

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

JULIANA NECKER RUVER

**DIETA HIPERLIPÍDICA MATERNA: REPERCUSSÕES SOBRE A COMPOSIÇÃO
CORPORAL, PARÂMETROS METABÓLICOS, FATORES REGULADORES DA
MIOGÊNESE E DO FENÓTIPO MUSCULAR DA PROLE**

RECIFE

2022

JULIANA NECKER RUVER

DIETA HIPERLIPÍDICA MATERNA: REPERCUSSÕES SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PARÂMETROS METABÓLICOS, FATORES REGULADORES DA MIOGÊNESE E DO FENÓTIPO MUSCULAR DA PROLE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Nutrição. Área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Raquel da Silva Aragão

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Isabeli Lins Pinheiro

RECIFE

2022

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

R983d	Ruver, Juliana Necker Dieta hiperlipídica materna: repercussões sobre a composição corporal, parâmetros metabólicos, fatores reguladores da miogênese e do fenótipo muscular da prole / Juliana Necker Ruver. – 2022. 75 f. : il. Orientadora: Raquel da Silva Aragão. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2022. Inclui referências e anexo. 1. Dieta hiperlipídica. 2. Composição corporal. 3. Perfil bioquímico. 4. Desenvolvimento muscular. I. Aragão, Raquel da Silva (orientadora) II. Título. 612.3 CDD (23.ed.)	UFPE (CCS 2022 - 262)
-------	--	-----------------------

JULIANA NECKER RUVER

DIETA HIPERLIPÍDICA MATERNA: REPERCUSSÕES SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, PARÂMETROS METABÓLICOS, FATORES REGULADORES DA MIOGÊNESE E DO FENÓTIPO MUSCULAR DA PROLE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Nutrição. Área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição.

Aprovada em: 30/06/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof.^o Dr.^o Diogo Antônio Alves de Vasconcelos
Departamento de Nutrição - UFPE

Prof.^o Dr.^o Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior
Curso de Biologia - CAV/UFPE

Prof.^a Dr.^a Jéssica Priscila Fragoso de Moura
Faculdade de Ciências Aplicadas - UNICAMP

AGRADECIMENTOS

Grata, primeiramente, a **mim mesma**, que mesmo fora do contexto acadêmico por alguns anos, nunca deixei de acreditar que ainda era possível, que eu conseguiria, que este era meu caminho. E por trás desse anseio, do espírito de realização e conquista, revela-se a força de **Deus** que habita em mim, que inquestionavelmente foi fundamental.

Agradeço à minha mãe, **Zélia**, reconhecida por muitos pela excelência de seu trabalho na área da educação, e que para mim, além disso, é exemplo de superação, persistência e dedicação. És minha base e minha inspiração, mãe! Te amo!

À minha irmã, **Gabriela**, que sempre tem uma palavra de incentivo para me motivar.

À minha amiga **Regina Escorel** – juntas no “contrafluxo”, descobrimos a trajetória que deveríamos seguir para conquistar nosso objetivo comum e juntas compartilhamos as emoções de cada etapa, especialmente a alegria de ter nossos nomes entre os aprovados.

Ao meu amigo **Wenicios Chaves** que sempre, com bom ânimo, se dispôs a dar direcionamentos diante do universo acadêmico. Você é raro, Weni! Obrigada!

À minha orientadora **Raquel Aragão** pelo acolhimento, pela compreensão e pelos ensinamentos que agora se consolidam como base fundamental na minha formação acadêmica. Tens minha mais profunda admiração profissional! MUITÍSSIMO obrigada!

À minha co-orientadora, **Isabeli Lins**, que além do conhecimento, demonstrou na prática a importância do rigor científico e do comprometimento do pesquisador com seu trabalho.

À todos os professores do Programa de Pós-graduação em Nutrição da UFPE com quem tive o privilégio de aprender.

Às minhas colegas de turma, especialmente à **Laryssa Melo**, que mesmo sendo de outra linha de pesquisa tornou-se minha grande parceira nessa trajetória.

Às minhas colegas de experimento, **Thaynan Oliveira**, **Débora Oliveira** e **Érika Cadena** com quem compartilhei bancada e dados científicos e que, naturalmente, contribuíram muitíssimo na minha vivência na pesquisa científica.

Aos membros da banca, de qualificação e de defesa, **Diogo Vasconcelos**, **Kelli Pereira**, **Jéssica Fragoso** e **Francisco Amanajás** pelas contribuições que enriqueceram(ão) este trabalho.

RESUMO

Há muitas evidências científicas quanto as repercussões de insultos ambientais nos períodos críticos do desenvolvimento sobre a funcionalidade de órgãos e sistemas e a correlação desta condição com a crescente incidência de doenças metabólicas na vida adulta. Objetivamos com esta investigação avaliar os efeitos de duas dietas hiperlipídicas maternas distintas sobre a composição corporal e o perfil bioquímico das matrizes e de seus descendentes e sobre a expressão de genes reguladores da miogênese e do fenótipo muscular ao desmame. Ratas *Wistar* foram divididas em 3 grupos de acordo com a dieta recebida no período de gestação e lactação em: Controle (CTRL, 19% proteína, 63% carboidratos, 18% lipídios, 3,60 kcal/g, n= 10); Hiperlipídica-hipercalórica (HH, 19% proteínas, 30% carboidratos, 51% lipídios, 4,62 kcal/g, n= 8); Hiperlipídica-isocalórica (HI, 19% proteína, 30% carboidratos, 51% lipídios, 3,64 kcal/g, n= 9). Foram avaliados evolução ponderal, consumo alimentar e perfil bioquímico materno e, na prole, mensurados parâmetros de crescimento somático, perfil bioquímico e expressão gênica de marcadores miogênicos e do fenótipo muscular. Os resultados não evidenciaram diferenças entre os grupos na ingestão energética, no ganho de peso materno, nos níveis de glicemia em jejum e no teste de tolerância a glicose (TTG). No entanto, as ratas HH apresentaram níveis inferiores de colesterol total e colesterol não-HDL em relação ao CTRL, enquanto as ratas HI apresentaram níveis inferiores de colesterol total e triglicerídeos, comparadas ao grupo CTRL. Os parâmetros do crescimento somático dos filhotes indicaram menor peso corporal do grupo HI no 1º dia pós-natal comparado ao CTRL e, no 15º e 21º, em relação ao CTRL e HH. Ao desmame, os filhotes HI apresentaram menor % ganho de peso, menor comprimento (*versus* HH) e menor crânio (*versus* HH). As análises bioquímicas evidenciaram maiores níveis de triglicerídeos e colesterol não-HDL no grupo HI em relação ao CTRL; e maiores níveis de glicose e menores de colesterol HDL em comparação ao grupo HH. A expressão dos genes *Pax7*, *Myf5*, *Myod*, *Myog*, *Myh2*, *Myh4*, *Myh8* não diferiu entre os grupos. No entanto, foi observado diminuição da expressão de *Myf6* e superexpressão de *Myh7* nos grupos HH e HI comparados ao CTRL, sendo que a expressão de *Myh7* do grupo HI foi inferior ao valor do HH. Além disso, foi evidenciado aumento da expressão de *Mef2a* no grupo HI em relação ao CTRL e redução de *Mef2d* no grupo HI comparado aos grupos CTRL e HH. Os resultados indicam que, além de reduzir o crescimento dos filhotes, a dieta HI foi capaz

de alterar o metabolismo da glicose e de lipídios em idade precoce. Além disso, ambas as dietas hiperlipídicas repercutiram sobre a expressão do fator regulador da miogênese Myf6/MRF4 e a superexpressão do gene *Myh7*, codificador para fibras do tipo I. Diante disso, foi demonstrado que dietas hiperlipídicas maternas, em diferentes magnitudes, levam a repercussões fisiológicas e metabólicas importantes que podem favorecer o desenvolvimento de doenças crônicas precocemente.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica, composição corporal; perfil bioquímico; miogênese.

ABSTRACT

There is a lot of scientific evidence regarding the repercussions of environmental insults in critical periods of development on the functionality of organs and systems and the correlation of this condition with the increasing incidence of metabolic diseases in adult life. The aim of this investigation was to evaluate the effects of two distinct maternal high-fat diets on the body composition and biochemical profile of the dams and their offspring and on the expression of genes that regulate myogenesis and muscle phenotype at weaning. Wistar rats were divided into 3 groups according to the diet received during pregnancy and lactation in: Control (CTRL, 19% protein, 18% lipids, 3.60 kcal/g, n= 10); Hyperlipid-hypercaloric (HH, 19% proteins, 51% lipids, 4.62 kcal/g, n= 8); Hyperlipid-isocaloric (HI, 19% protein, 51% lipids, 3.64 kcal/g, n=9). In dams, weight evolution, food consumption and biochemical profile were evaluated. In offspring, somatic growth, biochemical profile, and gene expression of myogenic markers and of muscle phenotype were measured. No difference between groups was observed in dams regarding energy intake, weight gain, fasting glucose levels and glucose tolerance test. However, HH dams had lower levels of total cholesterol and non-HDL cholesterol compared to CTRL, while HI dams had lower levels of total cholesterol and triglycerides compared to CTRL group. HI offspring had lower body weight on the 1st postnatal day (PND) compared to CTRL group and, on the 15th and 21st PND compared to CTRL and HH groups. At weaning, HI pups showed lower % weight gain, shorter length (*versus* HH) and smaller skull (*versus* HH). Higher levels of triglycerides and non-HDL cholesterol were observed in HI group compared to CTRL; and higher glucose and lower HDL cholesterol levels compared to HH group. Gene expression of *Pax7*, *Myf5*, *Myod*, *Myog*, *Myh2*, *Myh4*, *Myh8* did not differ between groups. However, *Myf6* expression was decreased and *Myh7* was increased in HH and HI groups compared to CTRL, and *Myh7* expression in the group was lower than the HH value. Furthermore, increased *Mef2a* expression was observed in HI group compared to CTRL and reduced *Mef2d* in HI group compared to CTRL and HH groups. The results indicate that, in addition to reducing the growth of the offspring, the HI diet was able to alter glucose and lipid metabolism at an early age. In addition, both high-fat diets affected the expression of the myogenesis regulatory factor *Myf6/MRF4* and the overexpression of the *Myh7* gene, which encodes type I fibers, physiological and metabolic factors that can favor the development of chronic diseases early.

Keywords: high fat diet; body composition; biochemical profile; myogenesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Regulação da fusão de mioblastos em mamíferos	23
Figura 2 – Representação esquemática do envolvimento dos fatores de transcrição na regulação da miogênese	25
Figura 3 – Representação esquemática do desenho experimental	36
Figura 4 – Glicemia de jejum materna durante a gestação	43
Figura 5 – Teste de tolerância a glicose materna	43
Figura 6 – Crescimento somático dos filhotes na lactação	46
Figura 7 – Expressão gênica dos fatores reguladores da miogênese	48
Figura 8 – Expressão gênica das isoformas MyHC	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal e valor energético das dietas experimentais	35
Tabela 2 – Sequência de <i>primers</i>	39
Tabela 3 – Parâmetros ponderais e de consumo alimentar maternos durante a gestação e lactação	42
Tabela 4 – Avaliações murinométricas das mães no sacrifício	44
Tabela 5 – Perfil bioquímico materno	45
Tabela 6 – Perfil bioquímico dos filhotes	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CpG – Sigla em inglês para nucleotídeo citosina-fosfato-guanina

CTRL – Controle

DOHaD – *Developmental Origins of Health and Disease*

EDL – Extensor longo dos dedos

HH – Hiperlipídica-hipercalórica

HI – Hiperpídica-isocalórica

MEF2 – Fator potenciador de miócitos-2

miRNA – microRNA

MRF - Fator regulador miogênico

MyoG – Miogenina

MyHC – Cadeia pesada de miosina

ncRNA – RNA não codificante ou codificador

Pax - *Paired Box*

POF – Pesquisa de Orçamento Familiar

Six – *Sine oculis-related homebox*

TTG – Teste de tolerância à glicose

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	PLASTICIDADE FENOTÍPICA	17
2.2	REPERCUSSÕES DAS DIETAS HIPERLIPÍDICAS NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E PERFIL BIOQUÍMICO	19
2.3	DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA MÚSCULO ESQUELÉTICO	21
2.4	IMPACTO DA NUTRIÇÃO MATERNA NO FENÓTIPO MUSCULAR	28
3	HIPÓTESE	31
4	OBJETIVOS	32
4.1	OBJETIVO GERAL	32
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
5	MÉTODOS	33
5.1	QUESTÕES ÉTICAS	33
5.2	ANIMAIS	33
5.3	MANIPULAÇÃO DIETÉTICA	34
5.4	DESENHO EXPERIMENTAL	34
5.5	5.5 AVALIAÇÃO DAS MÃES	36
5.5.1	Peso corporal	36
5.5.2	Consumo alimentar	36
5.5.3	Glicemia de jejum	37
5.5.4	Teste de tolerância a glicose	37
5.6	AVALIAÇÃO DOS FILHOTES	37
5.7	COLETA DE AMOSTRAS	38
5.8	ANÁLISE DO PERFIL BIOQUÍMICO	38
5.9	ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA	38
5.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
6	RESULTADOS	42
6.1	AVALIAÇÃO DAS MÃES	42
6.2	AVALIAÇÃO DOS FILHOTES	45
7	DISCUSSÃO	50

7.1	EVOLUÇÃO PONDERAL E CONSUMO ALIMENTAR NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO	50
7.2	GLICEMIA DE JEJUM E TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE MATERNOS	50
7.3	PERFIL BIOQUÍMICO MATERNO	52
7.4	CRESCIMENTO SOMÁTICO DOS FILHOTES	53
7.5	PERFIL BIOQUÍMICO DOS FILHOTES	56
7.6	EXPRESSÃO DE GENES REGULADORES DA MIOGÊNESE E DO FENÓTIPO MUSCULAR	59
8	CONCLUSÕES	64
	REFERÊNCIAS	65
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	75

1 INTRODUÇÃO

Nas fases iniciais de desenvolvimento, que compreendem a gestação e a lactação, o organismo em formação se encontra muito vulnerável e responsivo às condições impostas pelo ambiente (CAPRA et al., 2013). Essas fases são apontadas pela literatura científica como períodos críticos do desenvolvimento (CAPRA et al., 2013). A teoria das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (do inglês, *Developmental Origins of Health and Disease* – DOHaD) sustenta que as condições impostas na origem da vida podem impactar no desenvolvimento de órgão e sistemas e determinar a condição de saúde em diferentes fases da vida (BARKER, 2007).

Neste sentido, diversos pesquisadores buscam investigar mecanismos envolvidos no DOHaD (BIANCO-MIOTTO et al., 2017). Os estudos demonstram que insultos ambientais nestes períodos podem condicionar este organismo ao maior risco de desenvolvimento de doenças, tais como diabetes, hipertensão arterial, doenças cardíacas e outras desordens metabólicas (CAPRA et al., 2013; CHMURZYNSKA, 2010; TIFFON, 2018). Os potenciais mecanismos envolvidos nesta condição fisiológica incluem alterações endócrinas, o comprometimento do desenvolvimento de órgãos e a regulação epigenética da expressão gênica (MARCINIAK et al., 2017; REES, 2019; ŞANLI; KABARAN, 2019).

A vulnerabilidade fisiológica do feto e do neonato é justificada pela alta plasticidade celular apresentada pelo organismo nas fases iniciais do desenvolvimento (LIEBER et al., 2017). Esta condição é descrita na literatura como plasticidade fenotípica e é caracterizada pela capacidade de um único genótipo originar diferentes fenótipos em resposta às condições ambientais (FOX et al., 2019; RAO TATA; RAJAGOPAL, 2016; ROTHMAN; JARRIAULT, 2019), com o possível envolvimento de mecanismos epigenéticos (PAKSA; RAJAGOPAL, 2017).

O fenômeno da plasticidade acontece a nível celular e, portanto, todos os tecidos estão suscetíveis a ele (PAKSA; RAJAGOPAL, 2017). Assim, um ambiente materno adverso pode ser gatilho para modificações epigenéticas embrionárias, fetais e/ou neonatais, que são capazes de alterar mecanismos de crescimento e metabolismo ao longo da infância e repercutir no fenótipo de saúde na vida adulta (CAPRA et al., 2013). Inclusive, há muitos estudos recentes que evidenciam a correlação entre distúrbios metabólicos materno e alterações no padrão de

crescimento, desenvolvimento e metabolismo dos descendentes (CHANG et al., 2019; CHUNG et al., 2021; FERNANDES et al., 2021).

Em paralelo, a alta plasticidade do tecido muscular desperta interesse científico pela magnitude do seu impacto metabólico (HOPPELER, 2016; LIEBER et al., 2017). O músculo esquelético, tecido mais abundante no corpo dos mamíferos, correspondendo a 36-42% do peso corporal, exerce prioritariamente funções estruturais e de mobilidade (FRONTERA; OCHALA, 2015), mas também desempenha um importante papel no balanço energético e na homeostase metabólica (HOPPELER, 2016; MORESI et al., 2015). Adicionalmente, estudos apontam a musculatura esquelética como um órgão endócrino, secretor de miocinas que atuam de maneira sistêmica participando da regulação de diversas funções metabólicas (CARSON, 2017; LAURENS; BERGOUIGNAN; MORO, 2020; LEGÅRD; PEDERSEN, 2018).

Pesquisas direcionadas a investigar a notável plasticidade do músculo esquelético já demonstram a suscetibilidade deste tecido às condições ambientais impostas nos períodos críticos de desenvolvimento do organismo e sugerem o envolvimento de alterações de vias de regulação epigenéticas na determinação do fenótipo muscular (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; MORESI et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2018). A relevância deste processo e sua contribuição na condição de saúde ao longo da vida é compreendida quando se considera que muitos aspectos da miogênese na vida adulta se assemelham ou reiteram episódios morfogenéticos embrionários e mecanismos de sinalização que controlam a expressão gênica (CHANGO; POGRIBNY, 2015; FLEMING et al., 2004).

Entre os fatores ambientais envolvidos na caracterização do padrão metabólico do organismo em formação, há enfoque científico na nutrição materna (CAROLAN-OLAH; DUARTE-GARDEA; LECHUGA, 2015; CHANGO; POGRIBNY, 2015; DA et al., 2022; DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; MUSIAL et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; REES, 2019; WANG et al., 2020). Diversos estudos demonstram que a inadequação da dieta materna, que compreende tanto a má nutrição como a ingestão excessiva de calorias nos períodos de desenvolvimento pode ser condicionante para desordens metabólicas na vida adulta (CHANGO; POGRIBNY, 2015; MUSIAL et al., 2017; REES, 2019). Um padrão alimentar materno inadequado pode desencadear modificações na prole, que refletem na alteração da expressão gênica e no fenótipo de saúde

(CAROLAN-OLAH; DUARTE-GARDEA; LECHUGA, 2015). Assim, a nutrição materna pode ser capaz de predispor este organismo a um risco aumentado para o desenvolvimento de doenças metabólicas (CAROLAN-OLAH; DUARTE-GARDEA; LECHUGA, 2015).

Dietas densamente energéticas, mas deficientes em micronutrientes representam um padrão dietético muito comum no mundo ocidental (RIZZELLO et al., 2019). No Brasil, dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) mais recente revelam a prevalência de padrão alimentar baseado no alto consumo de carnes e de produtos industrializados, configurando dieta rica em gorduras saturadas e trans, açúcares simples, sódio e aditivos alimentares e, por outro lado, pobre em fibras e micronutrientes (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA, 2019). Estudos apontam que este padrão de consumo alimentar está associado ao risco aumentado para o desenvolvimento de síndrome metabólica e outras doenças crônicas não-transmissíveis (FABIANI; NALDINI; CHIAVARINI, 2019; RODRÍGUEZ-MONFORTE et al., 2017; SHAB-BIDAR et al., 2018). Apesar deste padrão dietético não resultar em deficiências evidentes, a associação de múltiplas deficiências nutricionais discretas com o excesso de energia pode alterar o metabolismo celular (HAFNER et al., 2019; KELEHER et al., 2018a; SARKER et al., 2019).

No campo da pesquisa experimental, há diversos estudos que buscam investigar as repercussões metabólicas na prole decorrentes de uma dieta hiperlipídica durante o período perinatal (OLIVEIRA et al., 2018; PANTALEÃO et al., 2013; REES, 2019). Inclusive, algumas destas pesquisas tem como objeto de estudo as repercussões da dieta materna na musculatura esquelética (OLIVEIRA et al., 2018; TIFFON, 2018). Porém, as evidências científicas ainda são insuficientes para concluir se as repercussões observadas no tecido muscular são decorrentes do aumento da quantidade de lipídios na dieta ou do seu aporte energético. Assim, buscando contribuir para a elucidação desta lacuna na ciência, nosso estudo se propôs a analisar os efeitos de duas dietas hiperlipídicas materna com diferentes teores calóricos sobre a composição corporal e perfil bioquímico das mães e de seus filhotes e sobre a expressão de genes reguladores da miogênese e determinantes do fenótipo muscular da prole ao desmame.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PLASTICIDADE FENOTÍPICA

Plasticidade fenotípica é um mecanismo de adaptação celular (FOX et al., 2019). Este processo adaptativo, observado em plantas, animais e em humanos, é caracterizado pela variação do fenótipo induzida por estímulos ambientais (FOX et al., 2019). Ele afeta aspectos morfológicos, fisiológicos e comportamentais do organismo (FOX et al., 2019; SOMMER, 2020) e é mediado por eventos epigenéticos, os quais determinam alterações da expressão gênica (REES, 2019; TAMMEN; FRISO; CHOI, 2013).

A regulação epigenética pode ocorrer por meio de três mecanismos distintos que se correlacionam: metilação de DNA; modificação de histonas; e RNAs não codificantes (ncRNA), tais como os microRNAs (miRNA) (BIANCO-MIOTTO et al., 2017; DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015; ZHANG et al., 2019a). Estes não acarretam alteração no sequenciamento de DNA, mas são capazes de alterar permanentemente a expressão gênica, induzindo modificações fenotípicas, comprometendo a função de células e órgãos e, conseqüentemente, condicionando desordens metabólicas importantes (DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015; ZHANG et al., 2019b).

A metilação do DNA ocorre por meio da adição de um grupo metil ao quinto carbono do anel de pirimidina de uma base de citosina que pertence a um par de nucleotídeos citosina-fosfato-guanina (CpG) (JANG et al., 2017; LAUBACH et al., 2018). Este mecanismo resulta no silenciamento de genes, inibindo sua expressão (BIANCO-MIOTTO et al., 2017) e acontece intensamente na fase embrionária, perdura ao longo da vida e se atenua com o envelhecimento (DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015). Por sua vez, a modificação de histonas ocorre por metilação ou acetilação, que consiste, respectivamente, na adição de um grupo metil ou acetil à estrutura da molécula. A depender destes processos, o gene envolvido terá sua expressão inibida ou exacerbada (DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015).

Quanto ao mecanismo de ncRNA, de modo geral, os ncRNAs são transcritos do DNA, mas não são traduzidos em proteínas (CHEN; RAJEWSKY, 2007; DING; WEILER; GROSSHANS, 2009). Logo, sua ação também consiste no silenciamento de genes (CHEN; RAJEWSKY, 2007; DING; WEILER; GROSSHANS, 2009). Adicionalmente, alguns estudos sugerem que os ncRNAs também podem estar

envolvidos no processo de metilação de DNA e de modificações de histonas (CAPRA et al., 2013; CAROLAN-OLAH; DUARTE-GARDEA; LECHUGA, 2015; PERNG; OKEN, 2017) o que ampliaria seu papel nos eventos epigenéticos (CHANGO; POGRIBNY, 2015).

Com base em estudos que fundamentam o DOHaD, compreendemos a importância desses eventos epigenéticos nos períodos iniciais do desenvolvimento, que abrange o período entre a gestação e o início da vida pós-natal (BIANCO-MIOTTO et al., 2017). Reconhecidamente, são períodos críticos para o desenvolvimento de órgãos e sistemas (CHANGO; POGRIBNY, 2015; PAKSA; RAJAGOPAL, 2017), onde a maior vulnerabilidade do organismo é justificada em função da alta plasticidade celular (MORESI et al., 2015; SJÖGREN; LINDGREN NISS; KROOK, 2017). Todo o período de gestação, e particularmente a embriogênese, é caracterizado por intensa replicação e diferenciação celular e, como mencionado anteriormente, eventos epigenéticos acontecem com maior intensidade (DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015; TIFFON, 2018). Na lactação, o organismo dos filhotes permanece em desenvolvimento e ainda muito responsivos aos fatores ambientais e de estilo de vida materno (DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015; TIFFON, 2018). Assim, em função da alta plasticidade fenotípica característica destes períodos, as condições ambientais resultam em marcas epigenéticas que irão refletir no fenótipo saudável ou não saudável ao longo da vida destes animais (MORESI et al., 2015; SJÖGREN; LINDGREN NISS; KROOK, 2017).

Entre os principais fatores ambientais que condicionam os eventos epigenéticos estão a alimentação, a atividade física e a exposição à xenobióticos (CHMURZYNSKA, 2010; CHRISTIAN; STEWART, 2010; TIFFON, 2018). Quanto ao impacto nutricional, as evidências científicas permitem afirmar que excessos e/ou deficiências de nutrientes possibilitam a alteração dos padrões epigenéticos e consequente alteração futura do funcionamento do organismo (FRONTERA; OCHALA, 2015; KELEHER et al., 2018b).

Estudos experimentais em animais com intervenção dietética materna evidenciam repercussões fisiológicas em seus descendentes (DA et al., 2022; DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; HUANG et al., 2017; KELEHER et al., 2018a; OLIVEIRA et al., 2018). Estas investigações demonstram que a desnutrição proteica no período da gestação e lactação são capazes de gerar alterações da expressão gênica e

determinar mudanças significativas no padrão metabólico da prole (DA et al., 2022; DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; DE BRITO ALVES et al., 2017). Do mesmo modo, a hipernutrição materna altera a expressão de diversos genes envolvidos com o fenótipo da obesidade na prole, se correlacionando com o maior peso corporal, maior adiposidade e níveis mais elevados de leptina na vida adulta desses animais (HUANG et al., 2017; KELEHER et al., 2018a). Adicionalmente, corroborando com o presente estudo, ressalta-se que em ambas as linhas de pesquisa, os resultados sugerem que desequilíbrios dietéticos são capazes de alterar a morfologia do músculo esquelético e influenciar na regulação da função metabólica deste tecido (DA et al., 2022; DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; DE BRITO ALVES et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018).

2.2 REPERCUSSÕES DAS DIETAS HIPERLIPÍDICAS NA COMPOSIÇÃO CORPORAL E PERFIL BIOQUÍMICO

Nos últimos anos, os efeitos das dietas maternas densamente energéticas, com alto teor de lipídios, sobre a fisiologia e metabolismo de seus filhotes foram extensamente estudados (CHUNG et al., 2021; HUANG et al., 2017; MEZEI; URAL; HAJNAL, 2020; MUSIAL et al., 2017). Estas investigações indicam uma forte correlação entre as dietas hiperlipídicas e o fenótipo da obesidade, caracterizado especialmente pelo excesso de peso corporal associado a uma maior adiposidade visceral, intolerância a glicose e dislipidemias na prole adulta (CHUNG et al., 2021; KELEHER et al., 2018a).

De acordo a revisão realizada por Marciniak et al. (2017), há a correlação positiva entre o Índice de Massa Corporal (IMC) elevado, alterações nos níveis de glicose e colesterol materno e síndrome metabólica na prole. A obesidade e a supernutrição materna estão associadas a desequilíbrios metabólicos que pode levar a efeitos adverso na função placentária e no desenvolvimento do feto (CHUNG et al., 2021; MARCINIAK et al., 2017). Estudos em animais que avaliaram o efeito de dietas maternas com alto teor de lipídios demonstram que os filhotes dessas mães apresentam aumento da adiposidade e hipertrofia de adipócitos pós-natal e aumento da expressão de marcadores inflamatórios (LIMA et al., 2018; SUMMERFIELD et al., 2018). Em outro recente estudo, foi evidenciado que a exposição pré-concepção à

dieta hiperlipídica induziu ganho de peso nos animais e repercutiu na composição corporal e adiposidade dos filhotes (CHANG et al., 2019). Por outro lado, quando a intervenção nutricional aconteceu no período gestacional, foi observado alterações no metabolismo e no fenótipo de células imunes (CHANG et al., 2019).

Neste sentido, Chung e colaboradores (2021) afirmam que não é apenas a dieta hiperlipídica materna que determinará a programação metabólica dos descendentes, sendo o fenótipo de saúde materno pré-concepção um fator mais relevante. Do mesmo modo, pesquisas em humanos, indicam que a obesidade materna está associada ao risco aumentado dos descendentes ter maior adiposidade na infância e obesidade na vida adulta (KAAR et al., 2014).

De acordo com Chaves et al. (2020), de fato, a exposição materna a dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação está correlacionada com o aumento de peso, alterações no crescimento somático e a adiposidade aumentada nos filhotes. O impacto de intervenções maternas com diferentes composições de dietas hiperlipídicas sobre os parâmetros de crescimento somático dos filhotes e do metabolismo na vida adulta é evidenciado por muitos estudos experimentais (CHAVES et al., 2020; CURI et al., 2021; FERNANDES et al., 2021). Estes estudos apresentam resultados que se associam com desordens metabólicas importantes, tais como aumento do estresse oxidativo, disfunção tireoidiana, diabetes, doenças cardiovasculares, esteatose hepática e obesidade (CARDENAS-PEREZ et al., 2018; CHUNG et al., 2021; ITO et al., 2016).

Dados das repercussões morfológicas e metabólicas na idade precoce, correspondente ao tempo de lactação (primeiros 21 dias), são mais escassos (HUANG et al., 2017; ITO et al., 2016; SOUTO et al., 2020). Apesar disso, essas evidências já indicam alteração do padrão de crescimento e desenvolvimento e dos parâmetros bioquímico dos filhotes correlacionados com o metabolismo da glicose e dos lipídios (HUANG et al., 2017; ITO et al., 2016). Huang et al. (2017), ao estudarem as repercussões da intervenção com dieta hiperlipídica materna na gestação e lactação sobre o crescimento somático e o metabolismo lipídico dos filhotes na idade precoce (primeiros 21 dias de vida), observaram o aumento do peso no grupo intervenção a partir do PND7, permanecendo aumentado no PND 21 e as análises dos marcadores lipídicos realizadas demonstraram aumento dos níveis séricos de colesterol total e dos triglicerídeos. Os pesquisadores evidenciaram ainda, por meio

do teste de tolerância a glicose, níveis elevados de glicose sérica em todos os tempos analisados (0, 30, 60 e 120 minutos) nos filhotes descendentes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (HUANG et al., 2017). Ito e colaboradores (2016) obtiveram resultados semelhantes nas análises realizadas nos animais ao desmame, observaram, mais especificamente, o aumento do peso, dos níveis hepáticos e plasmáticos de lipídicos, assim como níveis aumentados da glicose e da insulina plasmática nos filhotes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica na gestação e lactação.

2.3 DESENVOLVIMENTO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO

O músculo esquelético representa aproximadamente 40% do peso corporal e desempenha diversas funções no organismo, sendo essencial para a mobilidade e determinante para a capacidade de atividade física e a regulação do metabolismo energético (FRONTERA; OCHALA, 2015; LEGÅRD; PEDERSEN, 2018). Além disso, estudos recentes apontam o tecido muscular como um órgão secretório com ações autócrinas, parácrinas e endócrinas e, portanto, responsável por importantes repercussões sistêmicas (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012).

O músculo é composto por fibras musculares heterogêneas que se diferenciam pela morfologia e por parâmetros fisiológicos e metabólicos (BASSEL-DUBY; OLSON, 2006). A identidade das miofibras do músculo esquelético é determinada pela expressão da cadeia pesada de miosina (do inglês, *myosin heavy chain* ou MyHC) (SCHIAFFINO et al., 2015; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). São duas isoformas identificadas nos períodos embrionário (MyHC-emb) e neonatal (MyHC-neo), codificadas pelos genes *Myh3* e *Myh8*, respectivamente (SCHIAFFINO et al., 2015; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). São quatro isoformas expressas nas fibras musculares maduras: 1) MyHC-B/slow codificada pelo gene *Myh7*, que caracteriza a fibra tipo I; 2) MyHC-2A codificada pelo gene *Myh2*, que caracteriza a fibra tipo IIA; 3) MyHC-2X codificada pelo gene *Myh1*, que caracteriza a fibra tipo IIX; 4) MyHC-2B codificada pelo gene *Myh4* que caracteriza a fibra tipo IIB (SCHIAFFINO et al., 2015; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011).

Inicialmente, as fibras musculares eram classificadas em dois tipos: fibras vermelhas, ricas em mioglobina e mitocôndrias; e fibras brancas, pobres em

mioglobinas e mitocôndrias (SCHIAFFINO, 2010). Atualmente, são caracterizadas pela prevalência de miosina, conforme exposto acima, pela velocidade de contração e pelo metabolismo energético (SCHIAFFINO et al., 2015; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Em relação a velocidade de contração, as fibras seguem o seguinte ordenamento: IIB > IIX > IIA > I (WANG et al., 2015). Quanto ao metabolismo energético, podemos dividi-las em fibras oxidativas (tipo I), oxidativas-glicolíticas (tipo IIA) e fibras glicolíticas (IIX e IIB) (WANG et al., 2015).

Enquanto as miofibras tipo I são predominantes em músculos lentos e com característica de manutenção de postura, tais como o músculo sóleo e o gastrocnêmio, as miofibras tipo II predominam em músculos rápidos, como o extensor longo dos dedos (EDL) e o tibial anterior (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Adicionalmente, com base em estudos preliminares, temos o conhecimento que, em ratos, os quatro tipos de fibras musculares (tipo I, IIA, IIB e IIX) são identificadas e, em humanos, apesar do gene *Myh4* estar presente no genoma, as fibras IIB não são detectáveis (SCHIAFFINO, 2018; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011).

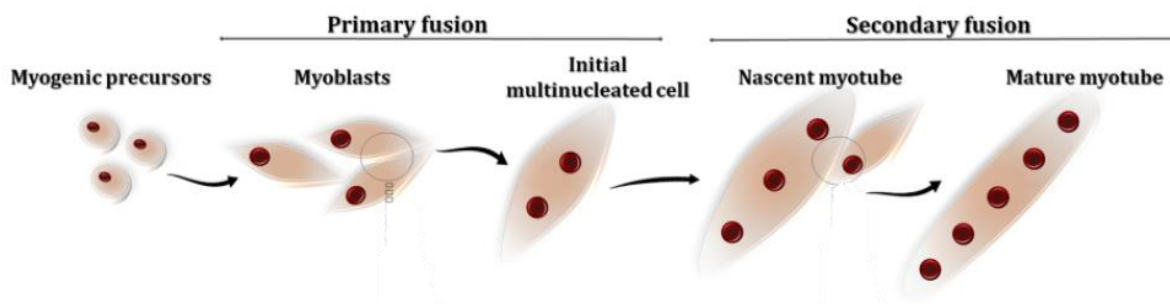
A gênese do músculo esquelético compreende a interação complexa de mecanismos regulatórios intrínsecos e extrínsecos (BUCKINGHAM; RELAX, 2015a). O processo miogênico inclui a proliferação, diferenciação, migração e morte celular, e tem o envolvimento de fatores reguladores da expressão gênica (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; CHAL; POURQUIÉ, 2017). A origem da musculatura esquelética acontece nos estágios iniciais de desenvolvimento, mais especificamente na fase embrionária, a partir do mesoderma paraxial (BUCKINGHAM; RELAX, 2015a; CHAL; POURQUIÉ, 2017).

O primeiro evento da miogênese embrionária consiste na condensação do mesoderma paraxial, dando origem aos somitos (BUCKINGHAM; RELAX, 2015a). Na sequência, ocorre a compartimentação dos somitos ao longo o eixo dorso ventral. Ventralmente, o somito sofre uma transição epitelial para mesênquima formando o esclerótomo e a parte dorsal se diferencia em dermomiótomo (BUCKINGHAM; RELAX, 2015a). Do esclerótomo ventral se originam a cartilagem, os ossos da coluna vertebral e das costelas e os tendões e do dermomiótomo dorsal surgem as células progenitoras do músculo esquelético, da derme e do tecido adiposo marrom (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012). Estas células progenitoras migram para o

miótomo, proliferam e se diferenciam terminalmente em mioblastos (LEHKA; RĘDOWICZ, 2020).

A próxima etapa do processo miogênico é a fusão dos mioblastos levando à formação de miotubos (LEHKA; RĘDOWICZ, 2020). A fusão de mioblastos ocorre em duas fases: na primeira fase, ocorre a fusão mioblasto-mioblasto para gerar células multinucleadas iniciais, que se transformam em miotubos nascentes, com número limitado de núcleos (XU et al., 2020). Na segunda fase, mioblastos adicionais se fundem com miotubos multinucleados já formados, levando a um aumento do número de mionúcleos dentro do miotubo em crescimento (XU et al., 2020). Os principais eventos celulares que ocorrem durante a fusão do mioblasto são migração, adesão, alongamento, reconhecimento célula-célula, alinhamento e fusão de membranas de mioblastos permitindo a formação de miotubos nascentes que se diferenciam em miotubos maduros (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012) (Figura 1).

Figura 1 – Regulação da fusão de mioblastos em mamíferos.



O processo de fusão de mioblastos ocorre em dois estágios: na primeira fase, ocorre a fusão mioblasto-mioblasto gerando as células multinucleadas com um número limitado de núcleos. Na segunda fase, mioblastos adicionais se fundem aos miotubos multinucleados já formados. Fonte: (LEHKA; RĘDOWICZ, 2020)

O processo de miogênese está condicionado à ativação da expressão de genes determinantes da identidade celular e da diferenciação das fibras musculares (BUCKINGHAM; RELAX, 2015a). Os fatores de transcrição *sine oculis-related homebox 1* (Six1) e Six4 são responsáveis pelo direcionamento de progenitores dermomiotomais para a linhagem miogênica e atuam como cofatores na ativação de genes-alvos, tais como Pax3, MyoD, MRF4 e miogenina (BENTZINGER; WANG;

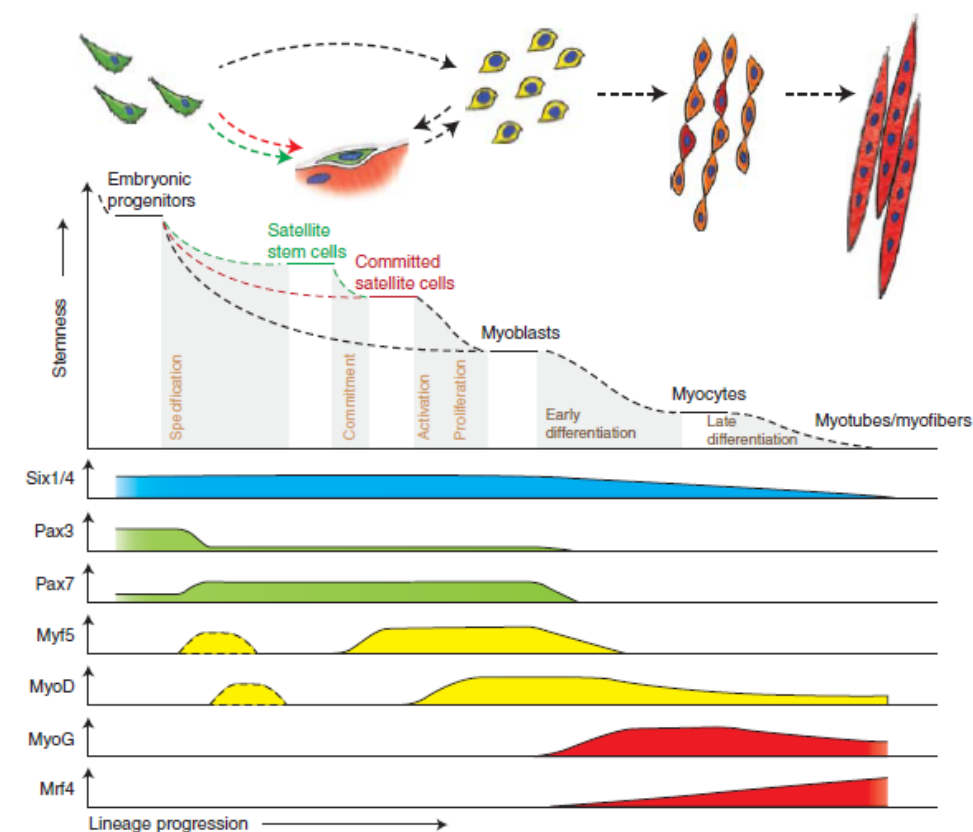
RUDNICKI, 2012). Por sua vez, os fatores de transcrição da família Pax, Pax3 e Pax7, são os principais reguladores da especificação inicial da linhagem celular na gênese muscular (BUCKINGHAM; RIGBY, 2014; XU et al., 2020). O primeiro exerce papel essencial na fase embrionária, enquanto o segundo tem funções importantes no período pós-natal e na regeneração muscular, pois está envolvido na proliferação de células satélites (PERRY; RUDNICKI, 2000). Além destes, a miogênese é ativada e regulada por fatores reguladores miogênicos (MRFs) e outros fatores de transcrição, como o fator potenciador de miócitos-2 (MEF2) (RAO et al., 2006). A família de fatores reguladores miogênicos inclui a MyoD, miogenina (MyoG), Myf5 e Myf6/MRF4 (XU et al., 2020), enquanto a família MEF2 é composta por quatro membros: Mef2a, Mef2b, Mef2c, Mef2d (SCHIAFFINO; DYAR; CALABRIA, 2018). Os MRFs regulam a expressão gênica de miRNAs específicos envolvidos na miogênese, incluindo o miR-1, miR-133, miR-206 e miR-499 (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; MOK; LOZANO-VELASCO; MÜNSTERBERG, 2017). A atividade de MRFs interfere na expressão gênica desses miRNAs e, portanto, podem impactar na determinação do fenótipo muscular (KRAUSS; JOSEPH; GOEL, 2017; XU et al., 2020). Os miRNAs exercem um papel indispensável na miogênese bem-sucedida, pois estão envolvidos na regulação do processo de proliferação e diferenciação de mioblastos (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; TAYLOR; HUGHES, 2017).

Logo, em função da ação regulatória da expressão de miRNAs, a MyoD e Myf5 são considerados marcadores da especificação terminal da linhagem muscular (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; TAYLOR; HUGHES, 2017). A MyoD pode ativar diretamente muitos genes músculo-específicos por meio da ligação a promotores destes ou inibi-los através do controle da expressão de miRNAs durante a miogênese (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; CHANGO; POGRIBNY, 2015; GICQUEL; EL-OSTA; LE BOUC, 2008; KRAUSS; JOSEPH; GOEL, 2017). O Myf5 atua em paralelo aos fatores de transcrição Pax (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; ZAMMIT, 2017). (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; ZAMMIT, 2017), enquanto o MEF2 age sinergicamente com MyoD e miogenina (SCHIAFFINO; DYAR; CALABRIA, 2018; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). A miogenina e Myf6/MRF4 estão envolvidos no controle da expressão de genes de diferenciação terminal, necessários para a fusão de miócitos e a formação de

miotubos (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012; CAPRA et al., 2013; REES, 2019).

Em ratos e camundongos, assim como acontece com outros mamíferos, o desenvolvimento do músculo esquelético perdura após o nascimento (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Nas primeiras semanas após nascimento é observado um significativo aumento do peso corporal, sendo que cerca de 50% deste ganho de massa é decorrente do desenvolvimento e crescimento muscular (GOKHIN et al., 2008). Estudos experimentais em roedores indicam que o aumento do volume muscular no período neonatal é resultante da hipertrofia da miofibrila, associada à incorporação de novos mionúcleos (WHITE et al., 2010).

Figura 2 – Representação esquemática do envolvimento dos fatores de transcrição na regulação da miogênese.



Six1/4 e Pax3/7 são os principais reguladores da especificação de linhagem inicial, enquanto Myf5 e MyoD são responsáveis pela identidade final das células no processo miogênico. A diferenciação terminal, necessários para a fusão de mioblastos e a formação de miotubos, requer a expressão gênica da miogenina (MyoG) e de Myf6/MRF4. Fonte: (BENTZINGER; WANG; RUDNICKI, 2012).

No período neonatal ocorrem modificações importantes no perfil das fibras musculares em decorrência do fator genético intrínseco e de fatores extrínsecos que agem nos mionúcleos (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). A maturação do sistema neuromuscular, mais especificamente a perda da inervação polineural, juntamente com a carga mecânica imposta sobre os músculos dos membros pela transição do ambiente intrauterino para o ambiente pós-natal e o aumento dos níveis dos hormônios tireoidianos observado em ratos e camundongos nas primeiras semanas neonatais (2-3 semanas), são os principais fatores condicionantes para alterações na expressão de isoformas MyHC e no fenótipo muscular (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011).

Além disso, no período neonatal, as células satélites são continuamente incorporadas às miofibras durante o desenvolvimento muscular, com envolvimento da ação do fator de transcrição Pax7 neonatal (BUCKINGHAM; RELAIX, 2015b; BUCKINGHAM; RIGBY, 2014; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). De acordo com Hernández-Hernandez e colaboradores (2017), a expressão de Pax7 ocorre em todas as células satélites da miofibra no pós-natal, enquanto o mesmo não acontece com a expressão de Pax3. A importância do fator de transcrição Pax7 nas 2 primeiras semanas após nascimento é reportada por estudos experimentais com modelos animais *knockout* que demonstraram que ao inativar o gene Pax7 nesse período, mais especificamente entre o dia 7 e 11 após o nascimento, ocorre um comprometimento severo da capacidade de regeneração muscular (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). No entanto, da segunda para a terceira semana, os precursores miogênicos parecem se tornarem independentes do Pax7 e a capacidade regenerativa é mantida nesses animais *knockout* (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011).

No período pós-natal, *Myog* e *MyoD* continuam a serem expressos, mas em níveis menores, enquanto a expressão de *Myf6* continua em altos níveis (BOBER et al., 1991; BUCKINGHAM, 1992). De acordo com dados do estudo realizado por Lamon e colaboradores (2017), durante o desenvolvimento muscular pós-natal, acontece uma redução significativa na expressão de *Myod1*, *Myf5*, *Myog* e *Pax7* entre 2 dias e 12 semanas após o nascimento (principal efeito do tempo). No entanto, não há efeito do tempo nos níveis de expressão de *Myf6/Mrf4* e *Pax3* (LAMON et al., 2017).

Os mecanismos de ação destes fatores nas primeiras semanas após o nascimento, capazes de induzir alterações do tipo de fibra e da composição de isoformas MyHC, modificando a configuração do músculo esquelético, são estudados em modelos animais (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Estes estudos evidenciam que, em ratos e camundongos, as MyHC embrionárias e neonatais desaparecem progressivamente entre a segunda e quarta semana pós-natal, inicialmente nas fibras musculares do tipo 2B e 2X, e depois nas fibras do tipo 2A (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Nos músculos lentos, como o sóleo, ao mesmo tempo que se observa a regulação negativa das MyHC embrionárias e neonatais, ocorre o acúmulo progressivo de fibras lentas (tipo I) (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Em humanos, a expressão de genes correspondentes às isoformas de desenvolvimento está baixa ao nascimento e, um mês após, a isoforma MyHC-neo é identificada apenas em poucas fibras musculares (SCHIAFFINO et al., 2015).

Ainda durante o desenvolvimento pós-natal de roedores, nos músculos rápidos, como o EDL e o tibial anterior, é evidenciado a regulação positiva da expressão de isoformas MyHC rápidos e o acúmulo progressivo de MyHC-2A, -2X e -2B, acompanhado pela redução expressiva, quase que completa, de miofibras tipo I (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Nos músculos lentos, como o sóleo e o gastrocnêmio, ocorre a transformação progressiva das fibras tipo 2A em fibras tipo I (JANSEN; FLADBY, 1990). Os hormônios tireoidianos também exercem influência na diferenciação dos tipos de fibras musculares. Em condições fisiológicas normais, os níveis dos hormônios da tireoide são baixos ao nascimento e no período neonatal observa-se o aumento gradual de seus níveis até segunda semana, quando atingem o valor máximo (GAMBKE et al., 1983a). O pico dos níveis plasmáticos de T4 coincidem com a transição de isoformas neonatais para as maduras (GAMBKE et al., 1983a; SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Evidências científicas demonstram que a transição de MyHC neonatais pra MyHC rápidas é atrasada no hipotireoidismo e acelerado por hipertireoidismo (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011).

Desta forma, podemos observar que diversos fatores podem influenciar o desenvolvimento muscular, reforçando a importância da determinação do fenótipo muscular durante esse período inicial da vida (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011).

2.4 IMPACTO DA NUTRIÇÃO MATERNA NO FENÓTIPO MUSCULAR

Além dos mecanismos transcricionais que controlam a diferenciação das fibras musculares, crescimento pós-natal e remodelação, existem mecanismos epigenéticos que participam da regulação da expressão gênica desse processo (BLOCK; EL-OSTA, 2017; MORESI et al., 2015; PAKSA; RAJAGOPAL, 2017). Diversos fatores podem participar da regulação destes eventos epigenéticos e dessa maneira contribuir para a determinação do fenótipo de saúde do organismo (KELEHER et al., 2018b; ŞANLI; KABARAN, 2019; TIFFON, 2018). A nutrição materna nos períodos críticos do desenvolvimento é um desses fatores (KELEHER et al., 2018b; REES, 2019). A partir da teoria que sustenta a ideia de que insultos nutricionais nos períodos iniciais do desenvolvimento são determinantes para a programação metabólica de seus descendentes (BARKER, 2007), a dieta materna tornou-se um objeto de muitos estudos, os quais buscam compreender as repercussões metabólicas na prole decorrentes da manipulação nutricional (HOPPELER, 2016; LIEBER et al., 2017; WANG et al., 2020).

Em relação ao impacto da dieta materna sobre o fenótipo muscular, há diversos estudos em modelos animais que demonstram repercussões no desenvolvimento e metabolismo muscular em decorrência de insultos nutricionais nos períodos de alta plasticidade (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; HE et al., 2020; MIKOVIC et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2018). De modo geral, os insultos nutricionais destes estudos são caracterizados pela restrição energética, associada ou não a restrição proteica ou pela oferta de uma dieta densamente energética, com manipulação de carboidratos e lipídios (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014; HE et al., 2020; MIKOVIC et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2018).

Em uma investigação que impôs uma dieta hipoproteica (7,8% proteína) a ratas no período de gestação e lactação acarretou alterações na morfologia do músculo esquelético da prole adulta (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014). A análise histológica pela técnica do ATP evidenciou aumento do número de fibras tipo 2, principalmente tipo IIA e IIB, no músculo sóleo, confirmada pelo método NADH-TR (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014). No músculo extensor longo dos dedos (EDL), não foi demonstrado diferença no número de fibras musculares pela análise do ATP, mas foi evidenciado redução das fibras não-oxidativas pela técnica NADH-TR (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014).

He e colaboradores (2020) também se propuseram a investigar as repercussões da dieta materna no desenvolvimento do músculo esquelético da prole. Utilizando porcos como modelos experimentais, estudaram como a restrição calórica materna afeta a miogênese embrionária (HE et al., 2020). No experimento, foram coletadas amostras dos músculos dos fetos nos 35, 55 e 90 dias de gestação e com estas foram realizadas análises histoquímicas e o sequenciamento genético de genes envolvidos no processo miogênico (HE et al., 2020). Os dados demonstraram que, em decorrência da restrição calórica materna, houve a repressão da formação primária de miofibras e a regulação negativa de genes críticos e miRNAs músculo específicos que são determinantes na proliferação e diferenciação de mioblastos (HE et al., 2020).

Contudo, é notável o enfoque da ciência em investigar também condições de supernutrição materna, pois esta é uma prática comum entre as gestantes atualmente (MUSIAL et al., 2017). Evidências científicas já demonstram que o consumo de dietas hiperlipídicas e hiperglicídicas no período gestacional acarreta disfunções metabólicas maternas importantes e que estas podem interferir na disponibilidade de nutrientes para o crescimento fetal (MUSIAL et al., 2017). O consumo de uma dieta rica em lipídios pode impactar significativamente a expressão de miRNAs, tanto positiva como negativamente, e por consequência, alterar a função biológica de diversos tecidos, incluindo o músculo esquelético (WILSON et al., 2017).

Repercussões da dieta hipercalórica sobre o fenótipo muscular têm sido extensamente estudadas (BAYOL; SIMBI; STICKLAND, 2005; MIKOVIC et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2018). Uma investigação conduzida em ratos, foi observado que a prole de ratas expostas à dieta de cafeteria durante a gestação e lactação exibiram redução de 25% na área transversal do músculo e aproximadamente 20% menos fibras musculares quando comparado aos filhotes do grupo controle (BAYOL; SIMBI; STICKLAND, 2005). Nestes mesmos animais, também foi observado o acúmulo de lipídios na região intramuscular e o aumento do peso do tecido adiposo (BAYOL; SIMBI; STICKLAND, 2005).

Outro experimento que avaliou o impacto da oferta de hiperlipídica e hipercalórica (65% lipídios e 5,49 kcal/g) no período de gestação e lactação não obteve nenhum efeito significativo da dieta materna na área transversal do músculo gastrocnêmio de filhotes ao desmame (PANTALEÃO et al., 2013). Porém, foi observada redução da densidade relativa de miócitos e aumento da porcentagem de

interstício (PANTALEÃO et al., 2013). Contudo, na prole de ratos adultos cujas mães consumiram dieta hiperlipídica e hipercalórica (51% de lipídeos e 4,62 kcal/g) no período da gestação e lactação, foi observado aumento na proporção das fibras tipo 1 e redução na proporção das fibras tipo 2 no músculo sóleo avaliados por meio da técnica de ATP (OLIVEIRA et al., 2018).

Em camundongos, evidenciou-se que o alto teor de gordura da dieta materna prejudica os padrões de crescimento da prole e diminui a ativação das células satélite e a expressão gênica de marcadores de miogênese pós-natal (MIKOVIC et al., 2020). A dieta hiperlipídica materna, independente da dieta pós-desmame, resultou em diminuição do número de núcleos totais por fibras na prole (MIKOVIC et al., 2020). Os resultados demonstraram ainda o efeito principal da dieta materna na redução nos níveis da expressão gênica de MyoD, miogenina e Myf6/MRF4 no processo de regeneração muscular pós-natal (MIKOVIC et al., 2020). No músculo TA lesado, os níveis de mRNA de MyoD e miogenina foram reduzidos em cerca de 4 vezes e os níveis de mRNA de Myf6/MRF4 foram reduzidos em cerca de 2 vezes no grupo que foi submetido a dieta materna hiperlipídica quando comparado com o grupo controle (MIKOVIC et al., 2020). Além disso, foi demonstrado que a dieta materna rica em gordura também é capaz de reduzir a expressão de mRNA de *MyoD* e *Pax7* na perna controle, mas não de miogenina e Myf6/MRF4 (MIKOVIC et al., 2020). Adicionalmente, em outro estudo experimental, tendo ovelhas como modelo animal, o consumo de dieta obesogênica durante gestação foi capaz de promover a redução na expressão proteica de MyoD e miogenina no músculo semitendinoso da prole, acompanhada de menor diâmetro de fibras musculares primárias, indicando baixa regulação da miogênese (TONG et al., 2009).

As evidências científicas apresentadas reforçam a importância de pesquisas com intervenção nutricional materna com diferentes dietas hiperlipídicas sobre o fenótipo de saúde de seus descendentes. Nota-se lacunas na literatura no que se refere ao processo de desenvolvimento muscular, há poucos dados no período neonatal precoce, mais especificamente considerando o período de lactação (21 dias pós-natal). Portanto, o objetivo desta pesquisa é elucidar quais as repercussões de duas configurações de dietas hiperlipídicas materna durante a gestação e lactação sobre a composição corporal e perfil bioquímico das matrizes e da prole e sobre a expressão de genes reguladores da miogênese da prole ao desmame.

3 HIPÓTESE

A dieta materna hiperlipídica, independente do teor calórico, levará ao ganho de peso corporal e promoverá hiperglicemia e hiperlipidemia nas matrizes e seus descendentes. Além disso, acredita-se que, nos filhotes de mães expostas às dietas hiperlipídicas, haverá maior crescimento somático, redução da expressão dos genes reguladores da miogênese, regulação positiva do gene transcritor da isoforma de fibras tipo I e negativa das isoformas das fibras tipo 2 e da isoforma neonatal.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos de dietas maternas hiperlipídicas com diferentes teores calóricos sobre composição corporal, perfil bioquímico e expressão gênica de marcadores de miogênese e do fenótipo muscular da prole.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar nas mães submetidas às dietas hiperlipídicas com diferentes teores de energia:
 - Evolução ponderal;
 - Consumo alimentar;
 - Controle glicêmico;
 - Perfil bioquímico sérico.

- Avaliar nos filhotes de mães submetidas a dietas hiperlipídicas com diferentes teores de energia:
 - Crescimento somático;
 - Perfil bioquímico sérico;
 - Expressão gênica de fatores reguladores da miogênese e do fenótipo muscular.

5 MÉTODOS

5.1 QUESTÕES ÉTICAS

O protocolo para aquisição das amostras utilizadas neste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), registrado no processo n. 23076.024643/2015-55 (ANEXO 1). Todas as normativas do Conselho Nacional de Controle Animal (CONCEA) foram seguidas a fim de garantir o cuidado e manejo ético dos animais utilizados na investigação.

Adicionalmente, se esclarece que a investigação foi realizada utilizando material biológico coletado em um experimento anterior (OLIVEIRA et al., 2018). Portanto, para o melhor entendimento do desenho experimental, serão descritas todas as etapas que antecederam as análises laboratoriais efetuadas na presente pesquisa experimental.

5.2 ANIMAIS

O experimento foi realizado com ratos da linhagem Wistar (27 fêmeas), provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. A escolha dos animais seguiu os seguintes critérios: idade de 90 e 120 dias, peso entre 220 e 290 gramas e nulíparas. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação, com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em ciclo claro e escuro de 12h/12h [ciclo claro (20:00 às 08:00 h) e ciclo escuro (08:00 às 20:00 h)] e livre acesso à água e alimentação. Todas as manipulações foram realizadas durante o ciclo escuro, fase ativa do animal.

Todos os animais reprodutores foram submetidos a um período de adaptação de uma semana ao biotério. Para o monitoramento do ciclo estral das ratas foi realizado o esfregaço vaginal, e no período estro as fêmeas foram colocadas para acasalar na proporção duas fêmeas para cada macho. Para detecção do estado de prenhez, foi realizado o esfregaço vaginal e na visualização da presença de espermatozoides na cavidade vaginal (MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002). Após a confirmação da gestação as ratas foram separadas dos machos e alojadas individualmente em gaiolas padrão de biotério feita de polipropileno (33x40x17cm), e passaram a ter livre acesso à água e a dietas experimentais.

Um dia após o nascimento, os neonatos foram separados das respectivas mães para serem pesados e selecionados. Cada ninhada foi ajustada para oito filhotes (com o máximo de filhotes machos possíveis, sendo utilizadas as fêmeas apenas para completar a ninhada). Foram selecionados os machos com peso entre 5,0 e 8,0. Durante os primeiros 21 dias pós-natal os animais foram amamentados. No 22º dia de vida, os filhotes machos foram sacrificados por decapitação. Para as avaliações, os animais foram escolhidos de forma a evitar que irmãos estivessem nos mesmos subgrupos. As progenitoras foram sacrificadas por decapitação no 25º dia após o parto.

5.3 MANIPULAÇÃO DIETÉTICA

No período de adaptação ao biotério e acasalamento, os animais receberam dieta padrão AIN-93M. Durante os períodos de gestação e lactação, foram utilizadas a dieta Controle AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) ou uma das duas dietas experimentais com diferentes configurações na quantidade de lipídio e calorias, sendo uma hiperlipídica e isocalórica e a outra, hipercalórica e hiperlipídica. A composição centesimal, total de energia e contribuição percentual dos macronutrientes em relação ao valor energético total das dietas estão apresentados na Tabela 1. Todas as dietas foram elaboradas no Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED) da UFPE.

5.4 DESENHO EXPERIMENTAL

As ratas reprodutoras foram divididas em três grupos experimentais, de acordo com a dieta recebida durante o período de gestação e lactação: Grupo Controle (CTRL, n=10), Grupo Hiperlipídico-Hipercalórico (HH, n=8) Grupo Hiperlipídico-Isocalórico (HI, n=9). As dietas sempre foram ofertadas *ad libitum*. O número de filhotes machos utilizados variou entre as análises e o n para cada dado está descrito na legenda dos resultados. O grupo experimental do filhote corresponde ao mesmo grupo experimental da mãe.

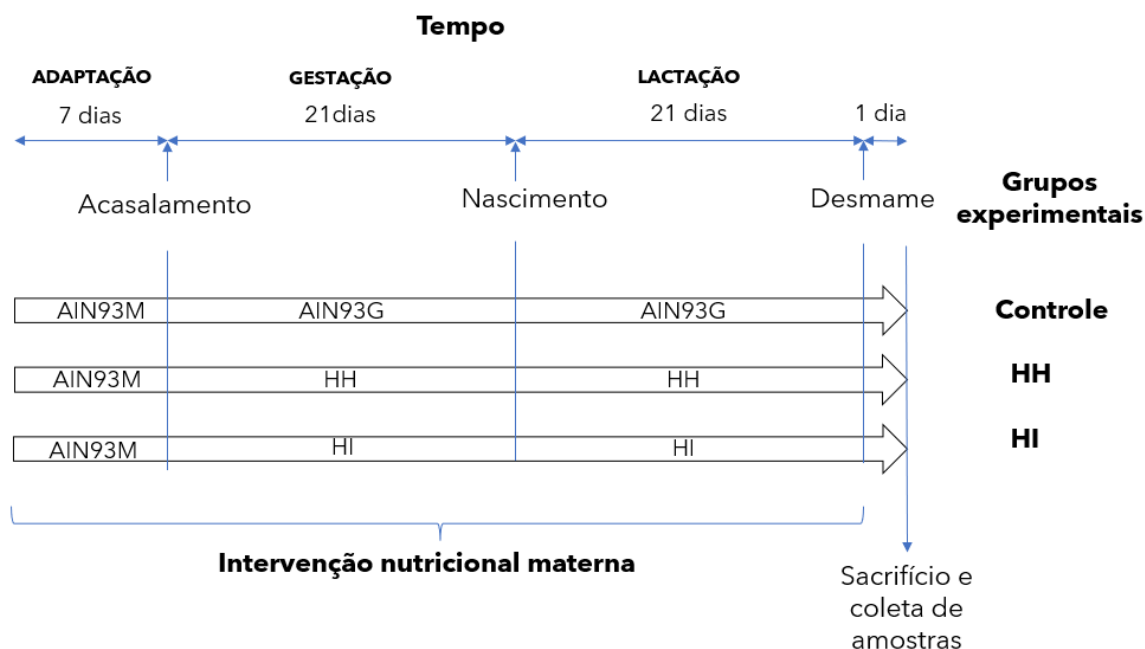
A representação esquemática do desenho experimental é apresentada na Figura 3.

Tabela 1 – Composição centesimal e valor energético das dietas experimentais.

Ingredientes	Controle AIN-93G (g/100g)*	Hiperlipídica Isocalórica (g/100g)#	Hiperlipídica Hipercalórica (g/100g)#
Caseína (>85% proteína)	20,00	20,00	25,20
Amido de milho (87% carboidrato)	39,75	19,30	24,50
Amido dextrinizado (92% carboidrato)	13,20	6,40	8,00
Sacarose	10,00	4,85	6,17
Óleo de soja	7,00	7,00	7,00
Banha animal (100% lipídio)	-	13,40	19,00
Celulose	5,00	24,00	5,00
Mix mineral (AIN-93G)	3,50	3,50	3,50
Mix vitamínico	1,00	1,00	1,00
L-metionina	0,30	0,30	0,38
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,25
TBHQ	0,0014	0,0014	0,0014
VET por macronutrientes			
VET (kcal/g)	3,60	3,64	4,62
Proteína (% kcal VET)	19	19	19
Carboidrato (% kcal VET)	63	30	30
Lipídios (% kcal VET)	18	51	51

* De acordo com (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); # De acordo com (OLIVEIRA et al., 2018).

Figura 3 – Representação esquemática do desenho experimental.



Desenho experimental. CTRL = Controle; HH = Hiperlipídica-hipercalórica; HI: Hiperlipídica-isocalórica.

5.5 AVALIAÇÃO DAS MÃES

5.5.1 Peso corporal

O peso corporal das mães foi avaliado no dia da detecção de prenhez e ao 20º dia de gestação, e no 1º e 21º pós-parto. O peso foi aferido utilizando balança eletrônica (Shimadzu, modelo BL3200H com sensibilidade de 0,01 g). Os dados obtidos foram utilizados para avaliar o percentual do ganho de peso corporal por meio da fórmula: $\%GP = [\text{peso do dia(g)} \times 100 / \text{peso do 1º dia (g)}] - 100$ (BAYOL; BRUCE; WADLEY, 2014).

5.5.2 Consumo alimentar

Durante a gestação e lactação a dieta foi ofertada diariamente e o consumo dietético avaliado semanalmente. A estimativa do consumo alimentar foi determinada pela diferença entre a quantidade de dieta ofertada e a dieta rejeitada. Através da multiplicação da quantidade de dieta ingerida pelo valor energético da respectiva dieta experimental foi obtido o valor da ingestão energética semanal.

5.5.3 Glicemia de jejum

A análise da glicemia de jejum foi realizada no 7º, 14º e 20º dia de gestação. Para o teste os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas. Uma amostra de sangue foi coletada através de um corte na extremidade da cauda do animal e os valores de glicose sanguínea foram obtidos utilizando glicosímetro Accu-checkPerforma®.

5.5.4 Teste de tolerância a glicose

O teste de tolerância a glicose (TTG) foi realizado um dia após o desmame. Para o teste os animais foram submetidos a 12 horas de jejum no ciclo claro. Uma amostra de sangue foi coletada no momento inicial (tempo zero) através de um corte na extremidade da cauda do animal. Em seguida, foi administrada solução de glicose à 50% (2mg/g de peso corporal), via intraperitoneal, e foram coletadas novas amostras de sangue aos 15, 30, 45, 60 e 120 minutos após a administração (FIDALGO et al., 2013). As análises foram feitas imediatamente após a cada coleta com o glicosímetro Accu-check Performa®. Os valores de glicemia obtidos no teste foram utilizados para o cálculo da área sob a curva do TTG.

5.6 AVALIAÇÃO MURINOMÉTRICA DOS FILHOTES

A mensuração do peso corporal e do comprimento naso-anal dos filhotes foi realizada no 1º, 7º, 15º e 21º dia após o nascimento. Para a medida do peso foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte®, modelo S-1000, com capacidade máxima de 1000g e sensibilidade de 0,1g. O comprimento naso-anal foi mensurado utilizando paquímetro digital (Zaas, com 0,01 mm de precisão). Para o percentual de ganho de peso foi utilizado a fórmula: $\%GP = [\text{peso do dia(g)} \times 100 / \text{peso do 1º dia (g)}] - 100$ (BAYOL; BRUCE; WADLEY, 2014). Todas as avaliações foram realizadas pela manhã, entre 8:00 e 10:00 horas.

5.7 COLETA DE AMOSTRAS

As mães foram sacrificadas por decapitação no 25º dia após o parto. Imediatamente após o sacrifício das mães, foram coletadas amostras de sangue e o tecido adiposo visceral. O sangue foi coletado do tronco, vertendo o corpo do animal sobre um funil acoplado a um tubo de ensaio, sendo então centrifugado a 3500 rpm, 4°C, por 20 minutos para obtenção do soro.

Os filhotes foram sacrificados no 22º dia pós-natal, também por decapitação. Foi realizada a coleta de amostras de sangue, pelo mesmo método mencionado acima, e do gastrocnêmio por meio de uma incisão na face lateral das patas posteriores e seccionados nos tendões. Os músculos foram imediatamente congelados em gelo seco e igualmente transferidos e mantido a -80°C até a realização das análises moleculares.

5.8 ANÁLISE DO PERFIL BIOQUÍMICO

O perfil bioquímico das mães e dos filhotes foi caracterizado pelos níveis séricos de glicose, albumina, colesterol total, colesterol HDL, colesterol não-HDL e triglicerídeos. Todos os valores, exceto os de colesterol não-HDL, foram obtidos por meio de ensaio colorimétrico de ponto final, cuja leitura foi realizada em espectrômetro EPOCH™ (BIOTEK®, Winooski, Vermont, USA). Para as análises foram utilizados: kit glicose (Ref 133, Labtest), kit albumina (Ref K040, Bioclin), kit colesterol total (Ref K083, Bioclin), triglicerídeos (Ref K117, Bioclin) e colesterol-HDL (Ref K015, Bioclin). Os valores de colesterol não-HDL foram obtidos subtraindo o valor de colesterol-HDL do valor de colesterol total.

5.9 ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA

Para análise da expressão dos RNAs mensageiros, amostras de seis animais de cada grupo foram utilizadas. O músculo gastrocnêmio, na íntegra, foi homogeneizado em reagente Trizol® (Invitrogen) para subsequente extração do RNA total. Os procedimentos de extração seguiram o recomendado pelo fabricante. Em resumo, 50-100mg de tecido foram homogeneizados em 1ml de Trizol®, depois de 5 minutos de incubação, 200µl de clorofórmio foram adicionados para permitir a

separação das fases. Após centrifugação, a fase aquosa foi recuperada, e 500 µl de álcool isopropílico adicionado, para precipitar o RNA. Após centrifugação, o pelete foi lavado em etanol a 75% e redissolvido em água livre de RNases. O RNA total foi quantificado utilizando-se Nanodrop e sua pureza verificada pela relação A260/280 sendo usadas apenas amostras que obtiveram um grau de pureza superior a 1,9. Em seguida 700pg de RNA foi utilizado para amplificação PCR em tempo real utilizando SuperScript® III Platinum® SYBR® Green One-Step qRT-PCR Kit (Invitrogen) seguindo as orientações do fabricante. Os níveis relativos de expressão de mRNAs em diferentes amostras foi calculado usando o método comparativo $2^{-\Delta\Delta CT}$. O gene B2M foi o controle endógeno. Os oligonucleotídeos que foram utilizados para a amplificação estão apresentados na Tabela 2.

Dos genes analisados, estão envolvidos no processo miogênico: *Pax7*, *MyoD*, *miogenina* (*Myog*), *Myf5*, *Myf6/MRF4*, *Mef2a*, *Mef2d*; enquanto os genes determinantes do fenótipo muscular são: *Myh7*, *Myh2*, *Myh4*, *Myh8*.

Tabela 2 – Sequência de *primers*.

Gene	Orientação	Sequência de nucleotídeos
<i>MyoD</i>	Forward	ACTGCTTTCTTCACCACACC
	Reverse	CAACCCAAGCCTGAAGAGTC
<i>Myf5</i>	Forward	GGTCCCGAAAGAACAGTAGC
	Reverse	AGCAATCCAAGCTGGACAAG
<i>Miogenina</i> (<i>Myog</i>)	Forward	GAGAGAAGGGAGGGAACGAT
	Reverse	AAAGAAGTCACCCCAAGAGC
<i>Myf6/MRF4</i>	Forward	CAGATCAGTCAGAGGCCAAG
	Reverse	GCCCTCTGCCACTTCTAATG
<i>Mef2a</i>	Forward	CAGCCCAGACCCTGATACTT
	Reverse	CTCCCTGGGTTAGTGTACGA
<i>Mef2d</i>	Forward	CCAGGGAGGCAAAGGGTTA
	Reverse	CCCTGGCTGAGTAACTTGG
<i>Pax7</i>	Forward	TATAAGAGGGAGAACCCCGGA
	Reverse	TCGAACTCACTGAGGGCAC
<i>MYH7</i> (MyHC-1)	Forward	ACCCAACCCTAAGGATGCC
	Reverse	GTGTTTCTGCCTAAGGTGCTG
<i>MYH2</i> (MyHC-2A)	Forward	AAGCTCCAAGGACCCTCTT
	Reverse	CCTATTCTGGGCCTCGATTC
<i>MYH4</i> (MyHC-2B)	Forward	GAGGGAGGGAAGCATATCCA
	Reverse	CTCCAGAGACGCCTGTAATTC
<i>MYH8</i> (MyHC-neo)	Forward	GGAGGCTGAGGAACAATCCA
	Reverse	GCCTCCTCAAGATGCGTTTAC
<i>Beta-2</i> <i>microglobulin</i> (<i>B2m</i>)	Forward	GCCATTCAGAAAACCTCCCA
	Reverse	CAGTTGAGGAAGTTGGGCTT

* Sequência de *primers* desenhados pelos autores do trabalho.

5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas dos dados obtidos foram realizadas através do software GraphPad Prism 8® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Inicialmente, foi

realizado o teste de Shapiro-Willk para determinar se os dados apresentavam uma distribuição normal. Os parâmetros ponderais e do consumo alimentar materno, a área sobre a curva do TTG, os parâmetros murinométricos das mães ao sacrifício, os marcadores bioquímicos das mães e dos filhotes, o percentual de ganho de peso dos filhotes e a expressão gênica (exceto *Myf5* e *MEF2d*) foram analisados por meio da ANOVA *one-way*, com pós-teste de *Tukey*. A glicemia de jejum materna, o TTG das mães, os parâmetros de crescimento somático dos filhotes foram analisados por ANOVA, *two-way* com medidas repetidas, com pós-teste de *Tukey*. A expressão dos genes *Myf5* e *MEF2d* foram analisados por *Kruskal-Wallis*, com pós-teste *Dunn's*. As variáveis são apresentadas em média $\pm$ desvio padrão (DP). Foram considerados significantes valores de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 AVALIAÇÕES NAS MÃES

Na gestação e lactação, não houve diferenças entre os grupos em relação ao peso corporal inicial e final e ao percentual de ganho de peso corporal (Tabela 3). Quanto ao consumo alimentar total (em gramas), nestes mesmos períodos, os animais que receberam a dieta HH apresentaram menor consumo dietético comparado aos animais dos grupos CTRL e HI (Tabela 3). No entanto, não foram observadas diferenças, entre os grupos, na ingestão energética total (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros ponderais e de consumo alimentar maternos durante a gestação e lactação

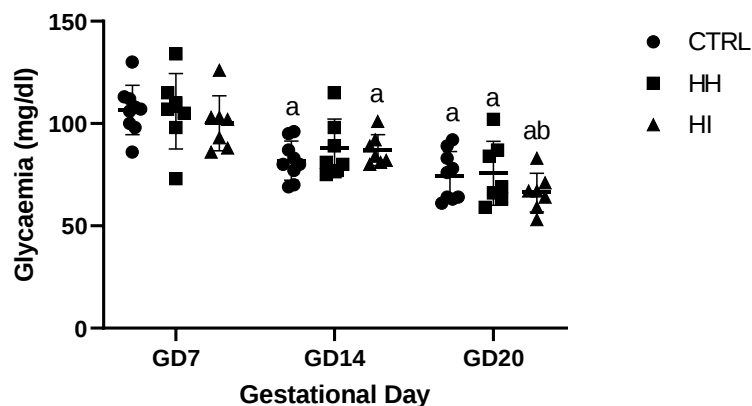
	CTRL (n= 8-10)	HH (n= 8)	HI (n= 9)
Gestação			
Peso corporal inicial (g)	246,1 ± 20,10	244,4 ± 12,73	244,3 ± 19,14
Peso corporal final (g)	331,7 ± 30,58	337,7 ± 23,20	334,0 ± 24,01
Ganho de peso corporal (%)	34,8 ± 7,24	38,3 ± 8,59	36,9 ± 5,18
Consumo alimentar (g)	367,3 ± 32,68	296,8 ± 48,77**	358,8 ± 46,24 [#]
Ingestão energética (kcal)	1322 ± 117,6	1371 ± 225,3	1306 ± 168,3
Lactação			
Peso corporal inicial (g)	270,4 ± 22,96	271,8 ± 18,53	266,5 ± 17,50
Peso corporal final (g)	258,8 ± 9,35	269,9 ± 21,07	274,4 ± 22,31
Ganho de peso corporal (%)	2,15 ± 4,773	-0,64 ± 5,061	3,08 ± 6,591
Consumo alimentar (g)	804,4 ± 83,26	610,9 ± 63,29****	752,8 ± 85,23 ^{##}
Ingestão energética (kcal)	2896 ± 299,7	2822 ± 292,4	2740 ± 310,2

Ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação. Dados apresentados em média ± DP. CTRL = Controle; HH = Hiperlipídica-hipercalórica; e HI = Hiperlipídica-isocalórica. Teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*. ** p<0,01, **** p<0,0001 vs. CTRL; # p<0,05, ## p<0,01 vs. HH.

A dosagem dos níveis da glicemia de jejum das ratas foi realizada no 7º, 14º e 20º dia da gestação. Na segunda semana (GD14), animais dos grupos CTRL e HI apresentaram valores inferiores quando comparados ao mesmo grupo na primeira semana de gestação (GD7) (Figura 4). Na terceira semana de gestação (GD20), os níveis de glicose sanguíneas das ratas dos três grupos experimentais foram menores dos que os obtidos na primeira semana gestacional (GD7) (Figura 4). Além disso, o

nível de glicose do grupo HI também se apresentou inferior quando comparado ao mesmo grupo na segunda semana de gestação (GD14) (Figura 4).

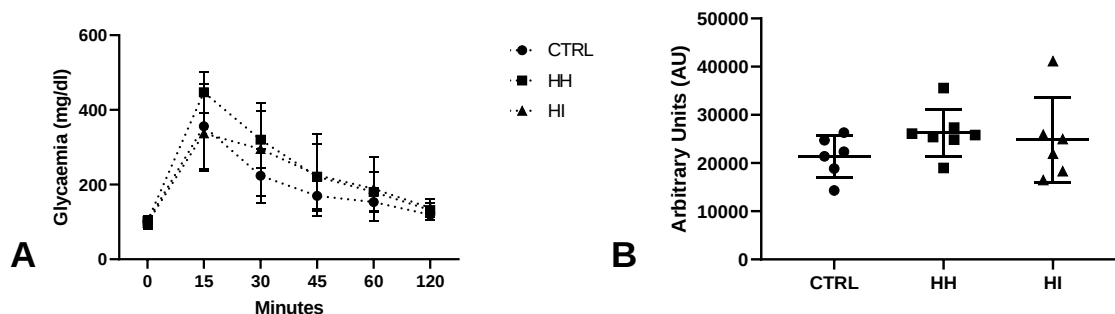
Figura 4 – Glicemia de jejum materna durante a gestação



Glicemia de jejum materna durante a gestação. Ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação. Ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação. CTRL = Controle (n=9); HH = Hiperlipídica-hipercalórica (n=7); e HI = Hiperlipídica-isocalórica (n=7). GD= *Gestational day*. Dados apresentados em média $\pm$ DP. Teste ANOVA *two-way* medidas repetidas seguido de pós-teste *Tukey*. $p < 0,05$. a vs. mesmo grupo no GD7; b vs. mesmo grupo no GD14.

Um dia após o desmame dos filhotes, as mães foram submetidas ao teste de tolerância à glicose. Não foram observadas diferenças entre os grupos nos valores de glicose avaliadas após a injeção de glicose (Figura 5A), nem na área sob a curva (Figura 5B).

Figura 5 – Teste de tolerância à glicose materna.



(A) Teste de tolerância à glicose (TTG) avaliado nas ratas um dia após o desmame. (B) Área sob a curva do TTG. Ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação. CTRL = Controle (n=9); HH = Hiperlipídica-hipercalórica (n=7); e HI = Hiperlipídica-isocalórica (n=7). Dados apresentados em média $\pm$ DP. (A) Teste Anova *two-way* medidas repetidas seguido de pós-teste *Tukey*. (B) Teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*. $p < 0,05$.

Ao sacrifício, não foi observada diferença entre os grupos nas avaliações de peso corporal, comprimento corporal, peso do tecido adiposo visceral e percentual de gordura visceral das mães (Tabela 4).

Tabela 4 – Avaliações murinométricas das mães no sacrifício.

	CTRL (n= 11)	HH (n= 7-9)	HI (n= 9)
Peso corporal(g)	264,9 ± 20,80	258,9 ± 18,50	259,6 ± 16,51
Comprimento corporal(mm)	203,5 ± 11,52	205,6 ± 11,07	199,3 ± 16,36
Peso tecido adiposo visceral (g)	10,28 ± 3,877	12,06 ± 3,191	10,48 ± 3,654
Gordura visceral (%)	3,83 ± 1,320	4,67 ± 1,279	4,05 ± 1,476

Ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação e sacrificadas no 25º dia pós-parto. Dados apresentados em média ± DP. CTRL = Controle; HH = Hiperlipídica-hipercalórica; e HI = Hiperlipídica-isocalórica. IMC = Índice de massa corporal. Teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*.

O perfil bioquímico das mães foi caracterizado através dos níveis de glicose, albumina, triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL e colesterol não-HDL e é apresentado na Tabela 5. Não houve diferença nos níveis de glicose, albumina e colesterol-HDL entre os grupos. Em relação ao colesterol total, os níveis se apresentaram inferiores no grupo HH ($p < 0,01$) e no grupo HI ($p < 0,05$) comparados ao grupo Controle. Os níveis de colesterol não-HDL do grupo HH se apresentaram inferiores quando comparado ao grupo Controle ($p < 0,01$). Em relação aos triglicerídeos, as ratas do grupo HI apresentaram menores valores que as do grupo Controle ($p < 0,05$).

Tabela 5 – Perfil bioquímico materno.

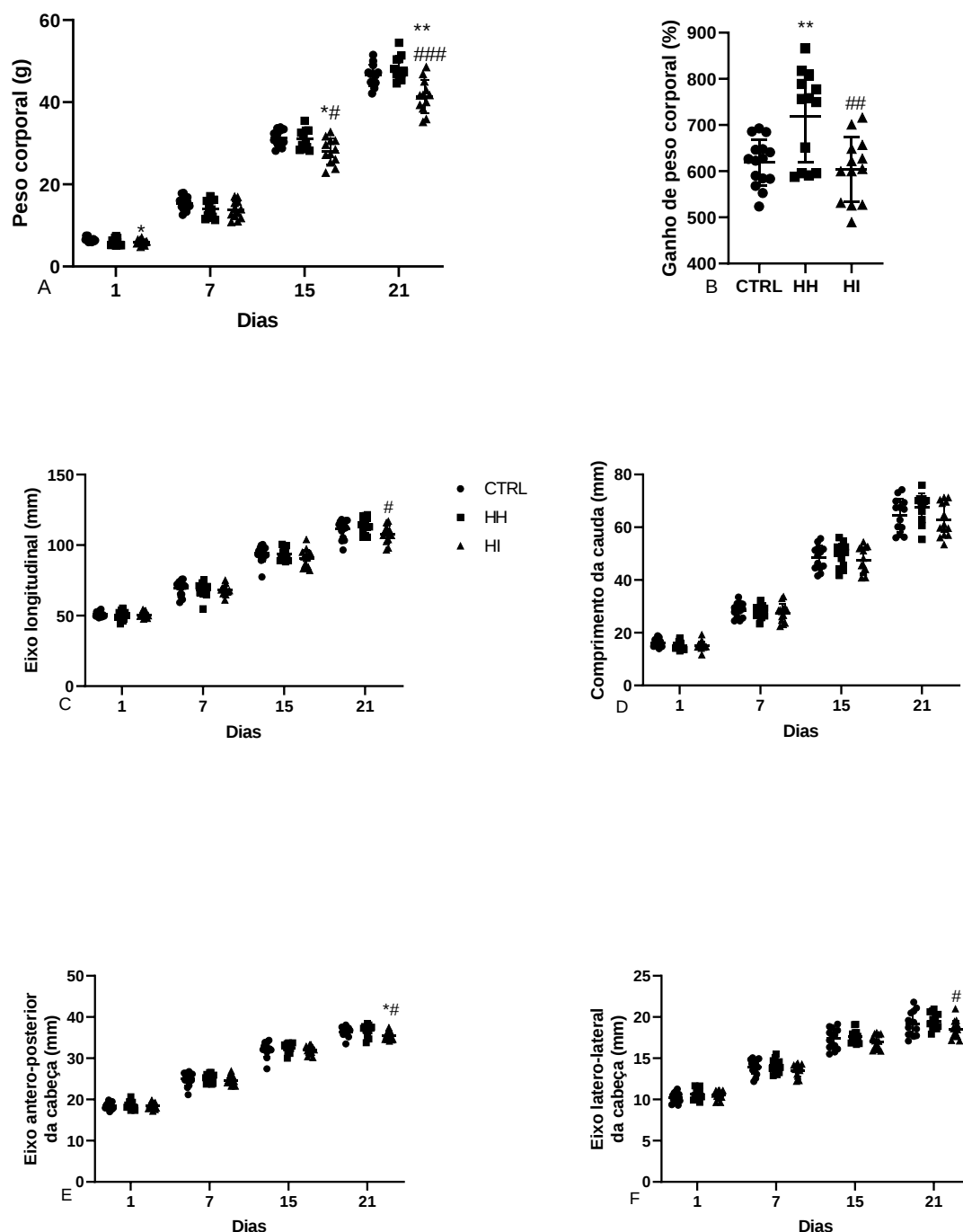
	CTRL (n= 9-10)	HH (n= 7-8)	HI (n= 7-8)
Glicose (mg/dl)	111,0 ± 22,96	97,76 ± 13,10	92,34 ± 18,81
Albumina (g/dl)	3,34 ± 0,46	3,17 ± 0,41	3,22 ± 0,45
Colesterol total (mg/dl)	77,23 ± 14,20	55,66 ± 11,89**	57,77 ± 11,95*
Colesterol-HDL (mg/dl)	40,48 ± 11,33	35,53 ± 8,90	32,90 ± 5,88
Colesterol não-HDL (mg/dl)	35,59 ± 11,38	13,41 ± 9,81**	26,16 ± 9,48
Triglicerídeos (mg/dl)	57,40 ± 15,98	55,16 ± 12,02	35,04 ± 15,75*

Dados apresentados em média ± DP. Ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação e sacrificadas no 25º dia pós-parto. CTRL = Controle; HH = Hiperlipídica-hipercalórica; e HI = Hiperlipídica-isocalórica. Teste ANOVA one-way seguido de pós-teste Tukey. *p<0,05 vs. CTRL; **p<0,01 vs. CTRL.

6.2 AVALIAÇÕES NOS FILHOTES

Os dados do crescimento somático dos filhotes são apresentados na Figura 6. Ao nascimento, os filhotes do grupo HI apresentaram menor peso corporal do que os filhotes do grupo CTRL (p<0,05) (Figura 6A). Esse menor peso, em relação ao CTRL, se repetiu aos 15 (p<0,05) e 21 dias (p<0,01) (Figura 6A). Os filhotes do grupo HI também foram menores do que os dos grupos HH aos 15 (p<0,05) e 21 dias (p<0,001). No entanto, o percentual de ganho de peso durante a lactação dos animais do grupo HH foi maior comparado aos grupos CTRL (p<0,01) e HI (p<0,01) (Figura 6B). O eixo longitudinal dos filhotes do grupo HI foi menor do que os do grupo HH no 21º dia de vida (p<0,05) (Figura 6C). O comprimento da cauda não apresentou diferenças entre os grupos ao longo deste período (Figura 6D). O eixo ântero-posterior da cabeça dos filhotes HI foi menor do que os dos filhotes dos grupos CTRL (p<0,05) e HH (p<0,05) ao final da lactação (Figura 6E). Os filhotes HI também apresentaram menor eixo látero-lateral da cabeça em relação ao grupo HH no 21º dia de vida (p<0,05) (Figura 6F).

Figura 6 – Crescimento somático dos filhotes na lactação.



Crescimento somático da prole. Filhotes de ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação. CTRL = Controle (n=13-16); HH = Hiperlipídica-hipercalórica (n=12-14); e HI = Hiperlipídica-isocalórica (n= 12-14). (A) Peso Corporal; (B) Percentual de ganho corporal; (C) Eixo longitudinal; (D) Comprimento da cauda; (E) Eixo antero-posterior da cabeça; (F) Eixo látero-lateral da cabeça. Dados apresentados em média $\pm$ DP. A, C, D, E F Teste ANOVA *two-way* medidas repetidas seguido de pós-teste *Tukey*. B Teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*. *p<0,05 vs CTRL; **p<0,01 vs. CTRL; #p<0,05 vs. HH; ###p<0,001 vs. HH

Foi traçado o perfil bioquímico dos filhotes por meio das análises de glicose, albumina, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol não-HDL e triglicerídeos (Tabela 6). Os níveis de albumina e colesterol total não apresentaram diferenças entre os grupos. Em relação ao grupo HH, os filhotes do grupo HI apresentaram níveis aumentados de glicose ($p<0,05$) e reduzidos de colesterol-HDL ($p<0,05$). Os níveis de níveis triglicerídeos e de colesterol não-HDL dos animais do grupo HI foram maiores do que do grupo CTRL ($p<0,05$).

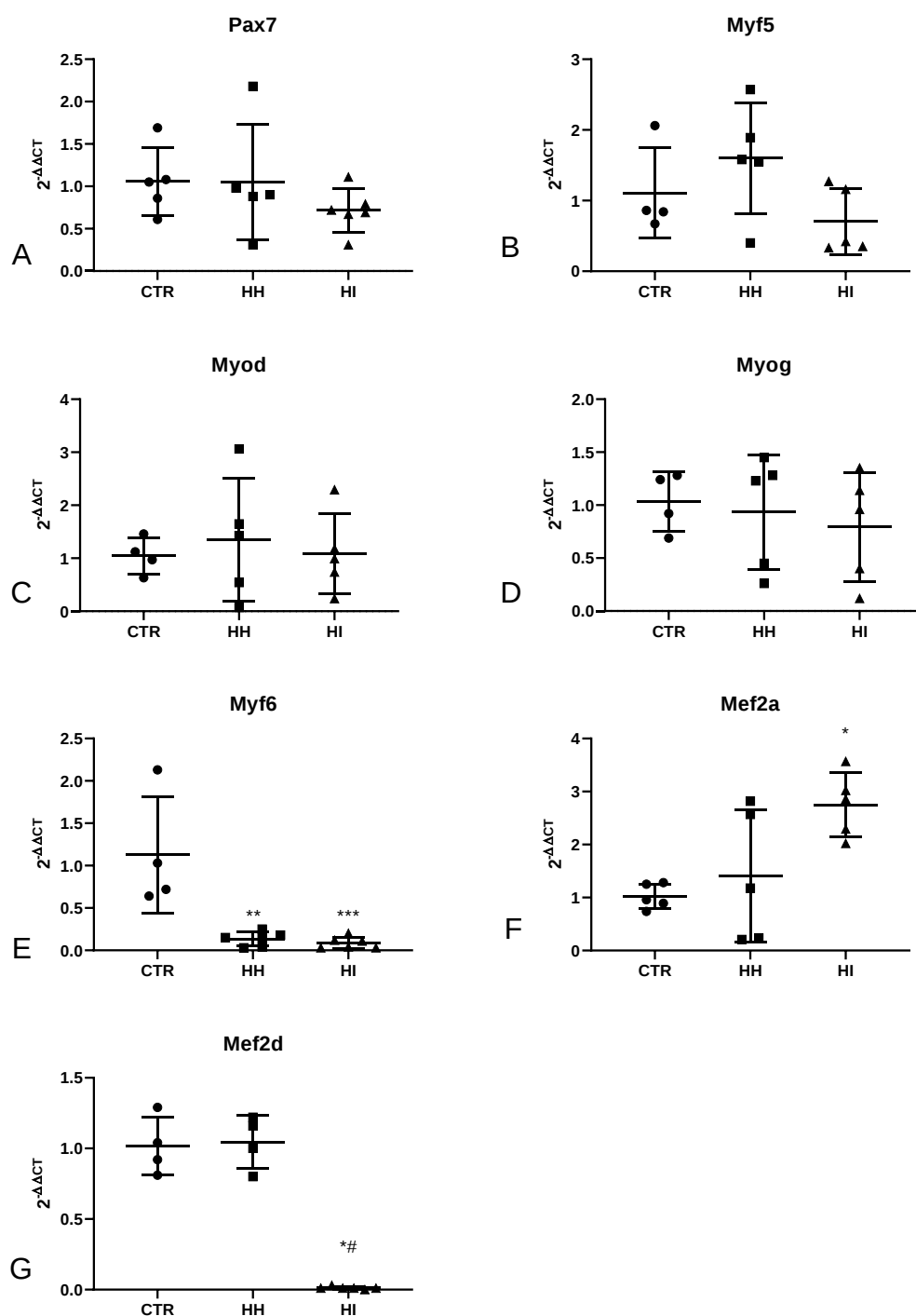
Tabela 6 – Perfil bioquímico dos filhotes.

	CTRL (n= 6-8)	HH (n= 5-6)	HI (n= 6-7)
Glicose (mg/dL)	99,4 ± 10,51	90,8 ± 12,71	109,2 ± 12,40 [#]
Albumina (g/dL)	1,76 ± 0,17	1,63 ± 0,12	1,745 ± 0,15
Colesterol total (mg/dL)	66,58 ± 15,46	77,65 ± 6,35	79,19 ± 9,13
Colesterol-HDL (mg/dL)	21,34 ± 3,59	26,04 ± 1,38	17,84 ± 5,80 [#]
Colesterol não-HDL (mg/dL)	47,26 ± 13,78	59,05 ± 13,65	64,12 ± 10,98*
Triglicerídeos (mg/dL)	34,61 ± 10,08	42,19 ± 7,564	54,08 ± 16,93*

Os dados apresentados em média ± DP. Filhotes de ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação e sacrificados no 22º dia pós-parto. CTRL= Controle; HH= Hiperlipídica-hipercalórica; e HI= Hiperlipídica-isocalórica. Teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*. * $p<0,05$ vs. CTRL; # $p<0,05$ vs. HH.

Em relação aos resultados da expressão gênica de fatores reguladores da miogênese na prole (Figura 7), não houve diferença entre os grupos na expressão dos genes *Pax7*, *Myf5*, *MyoD*, *miogenina (Myog)*. No entanto, observou-se diferenças na expressão de *Myf6/Mrf4*, sendo que os grupos HH e HI apresentaram menor expressão em relação ao grupo CTRL (Fig. 7E). Os animais do grupo HI apresentaram maior expressão de *Mef2a* comparado ao grupo CTRL (Fig. 7F) e, por sua vez, a expressão de *Mef2d* foi menor no grupo HI em relação ao grupo CTRL e HH (Fig. 7G).

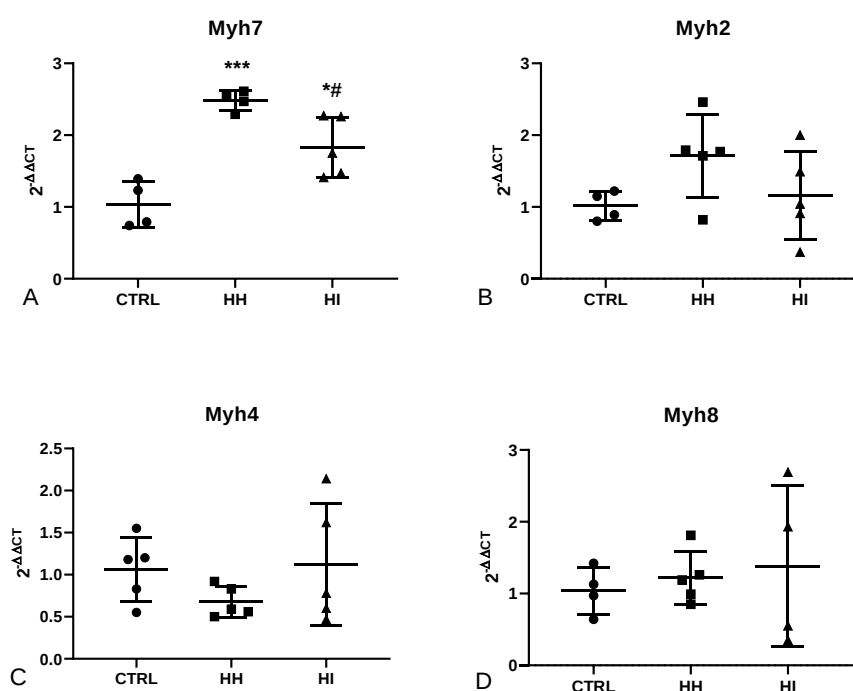
Figura 7 – Expressão gênica dos fatores reguladores da miogênese.



Expressão gênica dos genes reguladores da miogênese. Filhotes de ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação, sacrificados no 22º dia pós-parto. CTRL= Controle (n=4-5); HH= Hiperlipídica-hipercalórica (n=4-6); e HI= Hiperlipídica-isocalórica (n=5-6). (A) *Pax7*; (B) *Myf5*; (C) *MyoD*; (D) *MyoG*; (E) *Myf6*; (F) *Mef2a*; (G) *Mef2b*. Os dados apresentados em média $\pm$ DP. A, C, D, E e F – analisados por teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*; B e G – analisados por teste Kruskal-Wallis seguido de pós-teste Dunn's. * $p < 0,05$ vs. CTRL; ** $p < 0,01$ vs. CTRL; *** $p < 0,001$ vs. CTRL; # $p < 0,05$ vs. HH.

Quanto à expressão dos genes das isoformas MyHC, determinantes do fenótipo muscular no período em investigação, não foram evidenciadas diferenças na expressão dos genes *Myh2* (MyHC-2A), *Myh4* (MyHC-2B), *Myh8* (neonatal). Entretanto, grupo HH e HI apresentaram maior expressão de *Myh7* (MyHC-1) em comparação com o grupo CTRL. Na comparação entre os grupos experimentais, HH e HI, observou-se maior expressão deste gene no primeiro (Figura 8).

Figura 8 – Expressão gênica das isoformas MyHC.



Expressão gênica das isoformas MyHC da prole. Filhotes de ratas submetidas à dieta experimental durante a gestação e lactação, sacrificados no 22º dia pós-parto. CTRL= Controle (n=4-5); HH= Hiperlipídica-hipercalórica (n=4-5); e HI= Hiperlipídica-isocalórica (n=4-5). (A) *Myh7* (MyHC-1); (B) *Myh2* (MyHC-2A); (C) *Myh4* (MyHC-2B); (D) *Myh8* (MyHC-neo). Os dados apresentados em média $\pm$ DP. Teste ANOVA *one-way* seguido de pós-teste *Tukey*. * $p < 0,05$ vs. CTRL; *** $p < 0,001$ vs. CTRL; # $p < 0,05$ vs. HH.

7 DISCUSSÃO

7.1 EVOLUÇÃO PONDERAL E CONSUMO ALIMENTAR NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

Dados da evolução ponderal das mães demonstram que, na gestação e na lactação, o peso corporal inicial e final e o percentual de ganho de peso das mães não diferiram entre os grupos. Estes resultados corroboram com observações de outros estudos experimentais com exposição materna a dieta hiperlipídica, com percentuais de lipídios similares (entre 43% e 51% kcal/lipídios), no período crítico de desenvolvimento (BARRAND et al., 2017; CADENA-BURBANO et al., 2019; CHAVES et al., 2020). Mezei e colaboradores (2020), igualmente, não observaram diferenças no ganho de peso materno e no percentual de ganho de peso na gestação e lactação nos animais submetidos a dieta hiperlipídica com percentual de lipídios mais elevado (60% kcal/lipídios). No entanto, contrariamente, outros estudos evidenciam ganho de peso materno mais elevado na gestação decorrente da exposição a dieta com teor o lipídico de 60% kcal/lipídios (FERNANDES et al., 2021; GOHIR et al., 2019; WINTHER et al., 2018).

Complementando esta análise, os dados de consumo alimentar revelam que, nestes mesmos períodos, os animais que receberam dieta HH apresentaram menor consumo dietético (em gramas) comparado aos animais do grupo CTRL e HI (diferença de 19,19% vs. CTRL e de 17,27% vs. HI, na gestação; e diferença de 24,05% vs. CTRL e de 18,84% vs. HI, na lactação). Apesar da diferença no volume ingerido, não houve diferenças na ingestão energética total entre os grupos, tanto na gestação, como na lactação. Esses resultados são observados em outros estudos com animais submetidos a dietas hiperlipídicas (CADENA-BURBANO et al., 2019; MEZEI; URAL; HAJNAL, 2020; OLIVEIRA et al., 2018) e, portanto, sugerem que o consumo alimentar é regulado para se tornar isoenergético comparado a grupo CTRL. Além disso, supõe-se que isso possa ter contribuído para a manutenção do peso corporal observado nas ratas.

7.2 GLICEMIA DE JEJUM E TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE MATERNOS

Em nosso estudo, foi demonstrado redução dos níveis de glicose sanguínea ao longo do período gestacional, sendo considerada significativa na segunda semana nos grupos CTRL e HI e na terceira semana no grupo HH. Além disso, as mães foram submetidas ao teste de tolerância a glicose, logo após o desmame, e não houve

diferenças entre os valores de glicemia, em nenhum tempo monitorado nem na área sob a curva.

Outros estudos avaliaram o efeito das dietas hiperlipídicas sobre o metabolismo da glicose durante a gestação. Na investigação conduzida por Gohir et al. (2019), onde a intervenção nutricional consistiu na oferta de dieta hiperlipídica (60% kcal/lipídios) durante a gestação, não foi constatada diferenças entre os grupos nas avaliações da glicemia de jejum materna e nos níveis de insulina sérica realizadas no 18,5 dia gestacional. Ainda corroborando com nossos resultados, Desai e colaboradores (2014) evidenciaram níveis semelhantes de glicemia sanguínea no 21º dia gestacional entre as mães em dieta hiperlipídica (60% kcal/lipídios) e mães do grupo controle com dieta padrão.

Objetivando analisar os efeitos de uma dieta obesogênica (30% kcal de lipídios, 53% kcal de carboidratos, sendo 36% de açúcar) sobre o metabolismo da glicose na gestação, Musial e colaboradores (2017) mensuraram glicose em jejum e realizaram teste de tolerância a glicose em dois momentos do período gestacional (16º e 19º dia). No 16º dia, embora os valores de glicose sanguínea em jejum foram mais elevados nas ratas em dieta obesogênica, os pesquisadores não observaram diferença significativa na área sobre curva do teste de tolerância a glicose (MUSIAL et al., 2017). No 19º dia gestacional, não houve diferença significativa nos valores de glicose em jejum, porém foi demonstrado níveis aumentados de glicose nas ratas alimentadas com dieta obesogênica aos 30, 45 e 60 minutos, consequentemente, gerando maior área sob a curva, indicando quadro de intolerância a glicose nestes animais ao final da gestação (MUSIAL et al., 2017).

Adicionalmente, estudo realizado com camundongos, submetidos à dieta hiperlipídica (60% kcal/lipídios) no período pré-gestacional (5 semanas antes), demonstrou prejuízo na depuração da glicose no início e no final da gestação no grupo com a dieta experimental (MOAZZAM et al., 2021). No entanto, cabe considerar que os animais do grupo experimental deste estudo, expostos a dieta hiperlipídica desde o período pré-gestacional, iniciaram a gestação com peso corporal mais elevado em comparação ao grupo controle (MOAZZAM et al., 2021). Em relação a isso, Chung et al. (2021) afirmam que o prejuízo na tolerância a glicose na gestação é decorrente da obesidade e não da dieta hiperlipídica. Considerando o exposto, o fato de nossos resultados não demonstrarem alteração no perfil glicêmico materno pode estar

relacionado a ausência de ganho excessivo de peso nas fêmeas durante a gestação e lactação.

7.3 PERFIL BIOQUÍMICO MATERNO

Os principais resultados da avaliação bioquímica das mães consistem nas diferenças encontradas nos níveis de CT, colesterol não-HDL e triglicerídeos. O grupo HH e HI apresentaram níveis inferiores de colesterol total em relação ao grupo CTRL. Enquanto o colesterol não-HDL esteve inferior no grupo HH e os triglicerídeos no grupo HI, ambos também comparados ao grupo CTRL.

Os resultados de um estudo de revisão sistemática, que compilou experimentos em roedores expostos a dieta hiperlipídica durante a gestação e/ou lactação, demonstram alterações no perfil lipídico materno (MORAES-SOUZA et al., 2021). A maioria dos estudos apresentaram aumento dos níveis de TG (16 dos 21 estudos avaliados, correspondente a 76%) e do CT (8 de 10 investigações, correspondente a 80%) (MORAES-SOUZA et al., 2021). Quanto as análises de colesterol-HDL, num total de 4 estudos, 2 (50%) apresentaram aumento e 2 (50%) nenhuma alteração (MORAES-SOUZA et al., 2021). Em relação aos níveis de colesterol-LDL, dos 2 estudos avaliados, (100%) apresentaram aumento (MORAES-SOUZA et al., 2021).

Os trabalhos que observaram aumento do CT materno em decorrência de dietas hiperlipídicas (DESAI et al., 2014; FRANCO et al., 2012; KIM; KIM; KWON, 2016; TOZUKA; WADA; WADA, [s.d.]; VEGA et al., 2015) diferem de nosso trabalho no tempo de intervenção nutricional, sendo que estes estudos iniciaram a oferta de dieta hiperlipídica de 3 a 12 semanas antes do acasalamento, favorecendo o ganho de peso materno e condicionando estes animais à obesidade no período pré-concepção. Assim, outra vez, o peso pré-gestacional se configura como um fator determinante para as repercussões sobre os biomarcadores metabólicos das mães ao longo da gestação e lactação (CHUNG et al., 2021). De acordo com Elshenawy e Simmons (2016) o efeito da obesidade materna na prole é multifatorial e resultante da alteração da disponibilidade de macronutrientes (maior disponibilidade de lipídios e carboidratos, associado a diminuição da sensibilidade a insulina), de modificações epigenéticas (que alteram a expressão gênica) e de um estado inflamatório crônico (maior liberação de adipocinas e citocinas).

No entanto, enfatiza-se que o estudo de Desai et al. (2014) demonstrou o aumento do CT nas mães em dieta hiperlipídica no final da gestação, mas evidenciou redução nos níveis plasmáticos de CT no final da lactação, coincidindo com níveis mais baixos de triglicerídeos. Isto permite sugerir que durante a lactação, quando a demanda energética materna está aumentada em função da amamentação, ocorra a alteração no metabolismo lipídico, refletindo nos níveis plasmáticos do CT e de outras frações lipídicas. Portanto, estas duas condições, ou seja, a adequação do peso pré-concepção e a maior demanda energética da lactação alterando o metabolismo lipídico, podem contribuir para justificar a redução do CT nas mães com dieta hiperlipídicas observado no nosso estudo, assim como os menores níveis de colesterol não-HDL e de TG nos grupos de intervenção em relação ao grupo CTRL.

7.4 CRESCIMENTO SOMÁTICO DOS FILHOTES

Em relação a prole, evidenciou-se menor peso dos descendentes das ratas do grupo HI, comparado ao CTRL, ao nascimento, aos 15 e 21 dias, e menor peso em relação ao grupo HH aos 15 e 21 dias. No entanto, foi observado maior percentual de ganho de peso durante a lactação na prole do grupo HH comparado ao CTRL e ao HI. A prole do grupo HI, no final do período de lactação (21º dia), apresentou valores menores do eixo longitudinal (comparado ao HH), eixo ântero-posterior da cabeça (comparado ao CTRL e HH) e eixo látero-lateral da cabeça (comparado ao HH).

Quanto ao peso ao nascimento, outros trabalhos com dieta hiperlipídica materna, não apresentaram diferenças no peso ao nascer entre grupos de intervenção e controle (CARDENAS-PEREZ et al., 2018; CHANG et al., 2019; CHAVES et al., 2020; CURTI et al., 2021; DESAI et al., 2014; FRANCO et al., 2012; HUANG et al., 2017). Em relação a evolução ponderal dos filhotes, Chaves e colaboradores (2020) evidenciaram maior peso na prole de mães hiperlipídicas entre os dias 14 e 21 após o nascimento, ou seja, ao final da lactação. Desai et al (2014) igualmente observaram maior peso nos filhotes do grupo com intervenção materna na gestação e lactação a partir da segunda semana pós-natal, mantendo-se superior até a 24ª semana. No trabalho de Cardenas-Perez e colaboradores (2018), os filhotes de mães em dieta hiperlipídica, apresentaram peso superior a partir da 6ª semana de vida, enquanto Curi et al (2021) evidenciaram maior peso na prole hiperlipídica já no 4º dia pós-natal.

Neste último estudo citado, o peso corporal da prole se manteve superior até o 70º dia, quando os filhotes foram sacrificados, e os autores associaram o excesso de peso com uma maior adiposidade (CURI et al., 2021).

Adicionalmente, apesar dos filhotes do grupo HH não serem mais pesado em relação aos animais do grupo CTRL em nenhum momento das análises, foi evidenciado maior % ganho de peso nestes animais. Na investigação de Cadena-Burbano et al. (2019) a prole descendente de mães em dieta hiperlipídica (51% kcal/lipídios) apresentou maior peso em relação ao grupo controle no PN21 e maior percentual de ganho de peso ao final da lactação. Chaves et al. (2020) observaram aumento pontual no peso corporal dos filhotes de mães hiperlipídicas (51% kcal/lipídios), em relação aos grupos controles. Barran et al. (2017) demonstraram o aumento de peso na prole de mães em dieta hiperlipídica (43% kcal/lipídios) no PN1, PN5 e PN10, tendo confirmado apenas o efeito da dieta neste parâmetro. Além disso, os descendentes do grupo de dieta hiperlipídica foram maiores no PN10 e apresentaram aumento na porcentagem de massa gorda, em relação a massa magra (BARRAND et al., 2017). Dados de uma recente revisão indicam que a dieta hiperlipídica materna na gestação e lactação não impacta diretamente o peso inicial dos filhotes, mas que estes animais ganham peso mais significativamente entre a adolescência e a idade adulta (GAWLIŃSKA et al., 2021). Porém, de acordo com os autores, a dieta hiperlipídica materna pode ser condicionante para a eficiência metabólica ou dispêndio energético dos descendentes (GAWLIŃSKA et al., 2021).

No nosso estudo, além de ter sido evidenciado menor peso ao nascimento na prole do grupo HI, ressalta-se que a evolução ponderal destes animais foi inferior ao longo da lactação e ao final apresentaram menor % ganho de peso, menor comprimento (*versus* HH) e menor crânio (*versus* HH). Estes resultados podem ser evidências de um certo grau de comprometimento no desenvolvimento destes animais. Corroborando com esses dados, Mikovic e colaboradores (2020) demonstraram que uma dieta rica em gorduras alterou padrões de crescimento da prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica na gestação e lactação. As diferenças no padrão de crescimento induzidas pela dieta foram evidenciadas com 6 semanas de idade, os filhotes descendentes dessas ratas eram significativamente menores comparado ao grupo controle (MIKOVIC et al., 2020). Adicionalmente, na investigação de Chaves et al. (2020) não foram evidenciadas diferenças nas medidas

nos eixos longitudinal e ântero-posterior da cabeça, no entanto, o eixo látero-lateral da cabeça foi maior nos grupos de dieta hiperlipídica.

Parâmetros do crescimento somático diante de uma dieta hiperlipídica foram avaliados por outros estudos (CADENA-BURBANO et al., 2019; MENDES-DA-SILVA et al., 2014; SOUTO et al., 2020). Mendes da Silva e colaboradores (2014) evidenciaram que a dieta hiperlipídica materna, independente do período de intervenção (gestação ou lactação), foi capaz de interferir no padrão de desenvolvimento dos filhotes no pós-natal precoce (período compreendido do entre PND4 ao PND21), caracterizado pela redução do peso e comprimento corporal e menores valores para os eixos cranianos (médio-lateral e látero-lateral). Cadena-Burbano et al. (2019) observaram diferenças no desenvolvimento nos filhotes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica-hipercalórica em relação aos filhotes de mães que receberam dieta hiperlipídica-isocalórica na gestação e lactação, sendo que o primeiro apresentou valores maiores de peso e comprimento corporal, comprimento da cauda e eixos da cabeça (ântero-posterior e látero-lateral) ao desmame (21º dia pós-natal). Os resultados dos parâmetros somáticos gerados por Souto et al. (2020) demonstraram redução do peso corporal, menor comprimento corporal e maiores valores para eixo médio-lateral e ântero-posterior do crânio ao desmame (PND21) nos filhotes dos grupos com dieta hiperlipídica materna durante a gestação.

O comprometimento do crescimento observado no nosso estudo no grupo HI pode estar relacionado com a composição da dieta experimental, que além de ser isoenergética em relação a dieta controle, apresenta uma maior quantidade de celulose (24g/100g na dieta HI *versus* 5g/100g nas dietas C e HH). As fibras dietéticas podem interferir, direta e indiretamente, na disponibilidade e na metabolização de nutrientes (SLAVIN, 2013). De forma direta por apresentarem a capacidade de interferir na absorção de macro e micronutrientes, reduzindo assim a disponibilidade dos mesmos (SLAVIN, 2005). Já a ação indireta se dá pelas propriedades bifidogênicas das fibras alimentares, que são determinantes para a colonização intestinal e, conseqüentemente, para metabolização dos substratos energéticos (SLAVIN, 2013). Além disso, conforme pontuado na revisão realizada por Gawlinska e colaboradores (2021), o padrão alimentar modifica a composição do leite materno, especialmente o conteúdo lipídico. A associação destes fatores deve ser considerada como uma possível justificativa para a alteração do padrão de desenvolvimento

observado no grupo HI. Sugere-se em novas investigações a avaliação da microbiota ou da composição do leite materno afim de elucidar essa questão.

7.5 PERFIL BIOQUÍMICO DOS FILHOTES

As análises bioquímicas dos filhotes revelaram um perfil lipídico alterado do grupo HI, caracterizado por menores níveis de colesterol-HDL (em relação ao grupo HH) e níveis aumentados de triglicerídeos e de colesterol não-HDL (em comparação ao grupo CTRL). Os filhotes do grupo HI também apresentaram níveis aumentados de glicose quando comparado ao grupo HH. Não foi evidenciado diferenças entre os grupos nos níveis de colesterol total e, enfatiza-se que, o grupo HH não apresentou diferenças em relação ao CTRL.

Inicialmente, em relação ao metabolismo da glicose, Kim, Kim e Kwon (2016), em um estudo com camundongos C57BL/6, não observaram diferenças significativas nos níveis séricos de glicose, ao desmame, nos filhotes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (45% kcal/lipídios) desde o período pré-gestacional (3 semanas antes do acasalamento). Porém, os estudos de Huang et al. (2017) e de Ito e colaboradores (2016), realizados em roedores, com desenho experimental semelhante, apresentaram resultados que corroboram com os nossos, ou seja, níveis de glicose elevados no 21º dia pós-natal nos descendentes de mães submetidas a dieta hiperlipídica na gestação e lactação (45% kcal/lipídios e 31% kcal/lipídios, respectivamente). Zheng e colaboradores (2020) também avaliaram a repercussão de uma dieta hiperlipídica (60% kcal/lipídios) materna sobre os parâmetros do metabolismo da glicose dos filhotes ao desmame e observaram aumento significativo na glicose e insulina em jejum nos filhotes de mães expostas a intervenção nutricional. Além disso, os pesquisadores obtiveram uma maior área sobre a curva no teste de tolerância a glicose e do teste de tolerância a insulina, indicando diminuição da tolerância a insulina nestes animais (ZHENG et al., 2020). Odaka et al. (2010) avaliaram os níveis de glicose no pós-natal tardio (20 semanas) de camundongos e observaram um aumento nos filhotes de mães expostas a dieta hiperlipídica (58% kcal/lipídios) no período fetal (gestação) e no pós-natal (lactação e pós-desmame) em relação ao grupo em dieta controle. Adicionalmente, Oliveira e colaboradores (2018) avaliaram a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina entre o 61º e 65º dia de

vida de animais descendentes de mães alimentadas com diferentes tipos de dieta hiperlipídica (sendo uma hiperlipídica-hipercalórica e outra hiperlipídica- isocalórica) na gestação e lactação. Os pesquisadores não observaram diferenças entre os grupos na resposta glicêmica em nenhum tempo de ambos os testes, bem como não evidenciaram diferença na área sobre a curva do TTG (OLIVEIRA et al., 2018).

Quanto ao perfil lipídico dos filhotes, em primeira análise, nosso estudo não apresentou diferenças nos níveis de colesterol total entre os grupos ao desmame. Os resultados do trabalho de Yang et al. (2015), com intervenção nutricional materna com dieta hiperlipídica (50,1% kcal/lipídios) na gestação e lactação, também não demonstraram diferenças entre os grupos nos níveis de colesterol total na prole de mães hiperlipídicas em nenhum tempo das análises (23, 60 e 120 dias pós-nascimento). No entanto, há estudos que apresentam resultados contrários a estes no mesmo tempo de análise, ou seja, ao desmame (HUANG et al., 2017; ITO et al., 2016). Ito e colaboradores (2016), em um estudo realizado com camundongos C57BL/6J expostos a dieta hiperlipídica (31% kcal/lipídios) na gestação e lactação (42 dias de intervenção), observaram alteração nos lipídios plasmáticos da prole (fêmeas) ao desmame. Evidenciaram, mais especificamente, o aumento dos níveis colesterol total e, ainda, corroborando com nossos resultados, aumento dos níveis de triglicerídeos nestes animais (ITO et al., 2016). Os resultados do estudo de Huang et al. (2017), também em roedores, com análises realizadas no 21º dia pós-natal, igualmente apresentaram aumento dos níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos nos filhotes de mães hiperlipídicas (dieta 45% kcal/lipídios, 98 dias de intervenção). Ambos os estudos compararam dieta hiperlipídica com dieta padrão, sendo estas com densidades energéticas distintas.

Nossos resultados demonstraram níveis aumentados de TG e de colesterol não-HDL, ao desmame, no grupo HI em relação ao grupo CTRL. Corroborando com esses dados, Yang et al. (2015) evidenciaram aumento nos níveis plasmático de triglicerídeos na prole de mães em dieta hiperlipídicas na gestação e lactação nas análises realizadas aos 23, 60 e 120 dias de vida dos filhotes. Igualmente, e conforme já mencionado, Ito e colaboradores (2016) e Huang et al. (2017) também observaram níveis mais elevados de triglicerídeos, ao desmame, nos filhotes descendentes de mães hiperlipídicas.

Quanto ao colesterol não-HDL, primeiramente, se esclarece que este parâmetro compreende as frações lipídicas de colesterol LDL e VLDL. Nosso trabalho demonstrou níveis aumentados de colesterol não-HDL no grupo HI em relação ao CTRL. Reynolds et al. (2015) avaliaram o efeito da dieta hiperlipídica (45% kcal/lipídios) materna sobre o perfil lipídico dos filhotes após o desmame (24 dias de vida) e na puberdade (150 dias de vida), e uma das frações lipídicas avaliadas foi o colesterol LDL. E, neste estudo, os pesquisadores observaram níveis plasmáticos aumentados de colesterol LDL nos dois momentos de análise (REYNOLDS et al., 2015). Em outro estudo, com exposição materna à dieta hiperlipídica na gestação e lactação, as análises bioquímicas foram realizadas com 24 semanas de vida dos filhotes e os resultados demonstraram níveis elevados de colesterol LDL na prole de mães hiperlipídicas (ELAHI; MATATA, 2017).

Os resultados do nosso estudo evidenciaram ainda que os filhotes do grupo HI apresentaram níveis diminuídos de colesterol HDL em relação ao grupo HH, porém não diferiram do grupo CTRL. Kim, Kim e Kwon (2016) também avaliaram este parâmetro bioquímico, ao desmame, em filhotes descendentes de mães expostas a dieta hiperlipídica na gestação e lactação e, ao contrário do nosso estudo, os resultados não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Adicionalmente, o estudo conduzido por Reynolds e colaboradores (2015) avaliou a repercussão da dieta hiperlipídica materna na gestação e lactação sobre este parâmetro no período da puberdade (150 dias de vida) e os resultados desta análise também não demonstraram diferenças nos níveis plasmáticos do colesterol HDL entre os grupos.

Ainda referente ao perfil lipídico dos filhotes de mães alimentadas com dietas hiperlipídicas, a revisão sistemática realizada por Moraes-Souza et al. (2021) demonstram os seguintes resultados: dos 141 estudos que avaliaram os níveis de TG, 65 (45%) apresentaram níveis aumentados e 71 (50%) não apresentaram mudanças; o CT apresentou-se elevado em 21 dos 86 estudos (24%), mas na maior parte deles (58 estudos ou 68%) não apresentaram diferenças entre os grupos; os níveis de colesterol-HDL insatisfatórios foram observados em 7 dos 33 estudos (12%); e quanto ao colesterol-LDL, a maioria dos estudos, 12 dos 20 avaliados (60%), não apresentaram alterações neste parâmetro. No entanto, como base nestes dados, em relação aos valores de TG, vale ressaltar que apenas 9 dos 65 estudos que

apresentaram níveis aumentados de TG na prole realizaram as análises ao desmame (21-22º dia pós-natal) e ainda assim estes diferem do nosso estudo pelo percentual lipídico da dieta (45 a 64%) e tempo da intervenção nutricional (49 a 141 dias), ou seja, iniciada no período pré-gestacional (MORAES-SOUZA et al., 2021). De acordo com os autores deste estudo, a variação dos resultados dos biomarcadores lipídicos dos animais pode ser justificada pela heterogeneidade do desenho do experimento e, na prole, além do tempo de intervenção nutricional em que as mães foram submetidas e do percentual de lipídios da dieta experimental, os resultados podem variar de acordo com a idade em que os filhotes foram sacrificados (MORAES-SOUZA et al., 2021).

Especificamente em relação ao nosso trabalho, ressalta-se que a composição das dietas hiperlipídicas (HH e HI) continham o mesmo percentual lipídico. No entanto, o acréscimo de celulose utilizada para o ajuste da densidade energética da dieta HI é um fator importante a considerar, pois pode ter influenciado a composição do leite materno, principalmente seu conteúdo lipídico. Além disso, devemos aceitar que os filhotes no final do período de lactação podem ter se alimentado diretamente da dieta ofertada às mães e que esse consumo, não mensurado, pode ter interferido nos resultados.

Contudo, o perfil bioquímico apresentado pelo grupo HI sugere disfunções fisiológicas relevantes no período precoce da vida e, diante disso, hipotetizamos que isso pode condicionar estes animais ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis mais precocemente.

7.6 EXPRESSÃO DE GENES REGULADORES DA MIOGÊNESE E DO FENÓTIPO MUSCULAR

Nossos resultados demonstraram que a dieta hiperlipídica materna não resultou em diferenças significativas na expressão dos fatores reguladores da miogênese *Pax7*, *Myf5*, *MyoD* e *Myog*. Porém, foi observado menor expressão de *Myf6/MRF4* nos grupos HH e HI. Além disso, os animais do grupo HI apresentaram maior expressão de *Mef2a*, comparado ao grupo CTRL, e menor expressão de *Mef2d* em relação ao grupo CTRL e HH.

Inicialmente, é válida a comparação dos nossos resultados com o padrão de expressão dos genes reguladores da miogênese no período de desenvolvimento

muscular pós-natal, dados gerados por Lamon et al. (2017) por meio de um estudo realizado em camundongos machos C57BL/6J. Nesta investigação, a expressão dos genes MRF (*Myod1*, *Myf5*, *Myf6* e *Myog*) e genes Pax (*Pax3* e *Pax7*) foi mensurada com 2 dias, 2 semanas, 4 semanas e 12 semanas após o nascimento (LAMON et al., 2017). Os resultados demonstraram redução acentuada na expressão dos genes *Myod1*, *Myf5*, *Myog* e *Pax7* na segunda semana, no entanto, não evidenciaram diferenças nos níveis da expressão de *Myf6* e *Pax3* em nenhum tempo analisado (LAMON et al., 2017). Butchart et al. (2016) também avaliaram a expressão de *Myod* e *Myog* em camundongos machos C57BL/6J no pós-natal (2 dias e 2, 4, 6 e 12 semanas de vida). Os autores observaram menor expressão de *MyoD* entre a 2ª e 4ª semana pós-natal, com relativa estabilidade após essa idade (BUTCHART et al., 2016). Os níveis de expressão de *Myog* foi significativamente reduzida entre o 2º dia e 2ª semana de vida; manteve-se constante entre até a 6ª semana; e, entre a 6ª semana e a 12ª semana, apresentaram novamente uma redução significativa (BUTCHART et al., 2016). Portanto, em nosso estudo aos 22 dias de vida, observamos menor expressão de *Myf6* nos grupos hiperlipídicos. Desta forma, percebemos que a dieta foi capaz de alterar a expressão de um gene relativamente estável durante o desenvolvimento muscular pós-natal sem alterar aqueles genes que apresentam modificação de expressão durante esse período (BUTCHART et al., 2016; LAMON et al., 2017).

Em segunda análise, estudos com intervenção nutricional com dieta hiperlipídica materna na gestação e lactação apresentam resultados que se contrapõem aos nossos (MIKOVIC et al., 2020; YANG et al., 2015). Yang e colaboradores (2015) analisaram o efeito da dieta hiperlipídica (50,1% kcal/lipídios) materna sobre a expressão de genes marcadores da miogênese no embrião (12 dias da fase embrionária), no feto (19 dias da fase fetal) e 6 dias pós-desmame. Na fase embrionária, observaram inibição da expressão de *Myog* e *Myod* nos filhotes de mães expostas a dieta hiperlipídica; no feto, não houve diferença entre os grupos na expressão destes dois fatores de transcrição; e na análise pós-desmame, observaram a superexpressão de *Myog* e *Myod* na prole do grupo intervenção comparado ao grupo controle (YANG et al., 2015).

Adicionalmente, em um estudo realizado com camundongos machos C57BL/6J, Mikovic et al. (2020) investigaram os efeitos da exposição materna a uma

dieta hiperlipídica (23,5% kcal/lipídios) sobre a miogênese pós-natal (19 semanas) e demonstraram que a dieta hiperlipídica materna se correlaciona com a redução dos níveis de mRNAs de *Myod* e *Pax7*, em relação ao grupo controle. Quanto os níveis de *Myog* e *Myf6/MRF4* não houve diferença entre os grupos (MIKOVIC et al., 2020).

Ainda, especificamente sobre a regulação negativa da expressão de *Myf6/Mrf4* nos grupos expostos a dieta hiperlipídica, a investigação de Moretti e colaboradores (2016) nos fornece dados relevantes a considerar. Os resultados do estudo, realizado em ratos adultos, demonstraram que a inativação de *Myf6/Mrf4* induziu a regulação positiva dos genes *Myh1*, *Myh4* e *Myh2* (codificantes para fibras MyHC-2X, -2B e -2A, respectivamente), *Myh3* (isoforma embrionárias) e *Myh8* (neonatal), e promoveu a hipertrofia da miofibra (MORETTI et al., 2016). Além disso, a inativação de *Myf6/Mrf4* levou a maior expressão de *Mef2d*, no músculo innervado e desnervado, e de *Mef2a* no musculo innervado (MORETTI et al., 2016). Os autores concluíram que a regulação positiva de proteínas MEF2 diante da inativação de *Myf6/Mrf4* sugere que MRF4 age como repressor da atividade de MEF2 (MORETTI et al., 2016). Esses dados fundamentam o que é reconhecido por outros autores como eixo MRF4-MEF2, onde MFR4 age como regulador negativo do crescimento do músculo pela repressão de MEF2 (SCHIAFFINO; DYAR; CALABRIA, 2018). Logo, podemos fazer essa correlação com nossos dados, no grupo HI, que apresentou menor expressão de *Myf6/MRF4* e superexpressão de *Mef2a*.

Em nosso estudo evidenciamos a superexpressão de *Mef2a* nos animais do grupo HI (*versus* CTRL) e a diminuição muito expressiva na expressão de *Mef2d* (*versus* CTRL e HH). Um estudo *in vitro* demonstrou que o bloqueio da expressão endógena de MEF2A (MEF2A-knocked) prejudicou a diferenciação dos mioblastos, evidenciado pela redução do número e tamanho dos miotubos (SEOK et al., 2011). Neste mesmo estudo os pesquisadores comprovaram que a expressão de MEF2A é regulada pelo miR-155 (SEOK et al., 2011). Eles demonstraram que superexpressão de *miR-155* inibe a expressão de MEF2A e, por consequência, assim como observado em mioblastos MEF2A *knocked* (mas em menor magnitude), a diferenciação dos mioblastos é comprometida, menos e menores miotubos são formados (SEOK et al., 2011). Por outro lado, ao induzirem a superexpressão de MEF2A no meio de cultura de mioblastos C2C12, os pesquisadores observaram otimização da diferenciação celular (SEOK et al., 2011).

Em um estudo com camundongos, a deleção de *Mef2c* ou *Mef2d*, mas não de *Mef2a*, levou a redução na formação de miofibras lentas oxidativas (tipo I) no músculo sóleo, enquanto, a hiperatividade de *Mef2c* promoveu aumento na proporção destas mesmas miofibras (POTTHOFF et al., 2007). Contudo, outra análise, realizada em um meio de cultura de células satélites, demonstrou que o bloqueio dos genes *Mef2a*, *c* e *d* promoveu a regulação negativa da expressão dos genes das isoformas das fibras musculares rápidas e lentas (LIU et al., 2014). Adicionalmente, Moretti e colaboradores (2016) evidenciaram regulação negativa da expressão de *Myh4* e *Myh1* (genes codificantes para miofibras rápidas MyHC-2B e 2X, respectivamente) em células musculares deficientes de MEF2.

Segundo Taylor e Hughes (2017) o número e a diversidade de genes-alvos de MEF2 indicam uma ampla contribuição das proteínas MEF2 no programa de diferenciação muscular *in vivo* durante o desenvolvimento. Por meio de mecanismos complexos e ainda não totalmente esclarecidos, as proteínas MEF2 se correlacionam com a caracterização das fibras musculares, mais especificamente, tipo e tamanho das miofibras (TAYLOR; HUGHES, 2017). E neste sentido, ressalta-se a que a interação das proteínas MEF2 com outros fatores de transcrição, especialmente com os MRFs, conduzem a desfechos específicos (TAYLOR; HUGHES, 2017).

Em relação a expressão gênica das isoformas MyHC, nossos resultados evidenciam a regulação positiva da isoforma *Myh7*, codificante para fibras lentas (tipo I), nos filhotes de ambos os grupos expostos a dieta hiperlipídica. Pressupõe-se que maior expressão de genes da isoforma *Myh7* pode ter relação com os níveis de hormônios tireoidianos. Segundo Salvatore et al. (2014), a sinalização do hormônio tireoidiano no tecido muscular regula a expressão de muitos genes, os quais estão envolvidos na determinação do fenótipo das fibras musculares e o metabolismo energético do músculo esquelético. No pós-natal, acontece a mudança da expressão das isoformas fetais (embrionárias e neonatais) para a expressão das isoformas maduras, processo mediado pela sinalização do hormônio tireoidiano e pela inervação das fibras musculares (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). Em roedores, os níveis de hormônios tireoidianos aumentam imediatamente após o nascimento e, naturalmente, as concentrações intracelulares de T3 no músculo esquelético também estão aumentas (DENTICE et al., 2010). Estudos preliminares demonstram que o T3 participa da regulação da proliferação e diferenciação de mioblastos (LEE; KIM;

MILANESI, 2015). Na deficiência de hormônios tireoidianos, o processo de transição do fenótipo das fibras musculares é atrasado ou incompleto (SCHIAFFINO; REGGIANI, 2011). De acordo com Simonides e Van Hardeveld (2008), níveis reduzidos de T3, associado com a redução da atividade da proteína sinalizadora calcineurina e de seus fatores de transcrição, estão envolvidos na manutenção do fenótipo de fibras musculares lentas. Além disso, Davies et al. (2020) sugerem a ação indireta dos hormônios tireoidianos sobre o desenvolvimento muscular. O hipotireoidismo fetal também pode prejudicar o desenvolvimento cerebral e, por consequência, reduzir a estímulo neural do músculo esquelético, com repercussões na proporção de diferentes tipos de fibras (GAMBKE et al., 1983b; HORN; HEUER, 2010).

A correlação dos nossos dados de expressão de genes que caracterizam o fenótipo muscular com o estudo de Oliveira et al. (2018) é de suma importância. Seguindo um desenho experimental similar, Oliveira et al. (2018) avaliaram o efeito da exposição materna às dietas hiperlipídicas (HH e HI) sobre o fenótipo muscular da prole aos 70 dias vida. As fibras musculares do músculo sóleo e EDL, foram identificadas e quantificadas, após a coloração realizada por meio do método mATPase (OLIVEIRA et al., 2018). Os pesquisadores demonstraram a que a dieta HH materna levou ao aumento significativo na proporção das fibras tipo I no músculo sóleo, caracterizado como um músculo lento assim como o gastrocnêmio (OLIVEIRA et al., 2018). Este resultado corrobora com os nossos, visto que observamos aumento na expressão *Myh7* nos grupos de dieta hiperlipídica, mais expressivamente no grupo HH. Isto reforça o efeito da dieta hiperlipídica na determinação do perfil de fibras no período crítico de desenvolvimento, incluindo o período neonatal.

8 CONCLUSÕES

Contrariando a hipótese inicial, o consumo das dietas hiperlipídicas durante a gestação e lactação não promoveu ganho de peso materno e não levou a alterações no metabolismo de carboidratos. Além disso, ambas as dietas hiperlipídicas promoveram melhora no perfil lipídico das matrizes, evidenciado especialmente pela redução do colesterol total nos grupos com intervenção.

Em relação aos filhotes, os resultados demonstraram prejuízo no crescimento somático dos animais do grupo HI, caracterizado por valores inferiores nos parâmetros de peso, comprimento e eixos cranianos ao longo do período analisado. Acredita-se que o conteúdo de fibras da dieta HI pode ter sido um fator importante para este resultado, especialmente pelo fato de que estas, mesmo que indiretamente, podem modificar a composição do leite materno.

Quanto ao metabolismo da glicose, os filhotes dos grupos expostos às dietas hiperlipídicas apresentaram resultados que diferiram entre si, sendo que a prole HI demonstrou níveis séricos de glicose mais elevados. A dieta HI também promoveu alteração do perfil lipídico - níveis aumentados de triglicerídeos e colesterol não-HDL (vs. CTRL) e redução dos níveis de colesterol HDL (vs. HH). Diante desse perfil bioquímico em idade precoce, pressupõe-se que estes animais estejam mais propícios ao desenvolvimento de doenças crônicas também precocemente.

Dados da expressão dos marcadores da miogênese evidenciaram que ambas as dietas hiperlipídicas promoveram regulação negativa de *Mef6/Mrf4*. Na prole HI, também foi observada aumento da expressão de *Mef2a* e redução de *Mef2d*. Estes resultados podem ser correlacionados com o aumento da expressão do gene *Myh7*, codificante para fibras do tipo I, em ambos os grupos em intervenção. Portanto, diante do exposto, temos dados que indicam que dietas hiperlipídicas, independente da densidade energética, são capazes de alterar o fenótipo muscular da prole.

REFERÊNCIAS

- BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 412–417, 2007.
- BARRAND, S. et al. Impact of maternal high fat diet on hypothalamic transcriptome in neonatal sprague dawley rats. **PLoS ONE**, v. 12, n. 12, p. 1–16, 2017.
- BASSEL-DUBY, R.; OLSON, E. N. Signaling pathways in skeletal muscle remodeling. **Annual Review of Biochemistry**, v. 75, p. 19–37, 2006.
- BAYOL, S. A.; BRUCE, C. R.; WADLEY, G. D. Growing healthy muscles to optimise metabolic health into adult life. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 5, n. 6, p. 420–434, 2014.
- BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; STICKLAND, N. C. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **Journal of Physiology**, v. 567, n. 3, p. 951–961, 2005.
- BENTZINGER, C. F.; WANG, Y. X.; RUDNICKI, M. A. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 4, n. 2, p. 1–16, 2012.
- BIANCO-MIOTTO, T. et al. Epigenetics and DOHaD: From basics to birth and beyond. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 5, p. 513–519, 2017.
- BLOCK, T.; EL-OSTA, A. Epigenetic programming, early life nutrition and the risk of metabolic disease. **Atherosclerosis**, v. 266, p. 31–40, 2017.
- BOBER, E. et al. The muscle regulatory gene, Myf-6, has a biphasic pattern of expression during early mouse development. **Journal of Cell Biology**, v. 113, n. 6, p. 1255–1265, 1991.
- BUCKINGHAM, M. Making muscle in mammals. **Trends in Genetics**, v. 8, n. 4, p. 144–149, 1992.
- BUCKINGHAM, M.; RELAIX, F. PAX3 and PAX7 as upstream regulators of myogenesis. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 44, p. 115–125, 2015a.
- BUCKINGHAM, M.; RELAIX, F. PAX3 and PAX7 as upstream regulators of myogenesis. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 44, p. 115–125, 2015b.
- BUCKINGHAM, M.; RIGBY, P. W. J. Gene Regulatory Networks and Transcriptional Mechanisms that Control Myogenesis. **Developmental Cell**, v. 28, n. 3, p. 225–238, 2014.
- BUTCHART, L. C. et al. The long and short of non-coding RNAs during post-natal growth and differentiation of skeletal muscles: Focus on lncRNA and miRNAs. **Differentiation**, v. 92, n. 5, p. 237–248, 2016.

CADENA-BURBANO, E. V. et al. A maternal high-fat/high-caloric diet delays reflex ontogeny during lactation but enhances locomotor performance during late adolescence in rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 22, n. 2, p. 98–109, 2019.

CAPRA, L. et al. The origins of health and disease: The influence of maternal diseases and lifestyle during gestation. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 39, n. 1, p. 1, 2013.

CARDENAS-PEREZ, R. E. et al. Maternal overnutrition by hypercaloric diets programs hypothalamic mitochondrial fusion and metabolic dysfunction in rat male offspring. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, 2018.

CAROLAN-OLAH, M.; DUARTE-GARDEA, M.; LECHUGA, J. A critical review: early life nutrition and prenatal programming for adult disease. **Journal of clinical nursing**, v. 24, n. 23–24, p. 3716–3729, 2015.

CARSON, B. P. The potential role of contraction-induced myokines in the regulation of metabolic function for the prevention and treatment of type 2 diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, n. MAY, p. 1–8, 2017.

CHAL, J.; POURQUIÉ, O. Making muscle: Skeletal myogenesis in vivo and in vitro. **Development (Cambridge)**, v. 144, n. 12, p. 2104–2122, 2017.

CHANG, E. et al. Programming effects of maternal and gestational obesity on offspring metabolism and metabolic inflammation. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2019.

CHANGO, A.; POGRIBNY, I. P. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. **Nutrients**, v. 7, n. 4, p. 2748–2770, 2015.

CHAVES, W. F. et al. Neonatal administration of kaempferol does not alter satiety but increases somatic growth and reduces adiposity in offspring of high-fat diet dams. **Life Sciences**, v. 259, n. July, p. 118224, 2020.

CHEN, K.; RAJEWSKY, N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 2, p. 93–103, 2007.

CHMURZYNSKA, A. Fetal programming: Link between early nutrition, DNA methylation, and complex diseases. **Nutrition Reviews**, v. 68, n. 2, p. 87–98, 2010.

CHRISTIAN, P.; STEWART, C. P. Maternal micronutrient deficiency, fetal development, and the risk of chronic disease. **Journal of Nutrition**, v. 140, n. 3, p. 437–445, 2010.

CHUNG, E. et al. Obesity, not a high fat, high sucrose diet alone, induced glucose intolerance and cardiac dysfunction during pregnancy and postpartum. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.

- CURI, H. T. et al. Maternal high-fat diet increases anhedonic behavior and modulates hippocampal Mash1 and BDNF expression in adult offspring. **Neuroscience Letters**, v. 764, n. September, p. 1–7, 2021.
- DA, R. et al. Maternal protein restriction impairs the transcriptional metabolic flexibility of skeletal muscle in adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 112, p. 328–337, 2022.
- DA SILVA ARAGÃO, R. et al. Differential developmental programming by early protein restriction of rat skeletal muscle according to its fibre-type composition. **Acta Physiologica**, v. 210, n. 1, p. 70–83, 2014.
- DAVIES, K. L. et al. Development and thyroid hormone dependence of skeletal muscle mitochondrial function towards birth. **Journal of Physiology**, v. 598, n. 12, p. 2453–2468, 2020.
- DE BRITO ALVES, J. L. et al. Transcriptional response of skeletal muscle to a low protein perinatal diet in rat offspring at different ages: The role of key enzymes of glucose-fatty acid oxidation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 41, p. 117–123, 2017.
- DENTICE, M. et al. The FoxO3/type 2 deiodinase pathway is required for normal mouse myogenesis and muscle regeneration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 4021–4030, 2010.
- DESAI, M. et al. Rat Maternal Obesity and High Fat Diet Program Offspring Metabolic Syndrome. **Am J Obstet Gynecol**, v. 211, n. 3, p. 237–238, 2014.
- DESAI, M.; JELLYMAN, J. K.; ROSS, M. G. Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 4, p. 633–641, 2015.
- DING, X. C.; WEILER, J.; GROSSHANS, H. Regulating the regulators: mechanisms controlling the maturation of microRNAs. **Trends in Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 27–36, 2009.
- ELAHI, M. M.; MATATA, B. M. Effects of maternal high-fat diet and statin treatment on bone marrow endothelial progenitor cells and cardiovascular risk factors in female mice offspring fed a similar diet. **Nutrition**, v. 35, p. 6–13, 2017.
- ELSHENAWY, S.; SIMMONS, R. Maternal obesity and prenatal programming. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 435, p. 2–6, 2016.
- FABIANI, R.; NALDINI, G.; CHIAVARINI, M. Dietary patterns and metabolic syndrome in adult subjects: A systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 1–36, 2019.
- FERNANDES, D. J. et al. Exposure to maternal high-fat diet induces extensive changes in the brain of adult offspring. **Translational Psychiatry**, v. 11, n. 1, 1 jun. 2021.

FIDALGO, M. et al. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. **British Journal of Nutrition**, v. 109, p. 449–456, 2013.

FLEMING, T. P. et al. The embryo and its future. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 4, p. 1046–1054, 2004.

FOX, R. J. et al. Beyond buying time: The role of plasticity in phenotypic adaptation to rapid environmental change. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 374, n. 1768, 2019.

FRANCO, J. G. et al. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning. **The Journal of Physiology C 2012 The Authors. The Journal of Physiology C**, v. 590, p. 5503–5518, 2012.

FRONTERA, W. R.; OCHALA, J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. **Behavior Genetics**, v. 45, n. 2, p. 183–195, 2015.

GAMBKE, B. et al. Thyroidal and neural control of myosin transitions during development of rat fast and slow muscles. **FEBS Letters**, v. 156, n. 2, p. 335–339, 1983a.

GAMBKE, B. et al. **Thyroidal and neural control of myosin transitions during development of rat fast and slow muscles** *FEBS Letters*. [s.l: s.n.].

GAWLIŃSKA, K. et al. Relationship of maternal high-fat diet during pregnancy and lactation to offspring health. **Nutrition Reviews**, v. 79, n. 6, p. 709–725, 2021.

GICQUEL, C.; EL-OSTA, A.; LE BOUC, Y. Epigenetic regulation and fetal programming. **Best Practice and Research in Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 22, n. 1, p. 1–16, 2008.

GOHIR, W. et al. High-fat diet intake modulates maternal intestinal adaptations to pregnancy and results in placental hypoxia, as well as altered fetal gut barrier proteins and immune markers. **Journal of Physiology**, v. 597, n. 12, p. 3029–3051, 2019.

GOKHIN, D. S. et al. Quantitative analysis of neonatal skeletal muscle functional improvement in the mouse. **Journal of Experimental Biology**, v. 211, n. 6, p. 837–843, 2008.

HAFNER, H. et al. Lactational High-Fat diet exposure programs metabolic inflammation and bone marrow adiposity in male Offspring. **Nutrients**, v. 11, n. 6, 2019.

HE, J. et al. Transcriptome Characterization of Repressed Embryonic Myogenesis Due to Maternal Calorie Restriction. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, n. June, p. 1–14, 2020.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. M. et al. The myogenic regulatory factors, determinants of muscle development, cell identity and regeneration. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 72, n. 613, p. 10–18, 2017.

HOPPELER, H. Molecular networks in skeletal muscle plasticity. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. 2, p. 205–213, 2016.

HORN, S.; HEUER, H. Thyroid hormone action during brain development: More questions than answers. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 315, n. 1–2, p. 19–26, 2010.

HUANG, Y. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation affects hepatic lipid metabolism in early life of offspring rat. **J. Biosci**, v. 43, p. 311–319, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, I. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017 - 2018 - Primeiros Resultados**. [s.l: s.n.].

ITO, J. et al. The combination of maternal and offspring high-fat diets causes marked oxidative stress and development of metabolic syndrome in mouse offspring. **Life Sciences**, v. 151, p. 70–75, 2016.

JANG, H. S. et al. CpG and non-CpG methylation in epigenetic gene regulation and brain function. **Genes**, v. 8, n. 6, p. 2–20, 2017.

JANSEN, J. K. S.; FLADBY, T. The perinatal reorganization of the innervation of skeletal muscle in mammals. **Progress in Neurobiology**, v. 34, n. 1, p. 39–90, 1990.

KAAR, J. L. et al. Maternal Obesity, Gestational Weight Gain and Offspring Adiposity: the EPOCH Study. **J Pediatr**, v. 165, n. 3, p. 509–515, 2014.

KELEHER, M. R. et al. Maternal high-fat diet associated with altered gene expression, DNA methylation, and obesity risk in mouse offspring. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, p. 1–28, 2018a.

KELEHER, M. R. et al. A high-fat diet alters genome-wide DNA methylation and gene expression in SM/J mice 06 Biological Sciences 0604 Genetics. **BMC Genomics**, v. 19, n. 1, p. 1–13, 2018b.

KIM, J.; KIM, J.; KWON, Y. H. Effects of disturbed liver growth and oxidative stress of high-fat diet-fed dams on cholesterol metabolism in offspring mice. **Nutrition Research and Practice**, v. 10, n. 4, p. 386–392, 1 ago. 2016.

KRAUSS, R. S.; JOSEPH, G. A.; GOEL, A. J. Keep your friends close: Cell–cell contact and skeletal myogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 9, n. 2, 2017.

LAMON, S. et al. MicroRNA expression patterns in post-natal mouse skeletal muscle development. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–13, 2017.

LAUBACH, Z. M. et al. Epigenetics and the maintenance of developmental plasticity: extending the signalling theory framework. **Biological Reviews**, v. 93, n. 3, p. 1323–1338, 2018.

LAURENS, C.; BERGOUIGNAN, A.; MORO, C. Exercise-Released Myokines in the Control of Energy Metabolism. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 2020.

LEE, J.-W.; KIM, N.-H.; MILANESI, A. Thyroid Hormone Signaling in Muscle Development, Repair and Metabolism. **Journal of endocrinology, diabetes & obesity**, v. 2, n. 3, p. 1046, 2015.

LEGÅRD, G. E.; PEDERSEN, B. K. Muscle as an Endocrine Organ. **Muscle and Exercise Physiology**, n. 919, p. 285–307, 2018.

LEHKA, L.; RĘDOWICZ, M. J. Mechanisms regulating myoblast fusion: A multilevel interplay. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 104, n. January, p. 81–92, 2020.

LIEBER, R. L. et al. Skeletal muscle mechanics, energetics and plasticity Daniel P Ferris. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 1–16, 2017.

LIMA, M. S. et al. Brazilian Journal of Biology Effects of maternal high fat intake during pregnancy and lactation on total cholesterol and adipose tissue in neonatal rats. **Braz. J. Biol**, v. 78, n. 4, p. 615–618, 2018.

LIU, N. et al. Requirement of MEF2A, C, and D for skeletal muscle regeneration. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 11, p. 4109–4114, 2014.

MARCINIAK, A. et al. Fetal programming of the metabolic syndrome. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 2, p. 133–138, 2017.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: Some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4 A, p. 609–614, 2002.

MENDES-DA-SILVA, C. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy or lactation changes the somatic and neurological development of the offspring. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 72, n. 2, p. 136–144, 2014.

MEZEI, G. C.; URAL, S. H.; HAJNAL, A. Differential effects of maternal high fat diet during pregnancy and lactation on taste preferences in rats. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 1–13, 1 nov. 2020.

MIKOVIC, J. et al. An obesogenic maternal environment impairs mouse growth patterns, satellite cell activation, and markers of postnatal myogenesis. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 319, n. 6, p. E1008–E1018, 1 dez. 2020.

MOAZZAM, S. et al. Effects of high fat diet-induced obesity and pregnancy on prepartum and postpartum maternal mouse behavior. **Psychoneuroendocrinology**, v. 126, n. July 2020, p. 105147, 2021.

MOK, G. F.; LOZANO-VELASCO, E.; MÜNSTERBERG, A. microRNAs in skeletal muscle development. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 72, p. 67–76, 2017.

MORAES-SOUZA, R. Q. et al. Oxidative Stress Profile of Mothers and Their Offspring after Maternal Consumption of High-Fat Diet in Rodents: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2021.

MORESI, V. et al. Regulation of skeletal muscle development and homeostasis by gene imprinting, histone acetylation and microRNA. **Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1849, n. 3, p. 309–316, 2015.

MORETTI, I. et al. MRF4 negatively regulates adult skeletal muscle growth by repressing MEF2 activity. **Nature Communications**, v. 7, n. May, p. 1–12, 2016.

MUSIAL, B. et al. A Western-style obesogenic diet alters maternal metabolic physiology with consequences for fetal nutrient acquisition in mice. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 14, p. 4875–4892, 2017.

ODAKA, Y. et al. The influence of a high-fat dietary environment in the fetal period on postnatal metabolic and immune function. **Obesity**, v. 18, n. 9, p. 1688–1694, 2010.

OLIVEIRA, T. R. DOS P. et al. Differential effects of maternal high-fat/high-caloric or isocaloric diet on offspring's skeletal muscle phenotype. **Life Sciences**, v. 215, p. 136–144, 2018.

PAKSA, A.; RAJAGOPAL, J. The epigenetic basis of cellular plasticity. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 49, p. 116–122, 2017.

PANTALEÃO, L. C. et al. Maternal postnatal high-fat diet, rather than gestational diet, affects morphology and mTOR pathway in skeletal muscle of weaning rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1340–1348, 2013.

PERNG, W.; OKEN, E. **Programming Long-Term Health: Maternal and Fetal Nutrition and Diet Needs**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017.

PERRY, R.; RUDNICKI, M. Department of Biology, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada L8S 4K1. Biotechnology (MOBIX), McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada, L8S 4K1. **Differentiation**, v. 5, n. Frontiers in Bioscience, p. 750–767, 2000.

POTTHOFF, M. J. et al. Histone deacetylase degradation and MEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, 2007.

RAO, P. K. et al. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 23, p. 8721–8726, 2006.

RAO TATA, P.; RAJAGOPAL, J. Cellular plasticity: 1712 to the present day HHS Public Access Introduction to plasticity. **Curr Opin Cell Biol**, v. 43, p. 46–54, 2016.

REES, W. D. Interactions between nutrients in the maternal diet and the implications for the long-term health of the offspring. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 78, n. 1, p. 88–96, 2019.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1993.

REYNOLDS, C. M. et al. Conjugated Linoleic Acid Supplementation During Pregnancy and Lactation Reduces Maternal High-Fat-Diet-Induced Programming of Early-Onset Puberty and Hyperlipidemia in Female Rat Offspring 1. **BIOLOGY OF REPRODUCTION**, v. 92, n. 2, p. 40–41, 2015.

RIZZELLO, F. et al. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD. **Nutrients**, v. 11, n. 5, p. 1–24, 2019.

RODRÍGUEZ-MONFORTE, M. et al. Metabolic syndrome and dietary patterns: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 3, p. 925–947, 2017.

ROTHMAN, J.; JARRIAULT, S. Developmental plasticity and cellular reprogramming in *caenorhabditis elegans*. **Genetics**, v. 213, n. 3, p. 723–757, 2019.

SALVATORE, D. et al. Thyroid hormones and skeletal muscle - New insights and potential implications. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, n. 4, p. 206–214, 2014.

ŞANLI, E.; KABARAN, S. Maternal Obesity, Maternal Overnutrition and Fetal Programming: Effects of Epigenetic Mechanisms on the Development of Metabolic Disorders. **Current Genomics**, v. 20, n. 6, p. 419–427, 2019.

SARKER, G. et al. Maternal overnutrition during critical developmental periods leads to different health adversities in the offspring: relevance of obesity, addiction and schizophrenia. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 2019.

SCHIAFFINO, S. Fibre types in skeletal muscle: A personal account. **Acta Physiologica**, v. 199, n. 4, p. 451–463, 2010.

SCHIAFFINO, S. et al. Developmental myosins: Expression patterns and functional significance. **Skeletal Muscle**, v. 5, n. 1, p. 1–14, 2015.

SCHIAFFINO, S. Muscle fiber type diversity revealed by anti-myosin heavy chain antibodies. **FEBS Journal**, v. 285, n. 20, p. 3688–3694, 2018.

SCHIAFFINO, S.; DYAR, K. A.; CALABRIA, E. Skeletal muscle mass is controlled by the MRF4-MEF2 axis. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 21, n. 3, p. 164–167, 2018.

SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Fiber types in Mammalian skeletal muscles. **Physiological Reviews**, v. 91, n. 4, p. 1447–1531, 2011.

SEOK, H. Y. et al. miR-155 inhibits expression of the MEF2A protein to repress skeletal muscle differentiation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 41, p. 35339–35346, 2011.

SHAB-BIDAR, S. et al. A posteriori dietary patterns and metabolic syndrome in adults: A systematic review and meta-analysis of observational studies. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 9, p. 1681–1692, 2018.

SIMONIDES, W. S.; VAN HARDEVELD, C. Thyroid hormone as a determinant of metabolic and contractile phenotype of skeletal muscle. **Thyroid**, v. 18, n. 2, p. 205–216, 2008.

SJÖGREN, R. J. O.; LINDGREN NISS, M. H. L.; KROOK, A. Skeletal muscle microRNAs: Roles in differentiation, disease and exercise. **Research and Perspectives in Endocrine Interactions**, n. 9783319727899, p. 67–81, 2017.

SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v. 5, p. 1417–1435, 2013.

SLAVIN, J. L. Dietary fiber and body weight. **Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 411–418, 2005.
SOMMER, R. J. Phenotypic plasticity: From theory and genetics to current and future challenges. **Genetics**, v. 215, n. 1, p. 1–13, 2020.

SOUTO, T. DOS S. et al. Lard-rich and canola oil-rich high-fat diets during pregnancy promote rats' offspring neurodevelopmental delay and behavioral disorders. **Physiology and Behavior**, v. 213, n. October 2019, p. 112722, 2020.

SUMMERFIELD, M. et al. A long-term maternal diet transition from high-fat diet to normal fat diet during pre-pregnancy avoids adipose tissue inflammation in next generation. 2018.

TAMMEN, S. A.; FRISO, S.; CHOI, S. W. Epigenetics: The link between nature and nurture. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 34, n. 4, p. 753–764, 2013.

TAYLOR, M. V.; HUGHES, S. M. Mef2 and the skeletal muscle differentiation program. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 72, p. 33–44, 2017.

TIFFON, C. The impact of nutrition and environmental epigenetics on human health and disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, 2018.

TONG, J. F. et al. Maternal obesity downregulates myogenesis and β -catenin signaling in fetal skeletal muscle. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 296, n. 4, p. 917–924, 2009.

TOZUKA, Y.; WADA, E.; WADA, K. Diet-induced obesity in female mice leads to peroxidized lipid accumulations and impairment of hippocampal neurogenesis during the early life of their offspring. [s.d.].

VEGA, C. C. et al. Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 4, p. 712–719, 2015.

WANG, J. HUA et al. Heterogeneous activation of a slow myosin gene in proliferating myoblasts and differentiated single myofibers. **Developmental Biology**, v. 402, n. 1, p. 72–80, 2015.

WANG, L. et al. The regulatory role of dietary factors in skeletal muscle development, regeneration and function. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2020.

WHITE, R. B. et al. Dynamics of muscle fibre growth during postnatal mouse development ,White, Biérinx, Gnocchi, Zammit.pdf. **BMC Developmental Biology**, v. 10, n. 21, 2010.

WILSON, R. A. et al. High fat diet and associated changes in the expression of micro-RNAs in tissue: Lessons learned from animal studies. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 61, n. 6, p. 1–48, 2017.

WINTHER, G. et al. Maternal High-fat Diet Programs Offspring Emotional Behavior in Adulthood. **Neuroscience**, v. 388, n. July, p. 87–101, 2018.

XU, M. et al. Regulation of skeletal myogenesis by microRNAs. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 1, p. 87–104, 2020.

YANG, X. et al. Maternal high-fat diet exposure leads to insulin resistance and impacts myogenic and adipogenic gene expression in offspring rats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 117, n. 10, p. 1550–1560, 2015.

ZAMMIT, P. S. Function of the myogenic regulatory factors Myf5, MyoD, Myogenin and MRF4 in skeletal muscle, satellite cells and regenerative myogenesis. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 72, p. 19–32, 2017.

ZHANG, P. et al. Circular RNA Regulation of Myogenesis. **Cells**, v. 8, n. 8, p. 885, 2019a.

ZHANG, P. et al. Circular RNA Regulation of Myogenesis. **Cells**, v. 8, n. 8, p. 885, 2019b.

ZHENG, J. et al. Maternal high-fat diet regulates glucose metabolism and pancreatic β cell phenotype in mouse offspring at weaning. **PeerJ**, v. 2020, n. 6, 2020.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 02 de maio de 2019

Ofício nº 21/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Raquel da Silva Aragão**
Centro Acadêmico de Vitória - Cav
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0063/2018

Certificamos que a proposta intitulada “**Plasticidade fenotípica e manipulação dos lipídeos e calorias na dieta materna: repercussões sobre o comportamento locomotor, fenótipo muscular e flexibilidade metabólica na prole de ratos.**” registrado com o nº 0063/2018 sob a responsabilidade de **Prof. Raquel da Silva Aragão** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), 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, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/04/2019.

Finalidade	☐ Ensino ☒ Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/06/2019 a 31/12/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato isogênico
Nº de animais	342
Peso/Idade	250g/ 90 dias
Sexo	Macho (40)
Origem: Biotério de Criação	Biotério de Nutrição / UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério LENIB/Nutrição