

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Esther Maria Monteiro Bispo

**AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA ALIMENTAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DA PROLE DE RATAS FÊMEAS SUBMETIDAS A
DIETA CETOGÊNICA NA LACTAÇÃO**

RECIFE

2023

ESTHER MARIA MONTEIRO BISPO

**AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA ALIMENTAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DA PROLE DE RATAS SUBMETIDAS A DIETA
CETOGÊNICA NA LACTAÇÃO**

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito para obtenção de grau
de Nutricionista.

Área de concentração Nutrição
Experimental

Orientador(a): Giselia de Santana Muniz

Coorientador(a): Allana Karoline Fernandes Nobre da Silva

RECIFE

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Bispo, Esther Maria Monteiro.

Avaliação da preferência alimentar, composição corporal e parâmetros bioquímicos da prole de ratas fêmeas submetidas a dieta cetogênica na lactação / Esther Maria Monteiro Bispo. - Recife, 2023.

51p : il., tab.

Orientador(a): Gisélia de Santana Muniz

Cooorientador(a): Allana Karoline Fernandes Nobre da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Nutrição - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, anexos.

1. dieta cetogenica . 2. lactação . 3. preferência alimentar . I. Muniz, Gisélia de Santana . (Orientação). II. Silva, Allana Karoline Fernandes Nobre da. (Cooorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

ESTHER MARIA MONTEIRO BISPO

**AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA ALIMENTAR, COMPOSIÇÃO CORPORAL E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DA PROLE DE RATAS SUBMETIDAS A DIETA
CETOGÊNICA NA LACTAÇÃO**

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito para obtenção de grau
de Nutricionista. Área de concentração:
Nutrição Experimental

Aprovado em: _15_/_09_/_2023_.

BANCA EXAMINADORA

Coorientadora (Allana Karoline Fernandes Nobre da Silva)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. (Tassia Karin Ferreira Borba)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. (Ana Paula Rocha de Melo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus** e a sua misericórdia que é derramada todos os dias da minha vida, agradeço a força e amparo que Ele me proporcionou nesses anos de graduação nos momentos que estava cansada, pois aprendi com Ele que seu jugo é suave e seu fardo é leve.

A minha mãe **Moema**, que esteve comigo desde o início, me ofereceu amor e atenção em todos os momentos e sempre acreditou no meu potencial.

A minha amada avó **Helena**, meu porto seguro e minha inspiração, a pessoa que mais torce pela minha felicidade e progresso. Ao meu irmão **Diogo**, por ser sempre solícito nos momentos que precisei.

As minhas amigas da faculdade em especial, **Júlia Emilly**, **Maria Caroline**, **Maria Eduarda** e **Lísias Alexandre** que estiveram junto a mim desde o primeiro período e continuam até esse presente momento.

A minha orientadora **Dra. Gisélia de Santana Muniz**, por todo o apoio e tempo dedicados a mim durante todo esse processo. A minha coorientadora e parceira de pesquisa, **Allana Karoline** por toda sua dedicação, paciência e auxílio para me ensinar.

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

Por fim, a todos os amigos e colegas que me ajudaram ao longo da graduação.

RESUMO

Introdução: Modificações dietéticas em períodos críticos de desenvolvimento, como o aumento no alto teor de gordura e baixo teor de carboidrato, a exemplo da dieta cetogênica no período lactacional, pode associar-se a mudanças na preferência alimentar na fase adulta. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da dieta cetogênica durante a lactação sobre peso corporal, consumo e preferência alimentar e parâmetros bioquímicos na prole fêmea adulta. **Materiais e Métodos:** Foram utilizadas 16 ratas *Wistar* nulíparas obtidas na colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os grupos experimentais foram formados de acordo com a dieta ofertada durante a lactação das ratas nutrizas: Grupo Controle (GC, n=8) no qual as ratas lactantes receberam dieta AIN-93G (GC; 3,6cal/g, 18% proteínas, 63% carboidratos e 19% de lipídios) e o Grupo Cetogênico (GK, n=8) no qual as ratas lactantes receberam dieta cetogênica (5,4cal/g; 19% proteínas, 10% carboidratos e 71% de lipídios). Os filhotes dos grupos foram designados: Grupo Controle Fêmea (GCF, n=15) e Grupo Cetogênico Fêmea (GKF, n=15). Após o desmame, a prole de ambos os grupos recebeu dieta comercial até os 120 dias de vida. Nos filhotes fêmeas *in vivo*, foram quantificados o peso corporal e o consumo alimentar. Aos 90 dias de vida os filhotes foram submetidos aos testes de tolerância à glicose (GTT) e testes de tolerância à insulina (ITT). Aos 120 dias de vida pós-natal, os filhotes foram submetidos a um teste de preferência alimentar com três tipos de dietas: hiperlipídica, hiperglicídica e hiperproteica. ~ 130 dias pós-natal os filhotes foram eutanasiados e foram analisados o peso úmido dos órgãos e composição bioquímica do soro sanguíneo. Para as análises estatísticas os resultados foram expressos em média e desvio padrão, considerou-se $p < 0,05$. **Resultados:** Não houve alteração de peso entre os grupos GCF e GKF durante o período da lactacional, como também não houve diferença no peso nas idades de 30, 60 e 90 dias e após o teste de preferência alimentar. No teste de preferência alimentar, foi observado um menor consumo de dieta hiperglicídica no grupo GKF. Nos testes de tolerância, o GKF apresentou maior concentração de glicose plasmática no ponto de tempo de 60'; No ITT o GKF apresentou maior concentração de glicose plasmática nos pontos de tempo 0' e 30', o que acarretou uma maior área sob a curva glicêmica para este grupo. Acerca dos pesos úmidos dos órgãos, o GKF apresentou maior peso da gordura visceral. **Conclusão:** A exposição materna a dieta cetogênica rica em gordura saturada durante a lactação levou à alteração da glicemia mediante testes de tolerância à glicose e à insulina na prole, um aumento de gordura visceral, assim como uma diminuição considerável no consumo da dieta hiperglicídica no teste de preferência alimentar.

Palavras-chave: Dieta cetogênica ; Lactação; Preferência alimentar.

ABSTRACT

Introduction: Dietary modifications in critical periods of development, such as an increase in high fat and low carbohydrate content, such as the ketogenic diet in the lactation period, can be associated with changes in food preference in adulthood. **Objective:** To evaluate the effects of the ketogenic diet during lactation on body weight, food intake and preference and biochemical parameters in adult female offspring. **Materials and Methods:** 16 nulliparous Wistar rats obtained from the colony of the Nutrition Department of the Federal University of Pernambuco (UFPE) were used. The experimental groups were formed according to the diet offered during lactation to the nursing rats: Control Group (CG, n=8) in which the lactating rats received the AIN-93G diet (CG; 3.6cal/g, 18% proteins, 63% carbohydrates and 19% lipids) and the Ketogenic Group (GK, n=8) in which lactating rats received a ketogenic diet (5.4cal/g; 19% proteins, 10% carbohydrates and 71% lipids). Puppies from the groups were designated: Female Control Group (GCF, n=15) and Female Ketogenic Group (GKF, n=15). After weaning, the offspring of both groups received a commercial diet until 120 days of age. In female pups in vivo, body weight and food consumption were quantified. At 90 days of age, the puppies were subjected to glucose tolerance tests (GTT) and insulin tolerance tests (ITT). At 120 days of postnatal life, the puppies were subjected to a food preference test with three types of diets: high-fat, high-glycemic and high-protein. ~ 130 postnatal days the pups were euthanized and the wet weight of the organs and biochemical composition of the blood serum were analyzed. For statistical analyses, the results were expressed as mean and standard deviation, considering $p < 0.05$. **Results:** There was no change in weight between the GCF and GKF groups during the lactation period, as well as no difference in weight at ages 30, 60 and 90 days and after the food preference test. In the food preference test, a lower consumption of a high-glycemic diet was observed in the GKF group. In tolerance tests, GKF showed higher plasma glucose concentration at the 60' time point; In the ITT, GKF showed a higher concentration of plasma glucose at time points 0' and 30', which resulted in a greater area under the glycemic curve for this group. Regarding the wet weights of the organs, the GKF presented a greater weight of visceral fat. **Conclusion:** Maternal exposure to a ketogenic diet rich in saturated fat during lactation led to changes in glycemia through glucose and insulin tolerance tests in the offspring, an increase of visceral fat, as well as a considerable decrease in the consumption of the high-glycemic diet in the food preference test.

Keywords: Ketogenic diet ; Lactation; Food preference.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Desenho experimental de acordo com os grupos, análises e dietas utilizadas.....	26
Figura 2. Evolução de peso dos filhotes durante a lactação e peso corporal dos filhotes fêmeas no período pós-lactação.....	30
Figura 3. Consumo alimentar médio dos filhotes aos 30 dias e 60 dias	31
Figura 4. Evolução de peso dos filhotes após o teste de preferência alimentar dos filhotes no período pós-lactação.....	31
Figura 5 Teste de preferência alimentar com o aumento dos macronutrientes	32
Figura 6. 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	33

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

CEUA	Comitê de Ética em Uso Animal
CONCEA	Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal
DCV	Doenças Cardiovascular
DC	Dieta Cetogênica
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DOHaD	Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença
GC	Grupo Controle
GK	Grupo Cetogênico
GKF	Filhotes fêmeas do Grupo Cetogênico
GCF	Filhotes fêmeas do Grupo Controle
GTT	Teste de tolerância à glicose
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HFD	Dieta de baixo carboidrato e muito alta gordura
ITT	Teste de tolerância à insulina
KCAL	Quilocalorias
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LNDE	Laboratório de Nutrição e Experimental e Dietética
NPY	Neuropeptídeo Y
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição de Macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) da dieta AIN-93G, Cetogênica e Nuvilab®.....	25
Tabela 2. Composição de macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) das dietas aplicadas no teste de preferência alimentar	25
Tabela 3. Parâmetros bioquímicos e peso dos órgãos da prole fêmea submetidas a dieta cetogênica durante o período lactacional.....	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Dieta cetogênica.....	13
2.2 Dieta rica em gordura durante o período perinatal.....	17
2.3 Dieta rica em gordura e preferência alimentar.....	18
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo Geral:.....	23
3.2 Objetivos Específicos:.....	23
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 Animais.....	24
4.2 Dietas experimentais:.....	25
4.3 Grupos experimentais:.....	26
5.5 Análises nos filhotes:.....	26
5.6 Análises estatísticas:.....	28
6. RESULTADOS.....	30
7. DISCUSSÃO.....	35
8. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41
ANEXO A- Parecer nº 0053/2021 CEUA- UFPE.....	50

1. INTRODUÇÃO

O período perinatal é comumente dividido em quatro estágios: implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e período neonatal. E os processos celulares que se manifestam nesse momento de perifertilização (meiose, ovulação e fertilização) são semelhantes em roedores e em humanos (Castro, 2004). Neste período inicial de desenvolvimento, a mãe e sua prole são mais sensíveis a determinadas mudanças exteriores, como por exemplo, a alimentação materna (Alfaradhi; Ozanne, 2011).

A nutrição é uma variável ambiental que permite ao organismo um adequado crescimento e desenvolvimento. Este fato é confirmado quando a oferta é inadequada ou exacerbada de nutrientes nos períodos da gestação e lactação, podendo desenvolver alterações estruturais e funcionais ao embrião, feto ou neonato, como a redução no tamanho encefálico, alterações na migração e diferenciação celular e em processos como neurogênese, diferenciação neuronal e sinaptogênese, e outras mudanças adaptativas na trajetória de crescimento e desenvolvimento (Morgane, *et al.*, 1993; Manhães-de-Castro *et al.*, 2001; Bloomfield, *et al.*, 2013). Além disso, a alimentação e outros estímulos ambientais durante o período perinatal podem gerar determinadas alterações no hipotálamo, ocasionando modificações no comportamento alimentar mais tarde na vida adulta (Levin; Dunn-Meynell, 2000; Bilbol; Tsan, 2010).

O comportamento alimentar pode ser definido como os aspectos psicobiológicos relacionados ao tempo das refeições, a frequência e a preferência alimentar, como também, outras interações associados a mecanismos homeostáticos e prazerosos em relação ao ambiente (Gahagan, 2012; Liu, Kanoski, 2018). A ingestão de alimentos é um dos componentes do comportamento alimentar, e a regulação dessa ingestão é realizada através do hipotálamo. O hipotálamo é uma estrutura composta por núcleos formados por subpopulações de neurônios orexígenos e anoréticos que controlam o balanço energético (Redinger, 2007). As células hipotalâmicas agem como sinalizadores nutricionais em resposta ao estado energético do corpo, desempenhando um papel crucial na fisiopatologia da obesidade (Elizondo-Vega; Recabal; Oyarce, 2019).

O alto consumo de alimentos processados ricos em gordura saturada, açúcares refinados e sódio, apesar de serem considerados alimentos palatáveis, está associado ao aumento da prevalência da obesidade. Esse tipo de alimentação auxilia no surgimento precoce de doenças crônicas como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e obesidade que representam potenciais programadores de efeitos deletérios à saúde dos descendentes (Márquez-Valade *et al.*, 2018; Jones *et al.*, 2012).

A exposição materna a uma dieta rica em gordura durante o período da gestação e lactação tem potencial para alterar o comportamento alimentar da prole quando adulto. A nível experimental com ratos, filhotes alimentados com dieta rica em gordura no período perinatal, quando jovens apresentaram um aumento na ingestão alimentar, no entanto, sem mudanças na ingestão calórica em curto prazo. Porém, nesses animais houve uma preferência maior por alimentos palatáveis a longo prazo. Ademais, estes filhotes apresentaram baixo peso ao nascer, mas quando chegaram à idade adulta a prole apresentou aumento do peso corporal e uma deposição de tecido adiposo branco (TAB) (Chaves *et al.*, 2020).

A Dieta Cetogênica (DC) é classificada como rica em lipídios, e é um tipo de composição formulada com uma menor quantidade de carboidratos e uma maior concentração de lipídios, podendo apresentar cerca de 10% em carboidratos, 20% de proteínas e 60 a 80% de lipídios (Vargas *et al.*, 2018; Veech, 2004). Determinados modelos experimentais com a dieta cetogênica podem ofertar até 90% de lipídeos em sua composição.(Grandl *et al.*, 2018).

A DC foi utilizada inicialmente para tratamento de epilepsia refratária em crianças que não respondiam aos fármacos. E apesar da utilização dessa conduta existir há um tempo considerável, ainda continua sendo associada ao tratamento desta condição (D'andrea Meira *et al.*, 2019; Sadeghifar; Penry, 2019). A dieta cetogênica vem ganhando destaque ao ser associada a melhoria do rendimento em pessoas fisicamente ativas e atletas, por ser associado a mudanças no metabolismo ao aumentar a utilização de gordura nos músculos e a capacidade aeróbica (Cao *et al.*, 2021). Outros pesquisadores associam ao planejamento dietético para a perda de peso, e melhorar os níveis de glicemia em jejum, insulina e lipídios (Paoli *et al.*, 2019; Rondanelli *et al.*, 2021). e prevenindo esteatose hepática (Jani *et al.*, 2022). Em modelos animais a dieta cetogênica está sendo associada a diminuição da

tolerância à glicose e resistência hepática à insulina (Garbow *et al.*, 2011; Grandl *et al.*, 2018). Sendo necessários mais estudos para compreensão das vias metabólicas, visto que há maior percentual de gorduras em relação às dietas hiperlipídicas disponíveis na literatura (Garbow *et al.*, 2011; Grandl *et al.*, 2018; Paoli *et al.*, 2019; Rondanelli *et al.*, 2021).

Entretanto, quando associam estudos com a dieta hiperlipídica no início da vida, os estudos experimentais em ratos alimentados com este tipo de dieta evidenciam que pode afetar o desenvolvimento fetal e pós-natal. E os resultados variaram de acordo com o período e duração da exposição à dieta (Christians *et al.*, 2019; Nadareli, 2001). Segundo Nadarelli *et al.* (2001), a administração de dieta rica em gordura no período de 12 semanas em modelo experimental de roedores jovens levou a alterações no metabolismo de glicose e lipídios e na função endotelial, mas não necessariamente no peso corporal do animal.

Considerando as informações supracitadas, este trabalho se propôs a investigar o efeito tardio na prole fêmea sob o consumo da dieta cetogênica submetida às mães durante a lactação. Com isso, a pergunta que conduziu a pesquisa consiste em: "Como a dieta *cetogênica* durante a lactação pode interferir na preferência alimentar com diferentes percentuais de macronutrientes, na composição corporal e nos parâmetros bioquímicos dos na prole de ratos quando adultos?"

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dieta cetogênica

2.1.1 Dieta cetogênica: Composição nutricional e metabolismo corpóreo

A composição nutricional da dieta cetogênica é caracterizada por proporcionar alto teor de gordura, baixo teor de carboidratos e quantidade de proteína adequada de acordo com a idade. A dieta cetogênica pode ser iniciada com composição de macronutrientes na proporção 2:1, ou seja, para cada 2 gramas de gorduras

ofertadas é fornecido 1 grama de carboidratos mais proteínas e, posteriormente, o consumo pode aumentar para as proporções 3:1 ou 4:1, conforme a estabilização da cetose urinária, sendo a proporção 4:1 a forma mais utilizada (Lee & Kossof, 2011). É geralmente apresenta como composição ~ 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). Em particular, essas dietas muito baixas em carboidratos (normalmente ≥ 50 g/dia) causam algumas alterações no metabolismo humano (Paoli *et al.*, 2015). Dado o grande número de variações das dietas cetogênicas, podemos considerá-las como uma categoria composta por diversas dietas e estratégias diferentes, mas com um objetivo comum, induzir um estado de cetose, ou um menor grau de cetose (Amato, 2022).

O catabolismo da gordura é a principal fonte de energia desse padrão alimentar, sendo portanto responsável pela produção de corpos cetônicos, devido a níveis elevados de degradação de ácidos graxos e atividade de enzimas cetogênicas e gerando um estado metabólico conhecido como cetose fisiológica (Lee & Kodssoff, 2011; Merra *et al.*, 2017). Na cetose fisiológica, há síntese de três corpos cetônicos: β -hidroxibutirato, acetoacetato e acetona. Os corpos cetônicos são produzidos pelo fígado, primeiro o acetoacetato, depois a acetona e o beta-hidroxibutirato, este último circulando principalmente no sangue. Os níveis de corpos cetônicos são normalmente baixos (< 3 mmol/l) e podem ser aumentados de $\sim 0,5$ -3mmol/l até um nível fisiológico máximo de 7-8mmol/l no consumo de uma dieta cetogênica (Gershuni; Yan; Medici, 2018).

A produção de corpos cetônicos está relacionada com a concentração de glicose no sangue e também da disponibilidade de glicogênio hepático para distribuição celular. Quando há menor concentração de glicose e glicogênio do que as células precisam, os corpos cetônicos são formados para continuar as funções fisiológicas de quase todas as células do corpo. Este processo ocorre primeiro em jejum, durante o consumo de dietas restritas em carboidratos por exemplo a DC, em indivíduos em intenso treinamento ou por falta de insulina circulante, como no diabetes tipo 1 não tratada (Danial *et al.*, 2013; Gershuni; Yan; Medici, 2018).

Com o aumento das concentrações do hormônio glucagon e a diminuição das concentrações do hormônio insulina no organismo na cetose fisiológica, a via

lipolítica no tecido adiposo é ativada, favorecendo a liberação de ácidos graxos e a degradação dos estoques de glicogênio no tecido hepático (Gershuni; Yan *et al.* Medici, 2018). Conseqüentemente há aumento dos ácidos graxos livres circulantes que são conduzidos para o fígado; nas mitocôndrias hepáticas eles serão beta-oxidados, produzindo assim um excesso de acetil-CoA. É a partir do pool de acetil-CoA que são sintetizados os corpos cetônicos (Fukao; Lopaschuk e Mitchell, 2004). Esses efeitos são compatíveis em diminuir a quantidade de gordura (triglicerídeos) no fígado pois promovem a eliminação de ácidos graxos que entram neste órgão, limitando a disponibilidade de substrato para a síntese de triglicerídeos. Na verdade, foi demonstrado que a indução da cetogênese previne a lesão hepática gordurosa e a hiperglicemia induzidas pela dieta (Jani *et al.*, 2020).

2.1.2 Dieta cetogênica e sua utilização na prática clínica e na resposta metabólica

Criada em 1921 pelo Dr Russell Wilder, a dieta cetogênica foi elaborada através da observação de pacientes com epilepsia que quando submetidos a jejum apresentaram controle melhor de suas crises. Analisando esse contexto, originou-se uma dieta que simulasse os efeitos metabólicos induzidos pelo estado de jejum (Lee & Kossof, 2011). Assim, pacientes que não respondiam ativamente ao tratamento farmacológico tradicional (drogas antiepilépticas) para epilepsia refratária percebia na DC uma alternativa para diminuir os efeitos negativos desta situação (Lee & Kossof, 2011).

Para D' andrea Meira *et al.*, (2019), a DC é vista como uma conduta terapêutica de último recurso, ou seja, quando crianças ou adultos não respondem aos tratamentos convencionais farmacológicos. Entretanto alguns estudos têm associado a dieta cetogênica como uso terapêutico para a melhoria de uma multiplicidade de estados clínicos, como a obesidade, diabetes, epilepsia, distúrbios convulsivos e doenças malignas do sistema nervoso central (Merra *et al.*, 2017; Meira *et al.*, 2019) e emergiu também como uma intervenção não farmacológica eficaz para o tratamento da doença hepática gordurosa não alcoólica e outros distúrbios metabólicos em indivíduos obesos (Watanabe *et al.*, 2020).

A literatura descreve evidências benéficas em pacientes portadores de doenças cardiovasculares (DCVs), seu efeito positivo está relacionado ao colesterol LDL, pois a DC modula o tamanho das partículas de colesterol LDL, tornando-as mais flutuantes no plasma, reduzindo assim seu risco aterogênico (Volek; Sharman; Forsythe, 2005). Além disso, a DC também foi relatada como benéfica no tratamento de diabetes tipo 2 (DM2), estando associada ao melhor controle metabólico e efeitos positivos na sensibilidade sistêmica à insulina (Choi, Jeon e Shin, 2020; Paoli *et al.*, 2013).

Atualmente é associado a DC a perda de peso em humanos (Mckenzie *et al.*, 2017). Estudo relata que pessoas que seguiram a dieta DC com ingestão máxima de carboidratos de 50 gramas por dia apresentaram maior perda de peso (como desfecho primário) e tiveram efeito nos parâmetros de risco cardiovascular (como desfecho secundário). Estes pacientes apresentaram níveis mais baixos de triglicerídeos plasmáticos em comparação com uma dieta pobre em gordura (Bueno *et al.*, 2013). Em humanos, as dietas cetogênicas são consideradas baixas em calorias, condição que pode auxiliar a perda de peso (Gardner *et al.*, 2018). Além disso, grande parte dos indivíduos que utilizam a DC com essa finalidade também praticam exercício físico, e alguns são submetidos a acompanhamento psicológico para acompanhamento de possíveis alterações no padrão de alimentação (Ohsiek; Williams; Dean, 2011; Swift *et al.*, 2018).

Entretanto, Grandl e colaboradores (2018) afirmaram que quando alimentados com a DC os animais apresentaram diminuição na tolerância à glicose, associado ao quadro de resistência à insulina hepática (Grandl *et al.*, 2018). Estes efeitos citados anteriormente demonstram que o consumo da DC em longo prazo pode estar associado a efeitos nocivos à saúde (Garbow *et al.*, 2011).

Já o consumo da DC em curto período (21 dias) não ocasiona maiores alterações no estado nutricional, perfil hepático, renal e lipídico (Colica *et al.*, 2017). No entanto, estudos comprovam a segurança no uso da DC por até dois anos (Broom; Shaw; Rucklidge, 2018; Ma, 2019), apesar de haver encontrado maiores vantagens em seu uso após um ano (BATCH *et al.*, 2020). Já a utilização da dieta cetogênica por 8 semanas em ratos machos Wistar foi capaz de atenuar a esteatose e a sensibilidade da insulina no fígado, o que apoia o uso desta intervenção dietética para tratar as doenças hepáticas não alcoólicas (Jani *et al.*, 2020). Assim, ainda são

necessários mais estudos para avaliar a utilização deste modelo dietético que comprove a sua eficácia nos padrões fisiometabólicos.

2.2 Dieta rica em gordura durante o período perinatal

O tipo de gordura da dieta materna desempenha papel importante no desenvolvimento fetal e pós-natal dos filhotes, bem como na adipogênese e no desenvolvimento cerebral (Mendes-da-Silva *et al.*, 2013). A quantidade do tipo de ácidos graxos ingeridos pode interferir nas respostas metabólicas, alterar a composição de ácidos graxos dos fosfolipídios na membrana plasmática, causar danos estruturais e funcionais às células levando a alterações permanentes no controle do apetite, metabolismo energético e na função neuroendócrina da prole (Kabaran; Besler, 2015).

A condução dos ácidos graxos de cadeia longa (poliinsaturados) na dieta da genitora para os filhos, ocorre através da placenta, e no momento da lactação o transporte dos ácidos graxos é realizado através do leite materno. (Brett *et al.*, 2001; Elias; Innis, 2001). E na alimentação materna deve-se considerar o fornecimento dos ácidos graxos essenciais, pois são passados aos filhos através do leite materno. Os ácidos graxos essenciais (ômega 6 e 3) são necessários para o desenvolvimento e funcionamento do sistema nervoso central. Um desequilíbrio na ingestão de ômega-6 e ômega-3 é um fator de risco para a programação metabólica que pode levar ao baixo peso ao nascer na prole ou a um risco aumentado de doenças como a obesidade na vida adulta (Kabaran, Besler, 2015).

Para roedores em crescimento e desenvolvimento, como durante a gestação e lactação, a dieta AIN-93G fornece aproximadamente 4,8 g de ômega-3 e 37,5 g de ômega-6 por kg de dieta, suficientes para esses períodos (Reeves *et al.*, 1997). Sendo assim, esses AGs são cruciais para a diferenciação celular e o aparecimento de sinapses no sistema nervoso central durante os primeiros estágios de desenvolvimento (Cadena-Burbano, 2018). Em estudo experimental em roedores, foi observado que uma dieta rica em ácidos graxos linoléico, linolênico e oleico durante a gravidez e lactação garante o desenvolvimento adequado do tecido cerebral com ênfase nos processos de memória, aprendizagem e desenvolvimento locomotor (Nascimento, 2016).

O tipo de ácidos graxos presentes na dieta durante o período crítico é um fator chave para o crescimento fetal e pós-natal adequado (Mennitti *et al.*, 2015), principalmente o consumo de ácidos graxos poliinsaturados devido à sua facilidade de transporte através da placenta durante a gravidez e lactação (Brett *et al.*, 2001 ; Elias; Innis, 2001). Porém, dietas ricas em gordura saturada no período gestação e lactação aumentam as chances da prole na vida adulta desencadear alterações na função hepática, hiperglicemia, resistência insulínica, obesidade, hipertensão arterial e diabetes (Liang; Oest; Prater, 2009), como também, uma maior proporção de ácido graxo saturado na dieta materna afeta a memória e os processos de aprendizagem da prole (Page; Jones; Anday, 2014).

O maior consumo de gordura saturada em dietas hiperlipídicas está relacionado com a resposta na concentração plasmática de lipídios. Em roedores que consumiram dietas hiperlipídicas e rica em ácidos graxos saturados por duas semanas antes do acasalamento e durante o período perinatal, promoveu na prole maior concentração de colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade (LDL) em comparação ao grupo controle e ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica rica em gorduras poli-insaturadas (Kanta Chechi; Sukhinder Kaur Cheema, 2006). Com isso é possível constatar que no período do crescimento e desenvolvimento das funções e estruturas do organismo a quantidade de lipídios deve ser fornecida considerando o padrão internacional, aproximadamente de 18% do valor calórico total (Reeves *et al.*, 1997), mas também deve-se observar a qualidade dos lipídios/ ácidos graxos pois podem contribuir de maneira distinta no funcionamento orgânico (Donatella Gniuli *et al.*, 2008).

2.3 Dieta rica em gordura e preferência alimentar

O estudo da alimentação é uma área altamente complexa que envolve necessidades nutricionais, cultura, região onde habita e o desenvolvimento dos processos de introdução e comportamento alimentar. A alimentação corresponde à saúde como uma necessidade básica para a sobrevivência dos seres humanos, e é através dela que o nosso organismo supre as necessidades energéticas e dos nutrientes (Nelson e Cox, 2011). Contudo, o organismo é dotado de estruturas que sinalizam a necessidade da alimentação que resultam em sensações de fome ou

saciedade (Havel , 2002; Wynne *et al.*, 2005).

A necessidade fisiológica da ingestão do alimento, a sensação que induz o indivíduo à procura e ao ato de comer, de forma a manter a homeostase pode ser conceituado como a fome (Wynne *et al.*, 2005). Já a saciedade relaciona-se a um processo que ocorre durante a alimentação e que resulta com o término da refeição devido à sensação de plenitude gástrica (Blundell, 2006), através de sinalizações periféricas que são enviados ao sistema nervoso central e regulando o balanço energético (Berthoud e Morrison, 2008). Mas quando relacionamos o prazer pela comida, o desejo de comer algo, ou o prazer em alimentar-se com determinado tipo de alimento demonstra-se a apetite, e cientificamente relaciona-se ao processo hedônico da alimentação (Kelley *et al.*, 2005).

O ato da alimentação é regulado por sinais oriundos dos sistema nervoso (central e periférico), do sistema endócrino, trato gastrointestinal, fígado e as vias sensoriais periféricas (Plagemann *et al.*, 2000). E os estímulos organolépticos dos alimentos, a presença de nutrientes (carboidratos, lipídios, proteínas e micronutrientes) são fundamentais para a busca e escolha do alimento (Drewnowski, 1999; Herrera *et al.*, 2011; Mourão e Bressan, 2009).

A ingestão alimentar é controlada por mecanismos homeostáticos e não homeostáticos que proporcionam o equilíbrio energético no organismo (Magalhães *et al.*, 2010). E o hipotálamo é uma estrutura cerebral que integra sinais centrais e periféricos e possui como função a homeostase energética (Reul *et al.*, 1990). No sistema nervoso central (SNC), esses sinais são integrados no tronco cerebral e no hipotálamo, incluindo a ação de vários neuropeptídeos e neurotransmissores, como exemplo da serotonina (Chandler-Laney *et al.*, 2007). E os sinais homeostáticos periféricos incluem diversos fatores secretados pelo sistema gastrointestinal (grelina, peptídeo YY e colecistocinina), pâncreas (insulina) e tecido adiposo (leptina) e sinais de estimulação de mecanorreceptores entéricos. Já os sinais não homeostáticos são gerados em diversas estruturas cerebrais, como o *núcleo accumbens*, utilizando a serotonina como um dos principais mensageiros (Halford e Blundell, 2000). O *núcleo accumbens* também é responsável pelo mecanismo neural que converte o “motivação” em “ação”, pois recebe sinais das estruturas límbicas e é responsável por integrar as propriedades motivacionais do comportamento alimentar e influenciar

o controle da fome (Mogenson *et al.*, 1980). Um estudo demonstrou que o consumo materno de dieta de cafeteria, rica em gordura atua nesse sistema, alterando a sinalização de dopamina e aumentando a ingestão de gordura na prole 90 dias após o nascimento (Ong e Muhlhauser, 2011).

Ao relacionar os nutrientes e a ingestão alimentar, os lipídios e os açúcares são fatores determinantes na ingestão, visto o seu papel associado ao valor sensorial.(Cynthia; Muniz; Elizabeth Do Nascimento, 2019) O açúcar é um gosto inato, estando relacionado à sobrevivência e pode também ser aprendido ao longo da vida (Drewnowski, 1995). Alguns pesquisadores estão associando a motivação ou o desejo por alimentos doces ao atraso no controle do apetite, possivelmente, devido ao efeito aparente que o gosto doce tem em atrasar a saciedade (Dalton e Finlayson , 2014). Já as gorduras são utilizadas nas preparações culinárias para melhorar o sabor e promover maciez, suculência aos alimentos, e possuem propriedades organolépticas associadas à palatabilidade. Os alimentos com alta densidade energética parecem ser suficientes para indicar uma preferência alimentar ou o excesso de recompensa alimentar (Rio-Lima *et al.*, 2019).

As proteínas estão relacionadas como um inibidor da ingestão alimentar (Fromentin *et al.*, 2012). O consumo de proteína está relacionado a redução do apetite e seu efeito direto sobre a saciedade devido a baixa palatabilidade. Além disso, alguns estudos relatam que quando há excesso em seu consumo há aumento na oxidação de aminoácidos gerando substratos para a via de produção de energia (Westerp-plantenga *et al.*, 2009; Fromentin *et al.*, 2012). Contudo, o consumo de aminoácidos é reconhecido por mecanismos durante a digestão e metabólicos, e registrados pelo sistema nervoso central (SNC). A nível periférico o efeito das proteínas da alimentação em promover a saciedade parece ser mediado por peptídeos intestinais anorexígenos, principalmente colecistocinina, peptídeo-1 semelhante ao glucagon e peptídeo YY. E a nível do sistema nervoso central as dietas ricas em proteínas são responsáveis por desencadear a ativação de neurônios noradrenérgicos e adrenérgicos no núcleo do trato solitário e de neurônios de melanocortina no núcleo arqueado (Fromentin *et al.*, 2012; Chleilat *et al.*, 2021).

Assim, várias substâncias periféricas atuam nos neurônios que produzem esses peptídeos para estimular o comportamento alimentar (Van Oers *et al.*, 1998). O estresse favorece alterações importantes no metabolismo energético. Pessoas expostas a ambientes estressantes podem apresentar menor consumo alimentar e peso corporal e maior gasto energético (Hermann; Prewitt; Cullian, 1996). No entanto, o estresse favorece o aumento do consumo quando os alimentos são densos em energia ou palatáveis (Curtis; Bethea; Valentino, 2005). Quando submetidos a um teste de preferência alimentar, pessoas estressadas preferem alimentos gordurosos (Duchense; Dufresne; Sullivan, 2009).

As evidências sugerem que, além de comer em excesso, o comportamento alimentar e as escolhas alimentares também são afetados pela nutrição perinatal (Chleilat *et al.*, 2021). Foi relatado que crianças obesas apresentam maior preferência por alimentos ricos em gordura, o que está associado ao aumento da obesidade parental (Murabayashi *et al.*, 2013). Crianças com um ou ambos os pais obesos apresentam ingestão alimentar elevada em energia advinda de gordura em comparação com crianças com pais que possuem peso adequado (Mendes *et al.*, 2018). No entanto, nestes estudos não foi elucidado se a maior preferência por alimentos gordurosos das crianças ocorreu como resultado de uma exposição perinatal à DH, à genética ou uma maior disponibilidade de alimentos ricos em gordura durante a infância (Mendes *et al.*, 2018).

Estudos experimentais com animais estão demonstrando que dietas desequilibradas em energia e nutrientes podem estar associadas ao excesso de peso e ao desequilíbrio da ingestão e preferência dos alimentos (Walker *et al.*, 2008, Hooijimas *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2014). A prole dos animais quando adultos submetidos a dietas hiperlipídicas ou ao padrão *junk food* durante a fase perinatal fornecem evidências para maior preferência por alimentos gordurosos, doces e salgados (Walker *et al.*, 2008, Hooijimas *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2014).

Os fatores ambientais, como a nutrição, no início da vida podem programar os descendentes aos riscos de doenças crônicas na vida adulta por atuar nos hábitos alimentares. Assim, Portella *et al.* (2012) através de evidências clínicas e experimentais demonstraram que o ambiente fetal pode impactar no desenvolvimento e a regulação das preferências alimentares (vias homeostáticas e hedônicas, o papel do paladar/olfato e da recompensa/prazer), na vida quando

adulto. Contudo, pesquisa demonstrou que o aumento da preferência por alimentos com alto teor de sacarose e gordura e o aumento da ansiedade após a retirada de dietas palatáveis com alto teor de gordura foram acompanhados por uma redução na expressão de tirosina hidroxilase (TH) e fosfo-CREB (pCREB) na amígdala (Sharma *et al*, 2012).

A fonte de gordura na dieta perinatal influencia a programação das preferências alimentares. Os filhotes das mães alimentadas com dietas hiperlipídicas com banha ou óleo de peixe apresentaram diferenças nas preferências por alimentos. A prole que as mães se alimentaram com dieta à base de banha como principal fonte de gordura apresentaram maior preferência pela dieta hiperlipídica, enquanto que a prole submetida a dieta à base de óleo de peixe não demonstraram o mesmo efeito (Hooijmans *et al.*, 2014). Assim, em roedores, há evidências de que a ingestão materna de dieta hiperlipídica altera os sistemas dopaminérgicos associados ao valor da recompensa alimentar em animais adultos, como o núcleo accumbens e a área tegmental ventral (Yang *et al.*, 2016).

Em pesquisa experimental foi demonstrado que ratos nascidos de mães alimentadas com dieta hiperlipídica, 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 (Bayol *et al.*, 2007). 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).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Avaliar os efeitos da dieta cetogênica durante a lactação sobre peso corporal, consumo e preferência alimentar e parâmetros bioquímicos na prole fêmea adulta.

3.2 Objetivos Específicos:

- Quantificar o peso corporal, peso úmido dos órgãos e consumo alimentar da prole;
- Analisar os parâmetros bioquímicos séricos, os níveis de tolerância à glicose e à insulina da prole;
- Avaliar a preferência alimentar (dietas hiperlipídicas, hiperproteicas e hiperglicídicas) da prole.

4 METODOLOGIA

4.1 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 à Comissão de Ética em Uso animal (CEUA) da UFPE, tendo início após aprovação (CEUA - processo 0053/21). (Anexo A)

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 espermatozóide 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 à 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. Neste estudo, apenas a prole fêmea continuou no estudo e passou a receber dieta padrão de biotério (dieta comercial Nuvilab – Tabela 1).

4.2 Dietas experimentais:

Foram utilizadas as dietas AIN-93G, padrão para roedores em fase de crescimento, e cetogênica (Reeves *et al.*, 1997). A dieta experimental, dieta cetogênica, foi elaborada para conter baixo teor de carboidratos e alto teor de lipídios. Sua formulação apresenta 5,4 calorias/g e baseada nos produtos e composição nutricional da dieta AIN-93G e com alteração quantitativa dos ingredientes e da proporção dos macronutrientes, com acréscimo de fontes lipídicas, ricas em ácidos graxos saturados – Tabela 3 (Carboidratos -10% do valor calórico total, proteínas - 19% do valor calórico total, e lipídios -71% do valor calórico total). Após o desmame todos os filhotes passaram a receber dieta padrão de biotério (dieta comercial Nuvilab – Tabela 1).

Porém, aos 120 dias de vida a prole fêmea foi submetida ao teste de preferência alimentar no qual foi ofertado diferentes composições de dieta (hiperlipídica, hiperglicídica e hiperlípidica). As dietas foram confeccionadas de acordo com a composição nutricional e ingredientes da na AIN 93-M – Tabela 2.

Tabela 1. 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 2. Composição de macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) das dietas aplicadas no teste de preferência alimentar.

Tipos de dietas*/**	Proteínas (% kcal VET)	Carboidratos (% kcal VET)	Lipídios (% kcal VET)	VET (kcal/g)
HIPERGLICÍDICA (CHO)	12	78	10	3,5
HIPERPROTEICA (PTN)	35	53	11	3,5

HIPERLIPÍDICA (LIP)	13	47	41	4,2
---------------------	----	----	----	-----

*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).(TACO)

** Dietas baseadas na AIN-93M

4.3 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, os filhotes fêmeas receberam dieta comercial (Nuvilab), permanecendo nos mesmos grupos das dietas recebidas pelas genitoras, assim: Grupo Controle Fêmea (prole fêmea – GCF, n =15); Grupo Cetogênico Fêmea (prole fêmea – GKF, n=15).

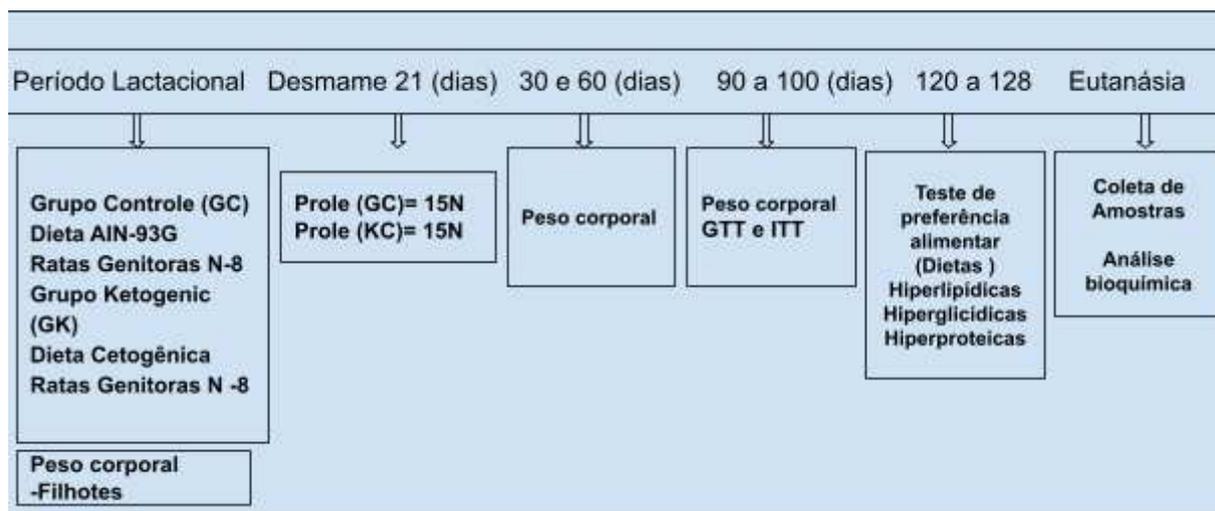


Figura 1. Desenho experimental de acordo com os grupos, análises e dietas utilizadas.

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. O peso corporal também foi quantificado

durante o teste de preferência alimentar (120 dias de vida). 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. Para a determinação da glicemia, foi utilizado um teste colorimétrico específico (Glicose Bioliquid, Laborclin, Curitiba, Paraná, Brasil).

5.5.1.3 Realização do teste de preferência alimentar:

Aos 120 dias de vida pós-natal, os filhotes dos diferentes grupos foram submetidos a um teste de preferência alimentar com os três tipos de dietas: hiperlipídica, hiperglicídica e hiperproteica (Tabela 2). Com isso, os animais foram alojados em gaiolas individuais e receberam simultaneamente os três tipos de dieta por oito dias consecutivos. Durante o teste foi quantificado o consumo dos três tipos de dietas ofertadas para determinação da preferência. Para tal, os dados foram coletados no período da manhã durante os 8 dias de duração do teste, entre 7:00h e 10:00h, e para quantificação diária foi subtraída a quantidade de cada ração (hiperlipídica, hiperglicídica ou hiperproteica) colocada na gaiola de cada animal no dia anterior pela quantidade remanescente de ração na gaiola no momento da coleta. Em seguida, para determinação do consumo total de cada dieta, foram

somados os dados de ingestão dos dias de coleta de cada ração por animal, e por fim foi feito o cálculo do consumo total de cada dieta por grupo. Foi utilizada uma balança eletrônica digital, marca Marte XL 500, classe II, capacidade máxima 500g (menor divisão 0,001g) para a realização da pesagem.

5.5.2 Análises nos filhotes post mortem

5.5.2.1 Coleta de amostras:

Aproximadamente aos 130 dias pós-natal, os animais foram eutanasiados. Na idade pontuada no estudo os animais foram mantidos em jejum de 10 a 12 horas e decapitados 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, 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 dos órgãos.

5.5.2.2 Análise do perfil bioquímico:

Neste estudo foi analisada a concentração sérica de colesterol total e 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 absorvância foi realizada em espectrofotômetro de microplacas modelo EPOCH™ (BioTek®). Posteriormente foi obtida uma média entre as absorvâncias de cada amostra, quando foram convertidos em mg/dL, conforme indicado pelo fabricante. Para tais procedimentos, foram utilizados o Kit de Colesterol Liquiform (REF. 76) e o Kit Triglicérides Liquiform (REF. 87), respectivamente (Labtest, Lago Santa, Minas Gerais, Brasil).

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 (variáveis dieta e idade) e da preferência alimentar das ratas foi utilizado no 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 (GCF) e cetogênicos (GKF) foi utilizado o teste T. O nível de significância foi mantido em 5% ($P < 0,05$).

6. RESULTADOS

6.1 Análises na prole durante e após a lactação:

O peso corporal dos filhotes durante a lactação não foi diferente (Figuras 2A). E na análise do peso corporal nas idades de 30, 60 e 90 dias também não foram encontradas diferenças (Figura 2B). Como também não foi encontrada diferença no peso corporal entre os grupos antes e após a realização do teste de preferência alimentar (Figura 3).

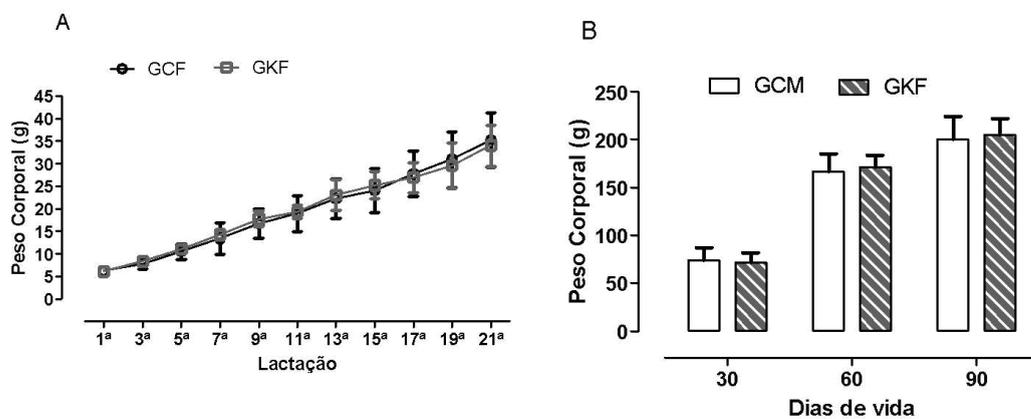


Figura 2. Evolução de peso dos filhotes fêmeas durante e após o período lactacional submetidos a dieta cetogênica Ketogenic. (A) durante a lactação e peso corporal dos filhotes fêmeas dos grupos Controle e Ketogenic (B) no período pós-lactação. GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=15), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n= 15). Valores foram expressos em média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Tukey, $p > 0,05$.

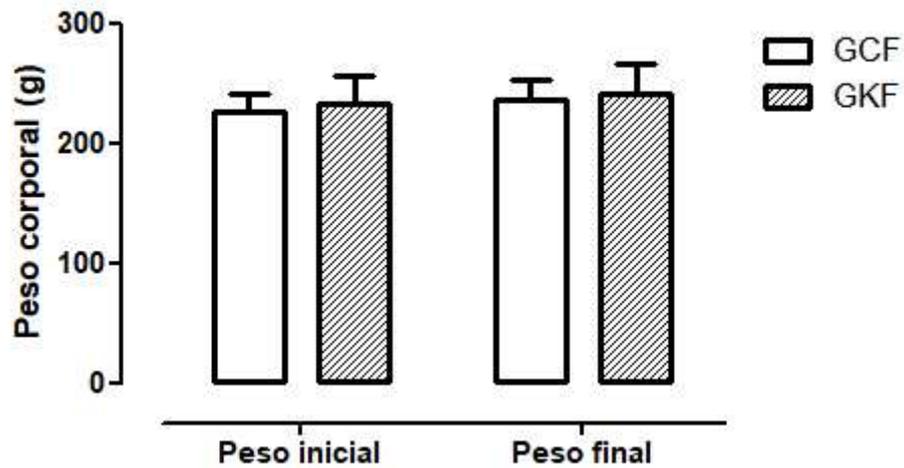


Figura 3. Peso corporal das fêmeas quando adultas antes e após o teste de preferência alimentar. GCF- Grupo Controle - Prole Fêmea (n=10), GKF- Grupo Cetogênico - Prole Fêmea (n=9). Valores foram expressos em média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Tukey, $p>0,05$.

O teste de preferência alimentar com dietas com aumento de um tipo de macronutrientes (hiperlipídica, hiperglicídica e hiperproteica) demonstrou no GKF menor consumo da dieta hiperglicídica. No entanto, em relação ao consumo das dietas hiperlipídicas e hiperproteicas não houve diferença significativa (Figura 4).

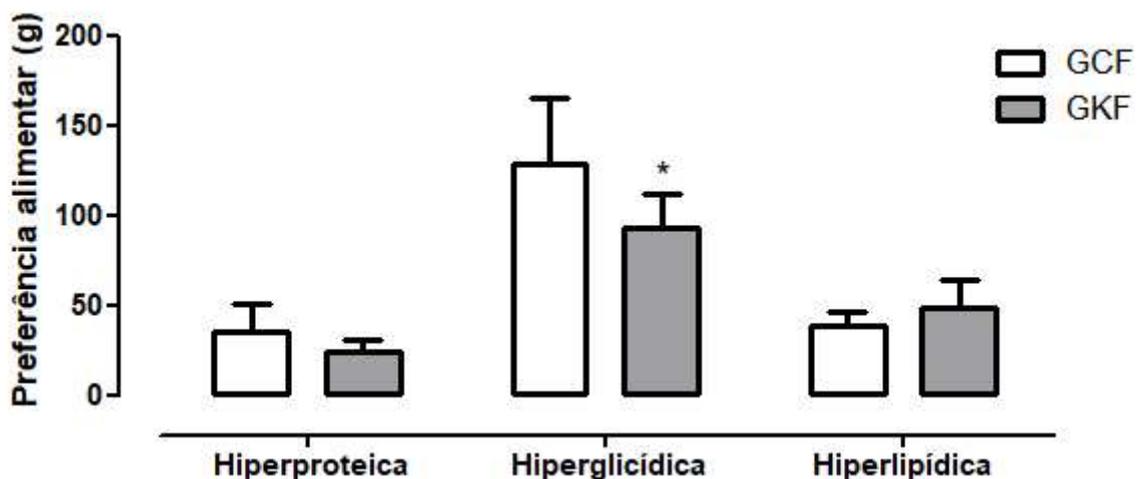


Figura 4. Preferência alimentar de acordo com aumento de macronutrientes na dieta (hiperlipídica, hiperglicídica e hiperproteica) da prole de ratas fêmeas submetidas a dieta cetogênica na lactação. GCF- Prole Fêmea do Grupo Controle (n=10), GKF- Prole Fêmea do Grupo Cetogênico (n=9). Valores foram expressos em média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do *pos-teste* de Tukey, $*p<0,05$ – Diferença entre GKF versus GCF no consumo de dieta hiperglicídica.

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). No teste de tolerância à glicose, o GKF apresentou diferença estatística na concentração de glicose plasmática apenas no ponto de tempo de 60' ($p>0,05$), onde o GKF demonstrou 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 5.

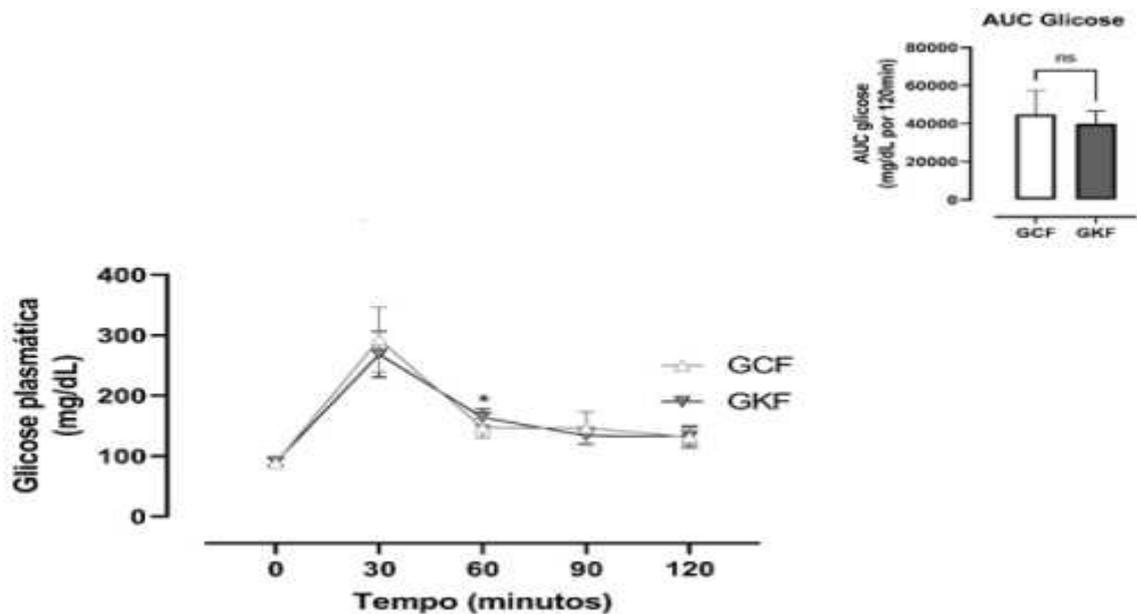


Figura 5. Curva glicêmica e área sob a curva (AUC) e referente ao teste de tolerância à glicose aplicados aos 90 dias de vida dos filhotes fêmeas. GCF- Prole Fêmea do Grupo Controle (n=10), GKF- Prole Fêmea do Grupo Cetogênico (n=9). Valores foram expressões em média \pm desvio padrão. Curva glicêmica referente ao teste de tolerância à glicose aplicado aos 90 dias de vida: GKF vs. GCF. Teste T, * $p<0,05$.

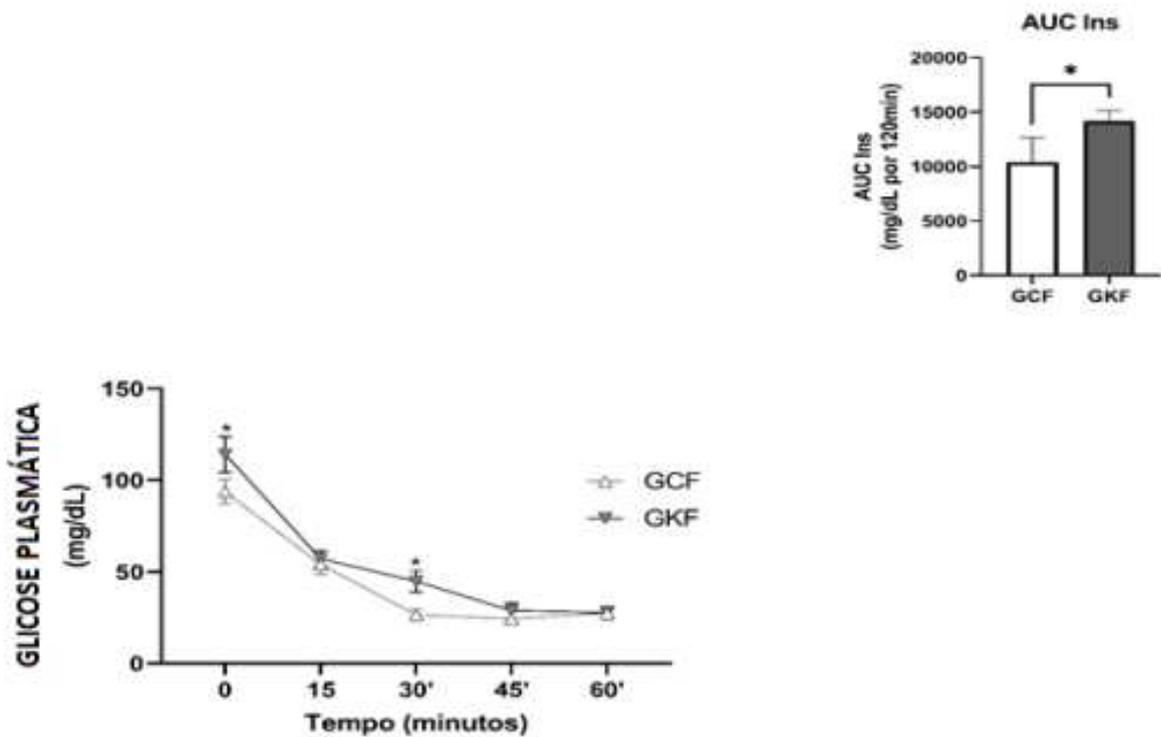


Figura 6. Curva glicêmica e área sob a curva (AUC) e referente ao teste de tolerância à insulina aplicados aos 90 dias de vida dos filhotes fêmeas. GCF- Prole Fêmea do Grupo Controle (n=10), GKF- Prole Fêmea do Grupo Cetogênico (n=9). Valores foram expressões em média \pm desvio padrão. Curva glicêmica referente ao teste de tolerância à glicose aplicado aos 90 dias de vida: GKF vs. GCF. Teste T, * $p < 0,05$.

Acerca do teste de tolerância a insulina com as análises dos filhotes, 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 6.

6.2 Análises na prole post mortem:

Na tabela 3 foram descritos os pesos úmidos dos órgãos da prole do GKF e GCF, os quais foram analisados após a eutanásia dos animais. O peso da gordura visceral apresentou-se maior no GKF em comparação ao GCF ($p^* = 0,03$), sendo essa a única diferença estatística encontrada no peso úmido dos órgãos ao analisar a prole fêmea de ambos os grupos. A mesma tabela descreve a concentração de

colesterol e triglicerídeos, não foi possível encontrar diferença significativa entre os grupos.

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos e peso dos órgãos da prole fêmea submetidas a dieta cetogênica durante o período lactacional.

	GCF	GKF	p
Parâmetros bioquímicos			
Colesterol total (mg/dL)	57,10±2,03	61,27±0,76	0,07
Triglicerídeos (mg/dL)	35,25±2,03	33,46±2,22	0,56
Peso úmido dos órgãos			
Gordura Visceral (g)	2,95±0,24	4,85±0,88	0,03
Gordura Retroperitoneal (g)	4,30±0,31	4,55±0,75	0,77
Coração (g)	0,88±0,01	0,92±0,04	0,36
Fígado (g)	6,00±0,29	6,22±0,29	0,59
Rim direito (g)	0,87±0,01	0,89±0,01	0,59
Rim esquerdo (g)	0,84±0,01	0,88±0,02	0,35
Baço (g)	0,50±0,01	0,46±0,02	0,39

GCF = Grupo controle (n=10) e GKF = Grupo cetogênico (n=9). Valores foram expressos em média ± desvio padrão. Teste T, ***p<0,05**.

7. DISCUSSÃO

Esse trabalho avaliou a preferência alimentar, peso corporal e parâmetros bioquímicos da prole de ratas quando adultos sobre utilização de um modelo de dieta experimental com padrão cetogênico durante o período lactacional. Nossos resultados demonstraram que não houve alteração no peso corporal nas idades avaliadas (período da lactação, aos 30, 60 e 90 dias pos desmame e durante o teste de preferência alimentar). No entanto, houve mudança na composição corporal das ratas GKF por desenvolverem maior quantidade de tecido adiposo visceral.

O modelo de origem desenvolvimentista de saúde e doença (DOHaD) apoia a ideia de que uma dieta desequilibrada em macronutrientes, micronutrientes e calorias durante períodos críticos de desenvolvimento, como o período lactacional, pode levar a doenças a longo prazo, incluindo interferência no crescimento físico, alterações de peso (Gluckman *et al.*, 2010). Estudos demonstraram que o fornecimento dessas dietas durante o período perinatal, pode promover ganho de peso e crescimento somático quando a prole apresenta alterações no metabolismo lipídico e nos níveis de glicose no sangue (Cadena-Burbano *et al.*, 2019; Ferro Cavalcante *et al.*, 2013; Alves, 2021).

Além disso, foi possível observar em um estudo no qual os filhos de mães alimentadas com uma dieta rica em gordura (HF) durante o período de gravidez e lactação eram mais pesados em comparação com ratas mantidas com uma dieta padrão. No 21º dia pós-natal, momento em que os filhotes foram desmamados e passaram a receber a dieta padrão, os machos de mães que se alimentaram com alto teor de gordura, continuaram sendo mais pesados, no entanto, em relação às fêmeas a diferença de peso corporal não era mais evidente após 8 semanas de idade (Treesukosol *et al.*, 2014).

No estudo realizado por Desai e colaboradores(2014), em que houve a utilização de (60% de lipídio) na dieta foi observado um aumento do peso corporal dos filhotes, porém ocorreu na idade adulta. No entanto, outro estudo realizado por Alfaradhi e colaboradores(2016) em que foi utilizado um menor percentual de lipídios (45 %), não foi observado alteração no peso da prole.

Apesar desses estudos, o que foi possível analisar é que nos resultados deste trabalho o efeito não ocorreu na prole, mesmo com a utilização de 71% de lipídios na dieta, visto que, não houve alterações significativas relacionado ao peso entre

os grupos GCF e GKF nas idades de 30, 60 e 90 dias, como também, após a realização do teste de preferência alimentar realizado no período de 120 dias pós natal. No entanto, é importante ressaltar que as mudanças no peso corporal dos filhotes, podem ser relacionadas ao tempo de exposição à dieta. Estudos com a utilização de dietas hiperlipídicas e hipercalóricas nas mães durante o período perinatal, revelou mudanças no peso corporal dos filhotes, porém, essas alterações só foram observadas tardiamente com a idade acima de 150 dias (Desai *et al.*, 2014; Pilleggil *et al.*, 2016b).

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 (Fernades, 2016; Prendergast, Onish e Zucker, 2014). Assim, a maior quantidade de tecido adiposo visceral nestas ratas quando adultas podem estar relacionadas a maior resistência à perda de estoques energéticos (Souza, 2020).

O acúmulo de gordura visceral, mais que a gordura subcutânea está associado à RI devido às características metabólicas desse tipo de gordura, como aumento da propensão à lipólise, aumento da atividade do receptor de glicocorticóides, aumento da secreção de citocinas inflamatórias, e redução da secreção de insulina sensibilizante adipocinas. (Muñoz Contreras; Bedoya Berrío; Velásquez R, 2013).

O tecido adiposo abdominal é um relevante preditor de risco cardiovascular e metabólico e inclui depósitos de gordura subcutânea e intra-abdominal, que por sua vez são subdivididos em visceral (ou intraperitoneal) e retroperitoneal (Frayn, 2000; Brundavani; Murthy; Kurpad, 2006; Sampaio Al *et al.*, 2007). Esses diferentes compartimentos predizem riscos diferentes, sendo o tecido adiposo visceral (TAV) o componente com maiores efeitos adversos nos parâmetros metabólicos e hemodinâmicos (Jensen, 2002; Poirier; Despres, 2003; Vasques *et al.*, 2010).

O TAV é definido como a gordura ao redor das vísceras, do peritônio, da borda dorsal do intestino e da parte ventral do rim, que é mais metabolicamente ativa do que outros componentes do tecido (Jensen, 2002), e mostrou forte

associação com resistência à insulina e outros fatores de risco cardiovascular (Fox *et al.*, 2007; Gastaldelli *et al.*, 2007). Por estas razões, vários estudos foram realizados para avaliar estratégias de redução do TAV e identificar fatores de risco para a sua acumulação (Chaston; Dixon, 2008; Christiansen *et al.*, 2009; Gasteyer *et al.*, 2009; Viljanen *et al.*, 2009;). Além disso, a realização de modo experimental de um transplante de gordura subcutânea para compartimentos viscerais, estimulou diminuição do peso corporal e da massa total de gordura abdominal em camundongos, além de redução da glicemia, ficando evidentes os benefícios do decréscimo da adiposidade visceral (Tran *et al.*, 2008). Com os estudos citados anteriormente foi sugerida hipótese de que a gordura visceral aumentada no grupo GKF foi a possível causa da hiperglicemia, na prole adulta.

As dietas hiperlipídicas perinatais estão sendo associadas a alteração do metabolismo da glicose e a resistência à insulina. Na literatura há controvérsia a respeito da ligação da dieta cetogênica e mudanças na concentração da glicose plasmática e sensibilidade à insulina. Contudo, as 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 à obesidade (Marshall *et al.*, 1997).

Dado literário sugere 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 GKF terem apresentado maior pico de glicose plasmática em alguns pontos de tempo durante a aplicação dos testes e maior AUC no *ITT*, quando comparadas aos machos apresentam menor predisposição (dados do nosso grupo de pesquisa ainda não publicados) ao desenvolvimento da resistência à insulina.

Além disso, outros estudos que analisaram a concentração de glicose plasmática, por meio de aplicações de teste de tolerância observaram que a dieta hiperlipídica, principalmente com percentual maior de ácido graxos saturado (Oliveira, 2010; (Batch *et al.*, 2020; Grandi *et al.*, 2018), associado a uma dieta com baixa consumo de carboidratos pode diminuir a sensibilidade à 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). Ademais, o consumo de e gordura saturada está relacionado a danos na mitocôndria 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 um modelo experimental que utilizou dieta hiperlipídica durante o período perinatal, 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). Esses estudos estão de acordo com os resultados apresentados no nosso trabalho.

A importância da alimentação materna no período perinatal na atualidade é bem conhecida, que não só afeta o crescimento e desenvolvimento do neonato, mas também, os seus hábitos e preferências alimentares futuras (Pakhanad *et al.*, 2019). Estudos evidenciaram que a supernutrição pós-parto leva à hiperleptinemia e aumenta os níveis de neuropeptídeo Y (NPY) e POMC, resultando em aumento da ingestão alimentar (Ikenasio-thorpe *et al.*, 2007). Sullivan *et al.* (2010) afirma que a obesidade perinatal ou a ingestão materna de uma dieta rica em gordura leva à perturbação da regulação da homeostase e da detecção de nutrientes nos circuitos hipotalâmicos, resultando em hiperfagia.

Ademais, um estudo realizado por Laureano (2013) objetivou expor Ratas *Wistar* fêmeas adultas a três tipos de dieta: controle (22% proteína e 4% lipídios), hipoprotéica (8%proteína) ou hiperlipídica (45% lipídios), de modo a averiguar possíveis alterações no comportamento alimentar em testes com alimentos palatáveis, alimentos esses ricos em açúcares simples. Os resultados dos testes mostraram que os animais que ingeriram uma dieta rica em gordura comeram menos alimentos açucarados. Outros estudos indicaram que o que a alimentação da mãe durante o período lactacional pode afetar o sabor do leite, o que pode adaptar a prole às preferências alimentares da mãe (Valle e Euclides, 2007; Koski *et al.*, 1990; Rehfeldt,*et al.*,2012). Esse último estudo se aproxima do nosso, cuja dieta

hiperglicídica foi consumida em menor quantidade pelo grupo (GKF) em comparação ao grupo (GCF), porém em relação a hiperfagia, resultado encontrado no estudo citado anteriormente, não foi possível observar essa condição neste trabalho, necessitando de mais elucidação para compreensão desse fato.

Os resultados do estudo experimental produzido por Fernandes (2019) demonstrou na prole de fêmeas que a dieta low carb, quando aplicada no período perinatal, interferiu na preferência alimentar dos animais, principalmente, em relação à não predileção pelo açúcar/carboidrato, ainda que não tenha sofrido influência no peso úmido dos órgãos. Já no estudo realizado na prole de ratos machos por Fernandes (2022) observou que a dieta low carb, quando aplicada também no período perinatal interferiu na preferência alimentar dos animais, e a não predileção por carboidrato continuou, no entanto, neste último estudo foi possível perceber que a dieta exerce uma certa influência no peso úmido dos órgãos, pois houve aumento da gordura visceral nos machos. Demonstrando similaridade com os nossos resultados, foi possível demonstrar também que, o tipo de dieta ofertada no período perinatal interfere na preferência a longo prazo, como já citado anteriormente.

Em resumo, podemos perceber que a modificação na adequação da dieta, como é o caso da dieta cetogênica, utilizada neste trabalho, como também o tipo de gordura oferecida no período lactacional, têm repercussões no metabolismo da prole a longo prazo, influenciando também sua preferência alimentar.

8. CONCLUSÃO

A exposição materna a dieta cetogênica rica em gordura saturada durante a lactação levou à alteração da glicemia mediante testes de tolerância à glicose e à insulina na prole, um aumento de gordura visceral, assim com, uma diminuição considerável no consumo da dieta hiperglicídica no teste de preferência alimentar. No entanto, o consumo da DC não alterou o peso da prole, nem seu consumo alimentar no período lactacional e pós lactacional.

Esses dados demonstram a importância da adequação nutricional no início da vida para a saúde da prole ao longo da vida. Portanto, as nutrizes devem seguir uma dieta adequada de macro e micronutrientes para manter a saúde de seus filhos.

REFERÊNCIAS

- ALFARADHI, M. Z. *et al.* Maternal Obesity in Pregnancy Developmentally Programs Adipose Tissue Inflammation in Young, Lean Male Mice Offspring. **Endocrinology**, v. 157, n. 11, p. 4246-4256, Nov 2016.
- BATCH, J. T. *et al.* Advantages and Disadvantages of the Ketogenic Diet : A Review Article. v. 12, n. 8, p. 8–15, 2020.
- BERTHOUD, H.-R.; MORRISON, C. The Brain, Appetite, and Obesity. **Annual Review of Psychology**, v. 59, n. 1, p. 55–92, jan. 2008.
- BILBO, S. D.; TSANG, V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. *FASEB J.*, v. 24, p. 2104–2115, 2010.
- BLOOMFIELD, F.H. SPIROSKI, A. M.; HARDING, J. E. Fetal growth factors and fetal nutrition. *Semin. Fetal neonatal med.*, p. 1-6, 2013.
- BLUNDELL, J. E. Perspective on the Central Control of Appetite. **Obesity**, v. 14, n. 7S, p. S160–S163, jul. 2006.
- BROOM, G. M.; SHAW, I. C.; RUCKLIDGE, J. J. PT US CR. **Nutrition**, 2018.
- BRUNDAVANI, V.; MURTHY, S.R.; KURPAD, A.V. Estimation of deep-abdominal adipose-tissue (DAAT) accumulation from simple anthropometric measurements in Indian men and women. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.60, p.658-666, 2006.
- 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.
- 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.
- CAO, J. *et al.* The Effect of a Ketogenic Low-Carbohydrate, High-Fat Diet on Aerobic Capacity and Exercise Performance in Endurance Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2896, 23 ago. 2021.
- 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.
- CHANDLER-LANEY, P. C. A history of human-like dieting alters serotonergic control of feeding and neurochemical balance in a rat model of binge-eating. *Int. J. Eat Disord.* v. 40, p. 136–142, 2007.

CHASTON, T.B.; DIXON, J.B. Factors associated with percent change in visceral versus subcutaneous abdominal fat during weight loss: findings from a systematic review. **International Journal of Obesity**, v. 32, p. 619-628, 2008.

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*, v. 12, n. 2, p. 220–228, 27 abr. 2020.

CHLEILAT, F. *et al.* Paternal high protein diet modulates body composition, insulin sensitivity, epigenetics, and gut microbiota intergenerationally in rats. **The FASEB Journal**, v. 35, n. 9, 18 ago. 2021.

CHRISTIANSEN, T. *et al.* Comparable reduction of the visceral adipose tissue depot after a diet-induced weight loss with or without aerobic exercise in obese subjects: a 12-week randomized intervention study. **European Journal of Endocrinology**, v. 160, p.759-767, 2009.

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.

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.

CURTIS, A. L.; BETHEA, T.; VALENTINO, R. J. Sexually Dimorphic Responses of the Brain Norepinephrine System to Stress and Corticotropin-Releasing Factor. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, n. 3, p. 544–554, 24 ago. 2005

CYNTHIA; MUNIZ, S.; ELIZABETH DO NASCIMENTO. **Palatabilidade e Peso Corporal: Fatores Associados?** [s.l.] Editora Appris, 2019

DALTON, M.; FINLAYSON, G. Psychobiological examination of liking and wanting for fat and sweet taste in trait binge eating females. **Physiology & Behavior**, v. 136, p. 128–134, set. 2014.

D'ANDREA MEIRA, I. *et al.* Ketogenic diet and epilepsy: What we know so far. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, n. JAN, p. 1–8, 2019

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.

DESAI, M. *et al.* Rat Maternal Obesity and High Fat Diet Program Offspring Metabolic Syndrome. **Am J Obstet Gynecol**, v. 211, n. 3, p. 237.e231-237.e213, Sep 2014.

DONATELLA GNIULI *et al.* Effects of high-fat diet exposure during fetal life on type 2

diabetes development in the progeny. v. 49, n. 9, p. 1936–1945, 1 set. 2008.

DUCHESNE, A.; DUFRESNE, M. M.; SULLIVAN, R. M. Sex differences in corticolimbic dopamine and serotonin systems in the rat and the effect of postnatal handling. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 251–261, mar. 2009.

DREWNOWSKI, A. Energy intake and sensory properties of food. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 5, p. 1081S1085S, 1 nov. 1995.

DREWNOWSKI, A. Intense sweeteners and energy density of foods: implications for weight control. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, n. 10, p. 757–763, out. 1999.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **The Lancet**, v. 365, n. 9468, p. 1415–1428, abr. 2005.

ELIZONDO-VEGA, R. J.; RECABAL, A.; OYARCE, K. Nutrient Sensing by Hypothalamic Tanycytes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, 16 abr. 2019.

ESTADELLA, D. *et al.* A palatable hyperlipidic diet causes obesity and affects brain glucose metabolism in rats. **Lipids health dis.**, v.10, p. 168, 2011.

FERNANDES, ALLANA. **Dieta low carb no período perinatal de ratas sobre a preferência por bebidas açucaradas, consumo alimentar e peso corporal em fêmea** 2020. Dissertação (Bacharelado) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, [S. l.], 2019.

FERNANDES, K. *et al.* Dieta low-carb no período perinatal de ratas sobre a preferência por bebida açucarada, consumo alimentar e peso corporal em prole de macho / Low-carb diet in perinatal rats on sugar-sweetened beverage preference, food consumption and body weight in male offspring. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 3, p. 15637–15666, 3 mar. 2022.

FOX, C.S., *et al.* Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. **Circulation**, v.116, p.39-48, 2007.

FRAYN, K. N. Visceral fat and insulin resistance-causative or correlative? **Brazilian Journal of Nutrition**, v.83, n. 1, p. 71-77, 2000.

FROMENTIN, G. *et al.* Peripheral and central mechanisms involved in the control of food intake by dietary amino acids and proteins. **Nutrition Research Reviews**, v. 25, n. 1, p. 29–39, 29 maio 2012.

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.

GAHAGAN, S. Development of Eating Behavior. **Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics**, v. 33, n. 3, p. 261–271, abr. 2012.

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.

GASTALDELLI, A. *et al.* Relationship between hepatic/visceral fat and hepatic insulin resistance in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. **Gastroenterology**, v. 133, p. 496-506, 2007.

GASTEYGER, C., *et al.* Visceral fat loss induced by a low-calorie diet: a direct comparison between women and men. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v.11, p.596-602, 2009.

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.

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.

HALFORD, J. C.; BLUNDELL, J. E. Separate systems for serotonin and leptin in appetite control. **Ann. Med.**, v. 32, p. 222–232, 2000

HAVEL, P. J. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. **Current Opinion in Lipidology**, v. 13, n. 1, p. 51–59, fev. 2002.

HERRERA, C. P. *et al.* High-glycaemic index and -glycaemic load meals increase the availability of tryptophan in healthy volunteers. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 11, p. 1601–1606, 1 jun. 2011.

HERMAN, J. P.; PREWITT, C. M.-F. .; CULLINAN, W. E. Neuronal Circuit Regulation of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Stress Axis. **Critical Reviews in Neurobiology**, v. 10, n. 3-4, p. 371–394, 1996.

HOOIJMANS, C. R. *et al.* SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, v. 14, p. 43, 26 mar. 2014.

IKENASIO-THORPE, B. A.; BREIER, B. H.; VICKERS, M. H.; FRASER, M. Prenatal influences on susceptibility to diet-induced obesity are mediated by altered neuroendocrine gene expression. **J. Endocrinol.**, v.193, p. 31–37, 2007.

JENSEN, M. D. Adipose tissue and fatty acid metabolism in humans. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 95, n. 42, p. 3-7, 2002.

JONES, J. R. *et al.* Mechanisms of Fetal Programming in Hypertension. v. 2012, p. 1–7, 27 jan. 2012.

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.

KELLEY, A. *et al.* Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: Integration of energy, action and reward. **Physiology & Behavior**, v. 86, n. 5, p. 773–795, 15 dez. 2005.

KIM, D. W. *et al.* Obesity During Pregnancy Disrupts Placental Morphology, Cell Proliferation, and Inflammation in a Sex-Specific Manner Across Gestation in the Mouse1. **Biology of Reproduction**, v. 90, n. 6, 1 jun. 2014.

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.

LEE, P. R.; KOSSOFF, E. H. Dietary treatments for epilepsy: Management guidelines for the general practitioner. **Epilepsy & Behavior**, v. 21, n. 2, p. 115–121, jun. 2011.

LEVIN, B. E.; DUNN-MEYNELL, A. A. Defense of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and -resistant rats. *Am. J. Physiol.*, v. 278, p. R231–R237, 2000

LIU, C. M.; KANOSKI, S. E. Homeostatic and non-homeostatic controls of feeding behavior: Distinct vs. common neural systems. **Physiology & Behavior**, v. 193, p. 223–231, set. 2018.

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.

LINDQVIST, A. *et al.* High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. **Eur. J. Neurol.** v.13, p. 1385-8, 2006.

MAGALHÃES, C. P. *et al.* Modulatory role of serotonin on feeding behavior. **Nutrit. Neurosci.** v. 13 (6), p. 246-255; 2010.

MANHÃES DE CASTRO, R. *et al.* Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. *Brazilian J. Med.*

Biol. Res., v. 34, p. 121-124, 2001.

MCKENZIE, 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.

MENDES, N. F. *et al.* Hypothalamic Microglial Activation in Obesity: A Mini-Review. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, 15 nov. 2018.

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.

MERRA, G. *et al.* Effects of very-low-calorie diet on body composition, metabolic state, and genes expression: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 21, n. 2, p. 329–345, 1 jan. 2017.

MOGENSEN, G. J.; JONES, D. L.; YIM, C. Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. **Prog. Neurobiol.**, v.14, p. 69–97, 1980

MOURÃO, D. M.; BRESSAN, J. Influência de alimentos líquidos e sólidos no controle do apetite. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 4, p. 537–547, ago. 2009.

MORGANE, P. J. *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 17, n. 1, p. 91–128, mar. 1993.

MUÑOZ CONTRERAS, A. M.; BEDOYA BERRÍO, G.; VELÁSQUEZ R, C. M. An approach to the etiology of metabolic syndrome. **Colombia Medica (Cali, Colombia)**, v. 44, n. 1, p. 57–63, 1 jan. 2013.

MURABAYASHI, N. *et al.* Maternal high-fat diets cause insulin resistance through inflammatory changes in fetal adipose tissue. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 169, n. 1, p. 39–44, jul. 2013.

NASCIMENTO, Márcia Heloise. 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, D. L.; COX, M. M. **Leningher Principios de Bioquímica**. 7. ed. [s.l.] Barcelona Omega, 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.

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

ONG, Z. Y., MUHLHAUSLER, B. S. Maternal “junk-food” feeding of rat dams alters food choices and development of the mesolimbic reward pathway in the offspring. **FASEB J.** v.25, p.2167–2179, 2011.

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.

PAKHANAD, Z.; FALLAH, A; MORAVEJOLAHKAMI, A. M. **Maternal Dietary Patterns and Their Association with Pregnancy Outcomes.** Clin. Nutr. Res. Jan; V.8, N.1, p:64-73, 2019.

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 Microbiota: Friends or Enemies? **Genes**, v. 10, n. 7, p. 534, 15 jul. 2019.

PARK, H. R. *et al.* A high-fat diet impairs neurogenesis: involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. **Neurosci. Lett.** v. 482, p. 235–239, 2010.

PILEGGI, C. A. *et al.* Maternal conjugated linoleic acid supplementation reverses high-fat diet-induced skeletal muscle atrophy and inflammation in adult male rat offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 310, n. 5, p. R432-439, Mar 1 2016b

PLAGEMANN, A. *et al.* Hypothalamic Nuclei Are Malformed in Weanling Offspring of Low Protein Malnourished Rat Dams. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 10, p. 2582–2589, 1 out. 2000.

PORTELLA, A. K. *et al.* Effects of in utero conditions on adult feeding preferences. 2012. **J of Dev Origins of Health and Disease.** v 3, 140-152.

POIRIER, P.; DESPRÉS, J.P. Waist circumference, visceral obesity, and cardiovascular risk. **Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention**, v. 23, p. 161-169, 2003.

REDINGER, R. N. The pathophysiology of obesity and its clinical manifestations. **Gastroenterology & hepatology**, v. 3, n. 11, p. 856–63, 2007.

REEVES, P. G. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 5, p. 838S841S, 1 maio 1997.

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).

REUL, J. M. *et al.* Central action of adrenal steroids during stress and adaptation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 274, p. 243–256, 1990.

RONDANELLI, M. *et al.* The Potential Roles of Very Low Calorie, Very Low Calorie Ketogenic Diets and Very Low Carbohydrate Diets on the Gut Microbiota Composition. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, 14 maio 2021.

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, 2019.2019.

SAMPAIO LR, SIMÕES EJ, ASSIS AM, RAMOS LR. Validity and reliability of the sagittal abdominal diameter as a predictor of visceral abdominal fat. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2007; 51(6): 980-6.

SHARMA, S. *et al.* Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. **Int J of Obesity**. 2012; 1–9.

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.

SOUZA, C. G. *et al.* Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. **Life. Sci.** v. 81, p. 198–203, 2007

SULLIVAN, E. L.; SMITH, M.S.; GROVE, K. L. Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. **Neuroendocrinology**, v. 93: 1-8, 2010

THALER, J. P. *et al.* Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. **J. Clin. Invest.** v. 122, p.153–162, 2012.

TRAN, T. T. *et al.* Beneficial Effects of Subcutaneous Fat Transplantation on Metabolism. **Cell Metabolism**, v. 7, n. 5, p. 410–420, maio 2008.

TREESUKOSOL, Y. *et al.* Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation reduces the appetitive behavioral component in female offspring tested in a brief-access taste procedure. **American Journal of Physiology-Regulatory**,

Integrative and Comparative Physiology, v. 306, n. 7, p. R499–R509, 1 abr. 2014.

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.

VAN OERS, H. J. J. *et al.* Maternal Deprivation Effect on the Infant's Neural Stress Markers Is Reversed by Tactile Stimulation and Feeding But Not by Suppressing Corticosterone. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 23, p. 10171–10179, 1 dez. 1998.

VASQUES, A.C., *et al.* Utilização de medidas antropométricas para a avaliação do acúmulo de gordura visceral. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 107-118, 2010. (b)

VILJANEN, A.P., *et al.* Effects of weight loss on visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue blood-flow and insulin-mediated glucose uptake in healthy obese subjects. **Annals of Internal Medicine**, v. 41, n. 2, p. 152-160, 2009.

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.

WALKER, C.-D. *et al.* Perinatal Maternal Fat Intake Affects Metabolism and Hippocampal Function in the Offspring. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1144, n. 1, p. 189–202, 1 nov. 2008.

WATANABE, M. *et al.* Beneficial effects of the ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of the literature. **Obesity Reviews**, v. 21, n. 8, 24 mar. 2020.

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

WHELESS, J. W. History of the ketogenic diet. **Epilepsia**, v. 49 Suppl 8, n. s8, p. 3–5, 4 nov. 2008.

WYNNE, K. *et al.* Appetite control. **Journal of Endocrinology**, v. 184, n. 2, p. 291–318, 1 fev. 2005

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.

YANG, X. *et al.* Causal relationship between obesity-related traits and TLR4-driven responses at the maternal-fetal interface. **Diabetologia**, v. 59, n. 11, p. 2459–2466, 1

nov. 2016.

Z. ALFARADHI , M.; E. OZANNE, S. (EDS.). Developmental programming in response to maternal overnutrition. **Front. Genet.**, v.2, p.1-13,2011.

ANEXO A- Parecer nº 0053/2021 CEUA- UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biotécnicas
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-920 / Recife - PE - Brasil
 Fone: (51) 3442-8842
 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.

Atenciosamente


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 --Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345091