



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

ALLANA KAROLINE FERNANDES NOBRE DA SILVA

**DIETA CETOGÊNICA NA LACTAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL E
PADRÕES FISIO-METABÓLICOS NA PROLE DE RATOS ADULTOS**

RECIFE-PE

2023

ALLANA KAROLINE FERNANDES NOBRE DA SILVA

**DIETA CETOGÊNICA NA LACTAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL E
PADRÕES FISIO-METABÓLICOS NA PROLE DE RATOS ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, na área de concentração bases experimentais da nutrição, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof^a Dra. Gisélia de Santana Muniz

Coorientador: Prof^o Dr. Diogo Antônio Alves de Vasconcelos

RECIFE-PE

2023

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

S586d	Silva, Allana Karoline Fernandes Nobre da Dieta cetogênica na lactação sobre a composição corporal e padrões fisio-metabólicos na prole de ratos adultos/ Allana Karoline Fernandes Nobre da Silva. – 2023. 89 p. : il. Orientadora: Gisélia de Santana Muniz. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2023. Inclui referências e anexo. 1. Dieta cetogênica. 2. Lactação. 3. Plasticidade fenotípica. 4. Metabolismo. 5. Ratos. I. Muniz, Gisélia de Santana (orientadora). II. Título. 612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023 - 238)
-------	--

ALLANA KAROLINE FERNANDES NOBRE DA SILVA

**DIETA CETOGÊNICA NA LACTAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL E
PADRÕES FISIO-METABÓLICOS NA PROLE DE RATOS ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, na área de concentração bases experimentais da nutrição, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Aprovado em: 28/02/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Elizabeth do Nascimento (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Isabelli Lins Pinheiro (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff. (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dedico este trabalho a Rennan, por todo apoio e amor neste período, ao meu irmão Alexandre por ser minha inspiração, a minha mãe Rosimary e a minha avó Otacilia por tudo o que já fizeram e ainda fazem por mim, e ao meu sobrinho Alexandre Neto.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **DEUS**. Tudo o que eu já fiz, faço e ainda farei sempre será com Ele, por Ele e para Ele. Perdi as contas de quantas vezes me senti perdida e Ele sempre foi minha Paz e meu Porto-seguro. Agraço também a **Nossa Senhora**, minha Mãezinha e Intercessora, a quem também tenho muita fé e amor.

Ao meu marido **Rennan**, que compartilhou comigo todo o processo durante esse período, desde se emocionar junto comigo no dia da aprovação até dividir noites de estudos mal dormidas. Não sei o que seria de mim sem seu apoio, amor e cuidado. Apesar de todo cansaço físico, mental e emocional, ele sempre foi meu cais.

Ao meu irmão **Alexandre Junior**, por ter assumido a função de pai quando eu sempre precisei, além de me incentivar a estudar e me tornar um ser humano melhor. A minha mãe **Rosimary** por se fazer presente nesses dois anos e sempre me pautar em suas orações.

A minha avó **Otacília** a quem amo mais que a mim mesma, que sempre se orgulhou por eu ter sido a primeira neta a ter acesso à uma universidade Federal. E ao meu tio **Aurélío**, que é um exemplo de amor e fé para mim.

Ao meu sobrinho **Alexandre Neto**, que veio para o mundo para me inspirar e me tornar uma pessoa melhor, e que desde que nasceu fez tudo ficar mais leve.

A minha orientadora **Dra. Gisélia de Santana Muniz**, por todo o apoio durante esse processo e sobretudo por ter confiado em mim. Ao meu coorientador **Dr. Diogo Vasconcelos**, por toda ajuda e conhecimentos compartilhados.

Aos amigos que me ajudaram nas inúmeras análises experimentais, em especial a **Fernando Wesley, Carol Ramos, e Filipe Bilheri** por todo apoio científico. Também agradeço a **Humberto, Flaydson, Raíssa, Anielly, Eryca** e todos os integrantes do grupo de pesquisa por toda ajuda.

A minha IC **Esther Bispo**, minha duplinha que compartilhou todas as etapas da pesquisa fazendo tudo ficar mais fácil e leve só com sua presença.

A **Morgana, Laura e Áurea**, minhas amigas da área de bases experimentais, que compartilharam todas as etapas do mestrado junto comigo.

Aos **professores da PPGN da UFPE**, por todo os ensinamentos compartilhados nesse período. E a **Coordenação do PPGN**, em especial a **Andrea Nascimento** por ser uma profissional e pessoa maravilhosa.

A toda equipe de Biotério de criação do DNut-UFPE, em especial ao **Dr Edeones França**.

Por fim, a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio financeiro.

*“...Um passo à frente e você já não
está no mesmo lugar.”
França et al., 1996.*

RESUMO

Dietas com o aumento no teor de lipídios e diminuição no teor de carboidratos, como a cetogênica, utilizadas em períodos de crescimento e desenvolvimento, como a lactação, é de interesse científico, visto que podem predispor o organismo a maior prevalência de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta. Objetivou-se avaliar os efeitos da dieta cetogênica durante a lactação de ratas sobre a composição corporal, parâmetros bioquímicos, percentual de gordura hepática, e expressão da proteína AKT total da via de sinalização de insulina no músculo esquelético da prole (machos e fêmeas). Foram utilizadas 16 ratas Wistar, nulíparas, 56 filhotes fêmeas e 58 filhotes machos provenientes das ratas. Após o parto, as ratas foram designadas para os grupos experimentais: Grupo Controle (dieta controle, GC, n=8) e Grupo Cetogênico (dieta cetogênica, GK, n=8). Os filhotes de ambos os grupos foram designados: Grupo Controle Macho (GCM, n=28), Grupo Controle Fêmea (GCF, n= 30), Grupo Cetogênico Macho (GKM, n=30) e Grupo Cetogênico Fêmea (GKF, n=26). Durante a lactação, o GC recebeu a dieta AIN-93G (3,6cal/g, 18% proteínas, 63% carboidratos e 19% de lipídios), e o GK recebeu a dieta cetogênica (5,4cal/g; 19% proteínas, 10% carboidratos e 71% de lipídios). Após o desmame, as proles de ambos os grupos receberam dieta comercial até os 90 dias de vida. Nas ratas lactantes foram quantificados o peso corporal e o consumo alimentar e energético. Nos filhotes *in vivo*, foram quantificados o peso corporal e o consumo alimentar. Aos 90 dias de vida foram realizados os testes de tolerância à glicose (GTT) e testes de tolerância à insulina (ITT). ~100 dias pós-natal os filhotes foram eutanasiados e foram analisados o peso úmido dos órgãos, composição bioquímica do soro, percentual lipídico do tecido hepático e expressão de proteína AKT total da via de sinalização de insulina no músculo esquelético. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão, considerou $p<0,05$ para diferença estatística. As ratas lactantes do GK apresentaram um menor consumo alimentar no final da lactação, mas não houve diferença no consumo energético. O GKM apresentou menor ganho de peso entre os 30 e 90 dias de vida. O GKM apresentou maior concentração de glicose plasmática no ponto de tempo de 30' do GTT, e o GKF no ponto de tempo de 60'; No ITT o GKM apresentou maior concentração de glicose plasmática na maioria dos pontos de tempo analisados, e o GKF nos pontos de tempo 0' e 30', o que acarretou uma maior área sob a curva

glicêmica para este grupo. O GKM apresentou menor peso da gordura abdominal, e o GKF apresentou maior peso da gordura abdominal, do fígado e dos músculos sóleo e EDL. O GKM apresentou maior concentração sérica de colesterol total, colesterol LDL e colesterol HDL, já o GKF apresentou menor concentração sérica de glicose e maior concentração de triglicerídeos. O consumo materno da dieta cetogênica rica em gordura saturada durante a lactação acarretou mudanças no ganho de peso e na composição corporal da prole na vida pós-natal, estando associado ao aumento das frações lipídicas circulantes, e comprometimento da glicemia mediante testes de tolerância à glicose e à insulina, sendo alguns desses resultados divergentes entre os sexos.

Palavras-chave: dieta cetogênica; lactação; plasticidade fenotípica; metabolismo; ratos.

ABSTRACT

Diets with increased lipid content and decreased carbohydrate content, such as the ketogenic diet, used during periods of growth and development, such as lactation, is of scientific interest, since they may predispose the body to a higher prevalence of noncommunicable chronic diseases in adulthood. To evaluate the effects of a ketogenic diet during lactation in rats on body composition, biochemical parameters, liver fat percentage, and total insulin signaling pathway AKT protein expression in skeletal muscle of the offspring (males and females). Sixteen nulliparous Wistar rats, 56 female pups and 58 male pups were used from the rats. After delivery, the rats were assigned to experimental groups: Control Group (control diet, CG, n=8) and Ketogenic Group (ketogenic diet, GK, n=8). The offspring from both groups were assigned: Control Group Male (CGM, n=28), Control Group Female (CGF, n=30), Ketogenic Group Male (GKM, n=30) and Ketogenic Group Female (GKF, n=26). During lactation, the CG received the AIN-93G diet (3.6cal/g, 18% protein, 63% carbohydrate, and 19% lipid), and the GK received the ketogenic diet (5.4cal/g; 19% protein, 10% carbohydrate, and 71% lipid). After weaning, the offspring of both groups received a commercial diet until they were 90 days old. In the lactating rats, body weight and food and energy intake were quantified. In the in vivo pups, body weight and food consumption were quantified. At 90 days of age, glucose tolerance tests (GTT) and insulin tolerance tests (ITT) were performed. ~100 days postnatal the pups were euthanized and organ wet weight, serum biochemical composition, lipid percentage of liver tissue and total AKT protein expression of the insulin signaling pathway in skeletal muscle were analyzed. The results were expressed as mean and standard deviation, considering $p < 0.05$ for statistical difference. Lactating GK rats showed lower food intake at the end of lactation, but there was no difference in energy intake. The GKM showed less weight gain between 30 and 90 days of life. The GKM showed higher plasma glucose concentration at the 30' time point of the GTT, and the GKF at the 60' time point; In the ITT the GKM showed higher plasma glucose concentration in most of the analyzed time points, and the GKF in the 0' and 30' time points, which resulted in a larger area under the glycemic curve for this group. The GKM had lower abdominal fat weight, and the GKF had higher weight of abdominal fat, liver, soleus and EDL muscles. The GKM had higher concentration of serum total cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol, while the GKF had

lower concentration of serum glucose and higher concentration of triglycerides. Maternal consumption of a saturated fat-rich ketogenic diet during lactation led to changes in weight gain and body composition of offspring in postnatal life, and was associated with increased circulating lipid fractions and impaired blood glucose levels by glucose and insulin tolerance tests, with some of these results differing between genders.

Keywords: ketogenic diet; lactation; phenotypic plasticity; metabolism; rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Cetogênese e Cetólise. Elaborado pela autora a partir de conhecimento obtido: (FUKAO; LOPASCHUK e MITCHELL, 2004; DANTAS, 2021).....	25
Figura 2- Desenho experimental de acordo com os grupos, análises e dietas utilizadas.....	45
Figura 3- Consumo alimentar e energético das ratas submetidas à dieta cetogênica durante a lactação.....	52
Figura 4- Peso corporal e evolução do peso das ratas submetidas à dieta cetogênica durante a lactação.....	52
Figura 5- Evolução de peso dos filhotes machos e fêmeas durante a lactação e peso corporal dos filhotes machos e fêmeas no período pós-lactação.....	53
Figura 6- Ganho de peso dos filhotes durante e após a lactação.....	54
Figura 7- Consumo alimentar médio dos filhotes aos 30 dias e 60 dias de acordo com o sexo.....	55
Figura 8- Curva glicêmica e área sob a curva (AUC) referente ao teste de tolerância à glicose aplicados aos 90 dias de vida dos filhotes machos e fêmea.....	56
Figura 9- Curva glicêmica e área sob a curva (AUC) referente ao teste de tolerância à insulina aplicado aos 90 dias de vida dos filhotes machos e fêmeas.....	57
Figura 10- Expressão da proteína AKT da via de sinalização de insulina no músculo sóleo da prole.....	59
Figura 11- Concentração (%) de gordura no fígado da prole.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Variações de padrões dietéticos cetogênicos.....	21
Tabela 2- Composição de Macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) da dieta AIN-93G, Cetogênica e Nuvilab®.....	44
Tabela 3- Distribuição de nutrientes na Dieta Cetogênica desenvolvida a partir da AIN-93g.....	44
Tabela 4- Peso úmido dos órgãos da prole submetida a dieta cetogênica durante o período lactacional.....	58
Tabela 5- Parâmetros bioquímicos da prole submetida a dieta cetogênica durante o período lactacional.....	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

GC	Grupo controle
GK	Grupo Cetogênico
GKF	Filhotes fêmeas do Grupo Cetogênico
GCF	Filhotes fêmeas do Grupo Crontole
GKM	Filhotes machos do Grupo Cetogênico
GCM	Filhotes machos do Grupo Crontole
DOHaD	Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença
DCV	Doenças Cardiovasculares
SM	Síndrome Metabólica
DCNTs	Doenças Crônicas Não-Transmissíveis
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
RI	Resistência à insulina
DHGNA	Doença hepática de origem não alcoólica
AGLs	Ácidos graxos livres
SFAs	Ácidos graxos saturados
PUFAs	Ácidos graxos poliinsaturados
MUFAs	Ácidos graxos monoinsaturados
KCAL	Quilocalorias
DC	Dieta Cetogênica
HFD	Dieta de baixo carboidrato e muito alta gordura
IMC	Índice de massa corporal
TGI	Trato gastrointestinal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
HDL	Lipoproteína de alta densidade
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
AKT	Proteína quinase b
IRS-1	Receptor de insulina 1
IRS-β	Receptor de insulina beta
TAG	Triglicerídeo
GTT	Teste de tolerância à glicose
ITT	Teste de tolerância à insulina
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
CONCEA	Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal
LNDE	Laboratório de Nutrição e Experimental e Dietética
CEUA	Comitê de Ética em Uso Animal
SIRT6	Sirtuínas-1
Nad+	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo
NPY	Neuropeptídeo Y

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	DIETA CETOGÊNICA.....	21
2.1.1	<i>Dieta cetogênica: Composição nutricional e metabolismo corpóreo.....</i>	<i>21</i>
2.1.2	<i>Dieta cetogênica e sua utilização na prática clínica e metabólica.....</i>	<i>26</i>
2.2	A NUTRIÇÃO E SUA INFLUÊNCIA EM PERÍODOS CRÍTICOS DE DESENVOLVIMENTO.....	28
2.3	CONSUMO DE DIETAS HIPERLIPÍDICAS E TIPOS DE ÁCIDOS GRAXOS EM PERÍODOS CRÍTICOS DE DESENVOLVIMENTO.....	31
2.4	DIETAS RICAS EM GORDURA E EFEITOS NO METABOLISMO E VIAS METABÓLICAS.....	34
3	HIPÓTESE.....	41
4	OBJETIVOS.....	42
4.1	OBJETIVOS GERAIS.....	42
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
5.1	ANIMAIS.....	43
5.2	DIETAS EXPERIMENTAIS.....	43
5.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	45
5.4	ANÁLISES NAS RATAS DURANTE A LACTAÇÃO.....	46
5.4.1	<i>Peso corporal.....</i>	<i>46</i>
5.4.2	<i>Consumo alimentar.....</i>	<i>46</i>
5.5	ANÁLISES NOS FILHOTES.....	47
5.5.1	<i>Análises nos filhotes in vivo.....</i>	<i>47</i>
5.5.1.1	<i>Peso corporal e consumo alimentar.....</i>	<i>47</i>
5.5.1.2	<i>Testes de tolerância à glicose e à insulina.....</i>	<i>47</i>
5.5.2	<i>Análises nos filhotes post mortem.....</i>	<i>47</i>
5.5.2.1	<i>Coleta de amostras.....</i>	<i>48</i>
5.5.2.2	<i>Análise do perfil bioquímico.....</i>	<i>48</i>
5.5.2.3	<i>Expressão da proteína AKT da via de sinalização da insulina no músculo esquelético (Western Blotting)</i>	<i>49</i>
5.5.2.4	<i>Análise ecipients e do conteúdo lipídico no tecido hepático.....</i>	<i>50</i>

5.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	51
6	RESULTADOS.....	52
7	DISCUSSÃO.....	61
8	CONCLUSÃO.....	71
8.1	PERSPECTIVAS.....	72
	REFERÊNCIAS.....	73
	ANEXO A- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	89

1 INTRODUÇÃO

A importância do estado nutricional das mulheres durante períodos críticos de desenvolvimento é fundamental para a saúde do bebê (PARIZZI & FONSECA, 2010). É através do leite materno que a mãe oferece ao lactente nutrientes básicos, além de componentes que atuam na formação do sistema nervoso, sistema imune e na maturação dos outros sistemas do organismo (WALJI, 2010). Nesse sentido, a nutrição materna é muito importante, de forma a providenciar os nutrientes necessários para biossíntese do leite materno, além de garantir um bom desenvolvimento dos bebês (GUINÉ & GOMES, 2015). Para que isso ocorra a lactante deverá recorrer a uma alimentação balanceada, adequada em macro e micronutrientes, a base de alimentos naturais ou pouco processados, garantindo o desenvolvimento dos sistemas fisiológicos (MORGANE, 2002; WAINWRIGHT et al, 1999).

Estudos com animais demonstram que a sub ou hiper nutrição materna ainda na fase intrauterina e/ou prolongada ao período lactacional pode resultar em neonatos com alterações específicas em órgãos e tecidos (GURMINI et al., 2005), acompanhando mecanismos fisio-metabólicos compensatórios para proteção de tecidos, especialmente o cérebro. Esses mecanismos podem levar ao prejuízo de outros tecidos, além de alterar a composição corporal e diminuir a secreção de hormônios que atuam no crescimento e desenvolvimento físico e mental, além de alterar as vias metabólicas para favorecer processos catabólicos (BARKER, 1998; GODFREY & BARKER, 2001; SAWAYA, 1985).

Estas informações estão em consonância com a hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (DOHaD). O DOHaD baseia-se no fato de que os fatores ambientais, como sub ou hiper alimentação e dos nutrientes, quando introduzidos na gestação, lactação e nos anos iniciais de vida podem desencadear efeitos profundos sobre a vulnerabilidade à Doenças Crônicas Não-Transmissíveis (DCNTs) mais tarde na vida (GLUCKMAN et al., 2010). Esse período inicial de desenvolvimento é conhecido como período perinatal e pode ser dividido em 4 etapas: implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e período neonatal. Os processos celulares que ocorrem durante o período perifertilização (meiose, ovulação e fertilização) são similares em roedores e em humanos; daí decorrendo o

uso de diferentes modelos experimentais para o estudo de alterações causadas durante este período (CASTRO, 2004).

A vulnerabilidade às DCNTs relaciona-se também com a hipótese da plasticidade fenotípica. A plasticidade fenotípica além de se basear nas alterações ambientais, associa-se à ideia de predisposição genética. Assim, tanto o ambiente como a predisposição genética podem influenciar as respostas adaptativas do organismo favorecendo a eclosão de doenças na vida adulta (WEST-EBERHARD, 200; BARKER et al., 2007, WELLS, 2014). Contudo, estas hipóteses permitem compreender que a plasticidade no período crítico de desenvolvimento do organismo pode modificar sua trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos, podendo ser alterado sua forma, estado, movimento ou padrão de atividade (WEST-EBERHARD, 1989).

O consumo de dietas com alterações calóricas e desproporcionais em macronutrientes durante períodos críticos de desenvolvimento tem sido crescente (ARMITAGE, TAYLOR e POSTON, 2005), além disso, o aporte nutricional inadequado na gestação e/ou lactação pode acarretar riscos para saúde materna e da prole (OSTLUND, HAGLUND e HANSON, 2004; ARMITAGE, TAYLOR e POSTON, 2005). Diversos estudos em humanos e animais têm sugerido que o excesso ou a deficiência alimentar materna durante a gestação e lactação pode desencadear no embrião/feto/neonato o desenvolvimento de obesidade, resistência à insulina e doenças cardiovasculares na vida adulta (ARMITAGE, TAYLOR e POSTON, 2005; CHECHI e CHEEMA, 2006; SAMUELSSON et al., 2008).

Estudos experimentais em ratos que utilizaram dietas ricas em gorduras mostraram que esses padrões dietéticos são capazes de influenciar o crescimento fetal e pós-natal. Os resultados variam de acordo com o período e o tempo de exposição à dieta (CHRISTIANS et al., 2019; NADARELI, 2001). Segundo NADARELI e colaboradores (2001), a aplicação de uma dieta hiperlipídica por 12 semanas em modelo experimental com roedores jovens adultos pode acarretar alterações no metabolismo glicídico, lipídico e na função endotelial, sem necessariamente alterar o peso corporal dos animais. Outros estudos apontam que estas dietas quando ofertadas durante a gestação e lactação podem vir a promover maior peso corporal e crescimento somático, mesmo diante de alterações no

metabolismo lipídico e comprometimento da glicemia na prole (CADENA-BURBANO et al., 2019; FERRO CAVALCANTE et al., 2013; ALVES, 2021).

A Dieta Cetogênica (DC) é classificada como rica em gorduras e se diferencia dos outros tipos por apresentar baixo teor de carboidratos e percentual elevado de lipídios (<10% em carboidratos e 60 a 80% de lipídios com relação ao valor calórico) (VEECH, 2004). E devido a esta disponibilidade de nutrientes, a DC induz alterações no metabolismo dos macronutrientes, favorecendo o aumento das concentrações circulantes dos corpos cetônicos, que podem ser mensuráveis (VEECH, 2004).

Essa diminuição da disponibilidade adequada de carboidratos, mas especificamente de glicose, como fonte de energia, faz com que o fígado converta a gordura em ácidos graxos e produza corpos cetônicos, substituindo a glicose como fonte de energia primária. O aumento das cetonas é conhecido como cetose nutricional. Embora a resposta individual seja variável, a cetose geralmente é desencadeada pela restrição da ingestão de carboidratos a menos de 50 gramas por dia associado ao aumento do consumo lipídico, evitando a neoglicogênese das proteínas (CAPPONI & MORENO-SEPÚLVEDA, 2020). Durante a ingestão crônica de alta quantidade de lipídios e baixa quantidade de carboidratos, o metabolismo sofre alterações semelhantes ao que ocorre em jejum, como o aumento da lipólise, gliconeogênese e síntese de corpos cetônicos a partir de lipídios para o metabolismo energético corporal (VIZUETA, 2012). Por conta dessas alterações metabólicas, a DC também é relatada para perda de peso corporal em humanos (MACKENZIE et al., 2017), visto que a produção de corpos cetônicos sintetizados e utilizados durante o consumo da DC são oriundos da gordura corporal, promovendo um balanço energético negativo e otimizando a perda de peso (MACKENZIE et al., 2017).

Apesar dos estudos utilizando dietas ricas em gordura e dietas ocidentalizadas durante períodos críticos de desenvolvimento de roedores (ALVES, 2021; BAYOL; FARRINGTON; STICKLAND, 2007; KRUSE et al., 2016; PANTALEÃO et al., 2013), ainda não foram totalmente esclarecidas as repercussões de uma dieta muito rica em lipídios e com baixo teor de carboidratos, a exemplo da dieta cetogênica durante a lactação. Como citado, os principais desfechos desse padrão alimentar durante o período lactacional engloba mudanças no peso, composição corporal, consumo alimentar e aumento da suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças na vida adulta da progênie (ALVES, 2021; KRUSE et al., 2016; PANTALEÃO et al., 2013; SILVA, 2022), no entanto, também há risco da

eclosão de cetoacidose lactacional grave que pode ser fatal, sendo isso bem estabelecido em estudos com bovinos, mas que também já foi relatado em humanos (NNODUM, et al., 2019).

De forma a compreender os desfechos do consumo dessa dieta em um período crítico de desenvolvimento, com perspectiva na promoção de repercussões positivas na vida de nutrizes e de seus descendentes, e enriquecer a comunidade científica com este tema tão abrangente e contemporâneo, esse trabalho apresenta como pergunta condutora: *“Quais os efeitos de uma dieta cetogênica rica em gordura saturada durante a lactação de ratas Wistar sobre a composição corporal, teor de gordura no fígado, parâmetros bioquímicos, e no metabolismo glicídico e da insulina no tecido muscular da prole macho e fêmea?”*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DIETA CETOGENICA:

2.1.1 Dieta cetogênica: Composição nutricional e metabolismo corpóreo

As dietas hiperlipídicas são padrões dietéticos com alto percentual de lipídios, e a dieta cetogênica (DC) apresenta esta característica, entretanto é composta com altíssimos teores de lipídios e baixo teor de carboidratos simultaneamente. Assim, a DC pode ser definida como um tipo de dieta contendo baixo teor de carboidratos, visando um consumo de menos de 50 gramas desse macronutriente por dia, podendo apresentar ~ 10% de carboidratos, 20% de proteínas (1-1,5g/kg de peso corporal/ dia a depender do nível de atividade física do indivíduo) e 60 a 80% de calorias advindas de lipídios (BATCH et al, 2020; VARGAS et al., 2018, VEECH, 2004). Notadamente, esse tipo de alimentação com muito baixo teor de carboidratos (geralmente ≤ 50 g/dia) promove um regime dietético semelhante ao jejum, induzindo diversas alterações no metabolismo humano (PAOLI et al., 2015).

Devido à grande quantidade de variações de dietas cetogênicas, podemos considerá-las como uma categoria que consiste em várias dietas e estratégias diferentes, mas com um objetivo em comum: a indução de um estado de cetose ou um grau menor de cetose (AMATO, 2022). Considerando que a principal definição das DCs está na proporção de proteínas, gorduras e carboidratos, muitas dietas podem ser encaixadas na definição de cetogênicas e entre elas destacam-se: Dieta de Atkins, Dieta de Atkins modificada, Dieta com baixo índice glicêmico, Dieta carnívora, Dieta low carb, Dieta paleolítica, Dieta do mediterrâneo e Jejum intermitente (AMATO, 2022). As diferenças entre essas dietas no que tange suas composições nutricionais estão descritas na tabela 1.

Tabela 1 - Variações de padrões dietéticos cetogênicos

Dieta	Distribuição de macronutrientes (%/ VCT)	Principais alimentos	Desfechos
Dieta de Atkins	~10% de carboidratos	Proteínas animais, ovos, peixes e frutos	Cetose, perda de peso continuada,

	(<20g/dia), ~30% de proteínas e ~60% de lipídeos.	do mar.	pré-manutenção e manutenção do peso perdido.
Dieta de Atkins modificada	~10% de carboidratos (<20g/dia), ~30% de proteínas e ~60% de lipídeos.	Carnes vermelhas, carnes brancas, ovos, creme de leite, maionese, nata, leite de coco, toucinho e óleos vegetais.	Cetose, merda de peso e manutenção do peso perdido.
Dieta com baixo índice glicêmico	~10% de carboidratos, ~30% de proteínas e ~60% de lipídeos.	Frutas e hortaliças in natura, leguminosas, oleaginosas, cereais integrais, leites e derivados.	Perda de peso, manutenção do baixo índice glicêmico.
Dieta carnívora	~15% de carboidratos, ~15% de proteínas, ~70% de lipídeos.	Carnes de todos os tipos, órgãos e vísceras, frutos do mar, ovos, laticínios, caldos de ossos e gorduras animais (banha, sebo, manteiga etc).	Perda de peso, maior saciedade, melhora da glicemia e perfil lipídicos, melhora na digestão.
Dieta paleolítica	~22-40% de carboidratos, ~19-35% de proteínas e ~28-47% de lipídeos.	Alimentos frescos e naturais, oleaginosas e gorduras vegetais, raízes e tubérculos, frutos do mar, carnes com baixo teor de gordura.	Perda de peso, aumento da massa magra, melhora da glicemia, maior saciedade, maior atividade metabólica.
Dieta low carb	~50-100g de carboidratos/dia e ~80% de proteínas e lipídeos.	Proteínas animais, ovos, peixes e frutos do mar, leguminosas, oleaginosas.	Perda de peso, manutenção do baixo índice glicêmico.
Jejum intermitente	~55% de carboidratos, ~15-	Frutas e vegetais frescos, leguminosas	Auxílio no emagrecimento,

	20% de proteínas e 25-30% de lipídeos	e cereais integrais, chás e café se açúcar.	diminuição da inflamação e estresse celular, aumento do catabolismo.
--	---------------------------------------	---	--

Elaborado pela autora a partir de conhecimento obtido: (AMATO, 2022).

Com o consumo de um padrão dietético cetogênico, há redução dos níveis de insulina e conseqüentemente redução da lipogênese e acúmulo de gordura. Com a redução drástica no consumo de carboidratos inicialmente o organismo passa a sintetizar energia a partir da gliconeogênese de proteínas e da oxidação de gordura em prol do fornecimento de oxalocetato no ciclo de Krebs, favorecendo o fornecimento de glicose para tecidos exclusivamente dependentes deste macronutriente, como o sistema nervoso central (SNC) (PAOLI et al., 2015). Porém, após 3-4 dias com o baixo consumo de carboidratos as reservas de glicose tornam-se insuficientes para sustentar esses mecanismos favorecendo a síntese de corpos cetônicos, os quais são compostos análogos à glicose. Assim o SNC e outros tecidos encontram fontes alternativas de energia, que são os corpos cetônicos sintetizados na matriz mitocondrial dos hepatócitos, gerando uma condição metabólica conhecida como cetose fisiológica ou cetose nutricional (VEECH, 2004; VALENZANO et al., 2019).

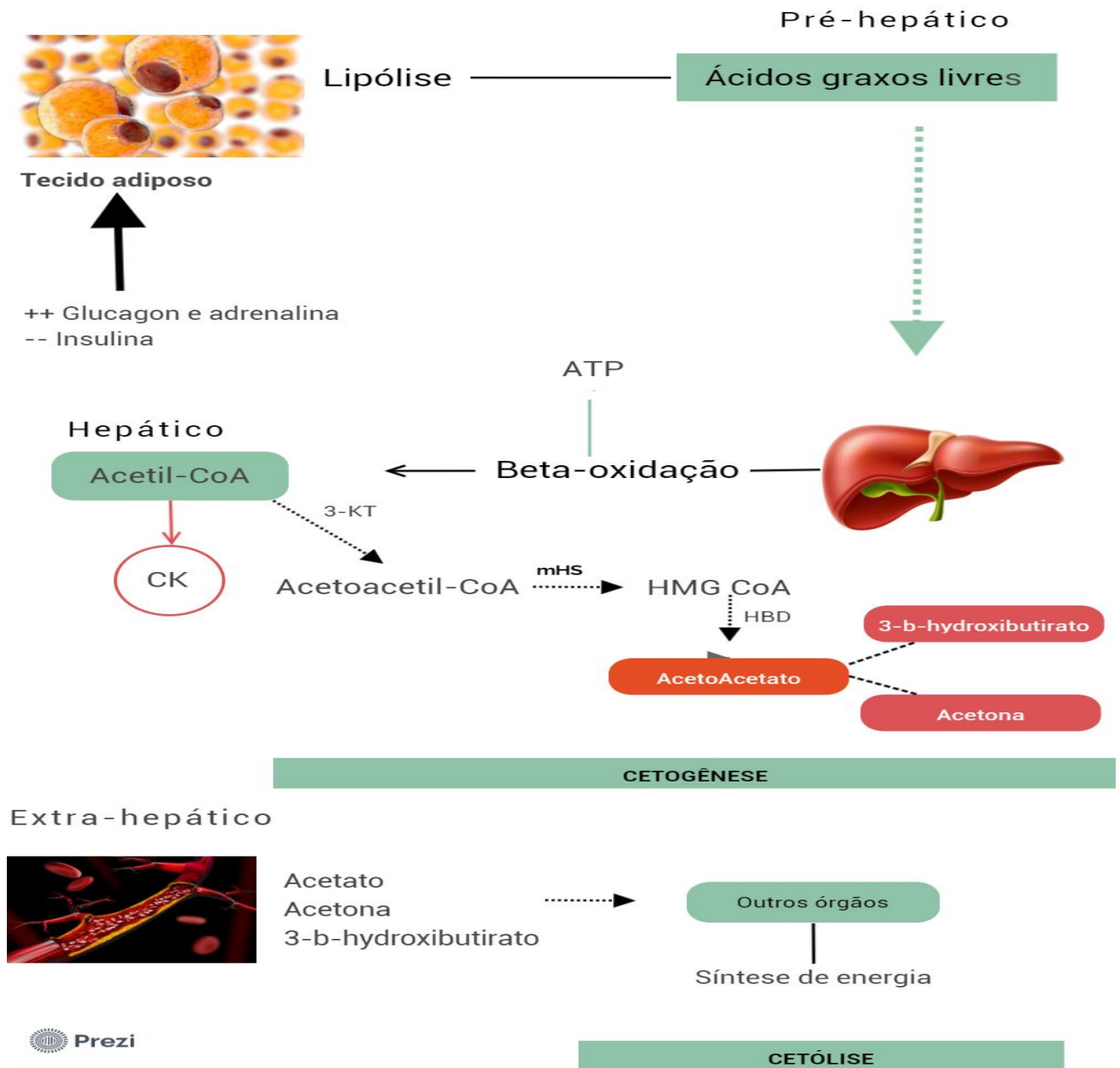
Devido às alterações ambientais relacionadas aos padrões dietéticos, o organismo humano passou a se adaptar e a utilizar diferentes fontes energéticas para a obtenção de calorias destinadas ao seu metabolismo (GERSHUNI; YAN e MEDICI, 2018). Sabemos que a fonte primária para síntese de energia e garantir o funcionamento adequado do corpo é a glicose, no entanto, como alternativa para utilização deste nutriente, os mamíferos podem adaptar-se a um estado de cetose, que depende de corpos cetônicos derivados da gordura corporal e que são produzidos no fígado (RANDLE et al., 1963; GERSHUNI; YAN e MEDICI, 2018). A cetose fisiológica ocorre quando os estoques de glicose e glicogênio no organismo encontram-se minimizados, promovendo a síntese de três corpos cetônicos: acetoacetato, acetona e β -hidroxibutirato. Esses produtos são denominados corpos cetônicos devido ao grupo funcional cetona que esses metabólicos possuem (PAOLI et al., 2013). Especificamente, a cetose fisiológica é mediada pelo glucagon, o qual é

um hormônio contrarregulador da insulina e por isso essa condição ocorre em situações como jejum, exercício físico, no consumo de dietas restritas em carboidratos (como a DC) ou pela ausência de insulina circulante, como em pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo I (GERSHUNI; YAN e MEDICI, 2018; PAOLI et al., 2013).

Com o aumento das concentrações corporais do hormônio glucagon e diminuição das concentrações hormônio insulina, na cetose fisiológica há ativação da via lipolítica no tecido adiposo em prol da liberação de ácidos graxos, e a degradação dos estoques de glicogênio no tecido hepático (GERSHUNI; YAN e MEDICI, 2018). Diante disso, o aumento de ácidos graxos livres circulantes são transportados ao fígado onde serão beta-oxidados nas mitocôndrias hepáticas para produção excessiva de Acetil-CoA. A partir desse pool de Acetil-CoA que os corpos cetônicos irão ser sintetizados (cetogênese) (FUKAO; LOPASCHUK e MITCHELL, 2004).

Parte do excesso de Acetil-CoA pode então entrar no ciclo do ácido cítrico para gerar moléculas necessárias para produção de ATP - via fosforilação oxidativa e outra parte é desviada metabolicamente para produção de Acetoacetil-CoA pela ação da enzima tiolase, o qual é convertido posteriormente em HMG-CoA pela ação da enzima HMG-CoA sintase, seguida da ação da HMG-CoA liase que converte o HMG-CoA em acetoacetato. O acetoacetato pode ser convertido em cetona ou em β -hidroxibutirato através de descarboxilação não-enzimática ou através da ação da enzima beta-hidroxibutirato desidrogenase, respectivamente. Posteriormente esses corpos cetônicos se difundem na circulação sanguínea para uso em tecidos extra-hepáticos (cetólise) (DANIAL et al., 2013; FUKAO; LOPASCHUK e MITCHELL, 2004; GERSHUNI; YAN e MEDICI, 2018). A Figura 1 explica de forma esquemática e resumida o metabolismo dos corpos cetônicos (cetogênese e cetólise).

Figura 1 - Cetogênese e Cetólise



Elaborado pela autora a partir de conhecimento obtido: (FUKAO; LOPASCHUK e MITCHELL, 2004; DANTAS, 2021).

2.1.2 Dieta cetogênica e sua utilização na prática clínica e metabólica

A partir do ano 1920 a dieta cetogênica começou a ser explanada por conta da sua eficácia no tratamento de epilepsia refratária em pacientes pediátricos. Embora a sua popularidade tenha diminuído após a criação de drogas anticonvulsivantes, a DC continua sendo muito estudada com pesquisas e ensaios

clínicos que associam essa dieta ao tratamento eficiente da epilepsia (SADEGHFAR e PENRY, 2019; VEECH, 2004).

Os mecanismos associados aos benefícios da DC no tratamento da epilepsia envolvem a reciclagem mais eficiente do glutamato, o qual está associado a um aumento da produção do neurotransmissor (NT) GABA que age como NT inibitório nos momentos das convulsões; Redução da excitabilidade neuronal através da ativação de canais de potássio sensíveis ao ATP; Diminuição da resposta inflamatória e da produção de espécies reativas de oxigênio que são artifícios neuroprotetores; Melhoria da função mitocondrial, já que a disfunção está associada à gênese de doenças neurológicas (SADEGHFAR e PENRY, 2019). Ademais, a baixa disponibilidade de glicose, propiciada pela DC, também exerce efeito neuroprotetor na epilepsia, já que em condições normais esse substrato é necessário para a atividade convulsiva (D'ANDREA MEIRA et al., 2019).

Apesar de a priori a DC ter sido unicamente utilizada como terapêutica da epilepsia refratária, nos últimos anos foi estudada e defendida no tratamento de outras condições específicas e atualmente está sendo utilizada como uma estratégia nutricional que promove rápida perda de peso (BATCH et al., 2020; VALENZANDO et al., 2019). A partir da década de 60 o potencial terapêutico da DC no tratamento da obesidade foi amplamente reconhecido e apoiado, além da obesidade, também foi relatado benefícios no tratamento de outras condições patológicas que incluem diabetes, síndrome do ovário policístico (SOP), acne, doenças neurológicas, câncer e a melhoria de fatores de risco de doenças respiratórias e cardiovasculares (PAOLI et al., 2013).

De acordo com GERSHUNI, YAN e MEDICI (2018), a DC pode ser eficiente no tratamento de Síndrome Metabólica (SM) por melhorar os cinco principais componentes da doença: obesidade, alta concentração sérica de glicose e triglicerídeos, colesterol HDL baixo e hipertensão. Segundo os autores, a síndrome metabólica está relacionada com a intolerância a carboidratos e que após a utilização da DC com a diminuição do consumo deste nutriente ocorre uma redução dessa intolerância (GERSHUNI, YAN e MEDICI, 2018).

A DC também tem sido relatada positivamente no tratamento de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) e Doenças Cardiovasculares (DCVs). No DM2, a DC tem sido relacionada com melhor controle metabólico e benefícios na sensibilidade sistêmica à insulina (CHOI, JEON e SHIN, 2020; PAOLI et al., 2013). Nas DCVs o seu efeito

benéfico associa-se a diminuição da aterogenocidade ao tornar as partículas de LDL-colesterol mais flutuantes no plasma (SHARMAN, et al. 2002). Além disso, o uso de DC em pacientes portadores de DCVs e SM não causa efeitos adversos nos mesmos (SHARMAN, et al. 2002). Já em doenças neurológicas como Alzheimer e Parkinson, a DC parece regular a expressão de proteínas que possuem efeitos neuroprotetores, buscando restaurar a homeostase celular (RAMAMURTHY; RONNETT, 2006).

Vários estudos demonstram que a DC está intimamente associada a perda de peso em humanos (BUENO et al., 2013; MACKENZIE et al., 2017). Neles, é relatado que o consumo de no máximo 50g de carboidratos/dia ocasiona uma maior perda de peso corporal, além de promover benefícios em parâmetros cardiovasculares (BUENO et al., 2013). Os mecanismos da DC que ocasionam a perda de peso estão principalmente associados à redução dos níveis de insulina, o qual é responsável por ativar e estimular a síntese de enzimas responsáveis pelo processo de lipogênese, além de facilitar a entrada de glicose no tecido adiposo, componente necessário para tal processo. Com a diminuição deste hormônio, ocorre o redirecionamento do metabolismo lipídico da lipogênese (síntese e armazenamento de ácidos graxos na forma de triglicerídeos no tecido adiposo), para a lipólise (mobilização, degradação e oxidação dos triglicerídeos armazenados), consequentemente induzindo cetose nutricional, imitando a inanição do corpo para utilizar corpos cetônicos oriundos da gordura corporal como fontes alternativas de energia (CHO, JEON e SHIN, 2020). Outro estudo associou a perda de peso em humanos com os protocolos hipocalóricos adjuntos a DC, independentemente de como foi feita a distribuição dos macronutrientes (GARDNER et al. 2018).

Existem vários estudos experimentais com animais que utilizam a DC para avaliar seus efeitos sobre o metabolismo (COLICA et al., 2017; GARBOW et al., 2011; GRANDI et al., 2018; KOICH et al., 2019; VANLEZANO et al., 2019). Um estudo mostrou que ratos adultos alimentados com uma dieta rica em gordura e pobre em carboidratos por 10 semanas apresentaram maior índice de massa corporal (IMC) e gordura abdominal, maior concentração de leptina plasmática, menor concentração de adiponectina plasmática e tolerância à glicose diminuída em comparação a ratos alimentados com uma dieta padrão/controle durante o mesmo período (SINITSKAYA, et al., 2007). Também em modelo experimental a DC relacionou-se com aumento de gordura visceral e intolerância à glicose com o

aumento da atividade da enzima fosfoenol piruvato carboxicinase em ratos jovens alimentados com dieta cetogênica por 6 semanas (RIBEIRO, et al., 2008). Outros ensaios experimentais com roedores também associam o aumento da gordura corporal e a intolerância à glicose em ratos adultos alimentados com dieta cetogênica a médio e longo prazo (SIMÕES et al., 2018; GARBOW et al., 2010). De acordo com BATCH e colaboradores (2010), não há benefícios na adesão da DC por mais de um ano. Quando aplicada na lactação de roedores, a DC também pode acarretar disbiose intestinal materna e na prole, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, comprometimento da glicemia na prole, bem como ao aumento dos depósitos de gorduras abdominais na mãe e nos filhotes (DANTAS, 2021).

2.2 A NUTRIÇÃO E SUA INFLUÊNCIA EM PERÍODOS CRÍTICOS DE DESENVOLVIMENTO:

É importante reconhecer o uso multidisciplinar do termo “período crítico”, já que na perspectiva biológica lhe estão inerentes às especificidades do nível considerado; Na embriologia, esses períodos referem-se a períodos limitados de desenvolvimento, onde no início das pesquisas para definir o que realmente era considerado um período crítico, investigadores chegaram a conclusão lógica de que o sistema biológico é amplamente maleável no início da vida (COLOMBO et al., 2019; LEITÃO & NEVES, 2017). Assim, os períodos críticos são marcados por fases de rápida proliferação e diferenciação celular, correspondendo à gestação, lactação e primeira infância (MORGANE et al., 2002) nos seres vivos.

O conceito de período crítico surge da ideia de que um determinado estímulo em uma determinada fase da vida de um organismo pode vir a acarretar efeitos mais severos do que se esse estímulo fosse aplicado em um outro momento (LEITÃO & NEVES, 2017). Isso denota que nesses períodos os órgãos e tecidos estão mais susceptíveis a danos e a outros estímulos ambientais (DOBBING, 1964). Um insulto ou outro estímulo ambiental quando aplicado num período crítico podem fazer com que o organismo modifique sua trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos (GLUCKMAN, HANSON e SPENCER, 2005).

Os processos adaptativos dos seres vivos compreendem alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais, permitindo a persistência à vida da população e das espécies (GRENIER; BARRE; LITRICO, 2016). Durante o período

perinatal, que engloba a gestação e o início da vida neonatal e é considerado um período crítico de desenvolvimento (LAURENTI & BUCHALLA, 1997), o mamífero precisa estabelecer um certo grau de autonomia, a fim de alcançar a independência e sobrevivência. Portanto, o organismo desenvolve mecanismos homeostáticos necessários para garantir a sua existência (HOET & HANSON, 1998). Porém, é importante salientar que as modificações ambientais podem afetar esses mecanismos homeostáticos, gerando efeitos no desenvolvimento que podem se prologar e acarretar impactos na saúde na vida adulta (HOET & HANSON, 1998).

A habilidade de um organismo em monitorar e responder às mudanças ambientais é imprescindível para a sobrevivência em habitats complexos (GILBERT, 2000). Sabe-se que o genótipo é o conjunto de genes de um indivíduo e o fenótipo é a expressão destes genes em um determinado ambiente (LIMA, 2017). Porém, essa expressão pode vir a mudar de acordo com diferentes condições ambientais, gerando uma variedade de fenótipos e repostando-se a hipótese da plasticidade fenotípica (LIMA, 2017). A plasticidade fenotípica consiste na capacidade dos genes em se organizar em diferentes intervalos de estados fisiológicos ou morfológicos durante os períodos de desenvolvimento, adaptando-se a diferentes condições e estímulos ambientais (JANG & SERRA, 2013). Com isso, a plasticidade permite que o organismo modifique sua trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos, podendo alterar a forma, o estado, o movimento ou padrão de atividade (WEST-EBERHARD, 1989).

Sem a plasticidade fenotípica, os genes e as imposições do ambiente não teriam efeitos e nenhuma importância para a evolução (WEST-EBERHARD, 2005). Os fatores ambientais que podem influenciar a expressão gênica dividem-se em fatores abióticos (por exemplo temperatura, vento etc.), e fatores bióticos (por exemplo interações sociais). Esses fatores podem vir a estimular toda a trajetória de crescimento e desenvolvimento de um organismo, agindo em qualquer momento após a fecundação (GARLAND, 2006).

Atualmente os conceitos da plasticidade fenotípica estão sendo descritas pelos pesquisados como a Origem desenvolvimentista da saúde e da doença (DOHaD). O DOHAD retrata a hipótese de que os fatores ambientais, na gestação, lactação e início da vida têm efeitos profundos sobre a vulnerabilidade às doenças mais tarde na vida (GLUCKMAN et al., 2010). Os estudos do DOHaD se basearam nas pesquisas epidemiológicas sobre o baixo peso ao nascer com o

maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares na vida adulta (BARKER, 1998; COLOMBO et al., 2019). Isso foi bastante fortalecido a partir da década de 90, onde os estudos sobre plasticidade ganharam um novo ímpeto com a criação da *Hipótese da Origem Fetal das Doenças do Adulto* de David Barker (BARKER et al., 1990; LEITÃO & NEVES, 2017).

Barker (1998) descreveu que devido a carência nutricional o feto pode adaptar-se durante a gestação, desencadeando redistribuição do fluxo sanguíneo, e adaptação na síntese de hormônios fetais e placentários influenciando o crescimento. Isto devido a uma programação fetal que altera a estrutura, a função e o metabolismo do organismo garantindo a sua sobrevivência, mas predispondo a maior prevalência de doenças metabólicas quando adulto (BARKER, 1998). A partir dessa hipótese foi emerso o consenso científico de que estímulos no início da vida, até mesmo *in utero*, podem deixar marcas duradouras na fisiologia de um organismo (STTETLER, 2007), além disso, a sub ou supernutrição em períodos iniciais de desenvolvimento possui uma maleabilidade ou capacidade de realizar mudanças a longo prazo no organismo (COLOMBO et al., 2019).

Para melhor entender os efeitos que a nutrição exerce em organismos em desenvolvimento, vários estudos experimentais com animais, principalmente roedores, foram formulados (JANG & SERRA, 2013). A partir de alguns modelos experimentais é possível concluir que a super ou subnutrição materna na gestação e lactação pode atuar como um mecanismo inicial de programação de desenvolvimento (KWONG et al., 2000; OBEN et al., 2010; WATKINS et al., 2008). Ademais, outros estudos apontam que a nutrição inadequada na gestação, lactação e primeira infância pode predispor os indivíduos, quando na fase adulta, à condições de doenças crônicas não transmissíveis como doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes tipo 2 (ARMITAGE et al., 2004; ARMITAGE; TAYLOR; POSTON, 2005; BARKER, 2007; TAYLOR; POSTON, 2007).

Modelos experimentais denotam que a superalimentação materna, contendo principalmente alimentos palatáveis, ricos em açúcares e gorduras caracterizando uma dieta de cafeteria e com padrão de consumo alimentar ocidental, é eficiente em promover acúmulo de gordura abdominal, resistência à insulina e outras alterações metabólicas (JACOBS, 2013; BEAUCHAMP, 2002; PLAGEMANN et al., 1999). Além disso, as dietas com alto teor de gordura, quando ofertadas durante a gestação e/ou

lactação, podem favorecer o crescimento somático e alterar a maturação do desenvolvimento do sistema nervoso da prole (FERRO CAVALCANTE et al., 2013).

2.3 CONSUMO DE DIETAS HIPERLIPÍDICAS E TIPOS DE ÁCIDOS GRAXOS EM PERÍODOS CRÍTICOS DE DESENVOLVIMENTO:

No útero, o crescimento adequado do embrião/feto é ditado pela disponibilidade de nutrientes na circulação materna e pela capacidade desses nutrientes em serem transportados através da circulação uteroplacentária onde serão absorvidos (BRETT et al., 2014). Além disso, a nutrição também exerce influência na capacidade lactacional da nutriz. Essa capacidade pode ser definida como a capacidade da mulher produzir leite e pode responder a mudanças circunstanciais como o aumento ou diminuição da ingestão alimentar (RASMUSSEN, 1992), ressalta-se que a composição do leite pode ser alterada de acordo com a dieta materna (BUTRUILLE et al., 2019). As repercussões fisiológicas ocasionadas por mudanças nutricionais na lactação podem ser explicadas pela programação metabólica, onde um insulto (no caso as alterações na ingestão alimentar) praticado nesse período crítico de desenvolvimento, resulta em alterações permanentes na estrutura e/ou função de um órgão ou função metabólica (RODRIGUES, 2019; SIMINO, et al., 2017).

A sub ou supernutrição materna está relacionada com as adaptações fisiológicas que visam garantir a sobrevivência, entretanto essas adaptações tornam o organismo mais susceptível ao desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta (OLIVEIRA, 2014). O menor consumo proteico *in útero* ou durante amamentação relaciona-se ao baixo peso em neonatos, visto que a reserva corporal e a alimentação materna são as principais fontes de nutrientes para o feto e recém-nascido (MILLER & ALEMÃO, 1999; PANTALEÃO et al., 2012).

A supernutrição com o consumo materno de dietas ricas em gordura influencia o crescimento embrionário/fetal e pós-natal em prole de roedores. Isso está diretamente ligado ao tempo de exposição à dieta, ao tipo e percentual de gordura, e ao período em que a dieta rica em gordura está sendo aplicada (CHRISTIANS et al., 2019; CHECHI & CHEEMA, 2006). A depender da composição da dieta, quando essa é excessiva somente em gordura sem aumento ou com diminuição do aporte de proteína acarreta efeitos negativos, diminuindo o

crescimento fetal e pós-natal de roedores (CHRISTIANS et al., 2019). Além disso, também é relatado na literatura alterações metabólicas relacionadas à glicose, o que é um fator de predisposição ao desenvolvimento da obesidade (VOGT et al., 2014).

Os efeitos da dieta hiperlipídica materna são bastante diversificados e variam de acordo com os protocolos experimentais, podendo aumentar ou diminuir o crescimento fetal ou não exercer efeitos em parâmetros de crescimento, isso pode depender da composição da dieta e do período da aplicação (CHRISTIANS et al., 2019). Além do aumento de gordura, o tipo de gordura também vai exercer influência nos parâmetros de crescimento da prole após o parto, surtindo efeitos na adipogênese (MENDES-DA-SILVA et al. 2013; PAGE et al., 2013).

Além das influências em parâmetros de crescimento e desenvolvimento, as dietas ricas em gorduras, principalmente as de padrão ocidentalizado (dieta rica em gordura saturada e trans, açúcares e sódio), quando aplicadas na gestação e lactação também desempenham papel na preferência alimentar da prole de roedores alimentados com esse padrão dietético (BAYOL et al., 2007). Bayol e colaboradores (2007) em seu ensaio experimental evidenciou que ratos nascidos de mães alimentadas com dieta hiperlipídica de padrão ocidentalizado desenvolveram uma preferência exacerbada por alimentos gordurosos, açucarados e salgados em comparação a filhotes de ratas alimentadas com uma dieta balanceada na gestação e lactação. Isso nos remete que não só aumento do teor de gordura, mas também a mudança na composição de ácidos graxos da dieta pode acarretar alterações no paladar e controle do apetite, além de mudanças no metabolismo energético e na função neuroendócrina da prole (KABARAN & BESLER, 2015; BAYOU et al., 2007).

Dietas ricas em gordura saturada são extremamente importantes no que diz respeito ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas não-transmissíveis (CHEECHI & CHEEMA, 2006). Quando aplicada em períodos de desenvolvimento, esse tipo de dieta pode desencadear alterações na função hepática, alterações no metabolismo lipídico e da glicose, podendo apresentar resistência à insulina e se tornar um risco para o desenvolvimento de obesidade, hipertensão e diabetes na vida adulta (LIANG; OEST; PRATER, 2009), no entanto, a dieta consumida pela prole após o fim da lactação também é importante e exerce efeitos diretos no metabolismo (CHEECHI & CHEEMA, 2006).

Ainda sobre a composição lipídica das dietas maternas e seus efeitos na prole, existem dados na literatura que reforçam a ideia de que os ácidos graxos

trans são maléficos no sentido de gerar comprometimento na gestação e gerar baixo peso e comprimento ao nascer (ELIAS & INNIS, 2000). Ademais, prole de ratas expostas a dietas ricas em ácidos graxos trans durante o início da vida pode apresentar alterações na expressão de genes relacionados ao hormônio insulina e isso pode acarretar alterações na sinalização do apetite, gerando hipofagia e podendo ter efeitos deletérios na vida adulta, mostrando-nos mais uma vez como a alimentação materna influi na programação metabólica de seus descendentes (ALBUQUERQUE et al., 2006).

Como já mencionado, a quantidade de gordura e o tipo de gordura consumida durante a gestação e lactação consegue modular o crescimento, desenvolvimento e saúde da prole. Na literatura não existem dados congruentes que apoiem modificações no consumo lipídico, exceto quanto ao consumo de ômega-3 (alfa-ácido linolênico- ALA) e seus derivados, sendo a suplementação de ácido docohexaeanoico (DHA) sugerida para gestantes (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2014; SILVA, 2018). No que tange o consumo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), ainda não há consenso literário para a relação adequada no consumo de ômega 6 e ômega 3 em gestantes e lactantes, mas sabe-se que a suplementação de até 200mg de DHA durante a gestação está associada a um bom desenvolvimento do sistema nervoso central e redução de riscos de partos prematuros (KOLETZKO et al.; NOGUEIRA-DEALMEIDA et al., 2014; SILVA, 2018).

Para roedores em fases de crescimento e desenvolvimento, como na gestação e lactação, a dieta AIN-93G oferta aproximadamente 4,8g de ômega 3 e 37,5g de ômega 6 por quilo de dieta, sendo essa quantidade adequada para esses períodos (REEVES et al., 1997). Com isto, esses AGs são considerados essenciais para diferenciação celular e ocorrência de sinapses no sistema nervoso central nas fases iniciais em desenvolvimento (CADENA-BURBANO, 2018). Em pesquisa experimental com roedores, estudiosos chegaram à conclusão de que uma dieta enriquecida com os AGs linoleico, linolênico e oleico aplicada na gestação e lactação garante um bom desenvolvimento do tecido cerebral, com foco nos processos de memória, aprendizagem e desenvolvimento locomotor (CADENA-BURBANO, 2018; NASCIMENTO, 2016). Além disso, também é importante destacar que a diminuição do consumo de PUFA em detrimento do aumento do consumo de SFA pode levar a inflamação hipotalâmica na prole de roedores no período gestacional e lactacional (BLOISE et al., 2019).

A utilização de dietas enriquecidas com MUFAs e PUFA durante períodos iniciais de desenvolvimento também se associa à redução de adiposidade e dos níveis séricos de leptina na prole, e melhor controle glicêmico nas genitoras e na prole (NASCIMENTO, 2016; SILVA, 2018). O melhor controle glicêmico em decorrência do consumo adequado desses tipos de AGs nesses períodos estaria associado a uma maior quantidade de ilhotas pancreáticas, indicando que os MUFAs e PUFA podem aumentar a neogênese no tecido pancreático (SIEMELINK et al., 2002). Por outro lado, um consumo excessivo de ômega-6 em detrimento de um menor consumo de ômega 3 relaciona-se com desfechos negativos no organismo em desenvolvimento, principalmente a redução na atividade anti-inflamatória (PERINI et al., 2010). Com isso, reforça-se mais uma vez que o tipo de ácido graxo da dieta materna durante os períodos críticos de desenvolvimento é um fator influente para um bom desenvolvimento fetal e pós-natal (MENNITTI et al., 2015).

2.4 DIETAS RICAS EM GORDURA E EFEITOS NO METABOLISMO E VIAS METABÓLICAS:

É bastante elucidado na literatura o papel da alimentação e nutrição na regulação das vias metabólicas, além de gerar diversas adaptações morfofuncionais, endócrinas, metabólicas e neurais (OLIVEIRA et al., 2002; LORENZETI et al., 2011). O metabolismo pode ser definido como o processamento de biomoléculas, podendo ser dividido em síntese (anabolismo) e degradação (catabolismo). Existe uma enorme diversidade de vias metabólicas, sendo as principais do organismo humano: glicólise, fosforilação oxidativa, via das pentoses, ciclo da ureia, síntese de aminoácidos e beta-oxidação dos ácidos graxos. Todas essas vias são influenciadas por diversos fatores e entre eles destaca-se o consumo alimentar e a composição da dieta adquirida (ALEIXO, 2014). Além do consumo alimentar, a restrição alimentar e o exercício físico vão exercer uma influência significativa nessas vias, através da modulação plasmática de diversos hormônios, principalmente insulina, estando intimamente relacionados à homeostase energética (OLIVEIRA et al., 2002; LORENZETI et al., 2011).

A insulina se relaciona com a regulação da homeostase metabólica, ingestão alimentar e composição corporal por conta de sua atuação envolvendo tecidos

periféricos e o sistema nervoso central. Esse hormônio atua inibindo circuitos neurais que estimulam a fome e o gasto energético, enquanto ao mesmo tempo ativa vias nos tecidos periféricos (incluindo fígado, músculo esquelético e tecido adiposo) envolvidas na assimilação e estoque de uma maior quantidade de energia ingerida (CANCELLO et al., 2004). Seus efeitos metabólicos imediatos incluem: aumento da captação de glicose, principalmente no tecido muscular e adiposo; aumento da síntese de proteínas, ácidos graxos e glicogênio; bloqueio da gliconeogênese, lipólise e proteólise (PAULI et al., 2009). É sabido que a composição corporal exerce influência em anormalidades na atuação do hormônio insulina, onde a ocorrência de padrões de hiperinsulinemia e simultaneamente resistência à insulina é bastante comum em pessoas portadoras de obesidade (PINHEIRO et al., 2006).

Atualmente as vias de sinalização da insulina têm sido bastante estudadas através de ensaios experimentais com roedores, sobretudo os fatores que podem vir a regular essas vias, como por exemplo a dieta e o exercício físico (PAOLI et al., 2019; PAULI et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2022). A sinalização intracelular da insulina começa com sua ligação com a proteína denominada receptor de insulina (IR), seguida da fosforilação de diversos substratos da IR em tirosina, criando sítios de ligação para a proteína fosfatidilinositol 3-quinase (PI3q), promovendo sua ativação. Com a PI3q ativada, ocorre o aumento da fosforilação da proteína quinase B (AKT) e isso permite o transporte de glicose no músculo e no tecido adiposo, através da translocação da proteína GLUT-4, permitindo a entrada da glicose nas células destes tecidos através de difusão facilitada (PAULI et al., 2009). Além disso, o tecido muscular mostra-se bastante plástico ao conseguir captar glicose independente da insulina através da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) através do decréscimo do estado energético celular, como ocorre durante o jejum e o exercício físico (PAULI et al., 2009).

A resistência à insulina (RI) é um estado fisiopatológico em que as células exibem uma capacidade de resposta reduzida à atividade hipoglicemiante da insulina, sendo que na maioria das vezes essa condição está associada à obesidade e, portanto, a um estado de balanço energético positivo (FAZARKELEY et al., 2019). No estado alimentado, o aumento da circulação de aminoácidos, ácidos graxos e glicose estimulam a secreção de insulina que vai atuar suprimindo a gliconeogênese hepática e a lipólise no tecido adiposo, diminuindo os níveis de glicose e ácidos

graxos no sangue; além disso, a insulina aumenta a síntese e armazenamento de gordura (CARVALHEIRA et al., 2002; FAZARKELEY et al., 2019). Todavia, sob certas condições, a exemplo do consumo crônico de dietas restritas em carboidratos e ricas em gordura, a RI surge como consequência do estresse intracelular que acarreta um transporte deficiente de glicose para tecidos como o músculo e tecido adiposo para priorizar o uso da glicose para tecidos específicos como o cérebro. Evidências sugerem que a RI no músculo e no tecido adiposo é resultado de um defeito na sinalização proximal da insulina que inibem ativação de proteínas quinases, sobretudo a AKT, sendo essa ativação imprescindível para o transporte da glicose estimulado pela insulina (CARVALHEIRA et al., 2002; FAZARKELEY et al., 2019; SUNMIN et al., 2011).

No que diz respeito aos efeitos da DC nas vias de sinalização da insulina, evidências sugerem que a captação de glicose ocorre principalmente através da ativação da AMPK, enquanto há redução das vias da AKT, tornando a proteína AKT um dos principais alvos de alterações metabólicas induzidas pela DC (PAULI et al., 2009). A AKT está envolvida em diferentes processos celulares, como crescimento celular, proliferação, apoptose, transcrição, angiogênese, migração e metabolismo da glicose e é ativada após muitos estímulos, entre os quais a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina são os de maior importância (SANDRI et al., 2013). Os efeitos da DC nas vias da AKT envolvem principalmente a produção de corpos cetônicos, visto que o betahidroxibutirato inibe diretamente a AKT e esse mecanismo pode acarretar RI temporária em tecidos como o músculo e coração, visando a preservação da glicose para o uso em tecidos exclusivamente dependentes, como o cérebro (PAOLI et al., 2019). Para mais, essa inibição pode afetar negativamente a massa muscular (PAOLI et al., 2019).

Demonstrações experimentais já evidenciaram que dietas ricas em gordura, como a DC, ocasionam um aumento significativo nos substratos bioenergéticos cerebrais, como ATP, creatina e fosfocreatina em animais alimentados com esse padrão dietético por no mínimo 3 semanas e que apresentavam um quadro de cetose crônica (NYLEN et al., 2009; NOH et al., 2004). Isso seria explicado graças à regulação positiva de neurotransmissores que codificam enzimas metabólicas e proteínas mitocondriais, existindo assim estudos que apoiam efeitos benéficos de um DC no metabolismo energético mitocondrial (SUSAN & JONG, 2012). Essas mudanças bioquímicas em decorrência do consumo da DC basicamente ocorrem

graças ao menor consumo de carboidratos que corrobora para uma menor secreção de insulina, fazendo o organismo entrar em um estado catabólico e favorecendo os processos de gliconeogênese (produção endógena de glicose) e cetogênese (produção de corpos cetônicos) (MASOOD, W.; ANNAMARAJU, P.; UPPALURI, K., 2022).

Os corpos cetônicos são substratos energéticos análogos à glicose e durante a cetogênese, devido a menor concentração plasmática de glicose, a liberação de insulina também diminui, o que reduz drasticamente o estímulo para armazenamento de gordura e de glicose. A cetose nutricional também vai favorecer a regulação positiva do metabolismo lipídico, contribuindo para a quebra de triglicerídeos em ácidos graxos, os quais serão metabolizados em acetoaceto, que posteriormente é convertido em beta-hidroxibutirato e acetona (MASOOD, W.; ANNAMARAJU, P.; UPPALURI, K., 2022). Enquanto o corpo for privado de carboidratos, o metabolismo é mantido em estado cetótico. Um fato interessante quanto as CC é que esses produzem mais ATP em comparação à glicose, 100g de acetoacetato geram 9.400g de ATP e 100g de beta-hidroxibutirato fornecem 10.500g de ATP; enquanto 100g de glicose produzem 8.700g de ATP. Isso permite que o organismo mantenha a produção eficiente de energia mesmo durante um déficit calórico (MASOOD, W.; ANNAMARAJU, P.; UPPALURI, K., 2022).

No entanto, no que diz respeito à composição dietética e efeitos na atuação da insulina, os resultados são controversos (PINHEIRO et al., 2006). Em relação ao perfil de macronutrientes da dieta, estudos relacionam o consumo de dietas hiperlipídicas com uma diminuição da concentração dos níveis de insulina plasmática (BECK et al., 2006; FISHER; COLOMBANI; WENK, 2004; HOLL; ALLEN, 1988). Ademais, o consumo de dietas ricas em gorduras associa-se a uma menor oxidação lipídica e valores que transparecem uma maior sensibilidade à ação da insulina, refletindo em um maior ganho de peso. Em contrapartida, dietas ricas em carboidratos, por aumentarem a glicemia, podem aumentar a insulinemia e consequentemente aumentar a captação e metabolização da glicose no tecido adiposo, favorecendo a lipogênese (síntese e estocagem de ácidos graxos na forma de triglicerídeos) (PINHEIRO et al., 2006).

Em modelos experimentais de indução à obesidade a partir de dietas hiperlipídicas, a RI é um achado comum (ANDRÉ et al., 2017; SUNMIN et al., 2011; ZIERATH et al., 2017). Em roedores, essa condição metabólica pode ser revertida a

partir da administração de insulina regular conforme peso corporal do animal, gerando aumento significativo da fosforilação das proteínas AKT, receptor de insulina 1 (IRS-1) e receptor de insulina beta (IRS- β), entretanto, essa reversão não ocorre em animais obesos (SUNMIN et al., 2011). Além disso, também a nível experimental com roedores, padrões dietéticos cetogênicos podem melhorar quadros de RI, principalmente a nível hepático. Isso aconteceria graças ao corpo cetônico β -hidroxibutirato, pois esse composto apresenta a capacidade de melhorar a homeostase da glicose em animais jovens/adultos (ANDRÉ et al., 2017).

Através da glicólise e lipogênese, a insulina também estimula a expressão do hormônio leptina no tecido adiposo (HAVEL, 2004). A leptina atua como um hormônio anorexígeno ao promover o decréscimo do consumo alimentar por sinalizar saciedade no cérebro a nível hipotalâmico (BRUNNER et al., 1997). Quando ocorre decréscimo na produção e atuação da leptina, desencadeia uma diminuição da expressão de fatores anorexígenos hipotalâmicos relacionados à sinais de saciedade e concomitante a isto, ocorre um aumento dos fatores orexígenos hipotalâmicos relacionados à fome e ao aumento da ingestão alimentar e energética (PINHEIRO et al., 2006). Assim, o consumo de dietas hiperlipídicas traz uma menor concentração de insulina plasmática, com consequente aumento nos desejos e fome, podendo contribuir para o aumento da hiperfagia. Isso é fortalecido pela diminuição da expressão de leptina, ocasionando menor saciedade e aumento da fome, outrossim, as dietas ricas em lipídios são mais palatáveis e de fácil mastigação, aumentando ainda mais o consumo energético (HABER et al., 2001; HAVEL, 2004).

A composição da gordura dietética advinda da dieta hiperlipídica pode interferir na gênese da obesidade e pode alterar diferentes atividades metabólicas (COELHO et al., 2011). A alta ingestão de gordura saturada, principalmente em dietas hipercalóricas, associa-se ao aumento no acúmulo de tecido adiposo (sobretudo o visceral) e isso ocorreria pelo aumento da atividade da enzima lipase lipoprotéica, enzima chave na deposição de gordura em vários compartimentos adiposos (RAVAGNANI et al., 2012). Além disso, dietas hiperlipídicas podem prejudicar a sensibilidade à ação da insulina unido ao comprometimento da função mitocondrial, por outro lado, a ingestão de gordura poliinsaturadas (ω -3 e ω -6) parece aumentar o gasto energético através de mecanismos específicos envolvendo a atuação da lipase hormônio sensível, enzima responsável pela

mobilização e degradação de triglicerídeos (COELHO et al., 2011; FRANCO, 2007). Para mais, o consumo de dietas ricas em gordura saturada também está intimamente relacionado com o desenvolvimento da Doença Hepática Gordurosa de Origem Não Alcoólica (DHGNA), ao promover um aumento imediato no acúmulo de gordura (tanto no tecido adiposo, como no fígado), bem como alterações no metabolismo hepático, sobretudo devido ao aumento dos níveis de triglicerídeos, resistência à insulina e aumento do hormônio glucagon, o qual é antagonista da insulina e proporciona um aumento da glicose sanguínea (HERNÁNDEZ et al., 2017).

Em períodos críticos de desenvolvimento, as dietas ricas em gordura podem influenciar no metabolismo energético hepático, isso ocorre porque o fígado durante o desenvolvimento fetal é muito vulnerável às alterações maternas, além de ser um órgão essencial no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (DHILLON & STEADMAN, 2012). Em experimentação com roedores foi visto que a restrição proteica durante a gestação e lactação associada ao consumo de uma dieta hiperlipídica pós-desmame exerce influência na bioenergética mitocondrial, ocasionando danos celulares no tecido hepático; Como: diminuição do número de mitocôndrias, aumento da oxidação de proteínas hepáticas e peroxidação lipídica (SIMÕES-ALVES et al., 2019).

É importante destacar que alterar a proporção de macronutrientes de uma dieta em prol de promover um aporte hiperlipídico acaba proporcionando um menor aporte protéico, e em períodos iniciais da vida isto acaba induzindo alterações permanentes em genes metabólicos nos tecidos hepático, adiposo e muscular e isso já foi comprovado através de ensaios experimentais com roedores (OLIVEIRA LIRA et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2022). Essas alterações também comprometem o metabolismo energético corpóreo ao diminuir a fosforilação de proteínas quinases responsáveis pelo transporte de glicose dependente de insulina em tecidos como o músculo e adiposo, de forma a preconizar o transporte de glicose para tecidos exclusivamente dependentes dela, como o cérebro (VASCONCELOS et al., 2022; FAZARKELEY et al., 2019).

No entanto, com relação a dietas com altíssimos teores de lipídios e baixas quantidades de carboidratos – como os padrões de composição cetogênica, apesar de prévios estudos com dietas cetogênicas durante a gestação e lactação, ainda é um campo de pesquisa pouco explorado, e com isso, as recomendações sobre a

utilização deste modelo dietético ainda é cautelosa, visto que a fase da lactação é considerada um período anabólico. No entanto este padrão dietético mostra-se bastante eficaz para a perda de peso nas nutrízes, denotando que a associação da dieta cetogênica na lactação ainda necessita ser analisado. A possibilidade de oferecer subsídios para a compreensão metabólica do consumo da dieta cetogênica na lactação sobre efeito na prole e sua associação com o DOHaD, compreende uma nova perspectiva para a pesquisa nessa temática.

3 HIPÓTESE

A dieta cetogênica rica em gordura saturada consumida durante a lactação ocasiona maior perda de peso nas ratas lactantes e menor consumo alimentar. Já na prole quando adulta de ambos os sexos há aumento de gordura (triacilglicerol) hepática, hiperlipemia sérica, intolerância à glicose e resistência à insulina, diminuição da expressão da proteína quinase B (AKT total) da via de sinalização da insulina no músculo esquelético, sendo as fêmeas mais propícias para a obtenção desses desfechos.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS GERAIS:

Avaliar os efeitos da dieta cetogênica durante a lactação sobre peso corporal e consumo alimentar das ratas nutrízes, e seus efeitos no perfil nutricional e fisiometabólico da prole adulto-jovem macho e fêmea.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

➤ Nas ratas lactantes:

- Acompanhar a variação do peso corporal no início e no fim da lactação;
- Quantificar o consumo alimentar e energético semanalmente.

➤ Na prole macho e fêmea submetida à dieta cetogênica durante a lactação:

- Quantificar o peso corporal e o consumo alimentar;
- Quantificar o teor de gordura no tecido hepático;
- Analisar os parâmetros bioquímicos séricos, os níveis de tolerância à glicose e à insulina, a concentração plasmática de glicose e a curva glicêmica da prole;
- Avaliar a expressão da proteína AKT total (proteína quinase B) envolvida na via de sinalização da insulina no músculo sóleo.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS:

Foram utilizadas 16 ratas *Wistar* nulíparas obtidas na colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Todos os animais foram mantidos em ambiente com ciclo invertido de luz (20:00 às 8:00) e escuridão (08:00 às 20:00 h), temperatura $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e com livre acesso à água e ração, mantidos em gaiolas de polipropileno (46cmx34cmx20cm) coberta com maravalha estéril. O projeto seguiu as normas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), de acordo com a lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, e as normas internacionais estabelecidas pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals* e foi submetido a Comissão de Ética em Uso animal (CEUA) da UFPE, tendo início após aprovação (CEUA- processo 0053/21).

Para obtenção de neonatos, foram acasalados animais machos e fêmeas nulíparas (proporção 1:2), não consanguíneos, com idade entre 90 e 120 dias. O diagnóstico de possível fertilização foi realizado através do teste de esfregaço vaginal com constatação do espermatozoide na secreção vaginal. A gestação foi confirmada por acompanhamento da evolução ponderal (COSTA et al., 2018). Com a confirmação da gestação, as ratas foram separadas dos machos e alojadas individualmente em gaiolas, e passaram a ter livre acesso à água e ração. Durante a lactação as ratas foram divididas em grupos de acordo com a dieta administrada *ad libitum*. Após o nascimento, as ninhadas foram compostas por 8 filhotes (machos:fêmeas). O desmame ocorreu aos 21 dias de nascidos, e os filhotes foram alojados em gaiolas coletivas (3 ou 4 animais por gaiola), separados de acordo com o sexo e formando grupos de acordo com a dieta recebida pelas genitoras. Após o desmame todos os filhotes (machos e fêmeas) passaram a receber dieta padrão de biotério (dieta comercial Nuvilab – Tabela 2).

5.2 DIETAS EXPERIMENTAIS:

As dietas utilizadas foram preparadas no Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED) do Departamento de Nutrição da UFPE - Campus Recife. A dieta

Controle usada durante a lactação foi a AIN-93G (3,6 calorias/g), dieta padrão para roedores em fase de crescimento (REEVES, 1997). A dieta experimental com baixo teor de carboidratos e alto teor de lipídios foi denominada dieta Cetogênica. A formulação da dieta experimental Cetogênica (5,4 calorias/g) foi baseada na dieta AIN-93G com alteração quantitativa dos ingredientes e da proporção dos macronutrientes, com acréscimo de fontes lipídicas, ricas em ácidos graxos saturados – Tabela 3, tornando-se uma dieta baixa em carboidratos (10% do valor calórico total), adequada em proteínas (19% do valor calórico total), e rica em lipídios (71% do valor calórico total). Após o desmame todos os filhotes passaram a receber dieta padrão de biotério (dieta comercial Nuvilab – Tabela 2).

Tabela 2 - Composição de Macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) da dieta AIN-93G, Cetogênica e Nuvilab®

DIETAS*	Proteínas (% kcal VET)	Carboidratos (% kcal VET)	Lipídios (% kcal VET)	VET (kcal/g)
AIN-93G	18	63	19	3,6
Cetogênica	19	10	71	5,4
Nuvilab® **	24	66	10	3,6

*Os cálculos da composição centesimal foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).

** Determinado pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985.

Tabela 3 - Distribuição de nutrientes na Dieta Cetogênica desenvolvida a partir da AIN-93g.

Ingredientes	Quantidade em gramas/100 gramas de dieta
Amido de milho (87%)	9,63
Caseína (80%)	29,00
Sacarose	5,00
*Manteiga sem sal	1,00
*Banha de porco	21,61
Óleo de soja (0,92)	7,00
Fibra dietética	5,00
Mix mineral	3,50
Mix vitamínico	1,00
Metionina	0,61

Bitartarato de colina	0,64
TBHQ	0,01
Total	100g

*Gordura saturada representa 33,9% das calorias advindas de gordura por 100g/dieta.

5.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS:

Os grupos experimentais foram formados de acordo com a dieta ofertada durante a lactação das ratas nutrizas. Os grupos experimentais foram: Grupo Controle (GC, n=8) no qual as ratas lactantes receberam dieta AIN-93G (GC; 3,6 cal/g) durante a lactação, Grupo Cetogênico (GK, n=8) no qual as ratas lactantes receberam dieta cetogênica durante a lactação. Após o desmame dos filhotes foram formados em 4 grupos de acordo com a dieta recebida por suas genitoras no período lactacional, mas diferenciados pelo sexo do animal. Assim: Grupo Controle Macho (prole macho – GCM); Grupo Controle Fêmea (prole fêmea – GCF); Grupo Cetogênico Macho (prole macho – GKM); Grupo Cetogênico Fêmea (prole fêmea – GKF). Após o desmame todos os animais dos diferentes grupos receberam dieta comercial Nuvilab até 90 dias de vida e foram submetidos a uma série de análises experimentais que serão mais bem descritas a seguir (Figura 2).

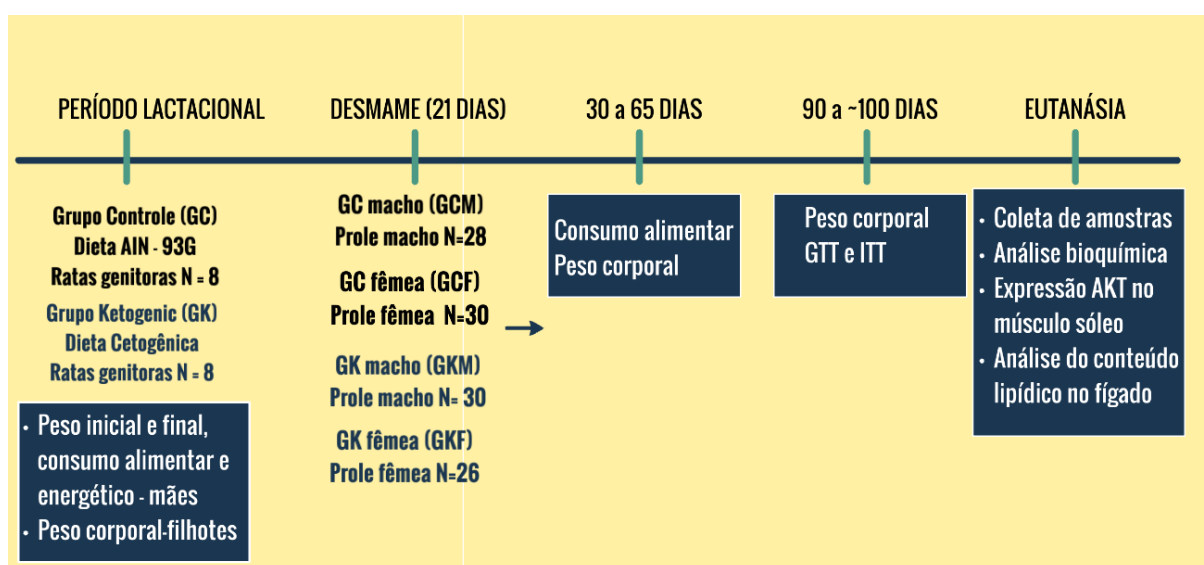


Figura 2 - Desenho experimental de acordo com os grupos, análises e dietas utilizadas.

5.4 ANÁLISES NAS RATAS DURANTE A LACTAÇÃO:

5.4.1 Peso corporal:

As ratas nutrizes foram pesadas durante a fase lactação, no primeiro e último dia respectivamente, no período da manhã entre as 7:00h e 10:00h. Para esse procedimento foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g) para a realização da pesagem.

5.4.2 Consumo alimentar:

Foi quantificada a ingestão alimentar das ratas nutrizes semanalmente durante todo o período lactacional desses animais (NERY et al, 2011). Os dados foram coletados no período da manhã durante 5 dias em cada semana, entre 7:00h e 10:00h, e para quantificação diária foi subtraída a quantidade de ração colocada na gaiola de cada lactante no dia anterior pela quantidade remanescente de ração na gaiola no momento da coleta. Em seguida, para determinação do consumo semanal, foi somado os dados dos 5 dias de coleta de cada rata, e por fim foi feito o cálculo do consumo alimentar semanal por grupo somando os dados das ratas de cada grupo, como descrito nas fórmulas abaixo. Para o cálculo do consumo energético utilizou-se os valores da quantidade da ração consumida, os quais foram multiplicados pelo valor energético de cada ração utilizada neste trabalho (Tabela 2). Foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g) para a realização da pesagem.

- Consumo alimentar diário de cada rata (CAD):

$$\text{Peso da ração inicial} - \text{Peso da ração final}$$

- Consumo alimentar semanal de cada rata (CAS):

$$\text{CAD dia 1} + \text{CAD dia 2} + \text{CAD dia 3} + \text{CAD dia 4} + \text{CAD dia 5}$$

- Ingestão alimentar semanal de cada grupo (CAS/GC ou CAS/GK):

$$\text{CAS GC1} + \text{CAS GC2} + \text{CAS GC3} + \text{CAS GC4} + \text{CAS GC5} + \text{CAS GC6} + \\ \text{CAS GC7} + \text{CAS GC8}$$

CAS GK1+ CAS GK2 + CAS GK3 + CAS GK4 + CAS GK5 + CAS GK6 + CAS GK7 + CAS GK8

5.5 ANÁLISES NOS FILHOTES:

5.5.1 Análises nos filhotes in vivo

5.5.1.1 Peso corporal e consumo alimentar:

Os filhotes foram pesados nas idades 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 e 21º dia de vida durante a lactação. Após o desmame a quantificação do peso dos animais foi obtida aos: 30, 60 e 90º dia de vida. Nas idades de 30 e 60 dias também foi quantificada a ingestão alimentar dos animais com a dieta comercial durante uma semana da mesma forma como foi realizado para as ratas lactantes. Foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g) para a realização da pesagem.

5.5.1.2 Testes de tolerância à glicose e à insulina:

Na idade de 90 dias de vida, os animais foram submetidos à dois testes de tolerância: teste de tolerância à glicose (GTT) e teste de tolerância à insulina (ITT), respectivamente, conforme protocolo de FINGER (2014), houve um intervalo de 5 dias entre os testes. Para o primeiro teste os animais foram mantidos em jejum por um período de 12h, então foi administrada uma solução de glicose 50% conforme peso corporal (2g/kg) via intraperitoneal, posteriormente foi medida a glicemia em diferentes pontos de tempo: 0', 30', 60', 90' e 120'. Para o segundo teste os animais foram mantidos em jejum por 4 horas, então foi administrada insulina regular conforme peso corporal (1,5 U/kg) via intraperitoneal, posteriormente foi medida a glicemia em diferentes pontos de tempo: 0', 15', 30', 45', 60'. As amostras de sangue para determinação da glicemia foram coletadas da veia caudal dos animais com auxílio de uma agulha estéril (cada animal possuiu uma agulha). Para a determinação da glicemia, foi utilizado um teste colorimétrico específico (Glicose Bioliquid, Laborclin, Curitiba, Paraná, Brasil).

5.5.2 Análises nos filhotes post mortem

5.5.2.1 Coleta de amostras:

Pouco mais de 100 dias pós-natal, os animais foram eutanasiados. Na idade pontuada no estudo os animais foram mantidos em jejum de 10 a 12 horas e decaptados por guilhotina (resolução normativa CONCEA nº 37, de 15.02.2018). Foram coletadas amostras sanguíneas, com auxílio de um funil, sendo acondicionadas em tubos tipo *falcon* estéril e identificados. As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3500rpm durante 20 minutos. Posteriormente, o soro obtido foi congelado em freezer -80°C para análises bioquímicas. Além disso, também foram retirados e pesados os seguintes órgãos: fígado, músculos sóleo e EDL, gordura abdominal e gordura retroperitoneal. Foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g) para a realização da pesagem. Para os resultados foi considerado o peso úmido e relativo dos órgãos.

5.5.2.2 Análise do perfil bioquímico:

Considerou-se o perfil bioquímico do animal o conjunto de resultados das avaliações dos níveis séricos de glicose, colesterol total, fração de colesterol HDL, fração de colesterol LDL, além dos triglicerídeos. Todas as análises foram realizadas em triplicata e através de ensaio colorimétrico de ponto final, seguindo as recomendações do fabricante (SPINELLI et al., 2014). A mensuração da absorbância foi realizada em espectrofotômetro de microplacas modelo EPOCH™ (BioTek®). Posteriormente foi obtida uma média entre as absorbâncias de cada amostra, quando foram convertidos em mg/dL, conforme indicado pelo fabricante. Para tais procedimentos, foram utilizados o Kit Glicose Liquiform (REF. 133), o Kit de Colesterol Liquiform (REF. 76), Kit de Colesterol HDL Liquiform (REF. 13), Kit de Colesterol LDL Liquiform (REF. 13) e o Kit Triglicérides Liquiform (REF. 87), respectivamente (Labtest, Lago Santa, Minas Gerais, Brasil).

O risco cardiovascular dos animais foi estimado pelo cálculo dos índices de Castelli, onde as razões lipídicas Colesterol Total/HDL-colesterol e LDL-colesterol/HDL-colesterol, correspondem aos Índices de Castelli I e II,

respectivamente, sendo esses preditores de doença aterosclerótica (LOPES et al. 2005; NOGUEIRA et al. 2021).

5.5.2.3 Expressão da proteína AKT da via de sinalização da insulina no músculo esquelético (Western Blotting):

As amostras de músculo esquelético (sóleo) foram homogeneizadas em tampão de extração (100 mM Tris base, pH 7,5, 10 mM EDTA; 100 mM fluoreto de sódio; 10 mM pirofosfato de sódio; 10 mM ortovanadato de sódio; 2 mM fenilmetilsulfonilfluoreto – PMSF; 0,01 mg/mL aprotinina), à 4 °C, por 30 segundos. Após homogeneização, Triton-X-100 à 1% foi adicionado e as amostras foram incubadas por 30 minutos a 4 °C. Foi separado e 5 µL serão utilizados para a determinação do conteúdo total de proteínas pelo método de *Bradford* (1976).

A reação colorimétrica e a absorbância foram determinadas a 595 nm no espectrofotômetro. Os resultados de absorbância obtidos foram utilizados no cálculo da equação da reta de uma curva padrão de albumina sérica bovina. Para elaboração da curva padrão de proteínas, foram utilizadas as seguintes concentrações (mg/mL) de albumina: 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 e 0,062.

Quantidades iguais (25 a 40 mcg) de proteínas de cada amostra foram diluídas em tampão *Laemmli* contendo ditioneitol (DTT) a 1 M. As proteínas foram separadas de acordo com o peso molecular utilizando a técnica de eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida. Após a separação, as proteínas do gel foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose. Posteriormente, as ligações inespecíficas foram bloqueadas incubando-as em uma membrana em solução salina (TBST) contendo 10 mM Tris, pH 7,5, 150 mM NaCl, 0,05% Tween 20, por 2 horas, contendo albumina na concentração final de 5% e a temperatura de 4 °C.

As membranas foram lavadas por 3 vezes (7 minutos cada) com solução salina (TBST) e então incubadas com anticorpo primário específico por 4 horas à temperatura de 4 °C em solução basal contendo albumina a 5%. Em seguida, as membranas foram incubadas com anticorpo secundário ligado a uma peroxidase, em solução salina (TBST), contendo albumina na concentração final de 3%, à temperatura ambiente, por 1 hora. As membranas foram lavadas novamente e então incubadas com solução contendo substrato para a peroxidase ligada ao anticorpo secundário e um amplificador quimioluminescente (ECL Western Blotting System Kit,

GE Health Care, Little Chalfont, Buckinghamshire, Inglaterra) por um minuto. A luminescência foi detectada pelo equipamento de captura de imagens ChemiDoc (*Biorad*). As bandas foram quantificadas por densitometria ótica utilizando programa Image J 1.37 (NIH, Wayne Rasband, Bethesda, Maryland, Estados Unidos).

Para a normalização dos conteúdos das proteínas de interesse, o valor obtido foi corrigido pela quantidade total de proteínas de cada amostra colocada no gel, conforme indicada pela coloração de *Ponceau* ou proteína constitutiva, e o valor foi então relativizado ao grupo controle.

Coloração das membranas com Ponceau:

As membranas de nitrocelulose foram submersas em uma solução de *Ponceau* (na concentração final de 0,1% de solução de *Ponceau* e de 1% de ácido acético glacial) imediatamente após a transferência das proteínas. Em seguida, as membranas foram lavadas para retirar o excesso de *Ponceau* e então as imagens foram obtidas pelo equipamento de captura de imagens ChemiDoc (*Biorad*) para futuras análises. As imagens do *Ponceau* foram quantificadas por densitometria ótica com auxílio do programa Image J 1.37 (NIH, Wayne Rasband). Os valores de cada coluna (poço) referentes a cada amostra foram mensurados e podem ser utilizados para normalização dos conteúdos das proteínas de interesse (ROMERO-CALVO, OCON et al. 2010; GILDA & GOMES 2013).

5.5.2.4 Análise ecipients e do conteúdo lipídico no tecido hepático:

Para a análise quantitativa do acúmulo de gordura hepática, houve a quantificação da fração lipídica de amostras de aproximadamente 1000 mg de tecido hepático foi extraído pelo Método de Folch (Folch et al., 1957). Neste método, as amostras de fígado foram homogeneizadas em 30ml de solução composta por clorofórmio e metanol na proporção de 2:1. A amostra foi homogeneizada com o auxílio de um cadinho, sendo o processo de trituração e homogeneização executado por 2 minutos e 30 segundos.

Após a homogeneização, a solução resultante foi filtrada, armazenada ecip proveta onde foi possível executar a leitura do volume resultante. À essa proveta, foi adicionado 20% do volume lido de uma solução de sulfato de sódio a 1,5%. Nesta

etapa, a solução de sulfato de sódio é usada para separação da fase aquosa da fase orgânica, sendo a fase orgânica corresponde ao extrato gorduroso do tecido. Então, foi descartada a fase aquosa, coletados 5 ml da fase orgânica e transferidos para ecipientes estéreis previamente pesados. Os ecipientes foram mantidos em estufa a $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos para evaporação da solução. Após esfriar em dessecador, o recipiente foi pesado novamente e verificou-se a quantidade de lipídios provenientes da amostra de fígado.

5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS:

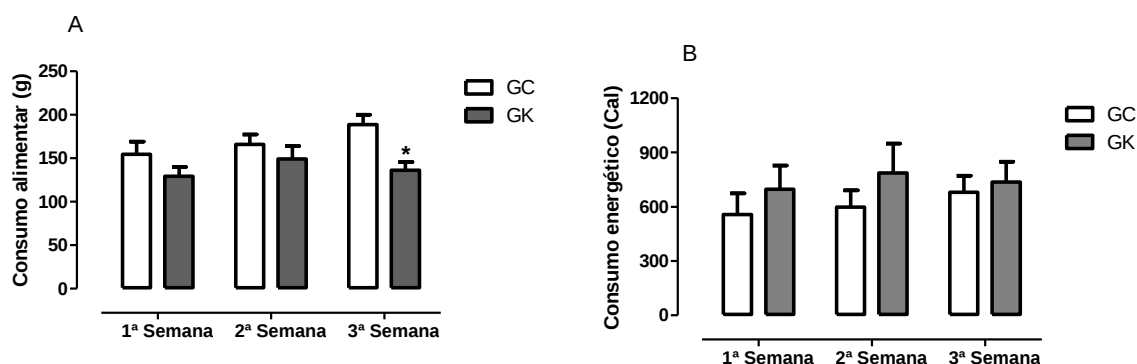
Os dados foram analisados estatisticamente através do software GraphPad Prism 5® (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Para analisar a distribuição normal dos dados, foi utilizado o teste Shapiro-wilk. Os dados foram apresentados em média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística do peso corporal e do consumo alimentar das ratas foi utilizado teste ANOVA *two-way* por medidas repetidas conforme as variáveis avaliadas e normalidade, seguido do *pos-test* de Tukey. Para análises entre os grupos controle (GCM, GCF) e cetogênicos (GKM, GKF), sem comparação entre os sexos, foram utilizados os testes ANOVA one-way e T. A análise na prole de acordo com os grupos (variáveis dieta e idade) foi realizado o teste ANOVA *two-way* por medidas repetidas conforme as variáveis e normalidade, seguido do *pos-test* de Tukey se determinada diferença entre os grupos. O nível de significância foi mantido em 5% ($P < 0,05$).

6 RESULTADOS

6.1 AVALIAÇÕES NAS RATAS LACTANTES:

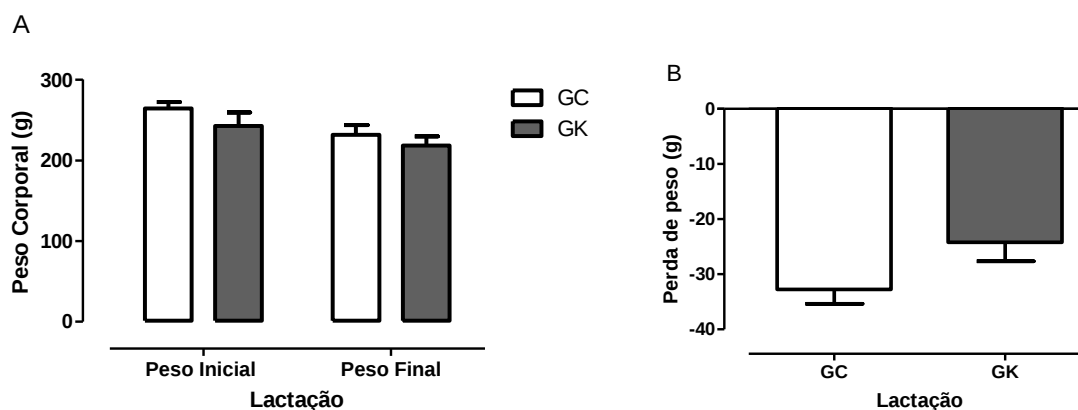
O consumo alimentar das ratas do GK foi menor na terceira semana de lactação em comparação às ratas do GC ($*p=0,004$) - Figura 3A. Entretanto, o consumo energético entre os grupos não apresentou diferença – Figura 3B ($p>0,05$). As figuras 4A e 4B, respectivamente, evidenciam o peso corporal inicial e final, e a variação do peso corporal das ratas durante a lactação. O GK não diferiu no peso corporal ($p>0,05$) e nem na perda de peso em relação ao GC (GC= $-27,63 \pm 3,88$; GK= $-13,00 \pm 5,00$; $p=0,08$).

Figura 3 - Consumo alimentar (A) e energético (B) das ratas submetidas à dieta cetogênica durante a lactação.



GC- Grupo Controle (n=6), GK- Grupo Cetogênico (n=5). Valores representam média $\pm$ desvio padrão. Consumo alimentar durante a lactação. ANOVA- two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Tukey, $*p<0,05$.

Figura 4 - Peso corporal (A) e evolução do peso (B) das ratas submetidas à dieta cetogênica durante a lactação.

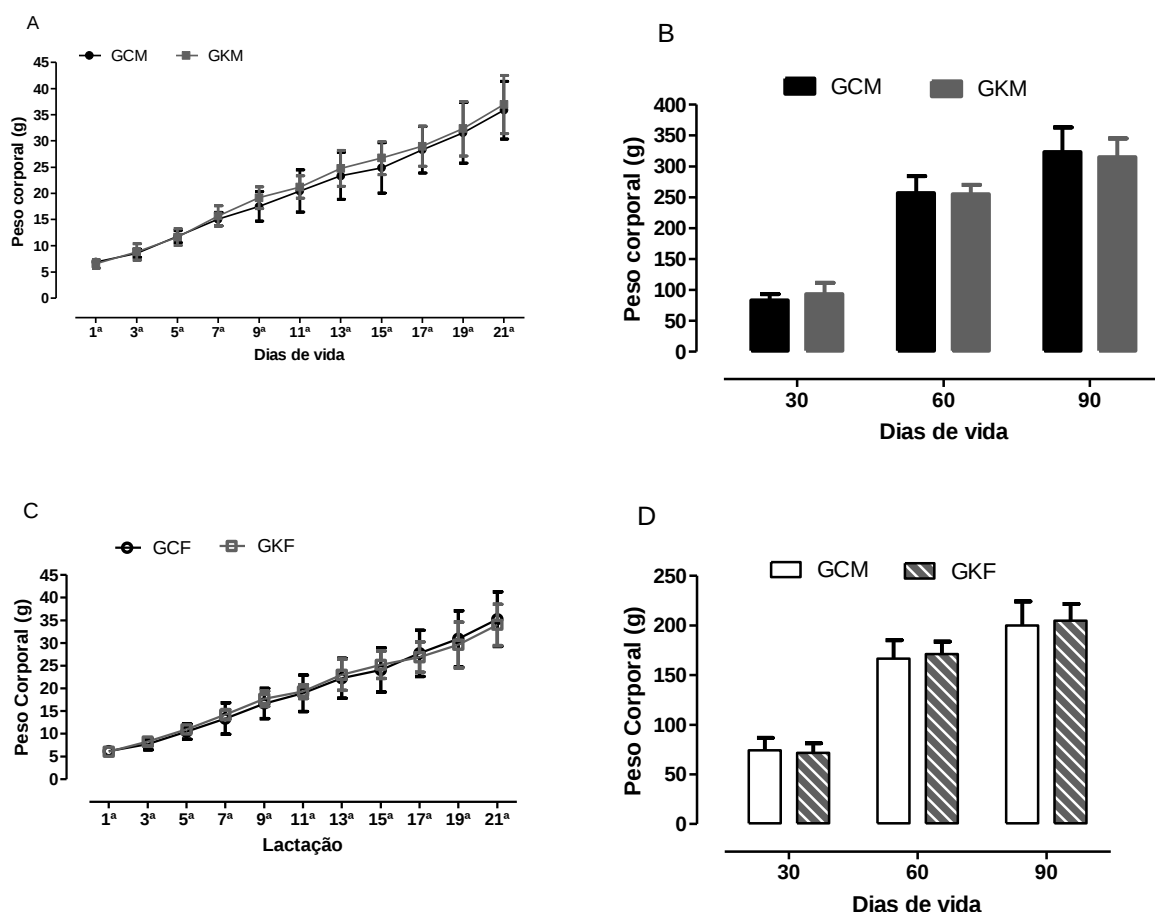


GC- Grupo Controle (n=6), GK- Grupo Cetogênico (n=5). Valores representam média $\pm$ desvio padrão. Para a análise do peso corporal no início e no fim da lactação foi utilizado o teste Two Way Anova RM seguido pós-teste de Tukey. Para a análise da perda de peso durante a lactação foi utilizado Teste T. Para os dois testes estatístico foram considerados $p < 0,05$.

6.2 ANÁLISES NA PROLE DURANTE E APÓS A LACTAÇÃO:

Os pesos corporais dos filhotes machos e fêmeas durante a lactação não apresentaram diferenças (Figuras 5A e 5C). As análises do peso corporal – nas idades de 30, 60 e 90 dias – também não apresentaram diferenças entre os grupos (Figuras 6B e 6D).

Figura 5 - Evolução de peso dos filhotes machos (A) e fêmeas (C) durante a lactação e peso corporal dos filhotes machos (B) e fêmeas (D) no período pós-lactação.

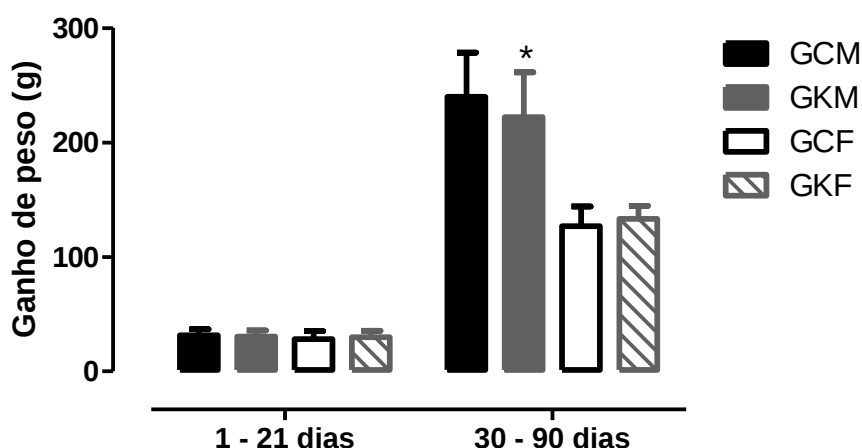


GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=28), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n= 30), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=30), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n= 26). Valores foram

expressos em média $\pm$ desvio padrão. Evolução de peso da prole durante e após o período lactacional. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-test de Tukey, $p>0,05$.

A figura 6 descreve o ganho de peso durante os períodos lactacional e pós-lactação dos filhotes machos e fêmeas. Não houve diferença estatística no ganho de peso do GKM em comparação ao GCM durante a lactação, porém o GKM apresentou menor ganho de peso em comparação ao GCM no período de 30 a 90 dias de vida pós-natal ($p^*<0,05$). Além disso, não houve diferença no ganho de peso das fêmeas, tanto no período lactacional, como no período pós-lactação – Figura 6.

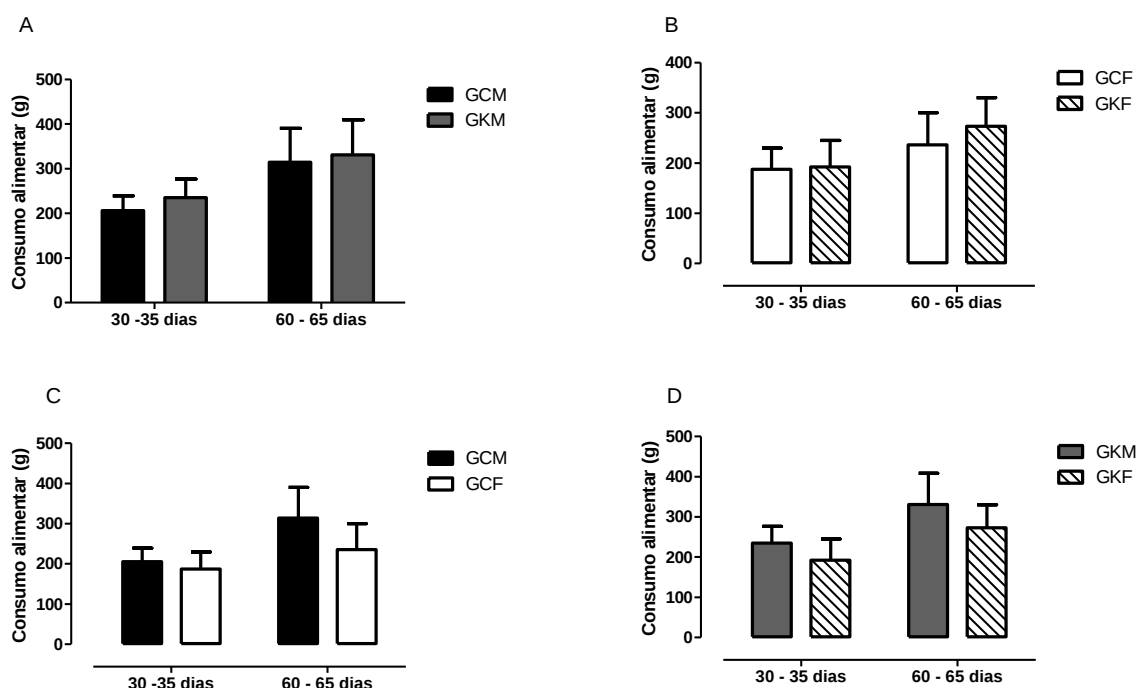
Figura 6 - Ganho de peso dos filhotes durante e após a lactação.



GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=28), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n= 30), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=30), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n= 26). Valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. Comparações entre os grupos: GKM vs. GCM e GKF vs. GCF. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do *pos-test* de Tukey, $*p<0,05$ entre GKM vs GCM.

A figura 7 (A, B, C e D) descreve a média de consumo alimentar dos grupos por períodos (30 a 35 dias e 60 a 65 dias de vida) de acordo com o sexo. Nos períodos avaliados tanto os machos quanto as fêmeas GK e GC não diferiram ($p>0,05$) – Figura 7A e B. Na comparação intragrupo entre os sexos também não houve diferença estatística – Figura 7C e D ($p<0,05$).

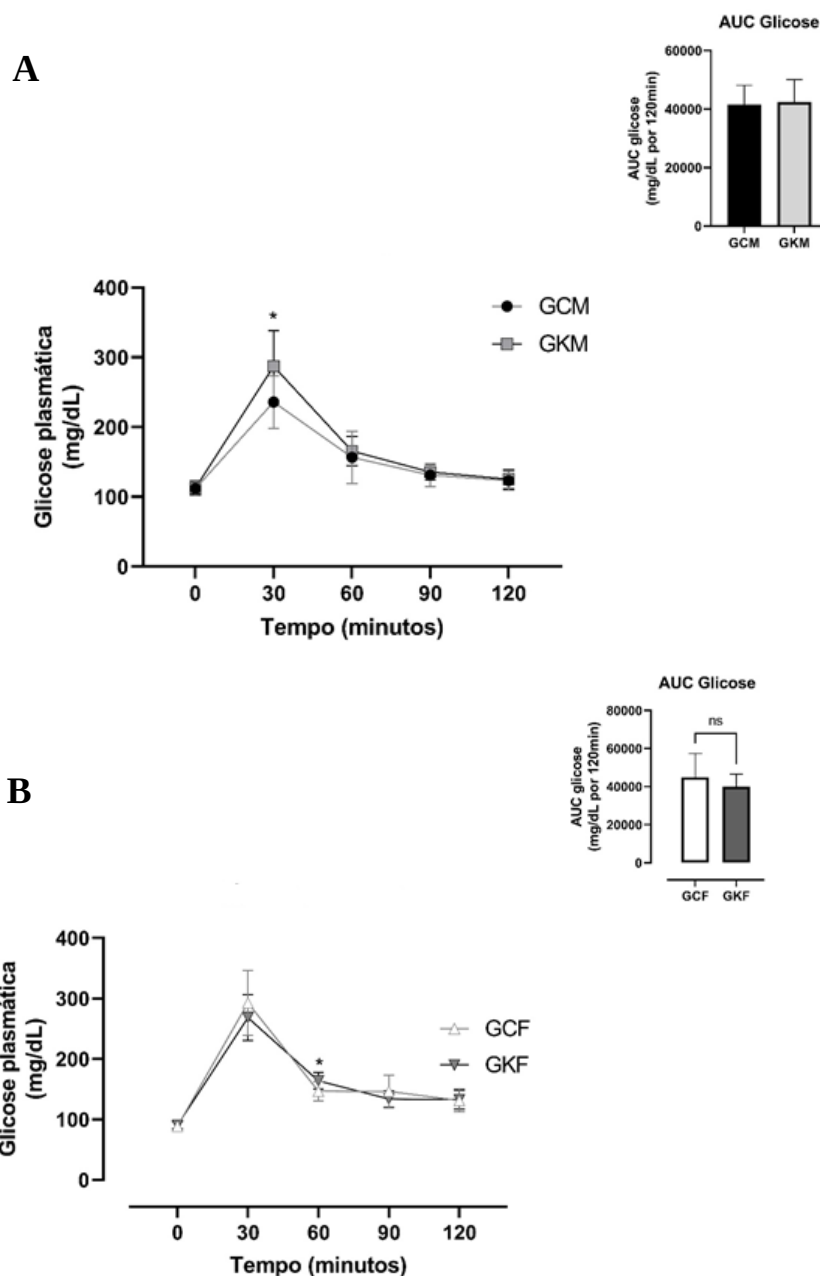
Figura 7 - Consumo alimentar médio dos filhotes aos 30 dias e 60 dias de acordo com o sexo.



A figura A descreve comparação por período entre GCM e GCF, a B descreve comparação por período entre GCF e GKF. As figuras C e D descrevem comparação intragrupo por período entre os sexos. GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=8), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n= 8), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=8), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n=5). Valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do *post-test* de Tukey, $p < 0,05$.

A partir dos 90 dias de vida, os filhotes de ambos os grupos foram submetidos aos testes de tolerância à glicose (GTT) e à insulina (ITT). Para as análises estatísticas foi mantida a mesma lógica comparativa, onde os filhotes machos foram analisados separadamente dos filhotes fêmeas. Acerca dos testes de tolerância à glicose, o GKM apresentou maior concentração de glicose plasmática no ponto de tempo de 30' em comparação ao GCM, porém ao analisar área sob a curva glicêmica do teste, foi visto que não houve diferença (GKM vs. GCM, $p = 0,68$) – Figura 8A. Já com os filhotes fêmeas, houve diferença estatística na concentração de glicose plasmática apenas no ponto de tempo de 60' ($p > 0,05$), onde o GKF apresentou maior concentração de glicose em relação ao GCF, além disso, não houve diferenças estatísticas ao analisar a área sob a curva glicêmica ($p = 0,09$) – Figura 8B.

Figura 8 - Curva glicêmica e área sob a curva (AUC) e referente ao teste de tolerância à glicose aplicados aos 90 dias de vida dos filhotes machos (8A) e fêmeas (8B).

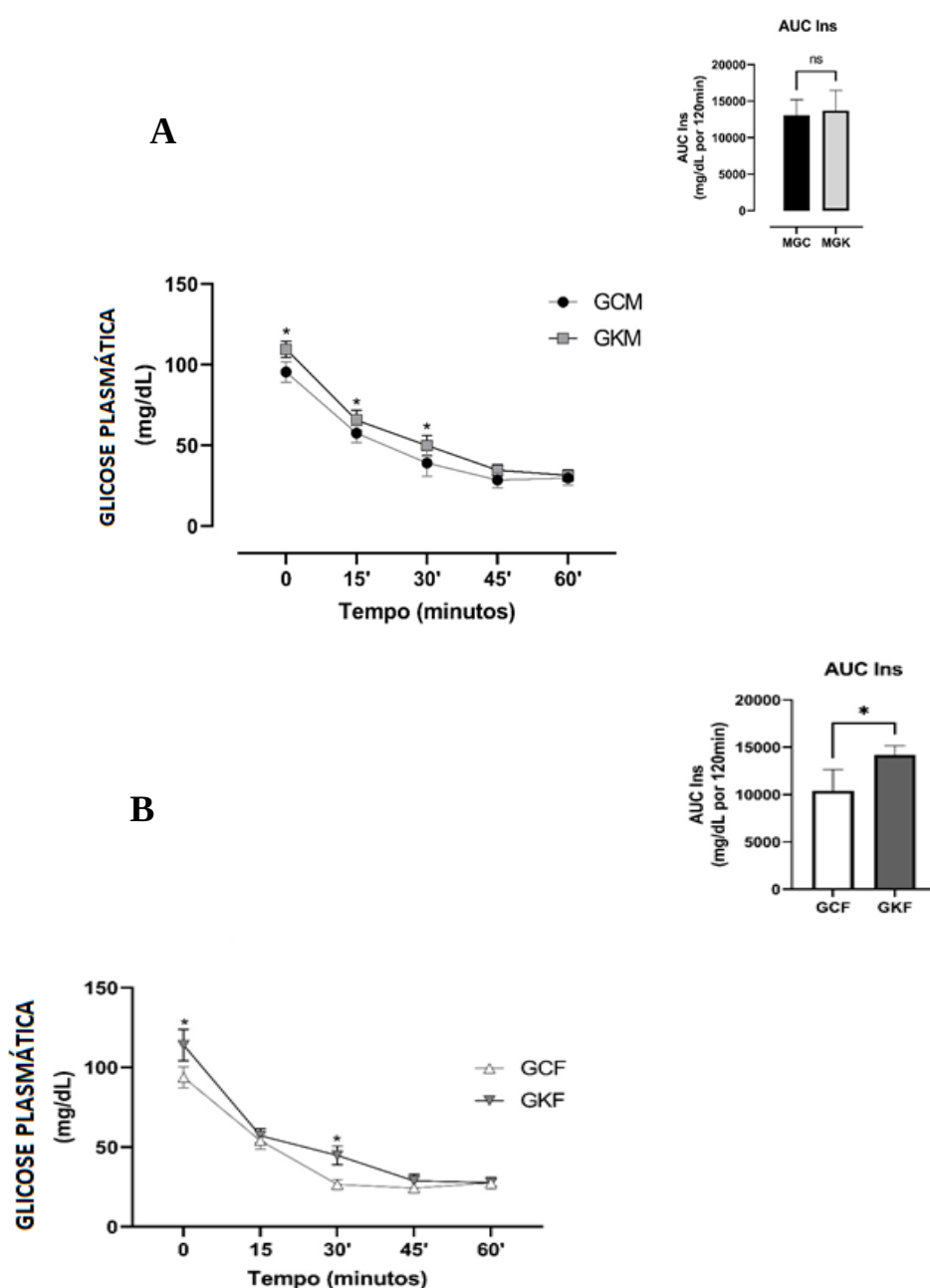


GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=27), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n=28), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=30), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n= 23). Valores foram expressões em média $\pm$ desvio padrão. Utilizou-se o Teste T na comparação estatística. Curva glicêmica referente ao teste de tolerância à glicose aplicado aos 90 dias de vida: * $p < 0,05$ - GKM vs. GCM ou GKF vs GCF.

No teste de tolerância à insulina, o GKM apresentou maior concentração de glicose plasmática em comparação ao GCM na maioria dos pontos de tempo analisados: 0', 15' e 30', todavia não foi suficiente para gerar diferenças estatísticas ao examinar a área sob a curva glicêmica (GKM vs. GCM, $p = 0,6965$) – Figura 9A. O

GKF apresentou maior concentração de glicose plasmática em comparação ao GCF em dois pontos de tempo: 0' e 30', sendo essa diferença significativa para também acarretar uma maior área sob a curva glicêmica (GKF vs, GCF, $*p= 0,0134$) – Figura 9B.

Figura 9 - Curva glicêmica e área sob a curva (AUC) referente ao teste de tolerância à insulina aplicado aos 90 dias de vida dos filhotes machos e fêmeas



GCM- Prole Macho do Grupo Controle (n=27), GKM- Prole Macho do Grupo Cetogênico (n=28), GCF- Prole Fêmea do Grupo Controle (n=13), GKF- Prole Fêmea do Grupo Cetogênico (n=13). Valores

foram expressões em média $\pm$ desvio padrão. Curva glicêmica referente ao teste de tolerância à glicose aplicado aos 90 dias de vida: GKM vs. GCM. Teste T, ***p<0,05**.

6.5 ANÁLISES NA PROLE *POST MORTEM*:

Na tabela 4 foram descritos os pesos úmidos dos órgãos da prole do GK e GC, os quais foram mensurados logo após a eutanásia dos animais. O peso úmido da gordura abdominal apresentou-se menor no GKM em comparação ao GCM ($p^*=0,029$), sendo essa a única diferença estatística encontrada no peso úmido dos órgãos ao analisar a prole macho de ambos os grupos. Já ao analisar a prole fêmea de ambos os grupos, foi evidenciado que o GKF apresentou maior peso úmido do fígado, gordura abdominal, músculos EDL e sóleo ($p^*<0,05$).

Tabela 4 - Peso úmido dos órgãos da prole submetida a dieta cetogênica durante o período lactacional

Grupos						
Peso úmido dos tecidos (g)	GCM	GKM	p	GCF	GKF	p
Fígado (g)	9,36 $\pm$ 0,92	8,81 $\pm$ 1,10	0,1292	5,17 $\pm$ 0,424	6,05 $\pm$ 0,68*	<0,01
Gordura abdominal (g)	3,46 $\pm$ 0,99	2,73 $\pm$ 0,77*	0,0299	2,46 $\pm$ 0,93	3,36 $\pm$ 0,29*	<0,01
Gordura retro-peritoneal (g)	3,47 $\pm$ 0,80	3,85 $\pm$ 0,91	0,2346	3,73 $\pm$ 0,97	4,29 $\pm$ 1,74	0,3014
EDL Esquerdo (g)	0,152 $\pm$ 0,03	0,153 $\pm$ 0,02	0,9526	0,080 $\pm$ 0,01	0,094 $\pm$ 0,02*	0,0103
EDL Direito (g)	0,149 $\pm$ 0,03	0,153 $\pm$ 0,01	0,6943	0,079 $\pm$ 0,01	0,093 $\pm$ 0,01*	0,0109
EDL Total (g)	0,301 $\pm$ 0,06	0,306 $\pm$ 0,02	0,4232	0,160 $\pm$ 0,02	0,187 $\pm$ 0,03*	<0,01
Soleo Esquerdo (g)	0,151 $\pm$ 0,03	0,144 $\pm$ 0,02	0,4454	0,086 $\pm$ 0,01	0,102 $\pm$ 0,02*	0,0355
Soleo Direito (g)	0,151 $\pm$ 0,03	0,144 $\pm$ 0,02	0,8164	0,080 $\pm$ 0,02	0,098 $\pm$ 0,01*	0,0128
Soleo Total (g)	0,302 $\pm$ 0,05	0,286 $\pm$ 0,04	0,3631	0,161 $\pm$ 0,03	0,201 $\pm$ 0,03*	<0,01

GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=17), GKM - Grupo Cetogênico - Prole Macho (n=15), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=15), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n=14). Valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. *GC versus GK na mesma idade e sexo iguais; Teste T. ***p<0,05**.

No que tange os parâmetros bioquímicos do soro sanguíneo da prole, o GKM apresentou maior concentração sérica de colesterol total, colesterol LDL e colesterol HDL em comparação ao GCM, já as concentrações séricas de glicose e triglicerídeos não diferiram entre os grupos. Na prole fêmea, o GKF apresentou menor concentração sérica de glicose e maior de triglicerídeos, os outros parâmetros bioquímicos não diferiram entre os grupos. Os índices de Castelli I e II não

apresentaram diferenças entre os grupos controle e cetogênico, de acordo com a comparação estatística entre os sexos (Tabela 5).

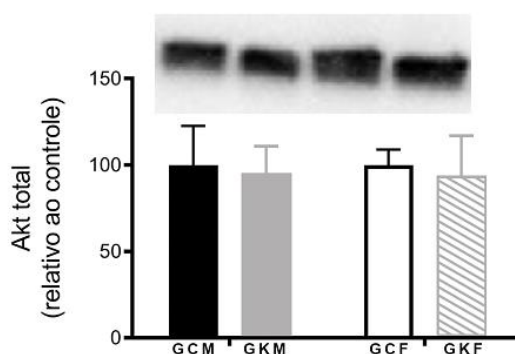
Tabela 5 - Parâmetros bioquímicos da prole submetida a dieta cetogênica durante o período lactacional

Parâmetros	Grupos			
	GCM	GKM	GCF	GKF
Colesterol total (mg/dL)	58,83±6,92	73,13±16,81*	65,98±11,44	72,65±13,35
Glicose (mg/dL)	155,1±24,2	140,0±27,4	134,6±21,5	113,9±18,4*
Triglicerídeos (mg/dL)	32,58±10,17	38,76±10,02	35,20±5,81	41,22±5,11*
Colesterol HDL (mg/dL)	35,51±5,24	42,79±10,32*	44,81±8,36	48,25±8,71
Colesterol LDL (mg/dL)	10,83±2,47	14,91±6,30*	10,68±2,17	10,17±3,82
Índice de Castelli I (Colesterol total/ Colesterol HDL)	1,66±0,02	1,71±0,03	1,47±0,01	1,50±0,01
Índice de Castelli II (Colesterol LDL/ Colesterol HDL)	0,30±0,01	0,34±0,02	0,23±0,01	0,20±0,01

GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=19), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n=17), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=12), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n=13). Valores foram expressos em média ± desvio padrão. *GC versus GK na mesma idade e sexo iguais; Teste T. *p<0,05.

A figura 10 mostra o resultado da análise estatística referente a expressão da proteína quinase B (AKT) envolvida na via de sinalização da insulina no músculo sóleo da prole. Como evidenciado na figura, não houve diferenças estatísticas entre os grupos (GKM vs. GCM e GKF vs. GCF, $p > 0,05$) - Figura 10.

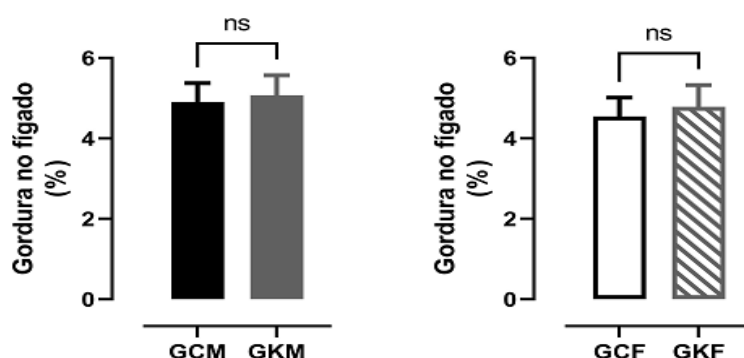
Figura 10 - Expressão da proteína AKT da via de sinalização de insulina no músculo sóleo da prole.



GCM- Grupo Controle - Prole Macho (n=7), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n=7), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=6), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n=7). Valores foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Expressão da proteína AKT: GKM vs. GCM e GKF vs. GCF. ANOVA-one way seguida do pós-teste de Tukey, $p > 0,05$.

Ao analisar a concentração (%) de gordura no fígado da prole, foi visto que não houve diferença estatística entre os grupos (GKM vs. GCM e GKF vs. GCF, $p = 0,4564$ e $0,3108$ respectivamente) – Figura 11.

Figura 11 - Concentração (%) de gordura no fígado da prole.



GCM- Grupo Controle - Prole Macho do (n=10), GKM- Grupo Cetogênico - Prole Macho (n= 10), GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=10), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n=10). Valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. Concentração (%) de gordura no fígado: GKM vs. GCM e GKF vs. GCF. Teste T de Student, $p > 0,05$.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou, por meio da hipótese de plasticidade fenotípica, a utilização de um modelo de dieta experimental com padrão cetogênico durante o período lactacional, o qual é considerado um período crítico de desenvolvimento, sobre a composição corporal, parâmetros bioquímicos, teor de gordura no tecido hepático, e expressão da proteína Quinase B (AKT) envolvida na via de sinalização de insulina no músculo esquelético da prole, entre os sexos. Esse modelo dietético proporcionou um aumento substancial de ingestão de gordura, principalmente do tipo saturada, durante todo o período lactacional com duração de aproximadamente 4 semanas.

A lactação é uma fase anabólica para a síntese do leite materno e o tipo de padrão alimentar materno está diretamente relacionado com a eficiência na produção do leite e a composição corporal das nutrizes. Assim, quando a amamentação é exclusiva há maior mobilização das reservas corporais materna garantindo as calorias e os nutrientes para a eficiência da lactação (SILVA et al., 2022; FALIVENE e ORDEN, 2017; THOEN et al., 2015; REHFELDT et al., 2012). Nossos resultados demonstraram em ambos os grupos uma acentuada perda de peso, mas a dieta cetogênica não contribuiu para um maior comprometimento ponderal. A lactação implica mudanças no meio endócrino materno, favorecendo uma perda de peso que é altamente variável e que sugere que não existe uma relação linear entre a amamentação e a perda de peso (FALIVENE e ORDEN, 2017).

O consumo de dietas hiperlipídicas e/ou hipercalóricas por ratas genitoras compromete a quantidade de ração ingerida, mas que ao analisar o consumo calórico essas apresentam equidade energética em comparação às ratas que consomem ração padrão (CADENA-BUBANO et al., 2019; KLEIN, 2016; CORDEIRO, 2017; KRETSCHMER, 2005; MELO et al., 2017). Estes dados são convergentes aos nossos por não diferir no consumo calórico, mas quantitativamente houve menor consumo da dieta cetogênica. Em parte, a redução do consumo alimentar pelas ratas do GK pode estar associada à elevada concentração de gordura da dieta cetogênica (DC) (KRETSCHMER et al., 2005), favorecendo uma maior saciedade nesses animais. Outrossim, devido à maior

quantidade de gordura, a DC é hipercalórica em comparação à dieta controle (5,4 calorias/g e 3,6 calorias/g, respectivamente).

Além do efeito sacietogênico em decorrência da grande quantidade de gordura em sua composição, a DC é caracterizada como uma dieta restrita em carboidratos, sendo assim, o seu consumo favorece uma maior síntese e utilização de corpos cetônicos, que em altas concentrações também podem aumentar a saciedade (ARASE, et al., 1988; MOURA, 2015). Sabe-se que o aumento da concentração plasmática desses compostos pode regular positivamente a via anorexígena, diminuindo assim os níveis do Neuropeptídeo Y (NPY) cerebral, o qual mantém a resposta da colecistocinina (CKK) à ingestão alimentar, diminuindo a concentração de grelina circulante e concomitante a isso, diminuindo a ingestão alimentar (PAOLI et al., 2015). Assim, a anorexia aumenta e diminui proporcionalmente ao grau de cetonemia (LIU et al., 2021).

No entanto, outros estudos mostraram efeitos contrários ao constatar que ratas alimentadas com dietas ricas em gorduras durante a lactação apresentaram peso e consumo alimentar significativamente maior que os animais do grupo controle (PAUL, 2017; WHITE, PURPURE & MORISSON, 2009). Evidências científicas apoiam a existência de um “ponto de ajuste” para o peso corporal em humanos e roedores, o qual pode levar a mudanças na ingestão alimentar e no gasto de energia de forma a estabilizar o peso em um nível especificado e resistir ao deslocamento deste (KEESEY & HIRVONEN, 1997; LIMA, 2017). Acredita-se que esses mecanismos podem explicar os efeitos da DC no organismo das ratas do GK, que ao serem expostas a uma dieta rica em gordura e mais calórica do que estavam habituadas, tenham diminuído a ingestão alimentar ao fim da lactação e conseqüentemente não tiveram alteração no peso corporal em comparação aos animais do grupo controle.

Unindo às explicações supracitadas, sabe-se que os mecanismos subjacentes que envolvem a perda de peso no período pós-parto em decorrência da amamentação implicam mudanças no meio endócrino que favorecem a lipólise no fígado e em tecidos periféricos, e a lipogênese no tecido mamário em prol do fornecimento dos substratos necessários para a biossíntese do leite, sendo esses mecanismos controlados principalmente pelos hormônios prolactina e insulina (FALIVENE e ORDEN, 2017). Acreditamos que esses mecanismos ocorreram de forma semelhante nas ratas de ambos os grupos, porém, agregando a esse fato, a

DC rica em gordura saturada pode ter exercido influência direta no metabolismo lipídico dos animais do GK, com possível aumento de citocinas pró-inflamatórias que geram falhas na ativação da lipólise, podendo não acarretar uma perda de peso tão acentuada no período pós-parto e durante o aleitamento materno (SILVEIRA, 2018). Nossos achados também vão em concordância com a hipótese de que a dieta cetogênica rica em gordura saturada, apesar de ser dislipidêmica, não necessariamente induz à obesidade em lactantes (PINHEIRO, et al., 2019).

O modelo de origem desenvolvimentista de saúde e doença (DOHaD) sustenta a ideia de que o consumo de dietas desbalanceadas em macronutrientes, micronutrientes e em calorias durante períodos críticos de desenvolvimento, como o período lactacional, podem predispor ao desenvolvimento de estados de doença mais tarde na vida, incluindo interferências no crescimento somático, mudanças no peso corporal e até desenvolvimento de síndrome metabólica (LIRA et al, 2020). Associando esta hipótese aos nossos resultados observamos alterações fisiometabólicas na prole pela DC aplicada na lactação, mas que não influenciou na massa corporal dos filhotes logo após o nascimento, entretanto ocasionou menor ganho de peso nos filhotes do GKM entre os 30 e 90 dias de vida.

Alguns modelos experimentais com dieta rica em gordura durante períodos críticos de desenvolvimento confrontam nossos resultados por ter induzido um aumento de peso corporal e um maior percentual de ganho de peso na vida adulta (CADENA-BURBANO, 2019; DANTAS, 2021; PEREIRA et al., 2018; OLIVEIRA, 2010). É amplamente discutido na literatura que as dietas desequilibradas, como a DC, quando aplicadas em períodos críticos de desenvolvimento pode levar a uma prole menor ou sem alteração no peso corporal, seguido de rápido crescimento, corroborando a ocorrência do *efeito Catch-Up* (TORUN et al., 1999; DESAI et al., 2005; DAI et al., 2012). A presença de retardo de crescimento durante o consumo de dietas com menores quantidades de carboidratos é bem documentada através de estudos com humanos e roedores que se concentram na presença de retardo de crescimento (SILVA, 2022; KIM et al., 2013).

Como demonstrado, este efeito não ocorreu na prole em nosso estudo, dado que os filhotes machos e fêmeas do GK apresentaram peso e ganho ponderal normais durante a lactação, entretanto o GKM apresentou menor ganho de peso em comparação ao GCM no período 30 a 90 dias de vida. A literatura evidencia que quanto maior o tempo de consumo da dieta restritiva, maiores são as chances para

a ocorrência do *Catch-Up* (KIM et al., 2013). Em nosso experimento a lactação foi o período de intervenção dietética e constatou-se que alguns resultados apresentaram efeitos contrários pelo consumo da DC entre os sexos (FERNANDES, 2016).

Apesar de sua importância a nível biológico, as fêmeas têm sido pouco utilizadas nas pesquisas experimentais e geralmente isto ocorre em função das alterações hormonais causadas pelo ciclo estral, que pode ser uma variável de difícil controle e interfere nos resultados do estudo (FERNANDES, 2016; PRENDERGAST, ONISH e ZUCKER, 2014). No que concerne a perda e o ganho de peso entre machos e fêmeas, esses mecanismos podem apresentar relação com fatores evolutivos (mutações, recombinações gênicas etc.), em razão dos estoques energéticos dos machos apresentarem maior capacidade de mobilização por estarem principalmente nos depósitos viscerais. Enquanto as fêmeas possuem maior resistência a perda de estoques energéticos mediante situações restritivas, uma vez que seu tecido adiposo subcutâneo é mais adaptado ao armazenamento em longo período (SOUZA, 2020).

Como já descrito, os machos do GK apresentaram menor ganho de peso pós-natal, menor peso de gordura abdominal e músculo sóleo em relação ao GCM, enquanto as fêmeas não obtiveram esse mesmo resultado. Um fato que poderia explicar esses resultados é que um dos principais mecanismos de deposição adiposa no organismo dos machos envolve o armazenamento entre os tecidos viscerais (PALMER & CLEGG, 2015). Para mais, esse tecido está diretamente relacionado com a resistência à insulina e a atividade lipolítica neste tecido também é capaz de aumentar a quantidade de ácidos graxos circulantes, que podem gerar um aumento na produção hepática de glicose, hiperinsulinemia e outros componentes da síndrome metabólica (SOUZA, 2020; SHULMAN, 2014). Como evidenciado, o GKM apesar de não ter apresentado maior peso úmido da gordura abdominal, apresentou maior concentração de glicose plasmática na maioria dos pontos de tempo do teste de tolerância à insulina (ITT), e maior concentração sérica de componentes lipídicos no soro sanguíneo em relação ao GCM, resultados esses que discutiremos melhor mais à frente.

As fêmeas do GK não diferiram no peso corporal e no ganho de peso em relação ao grupo controle (GCF), mas foi possível identificar maior peso do fígado, maiores quantidade de gordura abdominal e peso dos músculos (sóleo e EDL). Estes resultados foram decorrentes de uma intervenção com a dieta cetogênica

apenas durante a lactação, visto que após o desmame estes animais receberam dieta padrão (comercial-Nuvilab). Nos períodos de avaliação do consumo alimentar pós-lactação os grupos não diferiram.

A composição da dieta administrada durante a gestação e/ou lactação também interfere de maneira direta no ganho de peso da prole na vida pós-natal, os efeitos variam de acordo não só com o % de macronutrientes, mas também com a qualidade nutricional das fontes alimentares (FRANCO, 2007; OLIVEIRA, 2010). Dissemelhante de nosso modelo dietético, estudos que compararam diferentes composições lipídicas, como a administração de rações enriquecidas com ácidos graxos insaturados e pouca ou nenhuma adição de banha de porco, os animais não apresentaram aumento significativo de peso corporal, além de alguns terem apresentado perda de peso (KLEIN, 2016; CINTRA, et al., 2012). É importante salientar que o resultado de menor ganho de peso do GKM pôde ser observado na ausência da hipofagia, uma vez que não houve diferença na ingestão alimentar pós-natal em nenhuma das idades pontuadas em nosso estudo.

Diferente dos nossos achados, estudos experimentais constataram que a ingestão precoce a dietas ricas em gorduras causa adaptações no hipotálamo programando os mecanismos envolvidos no controle da ingestão alimentar que é dependente substancialmente do tempo de exposição à dieta (SUMITRAN, 2013; PAOLI et al., 2013). Evidências apoiam uma ação direta dos corpos cetônicos nos níveis hormonais que influenciam no apetite, principalmente os níveis de grelina (PAOLI. et al, 2013); neste mecanismo anorexígeno, com o aumento dos ácidos graxos circulantes no período pós-prandial, conseqüentemente ocorre a redução do NPY e da grelina circulante, e concomitantemente ocorre diminuição do consumo alimentar (PAOLI et al., 2015).

Dada a controvérsia a respeito da ligação da DC e mudanças na concentração da glicose plasmática e sensibilidade à insulina, analisamos a tolerância à glicose e à insulina dos animais aos 90 dias de vida de forma a entender essa relação. A resistência à insulina (RI) é o elo patogenético subjacente às diferentes anormalidades metabólicas agrupadas na síndrome metabólica (BARRET & GIBBLE, 2018), sendo um estado metabólico complexo que afeta a utilização de energia e estimula a deposição de gordura ectópica em órgãos não adiposos como o músculo esquelético, coração e o pâncreas (GERSHUNI et al., 2018). Entre esses fatores que desencadeiam a RI, destaca-se o consumo de dietas com grandes

quantidades de energia e gordura, principalmente gordura saturada, que se associa positivamente ao excesso de peso e diminuição da sensibilidade à insulina (GRANDI et al., 2018), além disso, a sensibilidade à insulina também pode ser afetada em indivíduos geneticamente predispostos a obesidade (MARSHALL et al., 1997).

A maior parte dos dimorfismos sexuais que estão relacionados à diabetes e obesidade em humanos também são encontrados em modelos animais, tornando imprescindível a utilização de animais de ambos os sexos em pesquisas experimentais (SOUZA, 2020). Como supracitado, a maior deposição de gordura visceral predisposta em pessoas e animais do sexo masculino possui relação direta com a RI (SHULMAN, 2014). Ademais, dados literários sugerem que as fêmeas, por meio dos estrógenos e de seu padrão adiposo subcutâneo, possuem certa proteção contra a intolerância à glicose e à insulina (SOUZA, 2020). Apesar das fêmeas do GK terem apresentado maior pico de glicose plasmática em alguns pontos de tempo durante a aplicação dos testes e maior AUC no *ITT* em comparação ao GKF, consideramos os machos do GK com uma piora glicêmica mais acentuada em defluência do consumo da DC no período lactacional, com aumento de picos glicêmicos na maior parte dos pontos de tempo de aplicação dos testes em comparação ao GCM, sobretudo no *ITT*.

A composição de macronutrientes da dieta, o tempo de exposição e o período de aplicação da intervenção dietética podem interferir na secreção insulínica pancreática, em estado de jejum ou pós-prandial, independente da composição corporal (VOLP et al., 2006). Diante disso, estudos anteriores que também avaliaram a concentração de glicose plasmática mediante aplicações de testes de tolerância observaram que a dieta rica em gordura, principalmente com maior percentual de ácido graxo saturado (OLIVEIRA, 2010; (BATCH et al., 2020; GRANDI et al., 2018; SINITSKAYA et al., 2020) e simultaneamente pobre em carboidratos pode diminuir a sensibilidade a insulina e aumentar a concentração de glicose plasmática, aumentando principalmente os valores glicêmicos de jejum (BATCH et al., 2020; GRANDI et al., 2018; SINITSKAYA et al., 2007), o que corrobora aos nossos resultados.

A ingestão de gordura saturada também está associada a danos mitocondriais e nas membranas celulares, favorecendo a produção de malonil-coA, o qual reduz a eficiência do transportador de glicose GLUT-4 (COELHO et al., 2011). Em consonância com os nossos achados, Gómez-Perez e colaboradores (2011)

observaram que os efeitos negativos da dieta hiperlipídica sobre o controle glicêmico são maiores em ratos *Wistar* machos do que em fêmeas.

Em um modelo experimental que utilizou dieta hiperlipídica durante o período perinatal, Oliveira (2010) mostrou que descendentes de ratas alimentadas com uma dieta rica em gordura do tipo saturada durante toda a gestação e lactação apresentaram alterações na glicemia e insulinemia quando adultos, destacando que a composição da dieta rica em ácidos graxos de cadeia saturada promove um efeito deletério nas células betas pancreáticas (OLIVEIRA, 2010). Outro estudo concluiu que a qualidade da gordura dietética é fator singular no desenvolvimento de anormalidades plasmáticas, como o aumento da concentração de glicose, destacando que os ácidos graxos mono e poliinsaturados além de não alterarem os níveis de glicose, ainda possuem a capacidade de reduzir a pressão arterial diastólica (RICCARDI et al., 2004).

Dietas ricas em gordura aplicas em períodos críticos de desenvolvimento comprovadamente se associam com o aumento da gordura corporal, sendo isso já demonstrado em modelos experimentais com macacos, cães, suínos, esquilos, hamsters e ratos *Wistar* (WEST & WORK, 1991), além da ocorrência de anormalidades metabólicas (BUCKLEY et al., 2005). Um estudo experimental em camundongos machos demonstrou que o consumo da DC está associado ao aumento da expressão do mRNA do SIRT-1 (Sirtuínas-1) no tecido adiposo visceral. SIRTs são sensores celulares dependentes de nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD⁺) associados ao controle do metabolismo energético mitocondrial. Assim, quanto maior é a expressão do mRNA do SIRT-1 menor é a deposição de células adiposas no tecido adiposo branco (gordura visceral) e muscular (TOZZI et al., 2022). Isto corrobora com nossos resultados no GKM por apresentar menor quantidade de tecido abdominal e redução do peso do músculo sóleo.

Os animais machos são metabolicamente mais ativos e sensíveis a lipólise ao consumir dietas balanceadas em macro e micronutrientes, o que pode relacionar-se com uma maior facilidade de perder gordura corporal (PALMER & CLEGG, 2015). Já as fêmeas, em situações energéticas normais, tendem a incorporar AGL na forma de triglicerídeos, aumentando a adiposidade corporal, enquanto os machos tendem a oxidar os AGL circulantes (SOUZA, 2020). Acreditamos que os animais do GKM tenham diminuído sua gordura visceral ao adaptar-se metabolicamente ao consumo da ração Nuvilab, adequada para fases de manutenção em roedores.

Já nas ratas do GK acredita-se que este efeito tenha sido anulado devido aos hormônios sexuais. Em estudo com camundongos fêmeas sobre a utilização em curto prazo DC, observou-se aumento do tecido adiposo, depleção do glicogênio no músculo gastrocnêmio e acúmulo de triglicerídeos em alguns órgãos (HOLCOMB et al., 2021). Dados literários sugerem que as fêmeas, por meio dos estrógenos e de outros hormônios sexuais podem influenciar os resultados de peso e composição corporal e aumentar a variabilidade (HOLCOMB et al., 2021; BEERY, 2018).

O estrogênio promove o armazenamento de triglicerídeos pelo aumento a secreção de insulina e aumento da sensibilidade dos tecidos-alvo, impedindo a oxidação de ácidos graxos. Assim, a insulina promove o armazenamento de combustíveis metabólicos, inibe a degradação dos triglicerídeos armazenados e reduz os níveis circulantes de glicose e ácidos graxos livre (KEITH ET AL., 2020; SOUZA, 2020). De maneira semelhante, a sobrecarga lipídica também pode ocasionar hipertrofia e hiperplasia nas células do tecido muscular, sobretudo nos tecidos que são mais responsivos à ação de hormônio anabólicos, como os músculos sóleo e gastrocnêmio (FRANCISCHI et al., 2002); assim, podemos relacionar ao maior peso dos músculos analisados neste estudo no GKF. Nossos resultados convergem com estas informações pois os animais do GKF promoveram maior área sob a curva glicêmica no teste de tolerância a insulina, maior triglicerídeo sérico e tecido adiposo visceral, e menor glicemia em comparação ao GCF. Entretanto, não foi observado alterações entre os grupos com relação ao percentual de gordura hepática sendo necessários mais estudos para descrever melhor este fenômeno.

A composição da dieta ofertada em fases críticas de desenvolvimento é um fator singular para a ocorrência de mudanças nos parâmetros bioquímicos (COELHO et al., 2011; OLIVEIRA, 2010; GRESLLER, 2013). Para compor nossa dieta cetogênica utilizamos banha de porco para aumentar a quantidade de ácidos graxos saturados da dieta, o que poderia explicar o aumento da concentração de HDL do GKM em comparação ao GCM, pois evidências experimentais sugerem que os ácidos graxos saturados oriundos de gordura de porco ocasionam aumento significativo da fração HDL em animais (BORBA, 2008; GRESLLER, 2013; PEREIRA et al., 2018). Além disso, a dieta rica em gordura quando associada à redução na oferta de carboidratos induz o aumento da circulação de colesterol total, colesterol HDL, pode promover o aumento de peso e aumentar o risco de desenvolvimento de

aterosclerose (BORBA, 2008). As razões lipídicas Colesterol Total/HDL-colesterol e LDL-colesterol/HDL-colesterol, conhecidos como Índices de Castelli I e II, respectivamente, são preditoras de doença aterosclerótica e considera-se valores referenciais normais para Índices de Castelli I < 5,1 e Índices de Castelli II < 3,3 (LOPES et al. 2005; NOGUEIRA et al. 2021). Não identificamos valores anormais para os índices de Castelli em nenhum dos grupos analisados, além de não ter havido diferenças estatísticas entre os grupos. Ademais, dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados aplicadas no período pré ou pós-natal podem ocasionar baixas concentrações de colesterol total e colesterol LDL (BUCKLEY et al., 2004; CHECHI & CHEEMA, 2006).

Ainda sobre os parâmetros bioquímicos, criamos a hipótese que a hipertrigliceridemia encontrada na prole fêmea do GK ao compararmos com o GCF gerou um efeito metabólico compensatório no organismo desses animais, visto que o GKF também apresentou menor concentração sérica de glicose, apesar de terem apresentado aumento da glicemia mediante os testes de tolerância. Essa menor concentração sérica de glicose pode ser decorrente do longo período de jejum que esses animais sofreram antes da eutanásia e provavelmente por alterações no metabolismo hepático de controle das reservas de glicogênio e liberação de glicose para a circulação sanguínea (ROCHA, 2015).

Além disso, sabe-se que os rins em condições de acidose metabólica e jejum prolongado possuem papel importante na via gliconeogênica (CAVAGNI, 2005). A capacidade gliconeogênica renal mediante jejum prolongado sofre influência significativa do hormônio sexual testosterona, sendo esse hormônio capaz de estimular muitas atividades celulares nos rins, efeito este que ainda não está claro com relação aos hormônios sexuais femininos (CAVAGNI, 2005), o que poderia explicar o desfecho bioquímico supracitado no GKF. Também acreditamos que o aumento dos ácidos graxos livres circulantes nesses animais tenha gerado uma alteração metabólica em prol da oxidação e utilização desses compostos, situação que também ocorre durante o jejum prolongado, onde os triglicerídeos tornam-se o combustível energético principal do organismo e conseqüentemente gera uma diminuição da glicose plasmática (GELONEZE et al., 2006; NELSON & COX, 2006).

Para mais, esses desfechos também se associam com uma regulação negativa de genes relacionados com a beta-oxidação hepática, que ocasionam desfechos metabólicos que favorecem ao aumento de lipídios no fígado, maior

massa adiposa, intolerância à glicose e insulina e níveis aumentados de colesterol, triglicerídeos e ácidos graxos livres no soro (BENATTI et al., 2014; DE PAULA SIMINO et al., 2017; PEREIRA, 2018).

Dados na literatura reforçam que alterações na composição energética e dos macronutrientes da dieta é capaz provocar mudanças a longo prazo nas vias de sinalização da insulina no músculo esquelético (OZANNE et al., 2003). A diminuição da expressão da proteína quinase B total (AKT) é preditor de RI no músculo, o que ocasiona também diminuição da síntese de proteínas e glicogênio muscular através da inativação da via mTOR1, que é uma das vias que modulam a síntese de proteínas, afetando a massa e função esquelética (MARINHO et al., 2015; VASCONCELOS et al., 2022). Contrapondo essas informações, nosso estudo mostrou que a DC rica em gordura saturada não comprometeu a expressão da proteína da AKT no músculo sóleo dos animais, o que também poderia explicar a maior peso úmido deste tecido no GKF.

O armazenamento excessivo de triglicerídeos no fígado associa-se ao consumo de uma alimentação hiperlipídica em modelos animais (BUCKLEY et al., 2004). No presente estudo, os filhotes do GK não apresentaram aumento na concentração de gordura no fígado, sugerindo que a DC rica em gordura aplicada na lactação não gerou uma programação metabólica anormal no tecido hepático, no entanto, outros estudos evidenciam que a dieta rica em gordura materna além de aumentar a quantidade de gordura hepática na prole, predispõe para o desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta (BUCKLEY et al., 2004; CHECHI & CHEEMA, 2006).

Em síntese, os achados nesse estudo reforçam a ideia de que distúrbios metabólicos na vida adulta podem ter origem ainda no início da vida. A dieta materna rica em lipídeos e pobre em carboidratos mostrou bastante influência na resposta adaptativa nos descendentes ao promover alterações a longo prazo no ganho de peso, composição corporal e mudanças no perfil glicídico e lipídico em comparação aos animais do grupo controle, denotando como o organismo em desenvolvimento consegue ser plástico em resposta a insultos nutricionais no início na vida, sendo bastante responsivo na prole fêmea. Nosso estudo também evidencia que não é só a quantidade de gordura na dieta materna que acarreta esses efeitos deletérios na saúde da prole, mas também a qualidade dos lipídeos presentes na dieta.

8 CONCLUSÃO

O consumo materno da dieta cetogênica rica em gordura saturada durante a lactação acarretou mudanças no ganho de peso e na composição corporal da prole na vida pós-natal, estando associado ao aumento das frações lipídicas circulantes, e comprometimento da glicemia mediante testes de tolerância à glicose e à insulina ao compararmos com os animais do grupo controle, sendo alguns desses resultados divergentes entre os sexos. Entretanto, a DC não prejudicou o consumo alimentar no período pós-lactacional, além de não influenciar no acúmulo de gordura no tecido hepático e na expressão da proteína AKT total envolvida na via de sinalização de insulina no músculo sóleo.

Esses dados nos remetem a importância da adequação alimentar nutricional no início da vida para a saúde da prole a longo prazo. Assim, lactantes devem recorrer a uma alimentação adequada em macro e micronutrientes em prol da manutenção da sua saúde de seus descendentes.

8.1 PERSPECTIVAS:

- Quantificar a concentração de corpos cetônicos na circulação da prole;
- Analisar as consequências de outros tipos de dieta cetogênica comparando ao nosso estudo que utilizou uma dieta cetogênica rica em gordura saturada;
- Analisar a Massa Magra para compreender de maneira mais precisa as diferenças na composição corporal;
- Analisar histologicamente o tecido hepático, dada plausibilidade em associar esse parâmetro com os resultados encontrados no nosso estudo;
- Analisar o perfil de ácidos graxos no tecido hepático dos animais;
- Analisar a expressão de proteínas envolvidas na via de sinalização de insulina no tecido adiposo branco;
- Analisar o perfil de ácidos graxos no leite materno;
- Analisar e quantificar a resposta inflamatória com base em citocinas secretadas pelo tecido adiposo e sua associação com alterações metabólicas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, K. T. et al. Intake of trans fatty acid-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, v. 22, n. 7–8, p. 820–829, 2006.
- ALVES, D. V. et al. Maternal low-protein diet reduces skeletal muscle protein synthesis and mass via Akt-mTOR pathway in adult rats. **Frontiers in Nutrition**. 10.3389/fnut.2022.947458, 2022.
- ALVES, Jakssuel Sebastion Dantas. **Dieta cetogênica com alto teor de gordura saturada na lactação: efeitos sobre crescimento somático, parâmetros bioquímicos e microbiota intestinal na prole de ratos jovens**. 2021. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.
- AMATO, A. C. M. **Dieta cetogênica estratégica- Transforme gordura em energia**. 1 ed. São Paulo: Instituto de medicina avançada, 2022. 175 p.
- ANDRÉ, A. et al. Recovery of insulin sensitivity and optimal body composition after rapid weight loss in obese dogs fed a high-protein medium-carbohydrate diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** (Suppl. 1), 2017.
- ARASE, K. et al. Intracerebroventricular infusions of 3-OHB and insulin in a rat model of dietary obesity. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 255, n. 6, 1988.
- ARMITAGE, J. A. et al. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: How strong is the evidence from experimental models in mammals? **Journal of Physiology**, v. 561, n. 2, p. 355–377, 2004.
- ARMITAGE, J. A.; TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Experimental models of developmental programming: Consequences of exposure to an energy rich diet during development. **Journal of Physiology**, v. 565, n. 1, p. 3–8, 2005.
- ASSIS, F. et al. **Passeio no mundo livre**. Recife: Sony Music Entertainment, 1996. Álbum Afrociberdelia (4 min).
- BALABAN, G.; SILVA, G. Efeito protetor do aleitamento materno contra a obesidade infantil. **J. Pediatr. (Rio J.)** vol.80 no.1 Porto Alegre Jan./Feb. 2004.
- BARKER, D. J. P. et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **British Medical Journal**, v. 301, n. 6746, p. 259–262, 1990.
- BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 412–417, 2007.
- BARKER, D. J. P. et al. Growth and chronic disease: Findings in the Helsinki Birth Cohort. **Annals of Human Biology**, v. 36, n. 5, p. 444–458, 2009.
- BATCH, J. T. et al. Advantages and Disadvantages of the Ketogenic Diet : A Review

Article. v. 12, n. 8, p. 8–15, 2020.

BAYOL, S. A.; FARRINGTON, S. J.; STICKLAND, N. C. A maternal “junk food” diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for “junk food” and a greater propensity for obesity in rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 4, p. 843–851, 2007.

BECK, B.; KOZAK, R.; MOAR, K. M.; MERCER, J. G. Hypothalamic orexigenic peptides are overexpressed in young Long-Evans rats after early life exposure to fat-rich diets. **BBRC**, v. 342, n. 2, p. 452-458, 2006.

BENATTI, R. O. et al. Maternal high-fat diet consumption modulates hepatic lipid metabolism and microRNA-122 (miR-122) and microRNA-370 (miR-370) expression in offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 12, p. 2112–2122, 2014.

BENNANI, K.N. et al. Therapeutic effect of *Olea europea* var. *Oleaster* leaves on carbohydrate and lipid metabolism in obese and prediabetic sand rats (*Psammomys obesus*). **Annales Pharmaceutiques Francaises**, v. 58, p. 271-277, 2000.

BLOISE, A. M. et al. Composition of a maternal high fat diet rich in saturated fats and omega 3 in gestation and lactation for studies with rodents. **Rev Nutr** **32**, 2019.

BONILLA, S. et al: High-fat diets affects the expression of nuclear retinoic acid receptor in rat liver. **Br. J. Nutr.**, v. 83, n. 6, p. 665-671, 2000.

BORBA, Alberto José. **Efeito da dieta hiperlipídico-protéica no metabolismo de ratos wistar adultos**. Dissertação de mestrado- Programa de pós-graduação em Patologia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2008.

BRETT, K. E. et al. Maternal–Fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: The role of the placenta. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 16153–16185, 2014.

BRIANNA, J. S.; NEWMAN, J. C. **Ketogenic diet and adipose tissue inflammation—a simple story? Fat chance!** 20 january, 2020. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0164-2>.

BUCKLEY, A. J. et al. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 54, n. 4, p. 500–507, 2005.

BUENO, N. B. et al. Very-low-carbohydrate ketogenic diet v. low-fat diet for long-term weight loss: a meta-analysis of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 7, p. 1178–1187, 14 out. 2013.

BUTRUILLE, L. et al. Maternal high-fat diet during suckling programs visceral adiposity and epigenetic regulation of adipose tissue stearoyl-CoA desaturase-1 in offspring. **International Journal of Obesity**, v. 43, n. 12, p. 2381–2393, 2019.

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.

CANI, P. D. et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. **Diabetes**, v. 56, n. 7, p. 1761–1772, 1 jul. 2007.

CANCELLO, R. et al. Adiposity signals, genetic and body weight regulation in humans. **Diabetes & Metabolism. Volume 30, Issue 3**, June 2004, Pages 215-227.

CARVALHEIRA, J. B. et al. Vias de Sinalização da Insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab** 46 (4) • Ago 2002.

CASTRO, V. Aspectos da exposição ambiental aos agroquímicos e a avaliação de seus efeitos no desenvolvimento animal. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 21, n. 3, p. 469-497, set./dez. 2004.

CAVAGNI, Gabriela Maura. **Influências ligadas ao sexo e sazonalidade sobre a gliconeogênese renal em ratos submetidos a jejum**. 2005. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em ciências biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

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. August, p. 118224, 2020

CHAVES, W. F. et al. Repercussions of maternal exposure to high-fat diet on offspring feeding behavior and body composition: A systematic review. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, 2020b.

CHECHI, K.; CHEEMA, S. Maternal diet rich in saturated fats has deleterious effects on plasma lipids of mice. **Exp Clin Cardiol**, Vol .11 No. 2, 2006.

CHOI, Y. J.; JEON, S. M.; SHIN, S. Impact of a ketogenic diet on metabolic parameters in patients with obesity or overweight and with or without type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 1–19, 2020.

CHRISTIANS, J. K. et al. Effects of high-fat diets on fetal growth in rodents: A systematic review. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2019.

COELHO D. F. et al. Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 44: 966-972, 2011.

COLICA, C. et al. Efficacy and safety of very-low-calorie ketogenic diet : a double blind randomized crossover study. n. June 2018, 2017.

COLOMBO, J. et al. Critical and Sensitive Periods in Development and Nutrition. **Ann Nutr Metab** 2019;75(suppl 1):34–42

CORDEIRO, Anna Raquel Maia. **Estado nutricional e parâmetros bioquímicos de ratas alimentadas com dieta dislipidêmica durante a gestação e lactação e suas repercussões sobre o estado nutricional da prole**. Trabalho de conclusão de curso- Departamento de nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

COSTA, A. et al. Effects of fructosemia induced in pregnancy and the off spring wistar rats. **PERSPECTIVA, Erechim**. v. 42, n.157, p. 37- 48, março/2018.

DANIAL, N. N. et al. How Does the Ketogenic Diet Work? Four Potential Mechanisms. **Journal of Child Neurology**, v. 28, n. 8, p. 1027–1033, 13 ago. 2013.

DE PAULA SIMINO, L. A. et al. Lipid overload during gestation and lactation can independently alter lipid homeostasis in offspring and promote metabolic impairment after new challenge to high-fat diet. **Nutrition and Metabolism**, v. 14, n. 1, p. 1–15, 2017.

DESAI, M. et al. Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 288: R91–R96, 2005.

DIETZ, A. J. et al. Maternal dyslipidaemic diet induces sex-specific alterations in intestinal function and lipid metabolism in rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 7, 2019.

DHILLON, A.; STEADMAN, RH. Liver Diseases. **Inside Anesthesia and Uncommon Diseases, 6th edition; Elsevier:Amsterdam, Netherlands, 2012; pp. 162-214.**

DOBBING, J. the Influence of Early Nutrition on the Development and Myelination of. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers**, v. 159, p. 503–509, 1964.

ELIAS, S. L.; INNIS, S. M. Infant plasma trans, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 4, p. 807–814, 2001.

ESTIMA, R. et al. Consumo de bebidas e refrigerantes por adolescentes de uma escola pública. **Rev. Paul. Pediatr.** 2011; v. 29(1): p.41-5, 2011.

FAZARKELEY, D. J. et al. Muscle and adipose tissue insulin resistance: malady without mechanism?. **Journal of Lipid Research** Volume 60, 2019.

FERNANDES, A. S. et al. Dieta hiperlipídica e ácido linoleico conjugado: efeitos nos lipídios séricos, peso e composição corporal de camundongos Apo E(-/-) exercitados. **R. bras. Ci. e Mov.** 2011; 20(1):47-55, 2011.

FERNANDES, S. T. **Comportamento de escolha em ratos Sprague Dawley (Rattus norvegicus) sob restrição alimentar**. 2016. Dissertação (Mestrado)-

Programa de pós-graduação em Psicobiologia. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão-Preto-SP, 2016.

FERRARA, D. et al. Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and metabolic diseases. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 12, p. 21630–21641, 2019.

FERRO CAVALCANTE, T. C. et al. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**, v. 48, n. 11, p. 1157–1168, 2013.

FISHER, K.; COLOMBANI, P. C.; WENK, C. Metabolic and cognitive coefficients in the development of hunger sensations after pure macronutrient ingestion in the morning. **Appetite**, v. 42, n. 1, p. 49-61, 2004

FOSTER, G.D. et al. A randomized trial of a low carbohydrate diet for obesity. New England 49 **Journal of Medicine**, v.348, p. 2082-2090, 2003.

FRANCO, Larissa Dantas. **Dieta hiperlipídica e exercício físico: Consequências sobre o metabolismo e A peroxidação lipídica - estudo em Modelo animal**. Dissertação de mestrado- Departamento de nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2007.

FUKAO, T.; LOPASCHUK, G. D.; MITCHELL, G. A. Pathways and control of ketone body metabolism: On the fringe of lipid biochemistry. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 70, n. 3, p. 243–251, 2004.

GARBOW, J. R. et al. Hepatic steatosis, inflammation, and ER stress in mice maintained long term on a very low-carbohydrate ketogenic diet. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 300, n. 6, p. 956–967, 2011.

GARDNER, C. D. et al. Effect of low-fat VS low-carbohydrate diet on 12-month weight loss in overweight adults and the association with genotype pattern or insulin secretion the DIETFITS randomized clinical trial. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 319, n. 7, p. 667–679, 2018.

GARLAND, T. Phenotypic plasticity and experimental evolution. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 12, p. 2344–2361, 2006.

GELONEZE, Bruno; LAMOUNIER, Rodrigo N.; COELHO, Otavio R. Hiperglicemia pós-prandial: tratamento do seu potencial aterogênico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. Vol.87, n.5, São Paulo, nov. 2006.

GERSHUNI, V. M.; YAN, S. L.; MEDICI, V. Nutritional Ketosis for Weight Management and Reversal of Metabolic Syndrome. **Current Nutrition Reports**, v. 7, n. 3, p. 97–106, 2018a.

GLUCKMAN, P. D. et al. A conceptual framework for the developmental origins of health and disease. **J Dev Orig Health Dis**, 2010 Feb;1(1):6-18.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. Fetal programming and adult health. **Public Health Nutr**, v. 4, n. 2, p. 611-24, 2001.

GOLDBERG, E. L. et al. **Nat. Metab.** <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0160-6> (2019).

GRANDI, G. et al. Short-term feeding of a ketogenic diet induces more severe hepatic insulin resistance than an obesogenic high-fat diet. **J Physiol** v. 19, p. 4597–4609, 2018.

GRENIER, S.; BARRE, P.; LITRICO, I. Phenotypic Plasticity and Selection : Nonexclusive Mechanisms of Adaptation. v. 2016, 2016.

GRESSLER, Camila Costa. **Efeitos da dieta hiperlipídica suplementada com óleos vegetais nos parâmetros metabólicos e inflamatórios em ratos wistar**. 2013. Dissertação de mestrado – Programa de pós-graduação em tecnologia dos alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria- RS, 2013.

GUEDES, D.P; GONÇALVES, L. A. V. Impact of the habitual physical activity on lipid profile in adults. **Arq Bras Endocrinol Metab** 51 (1) • Fev 2007.

GUINÉ, R.; GOMES, A. N (2015). A Nutrição na Lactação Humana. **Millenium**, 49 (jun/dez). Pp. 131-152.

GURMINI, J. et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** vol.41 no.4 Rio de Janeiro Aug. 2005.

HABER, E. P. et al. Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. **Arq Bras Endocrinol Metab** 45 (3), Jun 2001.

HAHN, P.; KIRBY, L. Immediate and late effects of premature weaning and of feeding a high fat or high carbohydrate diet to weanling rats. **Journal of Nutrition**, v. 103, n. 5, p. 690–696, 1973.

HAVEL, P. J. Update on Adipocyte Hormones : Regulation of Energy Balance and Carbohydrate/Lipid Metabolism. **Diabetes** 2004; 53(suppl_1):S143–S151.

HC, K. et al. Food For Thought: The Ketogenic Diet And Adverse Effects in Children. p. 152–154, 2004.

HERNANDEZ, E. A. Acute dietary fat intake initiates alterations in energy metabolism and insulin resistance. **J Clin Invest.** 2017;127(2):695-708.

HERRERA, E. Lipid Metabolism in Pregnancy and its Consequences in the Fetus and Newborn. v. 19, n. 1, p. 43–55, 2002.

HOEFEL, A. L. et al. The effects of hypercaloric diets on glucose homeostasis in the rat: Influence of saturated and monounsaturated dietary lipids. **Cell Biochemistry**

and Function, v. 29, n. 7, p. 569–576, 2011.

HOFFMAN, D. J.; REYNOLDS, R. M.; HARDY, D. B. Developmental origins of health and disease: Current knowledge and potential mechanisms. **Nutrition Reviews**, v. 75, n. 12, p. 951–970, 2017.

HOLCOMB, L. E. et al. The Effects of Fasting or Ketogenic Diet on Endurance Exercise Performance and Metabolism in Female Mice. **Metabolites** **2021**, 11, 397. <https://doi.org/10.3390/metabo11060397>.

HUANG, Y. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation affects hepatic lipid metabolism in early life of offspring rat. **Journal of Biosciences**, v. 42, n. 2, p. 311–319, 2017.

JANG, H; SERRA, C. Nutrition, Epigenetics, and Diseases. **Clin Nutr Res**. 2014 Jan; 3(1): 1–8.

JOHNSTONE, A. M. et al. Effects of a high-protein ketogenic diet on hunger, appetite, and weight loss in obese men feeding ad libitum. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 1, p. 44–55, 2008.

KABARAN, S.; BESLER, H. T. Do fatty acids affect fetal programming? **Journal of Health, Population and Nutrition**, v. 33, n. 1, p. 14, 13 dez. 2015.

KANTA CHECHI; SUKHINDER KAUR CHEEMA. Maternal diet rich in saturated fats has deleterious effects on plasma lipids of mice. v. 11, n. 2, p. 129–135, 2006.

KEESEY, R. E., HIRNOVEN, M. D. **Body weight set-points: determination and adjustment**. **J Nutr** **1997 Sep**;127(9):1875S-1883S.

KEITH A B, C.A. SEO A B, C. ROWSEMITT B C D, M. PFEFFER B D E, M. WAHI F, M. STAGGS B, J. DUDEK D G, B. GOWER H, M. CARMODY Ketogenic diet as a potential intervention for lipedema. **Medical Hypotheses**, Volume **146**, January 2021, 110435.

KIM, J. T. et al. Catch-up growth after long-term implementation and weaning from ketogenic diet in pediatric epileptic patients. **Clinical Nutrition** **32** (2013) 98e103.

KLAUS, S. Increasing the protein: carbohydrate ratio in a high- fat diet delays the 71 development of adiposity an improves glucose homeostasis in mice. **Jornal of Nutrition**, 72 v. 135, p. 1854-1858, 2005

KLEIN, Marianne Orlandini. **Dieta hiperlipídica materna: Influências sobre o comportamento materno e o desenvolvimento da prole**. Tese de doutorado – Programa de pós-graduação em Farmacologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

KOPP, M.; TOLLRIAN, R. Reciprocal phenotypic plasticity in a predator-prey system: Inducible offences against inducible defences? **Ecology Letters**, v. 6, n. 8, p. 742–748, 2003.

KOSKI, K. G.; HILL, F. W.; LÖNNERDAL, B. Altered Lactational Performance in Rats Fed Low Carbohydrate Diets and Its Effect on Growth of Neonatal Rat Pups. **The Journal of Nutrition**, v.120(9), p.1028–1036, 1990.

KRETSCHMMER, K. et al. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. ***Nature Immunology*** volume 6, pages1219–1227 (2005).

KRUSE, M. et al. High-fat diet during mouse pregnancy and lactation targets gip-regulated metabolic pathways in adult male offspring. **Diabetes**, v. 65, n. 3, p. 574–584, 2016.

LEITÃO, R. B., NEVES, L. Períodos críticos para o desenvolvimento da obesidade: perspectivas da epigenética. **Alimentação Humana** · 2017 · Volume 22 · N.º 1.

LENSING, C. J. et al. Ac-Trp-DPhe(p-I)-Arg-Trp-NH₂, a 250-Fold Selective Melanocortin₄ Receptor (MC₄R) Antagonist over the Melanocortin-3 Receptor (MC₃R), Affects Energy Homeostasis in Male and Female Mice Differently. **ACS Chem Neurosci**, v. 7, n. 9, p. 1283-91, 09 2016. ISSN 1948-7193.

LIANG, C.; OEST, M. E.; PRATER, M. R. Intrauterine Exposure to High Saturated Fat Diet Elevates Risk of Adult-Onset Chronic Diseases in C57BL / 6 Mice. v. 384, n. July, p. 377–384, 2009.

LIMA, Amanda Costa. **Exposição perinatal a dieta hiperlipídica e hipercalórica promove alterações no desenvolvimento murinométrico, na composição corporal e no consumo alimentar da prole**. 2015. Dissertação de mestrado – Programa de pós-graduação Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2015.

LIRA, A. et al. Maternal low protein diet induces persistent expression changes in metabolic genes in male rats. **WORLD JOURNAL OF DIABETES**, v. 11, p. 182-192, 2020.

LIU, M. C. et al. Case Report: Lactation Ketoacidosis Can Complicate the Ketogenic Diet. **Perm J** 2021;25:20.162, 2021.

LONDRINA, U. DE. Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats : effects of high-fat and high-sucrose diets Bioimpedância elétrica e antropometria na determinação da composição corporal de ratos : efeitos das dietas r. v. 25, n. 3, p. 331–339, 2012.

LOPES, C.; LAURA, A.; PICCIRILLO, J. Avaliação de dislipidemia e de índices antropométricos em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab** 49 (6). Dez 2005.

LORENZETI, F. M. et al. **Nutrição e suplementação esportiva: aspectos metabólicos, fitoterápicos e da nutrigenômica** 1 ed. São Paulo: Phorte Editora, 392 pg. 2011.

MACKENZIE, A. L. et al. A Novel Intervention Including Individualized Nutritional Recommendations Reduces Hemoglobin A1c Level, Medication Use, and Weight in Type 2 Diabetes. **JMIR Diabetes**, v. 2, n. 1, p. e5, 2017.

MASOOD, W.; ANNAMARAJU, P.; UPPALURI, K. Ketogenic diet. **StatPearls Publishing**; 2022 Jan-.

MARINHO, R. et al. Influência de diferentes protocolos de treinamento físico sobre a fosforilação da proteína akt em músculo esquelético e sensibilidade à insulina de ratos obesos. **Rev. educ. fis. UEM** 26 (1) • Mar 2015.

MARSHALL, J. A.; BESSESEN, D. H.; HAMMAN, R. F. High saturated fat and low starch and fibre are associated with hyperinsulinaemia in a non-diabetic population: The San Luis Valley Diabetes Study. **Diabetologia**, v. 40, n. 4, p. 430–438, 1997.

MENDES-DA-SILVA, C. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy or lactation changes the somatic and neurological development of the offspring. n. September, p. 136–144, 2013.

MENNITTI, L. V. et al. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 2, p. 99–111, 2015.

MILLER, J. P.; GERMAN, R. Z. Protein malnutrition affects the growth trajectories of the craniofacial skeleton in rats. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 11, p. 2061–2069, 1999.

MORENO-SEPÚLVEDA, J.; CAPPONI, M. Dieta baja en carbohidratos y dieta cetogénica: impacto en enfermedades metabólicas y reproductivas. **Rev. méd. Chile** vol.148 no.11 Santiago nov. 2020.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 4, p. 471–483, jun. 2002.

NADARELI, E. K. et al. Diet induced endothelial dysfunction in the rat is dependent of the degree of increase in total body weight. **Clinical Sciences**, 100: 635-41, 2001.

NASCIMENTO, E. et al. Unlimited access to low-energy diet causes acute malnutrition in dams and alters biometric and biochemical parameters in offspring. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease** (2014), 5(1), 45–55, 2014.

NASCIMENTO, Márcia Heloíse. OLIVEIRA. **Deposição de gordura e parâmetros bioquímicos de ratas Wistar tratadas com óleo de avestruz durante a fase de gestação e lactação**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Nutrição. Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2016.

NELSON, David L; COX, Michael M.; Lehninger - **Princípios de Bioquímica**. 4 ed. São Paulo: Savier, 2006.

NERY C. S. et al. Medidas Murinométricas e Eficiência Alimentar em Ratos Provenientes de Ninhadas Reduzidas na Lactação e Submetidos ou Não ao Exercício de Natação. **Rev Bras Med Esporte** – Vol. 17, No 1 – Jan/Fev, 2011.

NEWTON, C. A.; RASKIN, P. Diabetic Ketoacidosis in Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus. **Archives of Internal Medicine**, v. 164, n. 17, p. 1925, 27 set. 2004.

NILSSON, J. et al. A low-carbohydrate high-fat diet decreases lean mass and impairs cardiac function in pair-fed female C57BL/6J mice. **Nutrition & Metabolism**, v.13(1). p.10.1186/s12986-016-0132-8, 2016.

NNODUM, B. N. et al. Ketogenic Diet-Induced Severe Ketoacidosis in a Lactating Woman: A Case Report and Review of the Literature. **Case Reports in Nephrology**, 2019, 1–4. doi:10.1155/2019/1214208

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C.A.; RIBAS FILHO, D.; MELLO, E.D.; BERTOLUCCI, P.H.F.; FALCÃO, M.C. I Consenso da Associação Brasileira de Nutrologia sobre Recomendações de DHA durante a gestação, lactação e infância **International Journal of Nutrology**, ano 7, n.3. 2014.

NOGUEIRA, M. D. DE A. et al. Índices de Castelli I e II como preditores robustos na estimativa do risco cardiovascular de adolescentes com excesso de peso. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e34610414330, 13 abr. 2021.

NOH HS, LEE HP, KIM DW, KANG SS, CHO GJ, RHO JM, CHOI WS. A cDNA microarray analysis of gene expression profiles in rat hippocampus following a ketogenic diet. **Mol Brain Res**. 2004; 129:80–87, 2004.

NOVELLI, E. L. B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 111–119, 2007.

NYLEN K, VELAZQUEZ JLP, SAYED V, GIBSON KM, BURNHAM WM, SNEAD OC III. The effects of a ketogenic diet on ATP concentrations and the number of hippocampal mitochondria in *Aldh5a1*^{-/-} mice. **Biochim Biophys Acta**. 2009; 1790:208–212, 2009.

OHSIEK, S.; WILLIAMS, M.; DEAN, A. Psychological factors influencing weight loss maintenance : An integrative literature review. v. 23, p. 592–601, 2011.

OLIVEIRA, C. DE. Maternal diet , bioactive molecules , and exercising as reprogramming tools of metabolic programming. 2014.

OLIVEIRA, Louise Lara Gomes. **Impacto do óleo de avestruz sobre a memória da prole de ratas Wistar suplementadas durante o período de gestação e lactação**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Nutrição. Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2015.

OLIVEIRA, Tchana Weyll Souza. **DIETA HIPERLIPÍDICA NA GESTAÇÃO: EFEITOS SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E CONSUMO ALIMENTAR EM**

RATOS ADULTOS. 2010. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em alimentos, nutrição e saúde. Universidade Federal de Bahia, Salvador, 2010.

OZANNE, S.E et al. Early growth restriction leads to down regulation of protein kinase C zeta and insulin resistance in skeletal muscle. **J Endocrinol.** (2003) **177:235–41**. doi: 10.1677/joe.0. 1770235

PAGE, K. C.; JONES, E. K.; ANDAY, E. K. Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 306, n. 8, p. 527–537, 2014.

PALMER, B.; CLEGG, D. The sexual dimorphism of obesity. **Molecular and Cellular Endocrinology** Volume 402, 15 February 2015, Pages 113-119.

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.

PAOLI, A. et al. Beyond weight loss: A review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 8, p. 789–796, 2013.

PAOLI, A. et al. Ketosis, ketogenic diet and food intake control: a complex relationship. **FRONTIERS IN PSYCHOLOGY**, v. 6, 2015.

PAOLI A. et al. Ketogenic Diet and Skeletal Muscle Hypertrophy: a Frenemy Relationship?. **Journal of Human Kinetics**, volume 68/2019, 233-247, 2019.

PARIZZI, M.R.; FONSECA, J.G.M. Nutrição na gravidez e na lactação. **Rev. Med. Minas Gerais**, 2010; 20(3): 341-353.

PAULA SIMINO, L. A. et al. Lipid overload during gestation and lactation can independently alter lipid homeostasis in offspring and promote metabolic impairment after new challenge to high-fat diet. **Nutrition & Metabolism** (2017) 14:16, 2017.

PAULI. J. R. et al., New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53 (4), 2009.

PEREIRA J. L. et al. Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica. **Ciência&Saúde**, 11(1):51-57, 2018.

PERINI, J.A.L. Ácidos graxos polinsaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Rev. Nutr. Campinas**, v.23, n.6, p.1075-1086, 2010.

PETER D GLUCKMAN; HANSON, M. A.; PINAL, C. The developmental origins of adult disease. p. 130–141, 2005.

PIGLIUCCI, M. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 12, p. 2362–2367, 2006.

PINHEIRO, R. O. et al. Maternal dyslipidaemic diet induces sex-specific alterations in

intestinal function and lipid metabolism in rat offspring. **British Journal of Nutrition** (2019), 121, 721–734, 2019.

PRENDERGAST, B. J., ONISHI, K. G., & ZUCKER, I. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, **40**, 1-5. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.01.001

RAMAMURTHY, S.; RONNET, G. Developing a head for energy sensing: AMP-activated protein kinase as a multifunctional metabolic sensor in the brain. **The Journal of Physiology**, 11 May 2006.

RASMUSSEN, K. M. THE INFLUENCE OF MATERNAL NUTRITION ON LACTATION. **Annu. Rev. Nutr.** 1992. 12:103-17, 1992.

RAVAGNANI, F. C. Effects of high fat diets with baru extract and chocolate on adipocyte area of rats subjected to physical exercise. **Rev Bras Med Esporte – Vol.** 18, No 3 – Mai/Jun, 2012.

RAVELLI G. P.; STEIN Z.A.; SUSSER M.W. Obesity in young men after famine exposure in uterus and early infancy. **N Engl J Med.** 1976; v. 295: p. 349-53, 1976.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FABEY, 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. **American Institute of Nutrition.** 1993.

REHFELDT, C. et al. Limited and excess protein intake of pregnant gilts differently affects body composition and cellularity of skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue of newborn and weanling piglets. **European Journal of Nutrition** volume 51, pages151–165 (2012)

RIBEIRO, L. C. et al. Ketogenic diet-fed rats have increased fat mass and phosphoenolpyruvate carboxykinase activity. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 52, n. 11, p. 1365–1371, 2008.

RIBEIRO, L. C. **Ratos tratados com dieta cetogênica apresentam aumento de tecido adiposo mediado pela elevação da atividade da fosfoenolpiruvato carboxicinase.** 2005. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

RICCARDI, G.; GIACCO, R.; RIVELLESE, A. A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 447–456, 2004.

ROBINSON, B. W.; WILSON, D. S. Genetic variation and phenotypic plasticity in a trophically polymorphic population of pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*). **Evolutionary Ecology**, v. 10, n. 6, p. 631–652, 1996.

ROCHA, Lanni Sarmiento. **Alteração da disponibilidade de alimento de ratos wistar segundo a fase do ritmo circadiano: um estudo das repercussões comportamental, fisiológica e bioquímica sanguínea.** 2015. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

RODRIGUES, Gabriela Muniz. **Efeito da dieta hiperlipídica/hiperglicídica materna e paterna nos parâmetros inflamatórios da prole fêmea logo após a lactação.** Trabalho de conclusão de curso – Universidade Federal de São Paulo, Santos, 2019.

ROZA, Noemí Angelica. **Ingestão materna crônica de dieta hiperlipídica: efeito sobre a função renal, o metabolismo glicídico e a pressão arterial da prole.** Dissertação de mestrado- Programa de pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas, Campinas, 2011.

SADEGHIFAR, F.; PENRY, V. B. Mechanisms and Uses of Dietary Therapy as a Treatment for Epilepsy: A Review. **Global Advances in Health and Medicine**, v. 8, p. 216495611987478, 2019.

SANDRI M. et al. Signalling pathways regulating muscle mass in ageing skeletal muscle. The role of the IGF1-Akt-mTOR-FoxO pathway. **Biogerontology**, 14: 303-323, 2013.

SAMUELSSON, A. et al. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. **Hypertension**, 2008 Feb;51(2):383-92.

SANTOS, R., MARANHÃO R. Comparison of hypercholesterolemic men and women at high risk for atherosclerosis. Study of risk factors and response to pravastatin treatment. **Arq. Bras. Cardiol.** 70 (6), Jun 1998.

SAWAYA, A. L. **Aspects of energy metabolism in protein malnourished rats.** Tese de PhD, Darwin College, Cambridge, Inglaterra, 1985.

SEN, S. et al. Nutrition, weight gain and eating behavior in pregnancy: A review of experimental evidence for long-term effects on the risk of obesity in offspring. **Physiology and Behavior**, v. 107, n. 1, p. 138–145, 2012.

SHARMAN, M. J. et al. A Ketogenic Diet Favorably Affects Serum Biomarkers for Cardiovascular Disease in Normal-Weight Men. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 7, p. 1879–1885, 2002.

SIEMELINK, M; VERHOEF, A; DORMANS J. A; SPAN P. N; PIERSMA, A. H. Dietary fatty acid composition during pregnancy and lactation in the rat programs growth and glucose metabolism in the offspring. **Diabetologia**. 2002;45:1397–1403.

SILVA, A. A. M. **Programação do sistema de recompensa alimentar: Enfoque sobre o sistema serotoninérgico.** 2011. 77f. Dissertação (Mestrado em Nutrição)- Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

SILVA, A. K. et al. Low-carb diet in perinatal rats on sugar-sweetened beverage preference, food consumption and body weight in male offspring. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.8, n.3, p. 15637-15666, mar., 2022.

SILVA H. J. et al. Protocolo of meensuration to avaliaton of indicators of somatic development of Wistar rats. **Int. J. Morphl.** V. 23, n. 3, p. 227 – 30, 2005.

SILVA J. E. **Repercussões de uma dieta hiperlipídica no período perinatal sobre a ontogênese dos reflexos e a morfometria intestinal de ratos**. 2014. 71f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

SILVA, L. M. et al. Composition of a maternal high fat diet rich in saturated fats and omega 3 in gestation and lactation for studies with rodents. **Rev. Nutr.** 2019;32:e180292, 2019.

SILVA, Laura Mata de Lima. **Efeitos da ingestão de uma dieta hiperlipídica ocidentalizada suplementada com ômega 3 durante a gestação e lactação sobre os parâmetros cardiorrespiratórios e metabólicos na Prole de ratos machos**. 2018. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

SILVEIRA, Roberta Giorgi. **Efeitos do consumo materno de dieta rica em gordura durante a concepção, a prenhez e a lactação no desenvolvimento da prole**. 2018. Dissertação de mestrado – Programa de pós-graduação em saúde e comportamento, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, 2018.

SIMÕES-ALVES, AIANY C et al. Saturated Fatty Acid-Enriched Diet-Impaired Mitochondrial Bioenergetics in Liver From Undernourished Rats During Critical Periods of Development. **Cells**, v. 8, p. 335, 2019.

SINITSKAYA, N. et al. Increasing the fat-to-carbohydrate ratio in a high-fat diet prevents the development of obesity but not a prediabetic state in rats. **Clin Sci (Lond)** 2007 Nov;113(10):417-25.

SOARES, A. K. F. et al. Somatic and reflex development in suckling rats: Effects of mother treatment with ketogenic diet associated with lack of protein. **Nutritional Neuroscience**, v. 12, n. 6, p. 260–266, 2009.

SOUZA, G. O. **Avaliação de dimorfismo sexual na regulação central do metabolismo energético de camundongos**. 2020. 82f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) -Universidade de São Paulo, 2020.

SPINELLI, M. O. et al. Estudo da variação sazonal dos parâmetros bioquímicos de roedores e lagomorfos do Biotério da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 36(2):219-225, abr/jun 2014.

STTETLER, N. Nature and strength of epidemiological evidence for origins of childhood and adulthood obesity in the first year of life. **International Journal of Obesity** volume 31, pages1035–1043 (2007)

SUMITRHAN, P. et al. Ketosis and appetite-mediating nutrients and hormones after weight loss. **European Journal of Clinical Nutrition** (2013) 67, 759–764, 2013.

SUNMIN, P. et al. Central infusion of ketone bodies modulates body weight and hepatic insulin sensitivity by modifying hypothalamic leptin and insulin signaling pathways in type 2 diabetic rats. **Brain Research Volume 1401**, 15 July 2011, Pages 95-103.

SUSAN, A.; JONG M. Mechanisms of Ketogenic Diet Action. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, et al. **Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies**. National Center for Biotechnology Information (US), 2012. p. 54- 61.

SWITSKAYA, N. et al. Increasing the fat-to-carbohydrate ratio in a high-fat diet prevents the development of obesity but not a prediabetic state in rats. **Clinical Science**, v. 113, n. 9–10, p. 417–425, 2007.

TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Developmental programming of obesity in mammals. **Experimental Physiology**, v. 92, n. 2, p. 287–298, 2007.

THOEN, L. F. R. et al. The Hippo pathway effector YAP controls mouse hepatic stellate cell activation. **Journal of Hepatology** Volume 63, Issue 3, September 2015, Pages 679-688.

TORUN, B. et al. Epidemiology of Altered Intestinal Permeability to Lactulose and Mannitol in Guatemalan Infants. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition** 28(3):p 282-290, March 1999.

TOZZI, R. et al. Ketogenic Diet Increases Serum and White Adipose Tissue SIRT1 Expression in Mice. **Int. J. Mol. Sci.** 2022, 23, 15860.

VALLE, J.; EUCLYDES, M. A formação dos hábitos alimentares na infância: uma revisão de alguns aspectos abordados na literatura nos últimos dez anos. **Revista APS**, v.10, n.1, p. 56-65, jan./jun. 2007.

VALENZANO, A. et al. Effects of Very Low Calorie Ketogenic Diet on the Orexinergic System, Visceral Adipose Tissue, and ROS Production. **Antioxidants** 2019, 8, 643; doi:10.3390/antiox8120643.

VARGAS, S. et al. Efficacy of ketogenic diet on body composition during resistance training in trained men : a randomized controlled trial. p. 1–9, 2018.

VASCONCELOS, D. A. et al. Maternal low-protein diet reduces skeletal muscle protein synthesis and mass via Akt-mTOR pathway in adult rats. **Front. Nutr.**, 30 August 2022 Sec. Nutritional Immunology.

VEECH, R. L. The therapeutic implications of ketone bodies: The effects of ketone bodies in pathological conditions: Ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 70, n. 3, p. 309–319, 2004.

VIDAL-SANTOS, R. et al. Western diet in the perinatal period promotes

dysautonomia in the offspring of adult rats. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 2, p. 216–225, 2017.

VIZUETA, Adriana Fernanda Kuckartz. **EFEITOS DA DIETA CETOGÊNICA COM DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS NO METABOLISMO PERIFÉRICO E NEUROGLIAL DE RATOS WISTAR**. 2012. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em ciências biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

VOGT, et al. Chronic blockade of angiotensin AT₁ receptors improves cardinal symptoms of metabolic syndrome in diet-induced obesity in rats. **British Journal of Pharmacology** (2014)171746–760.

VOLEK, J. S.; SHARMAN, M. J.; FORSYTHE, C. E. Recent advances in nutritional sciences modification of lipoproteins by very low-carbohydrate diets. **J Nutr**, v. 135, n. 6, p. 1339–1342, 2005.

VOLP, A. C. et al. Insulin homeostasis, energy metabolism and body composition – dietary macronutrients' effect. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 31, n. 3, p. 77-94, dez. 2006.

XAVIER, S. C. **Dietas pobres em hidratos de carbono na perda de peso corporal**. Anais do 1.º Ciclo em Ciências da Nutrição Instituição académica: Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, 2017.

WALJI, H. (2010). **Nutrição e Saúde** (2a ed.). Lisboa: Editorial Estampa, Lda, 2010.

WELLS, J. C. K. Maternal capital and the metabolic ghetto: An evolutionary perspective on the transgenerational basis of health inequalities. **American Journal of Human Biology**, v. 22, n. 1, p. 1–17, 2014.

WEST-EBERHARD, M. J. Developmental plasticity and the origin of species differences. v. 102, n. 2, p. 6543–6549, 2005.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. et al. Dietary Protein, Weight Loss, and Weight Maintenance. **Annual Review of Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 21–41, 2009.

WOODS, S.C. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1081-1087, 2003.

YANCY, W. S. et al. A Low-Carbohydrate, Ketogenic Diet versus a Low-Fat Diet To Treat Obesity and Hyperlipidemia. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 10, p. 769, 18 maio 2004.

ZAMBRANO, E. et al. Maternal Obesity: Lifelong Metabolic Outcomes for Offspring from Poor Developmental Trajectories During the Perinatal Period. **Archives of Medical Research**, v. 47, n. 1, p. 1–12, 2016.

ZIERATH, et al. Enhanced Muscle Insulin Sensitivity After Contraction/Exercise Is Mediated by AMPK. **Diabetes** 2017;66(3):598–612.

ANEXO A- PARECER Nº 0053/2021 CEUA- UFPE



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

Recife, 18 de novembro de 2021

Ofício nº 80/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Gisélia de Santana Muniz**
 Departamento de Nutrição/ CCS
 processo nº0053/2021

Certificamos que a proposta intitulada **"Dieta cetogênica na gestação e/ou lactação sobre a composição corporal e metabolismo energético na prole de ratos adultos"**, registrado com o nº0053/2021 sob a responsabilidade da **Prof Gisélia de Santana Muniz** 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 26/10/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/12/2021 a 01/09/2021
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogenico
Nº de animais	128 animais
Peso/Idade	adultos: idade 90-120 dias e peso 225-275g (ratas) + prole
Sexo	Machos – 56 (16 adultos + 40 prole) Fêmeas – 72 (32 adultos + 40 prole)
Origem: Biotério de Criação	Biotério de criação do Departamento de Nutrição – Recife - UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de experimentação do Departamento de Nutrição da UFPE.