BARBOSA, e cols., submetido.

4.4. Definição de Grupos

- **F2CF** – Prole fêmea descendentes de progenitores e genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, também recebeu a dieta controle por 90 dias;
- **F2CM** – Prole macho descendentes de progenitores e genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, também recebeu a dieta controle por 90 dias;
- **F2HF** – Prole fêmea descendentes de progenitores que ingeriram a dieta hiperlipídica, e de genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, recebeu a dieta controle por 90 dias;
- **F2HM** – Prole macho descendentes de progenitores que ingeriram a dieta hiperlipídica, e de genitores que ingeriram a dieta controle e que, após o desmame, recebeu a dieta controle por 90 dias.

4.5. Avaliação dos Parâmetros Nutricionais

Ao decorrer do experimento, duas vezes por semana, a ingestão alimentar (IA) foi mensurada através da quantidade de ração restante dividido pelo número de animais de cada gaiola. A Ingestão calórica (IC) foi calculada através da fórmula: IA x Kcal fornecida por cada dieta. A Eficiência alimentar (EA) foi calculada pela relação da variação ponderal do animal (diferença entre o peso final e o peso inicial) com a IC (OLIVEIRA JUNIOR, e cols., 2013; MARTINS, e cols., 2015)

4.6. Avaliação dos Parâmetros Biométricos

Todos os animais foram pesados duas vezes por semana até o final do protocolo experimental. Após a eutanásia dos animais, os depósitos de gordura inguinal, retroperitoneal e epididimal foram dissecados e pesados (g/100g da massa corporal do rato) e foi realizado o índice de adiposidade através da fórmula [massa absoluta (g) dos depósitos de gordura inguinal + retroperitoneal + epididimal/ massa corporal do rato (g) x 100] (LEVIN, 1992).

4.7. Extração Lipídica

A fração lipídica foi extraída do TA de acordo com o método proposto por Folch, e cols. (1951). Em tubos de vidros previamente lavados com éter de petróleo, cerca de 100 mg do depósito de gordura retroperitoneal foi pesado em uma balança de precisão com quatro casas decimais. A amostra foi homogeneizada com 1 mL de solução de clorofórmio-metanol (2:1) durante 1 min, e depois, com mais 1 mL de solução, homogeneizou-se por mais 1 min. Em seguida, cada tubo foi homogeneizado em vórtex (3 min) e posteriormente foi adicionado 0,4 mL de metanol. A amostra foi então levada à centrifuga (3000 rpm; 4°C; 10 min). O sobrenadante foi transferido para um tubo de vidro previamente lavado com éter de petróleo e pesado, e em seguida foi adicionado 0,8 mL de clorofórmio, e 0,64 mL de NaCl (0,73%). As amostras foram então novamente homogeneizadas em vórtex (1 min) e centrifugadas (3000 rpm; 4°C; 10 min). O sobrenadante foi descartado e a parede do tubo foi lavada com 1 mL de solução de Folch (3% de clorofórmio; 49% de metanol; 48% de água destilada). O sobrenadante foi descartado, e o solvente foi evaporado em estufa *overnight* a 37°C. Quando secos, o precipitado foi pesado em balança com precisão de quatro casas decimais. Obteve-se a quantidade de lipídios extraído através da diferença do peso do tubo limpo e do peso do tubo com o precipitado. O teor de lipídios foi obtido através da fórmula: % Lipídios = Massa de lipídios (g) x 100 / Massa da amostra (g).

4.8. Análise do Conteúdo de Colesterol Total

Após a pesagem do extrato lipídico, o material foi ressuspenso com 1 mL de isopropanol. As amostras foram mantidas no freezer a -20°C até serem analisadas.

As análises foram realizadas através de kits comerciais individuais (Labtest, Lagoa Santa – MG, Brasil) de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante.

4.10. Análise Estatística

Os resultados foram expressos com médias \pm EPM. Os parâmetros foram analisados pelos testes de normalidade t de *student* ou *Mann-Whitney*. As análises foram realizadas no *software Graphpad Prism* (versão 6.00). Foram consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Parâmetros Nutricionais

Os parâmetros nutricionais da prole F2 que ingeriu a dieta C após o desmame por 90 dias, e descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H (F2HF e F2HM) ou dieta C (F2CF e F2CM), foram obtidos através da avaliação da ingestão alimentar, ingestão calórica, ingestão de água e eficiência alimentar.

De acordo com a tabela 2, os animais descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H, apresentaram aumento ($p < 0,05$) na ingestão alimentar, na ingestão calórica, na ingestão de água, e na eficiência alimentar quando comparado aos animais descendentes de progenitores que ingeriram a dieta C.

Tabela 2 – Avaliação dos parâmetros nutricionais da prole F2

Parâmetros	F2CM	F2HM	F2CF	F2HF
Ingestão alimentar (g)	132±5,4	233±6,7*	103±3,5	176±6,2*
Ingestão calórica (Kcal)	463±9,8	812±13,4*	362±10,2	608±11,6*
Eficiência Alimentar (Kcal/g)	0,60±0,02	0,68±0,03*	0,48±0,01	0,51±0,01*
Ingestão de água (mL)	199±9,3	257±10,2*	137±11,7	188±8,1*
N	11	12	12	11

Parâmetros nutricionais das proles macho (F2HM e F2CM) e fêmea (F2HF e F2CF) que consumiram dieta C após desmame até 90 dias de idade, descendentes de progenitores (G0) que consumiram a dieta H (F2HM e F2HF) ou C (F2CM e F2CF), e de genitores (G1) que consumiram a dieta C. * $p < 0,05$ comparado aos grupos F2CM e F2CF (teste *t* de *student* ou *Mann-Whitney*). Valores expressos como média ± EPM. Ingestão alimentar (g) e ingestão de água (mL) obtida através da média de consumo alimentar de cada grupo por semana. Ingestão calórica (Kcal) obtida através da fórmula: IA x Kcal fornecida por cada dieta (3,5 para a dieta C). Eficiência alimentar (Kcal/g) obtida através da fórmula: Variação ponderal do peso de cada animal ÷ ingestão calórica média dos animais de cada gaiola. N= número de animais.

5.2. Parâmetros biométricos

Para a avaliação dos parâmetros biométricos da prole F2 que ingeriu a dieta C após o desmame por 90 dias e descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H (F2HF e F2HM) ou dieta C (F2CF e F2CM), foi mensurado a massa corporal desses animais, bem como o peso relativo dos depósitos de gordura retroperitoneal, inguinal e epididimal, o TAM e o índice de adiposidade.

Conforme mostrado na tabela 3, os animais descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H (F2HM e F2HF), apresentaram aumento ($p < 0,05$) da massa corporal, dos depósitos de gordura retroperitoneal, inguinal e epididimal, e do índice de adiposidade, quando comparado aos animais descendentes de progenitores que ingeriram a dieta C (F2CM e F2CF). Não houve diferença significativa no depósito de TAM

Tabela 3 – Parâmetros biométricos das proles F2

Parâmetros	F2CM	F2HM	F2CF	F2HF
Massa corporal (g)	293±5,20	336±2,55*	187±1,82	209±2,07*
Gordura inguinal (g/100g)	2,03±0,05	3,24±0,12*	1,87±0,11	2,23±0,08*
Gordura retroperitoneal (g/100g)	1,25±0,09	4,75±1,12*	2,67±0,10	4,02±0,11*
Gordura epididimal (g/100g)	1,11±0,06	5,65±0,31*	-	-
TA marrom (g/100g)	0,10±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,11±0,02
Fígado (g/100g)	3,08±0,04	3,40±0,10*	2,89±0,04	3,04±0,03*
Adiposidade	4,40±0,15	13,4±0,23*	4,94±0,21	7,71±0,13*
N	11	12	12	11

Parâmetros biométricos das proles macho (F2HM e F2CM) e fêmea (F2HF e F2CF) que consumiram dieta C após desmame até 90 dias de idade, descendentes de progenitores (G0) que consumiram a dieta C (F2CM e F2CF) ou H (F2HM e F2HF), e de genitores (G1) que consumiram a dieta C. * $p < 0,05$ comparado aos grupos F2CM e F2CF (teste *t* de *student* ou *Mann-Whitney*). Valores expressos como média ± EPM. Peso relativo (g/100g da massa corporal do rato) de órgãos e tecidos; cálculo de adiposidade [Massa absoluta (g) dos depósitos das gorduras inguinal + retroperitoneal + epididimal / massa corporal do rato (g) x 100]. N= número de animais. TA = tecido adiposo.

5.3. Relação TAV/TAS

Para a avaliação da relação TAV/TAS da prole F2 que ingeriu a dieta C após o desmame por 90 dias e descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H (F2HF e F2HM) ou dieta C (F2CF e F2CM), usou-se a soma dos depósitos de gorduras

retroperitoneal e epididimal (machos) como TAV, e o depósito de gordura inguinal como TAS.

Conforme mostrado na figura 2, os animais F2HM ($1,45 \pm 0,06$; N=12) descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H, apresentaram aumento ($p < 0,05$) da relação TAV/TAS quando comparados aos animais F2CM ($1,14 \pm 0,07$; N=10) descendentes de progenitores que ingeriram a dieta C. Não foi encontrada diferença significativa na relação TAV/TAS nas fêmeas F2HF ($1,95 \pm 0,10$; N=11) e F2CF ($1,72 \pm 0,12$; N=12).

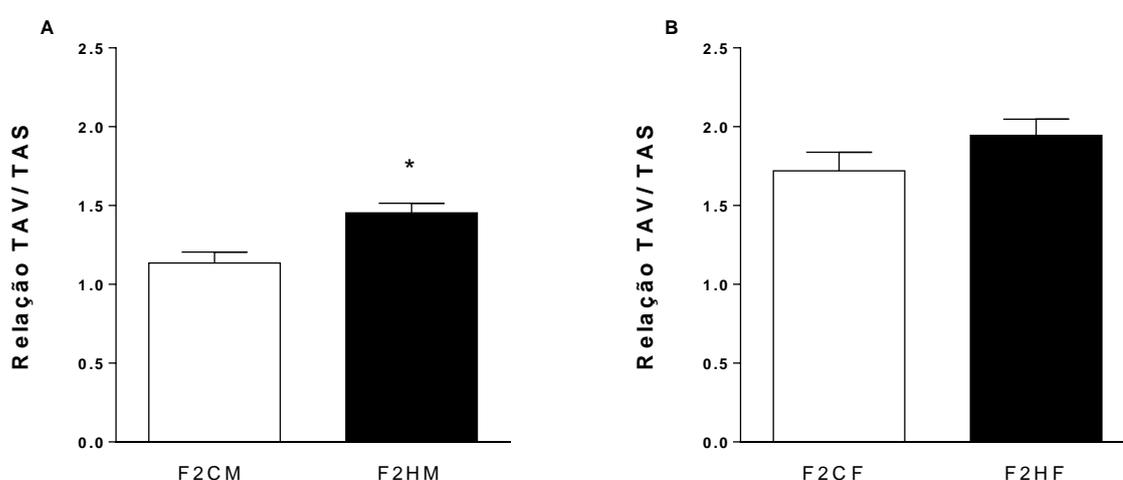


Figura 4 - Relação TAV/TAS das proles F2 (F2HM e F2CM – painel A) e fêmea (F2HF e F2CF – painel B) que consumiram dieta C após desmame até 90 dias de idade, descendentes de progenitores (G0) que consumiram a dieta C (F2CM e F2CF) ou H (F2HM e F2HF), e de genitores (G1) que consumiram a dieta C. * $p < 0,05$ comparado aos grupos F2CM e F2CF (teste *t* de *student* ou *Mann-Whitney*). TAV obtido pela soma dos depósitos de gorduras retroperitoneal e epididimal (em machos); quantidade de TAS quantidade de depósito de gordura inguinal. Valores expressos como média \pm EPM.

5.4. Teor de Lipídios

O teor de lipídios no depósito de gordura retroperitoneal da prole F2 que ingeriu a dieta C após o desmame por 90 dias e descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H (F2HF e F2HM) ou dieta C (F2CF e F2CM) foi realizado conforme o método proposto por Folch, e cols., (1951). Utilizou-se o depósito de gordura retroperitoneal devido ao maior aumento de seu tamanho em relação aos demais depósitos de gorduras nos animais machos e fêmeas.

A figura 2 mostra que houve um aumento ($p < 0,05$) no teor de lipídios depósito de gordura retroperitoneal dos animais F2HM ($58,5 \pm 2,2\%$; N=12) e F2HF ($70,1 \pm 2,0\%$;

N=13) descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H, em comparação aos animais F2CM ($48,6 \pm 3,5\%$; N=10) e F2CF ($61,0 \pm 2,1\%$; N=12) descendentes de progenitores que ingeriram a dieta C.

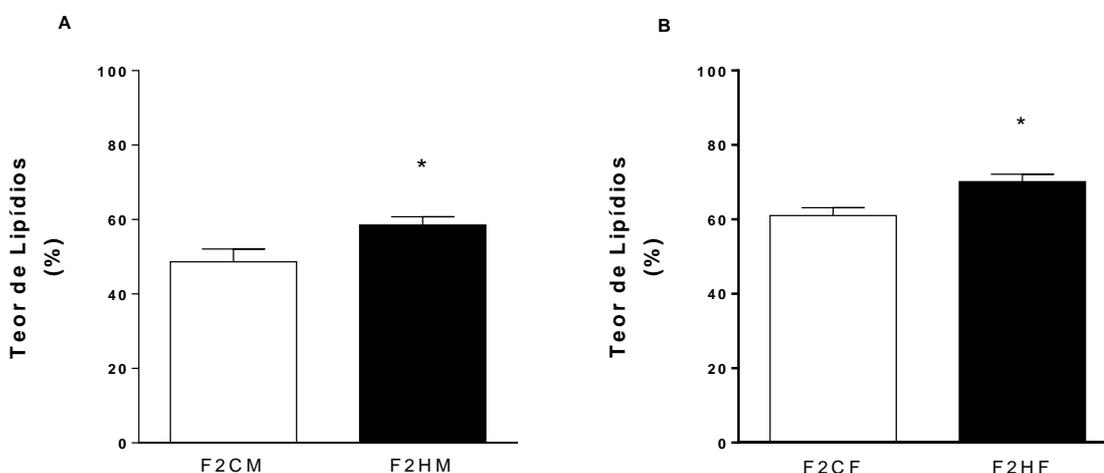


Figura 5 - Teor de lipídios no depósito de gordura retroperitoneal das proles F2 obtido através do método de Folch das proles macho (F2HM e F2CM – painel A) e fêmea (F2HF e F2CF – painel B) que consumiram dieta C após desmame até 90 dias de idade, descendentes de progenitores (G0) que consumiram a dieta C (F2CM e F2CF) ou H (F2HM e F2HF), e de genitores (G1) que consumiram a dieta C. * $p < 0,05$ comparado aos grupos F2CM e F2CF (teste *t* de *student* ou *Mann-Whitney*). Valores expressos como média \pm EPM.

5.5. Conteúdo de Colesterol Total

Para a avaliação do conteúdo de colesterol total no depósito de gordura retroperitoneal da prole F2 que ingeriu a dieta C após o desmame por 90 dias e descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H (F2HF e F2HM) ou dieta C (F2CF e F2CM), foi realizado a dosagem do colesterol através do extrato lipídico obtido através do método de folch.

A figura 3 mostra que houve um aumento ($p < 0,05$) dos níveis de colesterol total no depósito de gordura retroperitoneal de animais F2HM ($87,6 \pm 9,8$ mg/dL; N=12) e F2HF ($63,3 \pm 3,9$ mg/dL; N=13) descendentes de progenitores que ingeriram a dieta H, em comparação aos animais F2CM ($33,1 \pm 5,2$ mg/dL; N=10) e F2CF ($47,6 \pm 5,2$ mg/dL; N=12) descendentes de progenitores que ingeriram a dieta C.

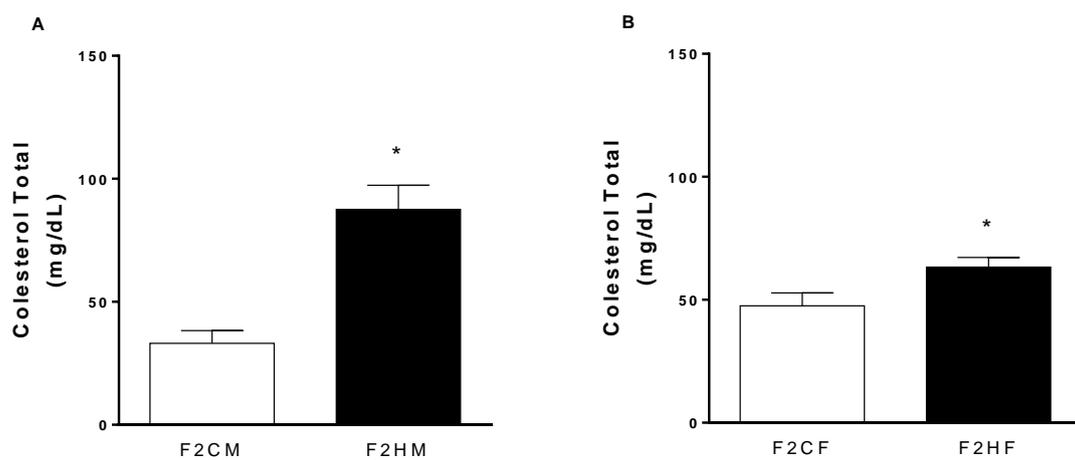


Figura 6 - Conteúdo de colesterol total do depósito de gordura retroperitoneal (mg/dL) das proles F2 macho (F2HM e F2CM – painel A) e fêmea (F2HF e F2CF – painel B) que consumiram dieta C após desmame até 90 dias de idade, descendentes de progenitores (G0) que consumiram a dieta C (F2CM e F2CF) ou H (F2HM e F2HF), e de genitores (G1) que consumiram a dieta C. * $p < 0,05$ comparado aos grupos F2CM e F2CF (teste *t* de *student* ou *Mann-Whitney*). Valores expressos como média \pm EPM.

6. DISCUSSÃO

Dados do presente estudo mostram que a dieta H, composta principalmente de ácidos graxos saturados e rica em colesterol, administrada a ratos *Fischer* no período de acasalamento (10 dias), gestação (28 dias) e lactação (21 dias), foi capaz de exercer mudanças nos parâmetros nutricionais, como aumento da IC, IA, EA, e no consumo de água; nos parâmetros biométricos, como aumento da massa corporal e do índice de adiposidade; e aumentar o teor de lipídios e os níveis de colesterol no depósito de gordura retroperitoneal em seus descendentes F2, mesmo esses animais tendo consumido apenas a dieta C após o desmame.

Roedores tendem a diminuir a ingestão alimentar quando consomem dietas hipercalóricas, a fim de balancear a quantidade calórica fornecida pela dieta (CORBET, e cols., 1986). Conseqüentemente, em situações fisiológicas, devido à alta densidade calórica da dieta, ratos submetidos a dietas H com valores entre 60 a 68% de lipídios durante um período de 13 a 18 semanas, apresentaram ingestão alimentar menor e ingestão calórica semelhante a animais submetidos a dieta C (de CASTRO, e cols., 2013; DESAI, e cols., 2014). Entretanto, o presente estudo demonstra que animais descendentes de progenitores que ingeriam dieta H apresentam aumento da ingestão alimentar e calórica quando comparado aos seus respectivos grupos controle.

Já é estabelecido que a dieta materna pode influenciar nos parâmetros alimentares de suas proles (CHANG, e cols., 2008). De acordo com Vucetic, e cols., (2010), camundongos que ingeriram dieta H contendo 60% de lipídios durante três meses antes do acasalamento, e durante a gestação e lactação, deram origem a proles que, mesmo consumindo uma dieta C por 24 semanas, apresentaram aumento da ingestão alimentar, além de apresentarem preferência por alimentos mais palatáveis, ricos em lipídios e carboidratos. Os resultados também mostraram que os animais provenientes de genitoras que ingeriram a dieta H apresentam maior eficiência alimentar (EA) em comparação a seus respectivos grupos controle. A EA pode ser entendida como a capacidade do organismo de transformar as quilocalorias ingeridas através de uma dieta em massa corporal (OLIVEIRA JUNIOR, e cols., 2013). Em geral, uma dieta rica em ácidos graxos, se associa com um aumento da EA em animais que consomem tais dietas (OLIVEIRA JUNIOR, e cols., 2009; POU DYAL, e cols., 2012; OLIVEIRA JUNIOR, e cols., 2013; MARTINS, e cols., 2015) e também em

proles F1, quando essas também fazem o consumo de dietas H (WHITE, PURPERA e MORRISON, 2009; GREGORIO, e cols., 2010). Não foram encontrados trabalhos que associasse o consumo de dietas H por progenitoras e aumento da EA na prole F2 que consumiu dieta C.

A dieta H materna no período de gestação e lactação pode influenciar a programação da estrutura e a função do ARC e alterar o comportamento do apetite, alterando o desenvolvimento das células tronco em neurônios e posteriormente na expressão de peptídeos orexigênicos ou anorexigênicos (DESAI, e cols., 2007; JIA, e cols., 2008) A diferenciação de células-tronco neurais em neurônios ou células da glia, e, a diferenciação final para os neurônios que regulam o apetite e saciedade é regulada por uma interação espacial e temporal complexa que pode ser significativamente alterada pelo meio nutritivo (DESAI e cols., 2007). A hipótese para explicar nossos dados apresentados é que a dieta H ofertada às progenitoras provocou alguma mudança nas células germinativas da prole F2, como por exemplo, durante a diferenciação celular, que podem ter causado mudanças funcionais no ARC, influenciando o aumento da ingestão alimentar e calórica (LECOUTRE, e cols., 2018).

A obesidade materna também é capaz de promover aumento da adipogênese e alteração na região hipotalâmica aumentando o apetite na prole (CHEN 2014; FRIHAUF e cols., 2016; KJAERGAARD e cols., 2017), gerando alterações na função cerebral e cardiovascular, no rim e no tecido adiposo (SYMONDS e cols., 2006; TAYLOR 2016; JOHNSON e cols., 2014).

Nossos dados mostram que ratos F2HM e F2HF apresentaram aumento da massa corporal e do índice de adiposidade quando comparados aos seus respectivos grupos controle. Esses resultados corroboram estudos em modelos experimentais realizados com ratos *Sprague-Dawley* e camundongos ICR, cuja prole F2H de progenitoras que ingeriram dietas com 39 a 62% de lipídios, por períodos de 4, 11, 12 e 14 semanas antes e/ou durante do períodos de acasalamento, gestação e lactação, apresentaram aumento da massa corporal, além de disfunção das células β pancreáticas, aumento do TAG e da intolerância à glicose (DUNN e BALE, 2009; BARBOSA e cols., 2016; DESAI e cols., 2015; MASUYAMA e cols., 2016; HUANG, e cols., 2017).

No presente estudo, o ganho de massa corporal observado nas proles pode ser considerado, provavelmente, como consequência de diversas falhas no centro da

saciedade, que é gerado pela diminuição da ação da leptina no ARC, resultando em defeitos no mecanismo de inibir o apetite e estimular a saciedade que é exercido por essa adipocina (ROSS e DESAI, 2014). Um estudo realizado em nosso laboratório, utilizando o mesmo protocolo (BARBOSA, e cols., submetido), mostrou que os ratos F2 apresentaram aumento nos níveis de leptina sérica. Assim, pelo menos podemos sugerir a participação da leptina no aumento da atividade simpática e inibição do centro de saciedade.

Vogt, e cols. (2014) mostraram que camundongos descendentes de mães que ingeriram uma dieta H com 35,2% de lipídios por oito semanas antes da gestação até a lactação, apresentaram aumento da massa corporal e do índice de adiposidade, além de alterações epigenéticas, como a redução de neurônios no ARC. Esses dados corroboram o presente estudo, uma vez que, os animais F2HM e F2HF, apresentaram além do aumento da massa corporal, aumento da adiposidade, dos depósitos de gordura retroperitoneal, inguinal e epididimal em comparação aos seus respectivos grupos controle. Contudo, é importante ressaltar que as mudanças observadas nos parâmetros nutricionais da prole F2HM e F2HF também pode ter contribuído para o aumento da massa corporal e da adiposidade, uma vez que, os animais ingeriram maior quantidade da dieta C, e conseqüentemente, mais quilocalorias, aumentando também a EA. Dados da literatura sugerem que o aumento da EA está diretamente relacionado com o aumento dos índices de adiposidade e distúrbios no metabolismo da glicose (OLIVEIRA JUNIOR, e cols., 2013).

Além disso, nesse estudo, o aumento da ingestão de água pelos animais F2H em relação aos animais F2C pode ter relação com o aumento dos depósitos de gordura, uma vez que, o TA contribui para a ativação do SNS, e conseqüentemente do SRA (IBRAHIM, 2009), e dados da literatura (MCKINLEY e JOHNSON, 2004) mostram que um dos produtos da via do SRA, a angiotensina II (Ang II), quando administrada em ratos, estimula a ingestão hídrica mesmo esses animais estando saciados. Além disso, estudos mostram que a secreção de neuropeptídeos orexigênicos estimulam não só a ingestão alimentar, como também o consumo de água. Sendo assim, é possível que esses animais estejam resistentes a ação da leptina no ARC, ou que tenham tido falhas na diferenciação e células dessa região hipotalâmica devido ao processo de programação fetal. Esses processos podem ter culminado na prevalência de secreção de neuropeptídeos orexigênicos, que não só

estimularam um aumento da ingestão alimentar, como também do consumo água (BACKBERG, e cols., 2002; FERNØ, e cols., 2015).

Diferentes estudos multigeracionais na literatura mostraram os efeitos da dieta H consumida por progenitores, e a transferência de distúrbios metabólicos através de linhagens maternas ou paternas em suas proles (DUNN e BALE, 2009; DUNN e BALE, 2011; HAFANI, e cols., 2015). O presente estudo difere dos demais apresentados da literatura, pois ambos os animais G0, machos e fêmeas consumiram a dieta H. É importante também destacar que mesmo os progenitores (animais G0 machos) tendo consumido a dieta H apenas durante o período de acasalamento (10 dias), a sua influência nas alterações dos parâmetros nutricionais e biométricos observados não pode ser ignorada. Estudos anteriores da literatura (FULLSTON, e cols., 2013; CASTRO-BARBOSA, e cols., 2015) mostraram que dietas contendo 40 a 45% de lipídios administrada a camundongos machos por um período de 10 a 12 semanas, podem causar aumento de adiposidade e resistência à insulina na prole F2 de fêmeas, não afetando os camundongos F2 machos. Isso sugere que, os efeitos da dieta H podem ser transmitidos também pela linhagem paterna, e herdados de maneira mais significativa em fêmeas, provavelmente, devido a alguma alteração epigenética ligada ao cromossomo X. (DHASARATHY, ROEMMICH e CLAYCOMBE, 2017).

Esses resultados reforçam a teoria de que a dieta H produziu um efeito multigeracional que provocou a indução do ganho de massa corporal e adiposidade nas proles F2HM e F2HF. Entretanto, testes epigenéticos seriam necessários para afirmar que os animais F2H sofrem influência dos efeitos epigenéticos.

Os dados de nosso presente estudo mostram ainda que ratos F2 apresentaram aumento dos depósitos de gorduras (retroperitoneal, inguinal e epididimal) nas proles F2HF e F2HM. Porém, a relação TAV/TAS foi maior na prole F2HM. Geralmente, devido à influência de hormônios sexo-específicos, fêmeas possuem maior quantidade de TAS em relação ao TAV (NEDUNGADI e CLEGG, 2009; KARASTERGIOU e FRIED, 2017). Os resultados sugerem que, o aumento observado nos depósitos de gordura dos animais F2HF foi proporcional, acarretando um aumento similar das gorduras que compõem o TAV e TAS, resultando na não predominância do TAV sobre o TAS. Dados anteriores de nosso laboratório (de CASTRO, e cols., 2013) mostraram que a dieta H administrada a ratos recém desmamados por um período de 13 semanas foi capaz de aumentar o depósito de lipídios no TAV, além de

induzir alterações metabólicas e histológicas características da SM humana. Os resultados obtidos nesse estudo levantam a hipótese que a dieta H das progenitoras acarreta efeitos multigeracionais que podem deixar a prole F2HM mais susceptível a riscos cardiovasculares e outras complicações características do aumento do TAV.

Entretanto, não foi observado aumento no TAM de animais F2H em relação aos animais F2C. Tal resultado era de se esperar, uma vez que, o aumento da massa corporal está relacionada com uma diminuição do TAM; e o seu aumento está associado a adaptações que estão relacionadas a melhora na atividade termogênica, como as proporcionadas pelo exercício físico (GIORDANO, FRONTINI e CINTI, 2016). Isso é mostrado no estudo de Xu, e cols. (2011), onde camundongos que consumiram dietas C (17% de lipídios) ou H (42% de lipídios) e passaram por um protocolo de exercício físico durante 8 semanas, expressaram aumento de pré-adipócitos para o TAM e da expressão gênica de UCP1, conseqüentemente, apresentando aumento da atividade termogênica. Dados da literatura mostram também que, a dieta hiperlipídica materna durante o período de lactação é capaz de minimizar a capacidade termogênica em sua prole (LIANG, e cols., 2016).

Adicionalmente, foi observado aumento do teor de lipídios e na quantidade de colesterol no depósito de gordura retroperitoneal das proles F2HM e F2HF. Não foram encontrados dados na literatura para comparar tais resultados. Entretanto, estudos anteriores indicam que o aumento de colesterol no TA é proporcional ao seu aumento na corrente sanguínea, e ao tamanho do adipócito (KRAUSE e HARTMAN, 1984; le LAY, e cols., 2001). Com esse achado, entende-se que o aumento da porcentagem de lipídios no TA retroperitoneal é indicativo de que os ratos F2H estocaram mais lipídios em relação à prole F2C, aumentando o tamanho dos adipócitos e os seus níveis de colesterol. Além disso, em outro estudo realizado em camundongos, foi mostrado que o TA é capaz de fornecer colesterol para a molécula de HDL, podendo ser responsável pelo metabolismo de colesterol, e seu transporte para o fígado e outros tecidos (ZHANG, e cols., 2010).

No presente estudo, foi também observado, aumento do peso relativo do fígado nas proles F2HM e F2HF comparado aos seus respectivos grupos controle. Esse dado se assemelha com o estudo multigeracional realizado por Li, e cols., (2012), no qual o consumo de dietas H composta por 60% de lipídios em três gerações de camundongos, levou esses animais a apresentarem aumento do peso relativo do

fígado, e conseqüentemente, um quadro de esteatose hepática, que se mostrou mais severo na geração F2 em relação às gerações G0 e F1. De acordo com esse achado, no presente estudo, o aumento da massa do fígado pode estar relacionado com um quadro de esteatose hepática. O aumento da massa corporal e da adiposidade pode alterar o metabolismo de lipídios, gerando, altas concentrações de AGL na corrente sanguínea. O excesso de AGL é metabolizado pelo fígado resultando em esteatose hepática (MENON e cols., 2004; BRADBURY 2006).

7. CONCLUSÃO

A proles F2, machos e fêmeas, descendentes de progenitores que se alimentaram de dieta H, mesmo tendo se alimentado de dieta C, uma dieta adequada nutricionalmente, apresentaram um aumento da IA e IC. Esses distúrbios, que foram induzidos pela dieta H submetida à progenitora e transferidos da genitora à prole F2, induziram o aumento da EA, que proporcionou a esses animais maior eficiência em aumentar sua massa corporal, maiores depósitos de gordura inguinal, retroperitoneal e epididimal, e em aumentar a relação TAV/TAS, estando esses animais mais propensos a desenvolverem a SM e complicações cardiovasculares.

8. REFERÊNCIAS

AGUILAR-VALLES, A. et al. Obesity, adipokines and neuroinflammation, **Neuropharmacology**. Vol. 96, p. 124-134, 2015.

AHIMA, R.S., and FLIER, J.S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **Trends in Endocrinology and Metabolism**. Vol. 11, n. 8, p. 327-332, 2000.

AIKEN, C.E; TARRY-ADKINS, J.L.; OZANNE, S.E. Transgenerational effects of maternal diet and reproductive ageing. **Mammalian Genome**. Vol. 27, p. 430-439, 2016.

ALBERTI, K. G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, Vol. 120, n. 16, p. 1640-1645, Oct 2009.

BÄCKBERG, M. et al. Orexin receptor-1 (OX-R1) immunoreactivity in chemically identified neurons of the hypothalamus: focus on orexin targets involved in control of food and water intake. **European Journal of Neuroscience**, vol. 15, n. 2, p. 315-328, 2002.

BARBOSA, C.M., et al. High fat diet increases caloric intake and induces cardio-metabolic disturbances on first and second generation offspring. **The American Journal of Obstetrics & Gynecology**. Submetido

BARBOSA, T. C. et al. High-fat diet reprograms the epigenome of rat spermatozoa and transgenerationally affects metabolism of the offspring. **Molecular Metabolism**. Vol.5, p.184-197, 2016

BARBOSA, M.A., et al. Physical training improves thermogenesis and insulin pathway, and induces remodeling in White and brown adipose tissue. **Journal of Physiology and Biochemistry**. Vol. 74, n. 3, p. 441-454, August 2018.

BAYS, H.E., et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**. Vol. 6, n. 3, p.343-368, Jan 2014.

BJÖRNTORP, P. Abdominal obesity and the development of noninsulin-dependent diabetes mellitus. **Diabetes/metabolism reviews**. Vol. 4, n. 6, p. 615-622, 1988.

BRADBURY, M. W. Lipid metabolism and liver inflammation. I. Hepatic fatty acid uptake: possible role in steatosis. **American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology**, Vol. 290, n. 2, p. G194-G198, 2006.

BURDGE, G.C., et al. Progressive, transgenerational changes in offspring phenotype and epigenotype following nutritional transition. **PLoS ONE**. Vol. 6, n. 11, 2011.

de CASTRO, et al. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver kidney of rats. **Lipids in Health and Disease**. Vol. 12, n. 136, 2013.

CHANG, G-Q. et al. Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. **Journal of Neuroscience**, Vol. 28, n. 46, p. 12107-12119, 2008.

CHECHI, K., NEDERGAARD, J. and RICHARD D. Brown adipose tissue as na anti-obesity tissue in humans. **Obesity Reviews**. Vol. 15, n. 2, p. 92-106, 2013.

CHEN, Q., et al. Maternal pre-pregnancy body mass index and offspring attention deficit hyperactivity disorder: a population-based cohort study using a sibling-comparison design. **International journal of epidemiology**, Vol. 43, n. 1, p. 83-90, 2013.

CHOE, S.S., et al. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. **Front. Endocrinol**. Vol. 7, n. 30, April 2016.

CHOI, S. W., et al. Nutritional epigenomics: a portal to disease prevention. **Adv Nutr**. Vol. 4, n. 5, p. 530-2, 2013.

CHUSYD, D.E., et al. Relationships between Rodent White Adipose Fat Pads and Human White Adipose Fat Depots. **Front. Nutr**. Vol. 3, n. 10, April, 2016.

COELHO, M., OLIVEIRA, T. and FERNANDES R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Arch Med Sci**. Vol. 9, n. 2, p. 191-200, 2013.

CORBETT, S. W., et al. Energy expenditure in rats with diet-induced obesity. **The American Journal of Clinical Nutrition**. Vol. 44, n. 2, p. 173–180, 1986.

DATTA, R.; PODOLSKY, M.J.; ATABAI, K. Fat fibrosis: friend or foe? **JCI insight**, Vol. 3, n. 19, 2018.

DHASARATHY, A.; ROEMMICH, J.N.; CLAYCOMBE, K.J. Influence of maternal obesity, diet and exercise on epigenetic regulation adipocytes. **Molecular Aspects of Medicine**. Vol. 54, p. 37-49, 2017.

DESAI, M., et al. Programmed Hyperphagia Due to Reduced Anorexigenic Mechanisms in Intrauterine Growth-Restricted Offspring. **Reproductive Sciences**. Vol. 14, n. 4, p. 329-337, May, 2007.

DESAI, M. et al. Resistance to anorexigenic agent leptin in intrauterine growth restricted offspring. **Reproductive Sciences**, Vol. 14, n. 1, p. 124, 2007.

DESAI, M., et al. Rat Maternal Obesity and High Fat Diet Program Offspring Metabolic Syndrome. **Am. J. Obstet. Gynecol**. Vol. 211, n. 3, September, 2014.

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

DUNN, G. A.; BALE, T. L. Maternal high-fat diet effects on third-generation female body size via the paternal lineage. **Endocrinology**, Vol. 152, n. 6, p. 2228-2236, 2011.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. **J. Allergy. Clin. Immunol.** Vol. 115, n. 5, p. 911-919, May 2005.

FASSHAUER, M.; BLÜHER, M. Adipokines in health and disease. **Trends in Pharmacological Sciences**. Vol. 36, n. 7, p. 461-470, 2015.

FERNØ, J., et al. Orexins (hypocretins) and energy balance: more than feeding. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 418, p. 17-26, 2015.

FOLCH, J. et al. Preparation of Lipide Extracts from Brain Tissue. **J. Biol. Chem.** Vol, 191, p. 833-841, 1951.

FORD, S. P., and ODHIAMBO, J.F. Maternal Obesity and Implications for Fetal Programming. **Diet, Nutrition, and Fetal Programming**. p. 171-184, 2017

FRIHAUF, J. B. et al. Maternal Western diet increases adiposity even in male offspring of obesity-resistant rat dams: early endocrine risk markers. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Vol. 311, n. 6, p. R1045-R1059, 2016.

FULLSTON, T., et al. Paternal obesity initiates metabolic disturbances in two generations of mice with incomplete penetrance to the F2 generation and alters the transcriptional profile of testis and sperm microRNA content. **The FASEB Journal**. Vol. 27, n. 10, 2013

GESTA, S; TSENG, Y.; KAHN, C. R. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. **Cell**. Vol. 131, n. 2, p. 242-256, 2007.

GIORDANO, A.; FRONTINI, A.; CINTI, S. Convertible visceral fat as a therapeutic target to curb obesity. **Nature Reviews Drug Discovery**, Vol. 15, n. 6, p. 405, 2016.

GOLLISCH, K.S.C., et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal and high fat diet fed rats. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** Vol. 297, p. 495-504, 2009.

GREGORIO, B.M., et al. Maternal high-fat intake predisposes nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 offspring. **Am J Obstet Gynecol**. Vol. 203, n. 5, 2010.

GUSTAFSON, B. et al. Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. Vol. 297, p. 999-1003, July, 2009.

HACZEYNI, F.; BELL-ANDERSON, K. S.; FARRELL, G. C. Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion. **Obesity reviews**, Vol. 19, n. 3, p. 406-420, 2018.

HANAFI, M. Y. et al. Transgenerational effects of obesity and malnourishment on diabetes risk in F2 generation. **Molecular and cellular biochemistry**. Vol. 412, n. 1-2, p. 269-280, 2016.

HOWIE, G.J., et al. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. **J. Physiol**. Vol. 587, n. 4, p. 905-915, 2009.

HUANG, Y., et al. Maternal high-fat diet impairs glucose metabolism, β -cell function and proliferation in the second generation of offspring rats. **Nutrition and Metabolism**. Vol. 14, n. 67, 2017.

IBRAHIM, M.M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obesity reviews**. Vol. 11, p. 11-18, 2009.

JAMA. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol. **American Medical Association**. Vol. 285, p. 2486–2497, 2001.

JIA, Y. et al. Programmed alterations in hypothalamic neuronal orexigenic responses to ghrelin following gestational nutrient restriction. **Reproductive Sciences**. Vol.15, n. 7, 2008.

JOHNSON, S. A, Effects of a maternal high-fat diet on offspring behavioral and metabolic parameters in a rodent model. **J Dev Orig Health Dis**. Vol. 8, n. 1, p. 75-88.

JO, J. et al. Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. **PLoS Comput Biol**. Vol. 5, n. 3, March, 2009.

KALUPAHANA, N.S., MOUSTAID-MOUSSA, N. and CLAYCOMBE, K.J. Immunity as a link between obesity and insulin resistance. **Molecular Aspects of Medicine**. Vol. 33, p. 26-34, 2012.

KAMINSKI, D.A. and RANDALL, T.D. Adaptive immunity and adipose tissue biology. **Trends in Immunology**. Vol. 31, n. 10, p. 384-390, October 2010.

KARASTERGIOU K. and FRIED S.K. Cellular Mechanisms Driving Sex Differences in Adipose Tissue Biology and Body Shape in Humans and Mouse Models. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Vol. 1043, 2017.

KISSEBAH, A. H.; KRAKOWER, G. R. Regional adiposity and morbidity. **Physiological reviews**. Vol. 74, n. 4, p. 761-811, 1994.

KJAERGAARD, M. et al. Differential hypothalamic leptin sensitivity in obese rat offspring exposed to maternal and postnatal intake of chocolate and soft drink. **Nutrition & diabetes**, Vol. 7, n. 1, p. e242, 2017.

KRAUSE, B.R.; HARTMAN, A.D. Adipose tissue and cholesterol metabolism. **Journal of Lipid Research**. Vol. 25, p. 97-110, 1984.

KUSMINSKI, C. M.; BICKEL, P. E.; SCHERER, P.E. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. **Nature reviews Drug discovery**, Vol. 15, n. 9, p. 639, 2016.

LABBÉ, S.M., et al. Hypothalamic control of brown adipose tissue thermogenesis. **Front. Syst. Neurosci.** Vol. 9, n. 150, 2015.

Le LAY, S., et al. Cholesterol, a Cell Size-dependent Signal That Regulates Glucose Metabolism and Gene Expression in Adipocytes. **The Journal of Biological Chemistry**. Vol. 276, n. 20, p. 16904-16910, 2001.

LECOUTRE, S. et al. Transgenerational epigenetic mechanisms in adipose tissue development. **Trends in Endocrinology & Metabolism**. Vol. 29, n. 10, p. 675-685, 2018.

LEMES, S.F., et al. Maternal Consumption of High-fat Diet in Mice Alters Hypothalamic Notch Pathway, NPY Cell Population and Food Intake in Offspring. **Neuroscience**. Vol. 371, p. 1-15, 2018.

LEVIN, B.E. Intracarotid glucose induced norepinephrine response and the development of diet induced obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**. Vol. 16, n. 6, p. 451-457, 1992.

LEWIS, G.F. and RADER, D.J. New Insights Into the Regulation of HDL Metabolism and Reverse Cholesterol Transport. **Circulation Research**. Vol. 96, n. 12, p. 1221-1232, 2005.

LI, J. et al. Accumulation of endoplasmic reticulum stress and lipogenesis in the liver through generational effects of high fat diets. **Journal of hepatology**, Vol. 56, n. 4, p. 900-907, 2012.

LI, S. A maternal high-fat diet during pregnancy and lactation, in addition to a postnatal high-fat diet, leads to metabolic syndrome with spatial learning and memory deficits: beneficial effects of resveratrol. **Oncotarget**. Vol. 8, n. 67, p.111998-112013, 2017.

LIANG, X. et al. Maternal high-fat diet during lactation impairs thermogenic function of brown adipose tissue in offspring mice. **Scientific reports**, v. 6, p. 34345, 2016.

MANCUSO, P. The role of adipokines in chronic inflammation. **Immunotargets and Therapy**. Vol. 5, p. 47-56, 2016.

MARTINS, F. et al. Dieta Hiperlipídica Promove Remodelação Cardíaca em Modelo Experimental de Obesidade. **Arq. Bras. Cardiol.** Vol. 105, n. 5, p. 479-486, 2015.

MASUYAMA, H. et al. The effects of paternal high-fat diet exposure on offspring metabolism with epigenetic changes in the mouse adiponectin and leptin gene promoters. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** Vol. 311, p. 236-245, 2016.

MCARDLE, W. I, K. e KATCH, V. (2016). **Nutrição para o esporte e exercício** (4a. ed.). Rio de Janeiro: Grupo Gen - Guanabara Koogan. p. 621.

MCKINLEY, M. J.; JOHNSON, A. K. The physiological regulation of thirst and fluid intake. **Physiology**, Vol. 19, n. 1, p. 1-6, 2004.

MENON, R. K, et al Transplacental passage of insulin in pregnant women with insulin-dependent diabetes mellitus: its role in fetal macrosomia. **N Engl J Med.** Vol. 323, p. 309–315, 1990

NEDUNGADI, T. P.; CLEGG, D. J. Sexual dimorphism in body fat distribution and risk for cardiovascular diseases. **Journal of cardiovascular translational research**, Vol. 2, n. 3, p. 321-327, 2009.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. p. 360, 668,864-867.

NICHOLAS, L.M. and OZANNE S.E. Early life programming in mice by maternal overnutrition: mechanistic insights and interventional approaches. **Philosophical Transactions B.** Vol. 374, 2018.

OLIVEIRA JUNIOR, S.A. et al. Nutritional and cardiovascular profiles of normotensive and hypertensive rats kept on a high fat diet. **Arq Bras Cardiol.** Vol. 93, n. 5, p. 526-533, 2009.

OLIVEIRA JUNIOR, S.A., et al. Extensive impact of saturated fatty acids on metabolic and cardiovascular profile in rats with diet-induced obesity: a canonical analysis. **Cardiovascular Diabetology.** Vol. 12, n. 65, 2013

OZANNE, S.E. and CONSTÂNCIA, M. Mechanisms of Disease: the developmental origins of disease and the role of the epigenotype. **Nature Clinical Practice.** Vol. 3, n. 7, p. 539-546, July, 2007.

POUDYAL H. et al. Chronic highcarbohydrate, high-fat feeding in rats induces reversible metabolic, cardiovascular, and liver changes. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** Vol. 302, n. 12, p. 1472-1482, 2012

do PRADO, W.L., et al. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício. **ReVol. Bras. Med. Esporte.** Vol. 15, n. 5, p. 378-383, 2009.

PRIMEAU, VOL. et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. **Internacional Journal of Obesity**. Vol. 35, n. 7, p. 971-981, 2011.

PUJOL, M.C. Mecanismos básicos. Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides. **Clin. Invest. Ateroscl.** Vol. 26, n. 1, p. 41-47, p. 2013.

REEVES, P.G., NIELSEN, F.H. and FAHEY, G.C., Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76^a rodent diet. **J Nutr.** Vol.123, n.11, p.1939-1951, 1993.

RIBEIRO FILHO, F.F., et al. Gordura Visceral e Síndrome Metabólica: Mais que Uma Simples Associação. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** Vol. 50, n. 2, p. 230-236, abril 2016.

ROCHA-RODRIGUES, S., et al. Physical exercise mitigates high-fat diet-induced adipopathy and related endocrine alterations in an animal model of obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**. Vol. 74, p.235-246, February, 2018.

RODWELL, VOL.W., e cols. **Bioquímica Ilustrada de Harper**. 30 ed. Porto Alegre: AMGH Editora LTDA, 2017. p. 254-259.

ROSS, M.G.; DESAI, M. Developmental Programming of offspring obesity, adipogenesis, and appetite. **Clin. Obstet. Gynecol.** Vol. 56, n. 3, p. 529-536, 2013.

SANTOS, J. M., et al. "Diabetic retinopathy, superoxide damage and antioxidants." **Curr Pharm Biotechnol.** Vol. 12, n.3, p. 352-61, 2011.

SBC, Sociedade Brasileira. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arq. Bras. Cardiol.** Vol.84, n.1, p.23, abril de 2005.

SECKL, J.R.; HOLMES, M.C. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal'programming'of adult pathophysiology. **Nature Reviews Endocrinology**, Vol. 3, n. 6, p. 479, 2007.

SETHI, J.K. Is PBEF/Visfatin/Nambt an Authentic Adipokine Relevant to the Metabolic Syndrome? **Curr. Hypertens. Rep.** Vol. 9, n. 1, p. 33-38, March 2007.

SHAH, R.VOL., et al. Visceral Adiposity and the Risk of Metabolic Syndrome Across Body Mass Index. **Cardiovascular Imaging**. Vol. 7, n. 12, p. 1221-1235, December, 2014.

SMITKA, K., MAREŠOVÁ, D. Adipose Tissue as an Endocrine Organ: an Update on Pro-inflammatory and Anti-inflammatory Microenvironment. **Prague Medical Report**. Vol. 116, n. 2, p. 87-111, 2015.

SUN, K., KUSMINSKI, C.M. and SCHERER, P.E. Adipose tissue remodeling and obesity. **J. Clin. Invest.** Vol. 121, n. 6, p. 2094-2101, 2011.

SYMONDS, M. E. et al. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. **Reproduction, Fertility and Development**, Vol. 19, n. 1, p. 53-63, 2006.

TAYLOR, P. A. The influence of maternal obesity on offspring cardiovascular control and insights from rodent models. **Parental Obesity: Intergenerational Programming and consequences**. p.307-334, 2016.

VALASSI, E., SCACCHI, M. and CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. Vol. 18, p. 158-168, 2008.

VOGT, M.C. et al. Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding. **Cell**. Vol. 156, n. 3, p. 495-509, 2014.

VUCETIC, Z. et al. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression. Of dopamine and opioid-related genes. **Endocrinology**. Vol.151, n.10, p.4756-4764, 2010.

WANG, C., et al. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. **Open Hypertens J**. vol. 3, p.1-13, 2010.

WEAVER, J. R.; SUSIARJO, M.; BARTOLOMEI, M. S. Imprinting and epigenetic changes in the early embryo. **Mammalian Genome**, Vol. 20, n. 9-10, p. 532-543, 2009.

WELLS, J.C.K.; CHOMTHO, S. and FEWTRELL M.S. Programming of body composition by early growth and nutrition. **Proceedings of the Nutrition Society**. Vol. 66, p. 423-434, 2007.

WHITE, C.L.; PURPERA, M.N. and MORRISON, C.D. Maternal obesity is necessary for programming effect of high-fat diet on offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. Vol. 296, p. 1464-1462, 2009.

XU, X., et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Vol. 300, n. 5, p. R1115-R1125, 2011.

ZHANG, Y., et al. Adipocyte Modulation of High-Density Lipoprotein Cholesterol. **Circulation**. Vol. 121, n. 11, p. 1347-1355, 2010.

9. ANEXOS

ANEXO A – Documento de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Ouro Preto



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro – ICEB-II, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone (31) 3550-1388 Fax: (31) 3550-1370
Email: ceua@ufop.edu.br



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo do projeto com uso de animais nº. 2016/49, intitulado "Efeitos da exposição de ratas à dieta hiperlipídica e hipercalórica durante a gestação e amamentação sobre parâmetros hemodinâmicos da prole na vida adulta.", que tem como responsável o/a Prof(a). Dr(a). Andréia Carvalho Alzamora, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP, de acordo com tabela abaixo:

Dados dos Animais Aprovados				
Espécie/linhagem	N.º de Animais	Idade	Sexo	Procedência
Fisher	332	12 semanas	Macho e fêmeas	CCA

Restrição de dieta: (x) sim () não

Especificar a dieta:

Este Certificado expira em: 11/01/2021

Ouro Preto, 12 de Dezembro de 2016.

Prof.^a Dr.^a Lenice Kappes Becker
Coordenadora da CEUA/UFOP