

Universidade Federal do Maranhão  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
**Doutorado**

**TREINAMENTO DE FORÇA DURANTE A ADOLESCÊNCIA  
REPROGRAMA AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM  
PROLE DE RATAS EXPOSTAS NA GESTAÇÃO E  
LACTAÇÃO A UMA DIETA RICA EM SACAROSE**

NATHALEE LIBERAL XAVIER RIBEIRO

São Luís  
2023

NATHALEE LIBERAL XAVIER RIBEIRO

**TREINAMENTO DE FORÇA DURANTE A ADOLESCÊNCIA  
REPROGRAMA AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM  
PROLE DE RATAS EXPOSTAS NA GESTAÇÃO E  
LACTAÇÃO A UMA DIETA RICA EM SACAROSE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes

São Luís

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Liberal Xavier Ribeiro, Nathalee.

TREINAMENTO DE FORÇA DURANTE A ADOLESCÊNCIA REPROGRAMA  
AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM PROLE DE RATAS EXPOSTAS NA  
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO A UMA DIETA RICA EM SACAROSE /  
Nathalee Liberal Xavier Ribeiro. - 2023.

74 f.

Orientador(a): Antonio Marcus de Andrade Paes.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em  
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,  
São Luís, 2023.

1. Dieta rica em sacarose. 2. DohaD. 3. Gestação. 4.  
Reprogramação metabólica. 5. Treinamento de força. I.  
Marcus de Andrade Paes, Antonio. II. Título.

NATHALEE LIBERAL XAVIER RIBEIRO

**TREINAMENTO DE FORÇA DURANTE A ADOLESCÊNCIA  
REPROGRAMA AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS EM  
PROLE DE RATAS EXPOSTAS NA GESTAÇÃO E  
LACTAÇÃO A UMA DIETA RICA EM SACAROSE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Aprovada em 03 / 10 / 2023

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dra. Karla Frida Torres Flister  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Carlos José Moraes Dias  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias  
Universidade Estadual de Maringá

“Combati o bom combate, terminei a corrida, guardei a fé. ”

2 Timóteo 4:7

Dedico esta tese a minha mãe e vovozinha, por todo amor e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

Dedico essa tese a minha mãe, por ser meu maior exemplo de mulher guerreira e por não medir esforços para que eu chegasse até aqui. Essa realização sempre foi para ti e por ti. Minha mãe, esse título foi uma construção dos seus muitos anos de amor e dedicação. Por vários momentos durante o doutorado você esteve ao meu lado, não me deixou ir para UFMA sozinha e me acompanhou nos experimentos da madrugada. Não importava se era fim de semana ou feriado, sempre pude contar com sua companhia e proteção. Você me ensinou que o conhecimento nos leva para caminhos mais distantes que os nossos sonhos são capazes de crer. Você me proporcionou ter uma carreira, abdicou da sua juventude e oportunidades para que eu possa ser o que sou hoje. A minha avó, não sou capaz de descrever em palavras o amor e gratidão que tenho. Você foi meu pilar de amor e coragem. Quando pensei em desistir desse projeto foi no seu colo que encontrei abrigo.

Aos meus irmãos pelo amor e incentivo em todos os momentos. Por todo apoio no momento mais difícil dessa jornada, por terem me dado colo e carinho. Obrigada terem sido meu porto seguro quando tudo parecia cinza. As minhas duas sobrinhas, Cecilia e Sofia, vocês foram o motivo de eu querer ficar. Amo vocês infinitamente.

Ao meu companheiro de vida, meu grande amor, Carlos Carmona. Muito obrigada por segurar a minha mão e não me deixar desistir. Por estar ao meu lado, acreditando, mesmo quando eu já não acreditava mais. Minha vida ganhou mais leveza e felicidade quando você chegou. Sorte a minha de dividir a vida e esse momento tão importante com você. Te amo.

Aos meus amigos pelo incentivo, pela amizade e por muitas vezes entenderem a minha ausência. Em especial, a Mairla Danille, Débora Luz e Natali Souto por estarem presentes na minha vida em todos os momentos. A Fernanda por ser uma grande incentivadora e conselheira.

Ao meu orientador Antonio Marcus de Andrade Paes, pela oportunidade da realização desse trabalho, pela orientação e amizade. Obrigada por todas as oportunidades que você me proporcionou ao longo de tantos anos no laboratório. Ao Lefisio, minha família científica por todo apoio e parceria ao longo desses anos. Tenho muito orgulho de fazer parte de equipe. Um agradecimento especial ao Jonas

Sanches, Ivana Leticia e Lucas França pela parceira e por todo apoio para realização desse trabalho. Vocês tornaram os dias mais divertidos mesmo com todas as adversidades.

Um agradecimento mais que especial a minha amiga e coordenadora Samira Abdalla por todo apoio, suporte e incentivo durante todo o doutorado, por todas vezes que precisei me ausentar do trabalho para cumprir os compromissos do projeto e tive a compreensão e suporte. Aos meus alunos, agradeço pelo incentivo, e de também que de forma indireta me encorajem a ser uma professora melhor, buscando sempre o conhecimento. Me esforço para ser uma referência de que os estudos nos levam para caminhos muito além dos nossos sonhos, e que sim é possível construir uma carreira acadêmica com foco e dedicação mesmo vindo de uma origem humilde.

Também agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão (PPGCS-UFMA) pela oportunidade dada para realização do doutorado. Além disso, destaco o apoio financeiro dados pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão-FAPEMA para a realização dos experimentos e pelo financiamento do estágio internacional no Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) no departamento de Biología de la Reproducion sob a supervisão da Professora Dra. Elena Zambrano, por quem tenho muito carinho e admiração, muito obrigada!

*Veni, vidi, vici*  
(Júlio César)



## RESUMO

A síndrome metabólica, também conhecida como síndrome X, é uma condição patológica definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que é caracterizada pela presença de obesidade abdominal, resistência à insulina, hipertensão e hiperlipidemia. O aumento na prevalência de disfunções metabólicas está ligado a fatores genéticos, inatividade física e o consumo crescente de alimentos hipercalóricos, notadamente aqueles que contêm adição de açúcares, como sacarose e frutose, comuns em alimentos processados e refrigerantes. A ingestão de sacarose pelas mães antes e durante a gravidez, assim como durante a lactação, tem efeitos prejudiciais sobre o metabolismo de sua prole, embora esses efeitos possam ser atenuados com o treinamento de força moderado a intenso. Este estudo investigou o impacto do treinamento de força na prole de ratas expostas a uma dieta rica em sacarose durante a gestação e lactação, bem como suas implicações na programação metabólica. Os resultados revelaram que uma dieta rica em sacarose para as mães causou disfunções metabólicas em sua prole do sexo masculino e que o exercício físico durante a adolescência não foi suficiente para reverter essas alterações metabólicas. Em conjunto, esses achados sugerem que o ambiente metabólico prejudicado das ratas que consumiram uma dieta rica em sacarose ( $DRS_{F0}$ ) teve um impacto negativo no perfil morfofuncional da prole  $DRS_{F1}$ , levando a alterações consistentes com a síndrome metabólica e um aumento na massa de órgãos e tecidos (peri)gonadais, que podem estar associados a disfunções reprodutivas nesses animais. Além disso, a redução consistente na massa do tecido adiposo interescapular, com conseqüente diminuição na produção de calor, pode estar relacionada ao aumento geral da adiposidade em idades posteriores àquelas analisadas neste estudo. Notavelmente, a prole  $DRS-T_{F1}$ , que consistia nos filhos de ratas  $DRS_{F0}$  que realizaram exercícios de força durante a adolescência, apresentou uma redução no peso corporal ao final do período de treinamento aos 51 dias de vida, quando comparada ao grupo  $DRS_{F1}$  que não realizou o treinamento. No que se refere aos impactos metabólicos, o treinamento de força durante a adolescência mostrou-se eficaz na reprogramação da homeostase da glicose no grupo  $DRS-T_{F1}$ . Nesse contexto, é fundamental reconhecer a importância do treinamento de força na adolescência como uma estratégia potencialmente eficaz para atenuar os efeitos adversos de um ambiente metabólico prejudicial, oferecendo perspectivas promissoras para a prevenção e o tratamento de distúrbios metabólicos em jovens.

Palavras-chave: Treinamento de força; reprogramação metabólica; dieta rica em sacarose; gestação; lactação; DohaD.

## ABSTRACT

Metabolic syndrome, also known as syndrome X, is a pathological condition defined by the World Health Organization (WHO) characterized by the presence of abdominal obesity, insulin resistance, hypertension, and hyperlipidemia. The increasing prevalence of metabolic disturbances is linked to genetic factors, physical inactivity, and the rising consumption of hypercaloric foods, particularly those containing added sugars such as sucrose and fructose, commonly found in processed foods and sodas. Maternal intake of sucrose before and during pregnancy, as well as during lactation, has detrimental effects on the metabolism of their offspring, although these effects can be attenuated by moderate to intense strength training. This study investigated the impact of resistance training on the offspring of rats exposed to a sucrose-rich diet during pregnancy and lactation, as well as its implications on metabolic programming. The results revealed that a sucrose-rich diet for mothers caused metabolic dysfunctions in their male offspring, and exercise during adolescence was insufficient to reverse these metabolic changes. Collectively, these findings suggest that the impaired metabolic environment of DRS<sub>F0</sub> rats had a negative impact on the morphofunctional profile of DRS<sub>F1</sub> offspring, leading to changes consistent with metabolic syndrome and an increase in (peri)gonadal organs and tissue mass, which may be associated with reproductive dysfunctions in these animals. Furthermore, the consistent reduction in inter-scapular adipose tissue mass, with consequent decreased heat production, may be related to overall adiposity increase at ages beyond those analyzed in this study. Remarkably, DRS-T<sub>F1</sub> offspring, consisting of the sons of DRS<sub>F0</sub> rats who underwent strength exercises during adolescence, exhibited reduced body weight at the end of the training period at 51 days of age when compared to the DRS<sub>F1</sub> group that did not undergo training. Regarding metabolic impacts, strength training during adolescence proved effective in reprogramming glucose homeostasis in the DRS-T<sub>F1</sub> group. In this context, it is essential to recognize the importance of strength training in adolescence as a potentially effective strategy to mitigate the adverse effects of a harmful metabolic environment, offering promising prospects for the prevention and treatment of metabolic disorders in youth.

Keywords: Strength training; metabolic reprogramming; high-sucrose diet; gestation; lactation; DohaD.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

AGLs	Ácidos graxos livres
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CTR	Grupo controle
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCVs	Doenças cardiovasculares
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM2	Diabetes mellitus do tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNMT1	DNA metiltransferase 1
DOHaD	Developmental Origins of Health and Disease
DRS	Dieta rica em sacarose
GES	Gestação
GLUT	Transportadores de glicose
IMC	Índice de massa corporal
LAC	Lactante
LeFisio	Laboratório de Fisiologia Experimental
miRNAs	MicroRNAs
ONU	Organização das Nações Unidas
RI	Resistência à insulina
RNAs	Ácido ribonucleico
SM	Síndrome metabólica
TAV	Tecido adiposo visceral
GTT <sub>ip</sub>	do Teste de Tolerância à Glicose intraperitoneal
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Possíveis fatores pré-concepcionais e saúde materna/ placentária que podem influenciar o tamanho do nascimento e impacto na saúde do adulto a longo prazo que contribuem para as origens do desenvolvimento de doenças metabólicas. Fonte: adaptada de Hoffman et al. (2021).....26
- Figura 2 - Fisiopatologia da SM. Fonte: adaptado de Bovolini et al. (2021) .....28
- Figura 3 - Obesidade materna e excesso de alimentação nas origens das mudanças epigenéticas que levam à predisposição geracional à obesidade. Fonte: adaptada de Blasi (2020). .....33
- Figura 4 - Impacto da atividade física regular no tecido adiposo branco e marrom. Adaptado de Mika et al. (2019) .....39
- Figura 5 - A exposição perigestacional à DRS leva ao desenvolvimento de síndrome metabólica materna.** (A) Peso corporal de ratas nos períodos de pré-gestação, gestação e lactação. (B) Área sobre a curva. (C) Taxa de prolificidade. (D) Peso ao nascer da prole macho e fêmea. (E) Peso relativo dos ovários. (F) Gordura periovariana. (G) Gordura periuterina. (H) Gordura retroperitoneal. (I) Gordura mesentérica. (J) Fígado. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n=7). A análise estatística foi realizada através do teste t de Student não pareado. \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle. \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle. \*\*\* $p < 0,0001$  quando comparado ao grupo controle. .49
- Figura 6 - Parâmetros bioquímicos de ratas pré-gestação e pós lactação.** Ratas pré-gestação: (A) Glicemia em jejum; (B) Teste de tolerância à glicose; (D) triglicerídeos; (E) índice de TyG. Ratas pós-gestação: (F) Glicemia em jejum; (G) Teste de tolerância à glicose; (H) triglicerídeos; (J) índice de TyG. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n= 7). Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n=7). A análise estatística foi realizada através do teste t de Student não pareado. \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle. \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle. \*\*\* $p < 0,0001$  quando comparado ao grupo controle.....50
- Figura 7 - Evolução ponderal da prole machos em períodos críticos para o desenvolvimento.** (A) Peso corporal da prole macho; (B) Peso ao nascer; (C) Peso

ao desmame com 21 dias; (D) Peso aos 30 dias de vida; (E) Peso corporal ao final do treinamento de força; (F) Peso aos 120 dias de vida. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n=7). A análise estatística foi realizada através do teste t de Student não pareado. \*p<0,05 quando comparado ao grupo controle. \*\*p<0,01 quando comparado ao grupo controle. \*\*\*p<0,0001 quando comparado ao grupo controle.....51

**Figura 8 - Parâmetros morfométricos de órgãos e tecidos da prole macho aos 120 dias de vida.** (A) fígado; (B) pâncreas; (C) músculo gastrocnêmico; (D) músculo sóleo; (E) gordura periepídídima; (F) gordura retroperitoneal; (G): gordura mesentérica; (H) gordura interescapular; (I) Testículos; (J) Epidídimos; (K) Ductos deferentes. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR<sub>F1</sub> (n= 7), DRS<sub>F1</sub> (n=7) e DRS-T<sub>F1</sub> (n=7). A análise estatística foi analisada por ANOVA seguido de pós-teste Newman–Keuls (Graph Pad Prism). \*p<0,05 quando comparado ao grupo controle. \*\*p<0,01 quando comparado ao grupo controle. \*\*\*p<0,0001 quando comparado ao grupo controle.....52

**Figura 9 - Parâmetros bioquímicos de prole macho aos 120 dias de vida.** (A) Teste de Tolerância à glicose; (B) Área sob a curva; (C) Glicemia em jejum; (D). Triglicerídeos totais; (E): índice TyG; (F): insulina; (G) HOMA-IR; (H) Ácidos graxos livres. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR<sub>F1</sub> (n= 7), DRS<sub>F1</sub> (n=7) e DRS-T<sub>F1</sub> (n=7). A análise estatística foi analisada por ANOVA seguido de pós-teste Newman–Keuls (Graph Pad Prism). \*p<0,05 quando comparado ao grupo controle. \*\*p<0,01 quando comparado ao grupo controle. \*\*\*p<0,0001 quando comparado ao grupo controle.....55

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	16
2. Referencial teórico.....	20
2.1. Conceito DOHaD: Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença .....	20
2.2. Programação metabólica como fator para o desenvolvimento de alterações metabólicas.....	25
2.3. Transição nutricional.....	29
2.4. Influência do estresse nutricional com dietas ricas em açúcares de adição .....	32
2.5. Treinamento físico como estratégia para modulação de composição corporal .....	35
3. Objetivos.....	41
3.1. Objetivo geral .....	41
3.2. Objetivos específicos.....	41
4. Materiais e Métodos .....	42
4.1. Desenho experimental.....	42
4.2. Análises bioquímicas séricas.....	45
4.3. Avaliação do eixo glicose-insulina .....	45
4.4. Análise estatística.....	45
5. Resultados.....	47
5.1. A exposição perigestacional à DRS leva ao desenvolvimento de síndrome metabólica materna.....	47
5.2. A exposição materna à DRS associa-se a mal prognóstico morfofuncional na prole	51
5.3. O exercício de força durante a peripuberdade atenua o mal prognóstico morfofuncional decorrente da exposição materna à DRS.....	54
6. Discussão .....	56
7. Considerações finais .....	61
8. Referências bibliográficas.....	63
ANEXO A.....	72
<b>ANEXO B</b> .....	73
.....	73
<b>ANEXO C</b> .....	74
<b>ANEXO D</b> .....	75

## 1. Introdução

A síndrome metabólica (SM) é definida como um conjunto de disfunções metabólicas que aumentam os riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs) e diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), sendo caracterizada pela presença de pelo menos três dos seguintes fatores de risco: hiperglicemia, resistência à insulina (RI), dislipidemia aterogênica, estado pró-inflamatório e pró-trombótico, hipertensão arterial e circunferência abdominal (Alberti *et al.*, 2009). A prevalência da SM é difícil de determinar devido a sua complexidade em âmbito mundial. No entanto, estimativas apontam que esta condição afeta cerca de um quarto da população ao redor do mundo (Fahed *et al.*, 2022). A principal análise dos autores sobre esta dificuldade em determinar a prevalência tem relação com o aspecto multifatorial da gênese da SM. Destaca-se que vários mecanismos complexos que ainda não foram totalmente elucidados podem estar envolvidos. Outro elemento importante, em termos de fisiopatologia da SM, é o debate se os elementos que a SM podem formar um quadro patogênico comum ou se devem ser observados apenas na formação de patologias distintas (Fahed *et al.*, 2022).

O estresse nutricional durante o desenvolvimento embrionário, fetal e neonatal desempenha um papel crucial no risco da prole de desenvolver doenças cardiometabólicas na vida adulta (Jahan-Mihan *et al.*, 2015). A exposição a esse estresse foi relacionado a doenças como obesidade, DM2 e DCVs (Barker *et al.*, 1993; Ravelli *et al.*, 1998; Remacle *et al.*, 2011). Essas observações levaram ao conceito das origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD) - a ideia de que o ambiente ao qual estamos expostos durante períodos críticos de desenvolvimento tem

um efeito permanente na estrutura e no metabolismo dos nossos tecidos e, conseqüentemente, na nossa saúde a longo prazo (Barker, 2007). Estudos epidemiológicos e experimentais ratificaram essa relação entre o impacto de perturbações ambientais nas fases críticas do desenvolvimento e o subsequente incremento de desordens cardiometabólicas, tais como obesidade, dislipidemia, DM e hipertensão (Vickers, 2011; Bay e Vickers, 2016).

Inicialmente, o conceito DOHaD foi fundamentado na Hipótese do Fenótipo Pougador (*Thrifty Phenotype Hypothesis*), proposta pelos autores Barker e Hales a partir de 1992, com conseqüências da programação metabólica na origem da vida. Esta hipótese destaca que as inconsistências nutricionais no período gestacional promovem alterações morfofisiológicas de órgãos e tecidos, que se adaptam para a sobrevivência do feto naquele estágio e para aquelas condições. Os estudos demonstram que mesmo que na vida pós-natal sejam oferecidas condições nutricionais adequadas ou uma dieta mais elaborada para ganho de peso, o indivíduo ainda manterá maior predisposição para a emergência de condições patológicas.

Os mecanismos pelos quais um evento no início da vida pode ter um efeito permanente na função do tecido, permanecem pouco compreendidos. Porém, os processos epigenéticos sugeriram como uma possível explicação para esse contexto. Como por exemplo, os impactos tardios e transgeracionais da SM e suas comorbidades tem sido relacionada a ativação de mecanismos epigenéticos (Şanlı e Kabaran, 2019). Os processos epigenéticos que medeiam essa interação são agora reconhecidos como incluindo metilação do ácido desoxirribonucleico (DNA), modificações covalentes das caudas das histonas (incluindo acetilação e metilação) e



os efeitos dos ácido ribonucleico (RNAs) não codificantes (como microRNAs e RNAs não codificadores) (Kereliuk, S. M. *et al.*, 2017).

Evidências descritas na literatura têm demonstrado a importância do exercício físico como estratégia não farmacológica para a prevenção e tratamento várias doenças. A prática de exercícios aprimora o controle das vias metabólicas, abrangendo a sinalização de insulina, metabolismo da glicose, carboidratos e ácidos graxos. A adequada regulação desses processos está associada à redução da inflamação, RI, obesidade e DM (Warburton e Bredin, 2017). Além disso, a prática de atividades físicas e exercícios melhora a circulação sanguínea, pressão arterial e função respiratória. Notavelmente, essas atividades influenciam positivamente o microbioma e o metabolismo de nutrientes essenciais. Além disso, a prática regular de exercícios aprimora a densidade óssea e pode prevenir a osteoporose. Os benefícios do sono promovidos pelo exercício englobam modificações na temperatura central do corpo, redução da inflamação, liberação de neurotransmissores, regulação da melatonina e aumento da produção de hormônio do crescimento e Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Chow *et al.*, 2022; Santiago e Potashkin, 2023).

A partir destes conceitos, este trabalho buscou descrever o impacto da composição de macronutrientes da dieta materna durante a perigestação afeta a prole e como o treinamento de força pode reprogramar um mal prognóstico metabólico. Objetiva-se demonstrar que as estratégias de prevenção de doenças e as terapias que reduzem a incidência crescente de doenças metabólicas possuem uma eficácia no período da adolescência e na vida adulta. Diante disso, testou-se a hipótese de que o treinamento resistido durante a adolescência da prole de ratas *Wistar* expostas

a uma dieta rica em sacarose durante a atenua o mal prognóstico metabólico na vida adulta.

Desta forma, a organização dos capítulos desta tese, apresentam desde o referencial teórico sobre as síndromes metabólicas, perpassando pelos conceitos DOHaD e de estresse nutricional, para destacar como as dietas ricas em açúcares de adição podem impactar, através do princípio epigenético em humanos. Na segunda parte, destaca-se a organização metodológica para a realização do estudo, perpassando pelos trâmites com o Comitê de Ética em Pesquisa e os procedimentos experimentais, bem como de análise dos resultados. Por fim, apresenta-se os resultados da pesquisa laboratorial e as evidências sobre como o treinamento resistido impacta na programação metabólica.

## 2. Referencial teórico

### 2.1. Conceito DOHaD: Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) são o principal problema de saúde pública nos países ocidentais, sendo responsáveis por ceifar a vida de 41 milhões de indivíduos anualmente, o que equivale a 74% de todas as fatalidades no cenário global. Anualmente, observamos que 17 milhões de pessoas encontram a morte precoce devido a essas doenças, antes mesmo de atingirem a marca dos 70 anos. O que torna essa situação ainda mais preocupante é o fato de que 86% dessas mortes prematuras ocorrem em nações de baixa e média renda (Organization, 2023).

Recentemente, a última pesquisa da Organização Mundial da Saúde, realizada no período de 2000 a 2019, aponta um aumento alarmante no número de óbitos causados por DCNTs. Essas doenças agora ocupam sete das dez principais causas de morte em escala global (Organization, 2023). No contexto brasileiro, o DM2 emerge como um sério problema, sendo associada a 20,22% dos óbitos (Oliveira *et al.*, 2020).

Há evidências de que essas DCNT se originam no útero. Acredita-se que a desnutrição do feto durante períodos críticos de desenvolvimento levaria a adaptações na estrutura e nos aspectos fisiológicos fetal, aumentando assim o risco de doenças na vida adulta. Os estudos de (Ong e Souza, 2022) destacam que os princípios do DOHaD, a serem destacados a seguir, ganharam maior destaque quando a Organização das Nações Unidas (ONU) em 2010 lançou um programa de intitulado “mil dias”, cujo foco seriam os investimentos para reduzir a obesidade, a desnutrição (consideradas ofensas à nutrição) além das doenças crônicas não transmissíveis nas

gestantes e crianças de até 2 anos, o que contando com a gestação incluem os mil primeiros dias.

O documento da ONU estipulou para a saúde e nutrição das gestantes e crianças, entre outras metas até 2030, uma redução de 40% do número de crianças menores de 5 anos com desnutrição crônica, 50% das mulheres com anemia em idade reprodutiva, 30% no baixo peso ao nascer, além de impedir o aumento do número crianças com sobrepeso, destacando sobretudo a importância do aleitamento materno exclusivo até 6 meses (Ong e Souza, 2022).

O histórico das descobertas destes princípios epigenéticos se relacionam com as pesquisas decorrentes de um verdadeiro desastre histórico, a fome holandesa, mas que permitiu uma oportunidade única para estudar os efeitos de um insulto na gestação humana. Ravelli *et al.* (1976) ao estudarem uma população de 300.000 homens de 19 anos, em um estudo de coorte, examinados em indução militar, filhos de mulheres expostas a “fome holandesa” durante o período de 1944-1945 (período de grande escassez alimentar ocorrido durante o cerco da Holanda pela Alemanha, na Segunda Guerra Mundial), constataram que, dependendo do período gestacional de exposição à fome e desnutrição materna, esses indivíduos, na vida adulta, apresentavam padrões diferentes de composição corporal. Quando estes eram expostos à desnutrição materna durante o último trimestre da gestação e primeiros meses de vida, apresentavam uma baixa incidência de obesidade.

Em contrapartida, se a desnutrição materna ocorresse na primeira metade da gestação, a incidência de obesidade aumentava significativamente nos indivíduos, demonstrando a importância que os primeiros meses possuem na gestação, sendo

um período crítico de desenvolvimento para a celularidade do tecido adiposo (Ravelli *et al.*, 1976).

Essa hipótese foi sendo moldada com o passar do tempo, focalizando nos fatores ambientais. Trazendo-a para a realidade do ambiente intrauterino, ela propõe que, em condições limitadas de nutrientes, o feto faça alterações adaptativas que retardam seu crescimento e que resultam em RI na mãe, para que não haja competição mãe-feto pela glicose circulante. Isso permitiria uma vantagem adicional de sobrevivência para este feto, em tempo suficiente para se desenvolver nesse ambiente intrauterino adverso, otimizando o uso dos suprimentos energéticos reduzidos (Hales e Barker, 2001).

Assim, em 1989, Barker *et al.* (1989) desenvolveram a hipótese de que condições de interferência durante a vida intrauterina e a infância aumentavam o risco de doenças cardiovasculares nos indivíduos quando adultos. Para testá-la, em seu estudo de coorte realizado no Reino Unido correlacionaram o peso ao nascer de bebês, as condições ambientais e diferenças geográficas durante a infância, com a saúde cardiovascular destes indivíduos quando tinham 10 anos e quando adultos, avaliando a relação do baixo peso ao nascer e o desenvolvimento da obesidade na vida adulta.

Constataram que as diferenças geográficas na altura das mães que tiveram bebês e as diferenças nas taxas de pulso de seus filhos aos 10 anos de idade sugeriam que as diferenças no ambiente intrauterino influenciam na pressão arterial durante a vida adulta (Barker *et al.*, 1989). Esta mesma coorte de Hertfordshire, também foi usada para estabelecer uma ligação entre peso ao nascer e intolerância à glicose e RI. Os pesquisadores observaram que os indivíduos que eram menores ao

nascer tinham um risco seis vezes maior de sofrer de DM2 do que aqueles que eram mais pesados ao nascer e também manifestou um risco aumentado de apresentar características da síndrome metabólica (Hales *et al.*, 1991).

Agora conhecido como Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (do inglês *Developmental Origins of Health and Diseases - DOHaD*), este conceito investiga como modificações pontuais ocorridas de forma precoce em organismos em processo de desenvolvimento podem resultar em respostas adaptativas e ajustes inadequados nos sistemas homeostáticos na vida pós-natal, acarretando em alterações metabólicas tardias ou contribuindo para um risco aumentado de doenças crônicas e/ou problemas translacionais entre gerações (Jazwiec, Patrycja A e Sloboda, Deborah M, 2019).

Uma vez que o organismo em desenvolvimento é plástico, esses insultos tidos em períodos cruciais no início da vida (sobretudo intrauterino) influenciam na regulação da expressão gênica e das vias de sinalização celular, tornando-o sensível e adaptável a estímulos ambientais, resultando em “compensações biológicas” (Jazwiec, P. A. e Sloboda, D. M., 2019). Esta plasticidade é mais prevalente durante as principais janelas de desenvolvimento, que são a gestação (período que as células somáticas e as células germinativas estão se proliferando e diferenciando para formação de órgãos e sistemas), primeira infância (período de desenvolvimento neuropsicomotor e crescimento) e a puberdade (período de maturação das características sexuais secundárias) (Gluckman *et al.*, 2005).

Os sinais transmitidos da mãe para o feto em desenvolvimento (principalmente entre os mamíferos) são usados como respostas homeostáticas de vantagem imediata de sobrevivência (sobretudo a homeostase metabólica e reprodutiva) para

uma máxima adaptação e aptidão na vida pós-natal. Além desta, a resposta preditiva também é induzida na expectativa de futuras adaptações vantajosas, mas não necessariamente são tidas como imediatas. O fato é que, quando há algum descompasso entre o ambiente pré-natal de desenvolvimento e predito pós-natal futuro, essas adaptações antes vistas como vantajosas podem afetar negativamente a saúde e resultar em aumento do risco de doenças (Gluckman e Hanson, 2004).

Os tipos de insultos, que podem afetar a plasticidade do desenvolvimento e as respostas preditivas adaptativas dos indivíduos, podem agir através de determinados mecanismos. O primeiro deles é a mudança epigenética na expressão gênica, a partir de metilações e acetilações que conferem mudanças adaptativas para os indivíduos. O segundo mecanismo envolve processos homeostáticos alterados, como estresse do retículo endoplasmático. Já o terceiro mecanismo envolve a diferenciação tecidual alterada de células somáticas e/ou germinativas (Gluckman e Hanson, 2004).

Estas células germinativas dão origem a alterações nos vários sistemas e órgãos dos indivíduos, além da atuação no controle do desenvolvimento e da função reprodutiva, o que resulta na transmissão de características adquiridas aos seus descendentes e para muitas gerações posteriores. Além desses mecanismos, muitos tipos de insultos nutricionais, incluindo restrição calórica, excesso de macronutrientes e insuficiências de micronutrientes, têm demonstrado induzir adaptações precoces que produzem disfunções metabólicas e reprodutivas a longo prazo, levando ao desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta (Jazwiec, Patrycja A e Sloboda, Deborah M, 2019).

## **2.2. Programação metabólica como fator para o desenvolvimento de alterações metabólicas**

A programação fetal ocorre quando o ambiente ideal em que o feto cresce é interrompido por algum insulto, especialmente durante períodos críticos de desenvolvimento de órgãos essenciais. Parece ser um mecanismo importante que permite ao novo organismo manter a homeostase em condições inadequadas. Quando ocorrem mudanças, o fenótipo se torna permanente e pode determinar o início de futuros problemas de saúde (Marciniak *et al.*, 2017).

Lucas (1994) utilizou o termo programação para definir esses eventos ocorridos na vida precoce e que exercem efeitos em longo prazo. Tanto os insultos de restrição calórica e baixo peso ao nascer, como um ganho excessivo de peso da mãe, acompanhados de ganho de peso excessivo na adolescência estão associados a diversas alterações metabólicas como obesidade, RI, cardiopatias e hipertensão. Observou-se em um estudo de coorte com 1546 pares de mãe-bebê que receberam cuidados pré-natais regulares que, nas mães, a glicemia em jejum não está associada ao aumento das concentrações de lipídeos na gestação, porém esses parâmetros podem influenciar no crescimento fetal (Liu *et al.*, 2016).

Diversos fatores, dentre eles, os ambientais, genéticos, nutricionais, podem causar alterações epigenéticas, principalmente nos períodos de maior plasticidade neural como a gestação, infância e adolescência, chamadas de “janelas metabólicas para o desenvolvimento (Barker, 1998). Insultos nesses períodos críticos que resultam na programação metabólica desse indivíduo podem desencadear desordens fisiológicas, levando ao desenvolvimento de comorbidades associadas à obesidade,



como a síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (Figura 1) (Barker *et al.*, 1989; Barker *et al.*, 1993).

As alterações no aporte de nutrientes para o feto e neonato podem gerar impactos na programação metabólica a longo prazo nestes indivíduos. A subnutrição materna está associada com a restrição de crescimento intrauterino do feto e, também, com o aumento da adiposidade durante a vida adulta. Já a obesidade materna, ambiente em que o feto está submetido a um grande aporte de nutrientes, pode trazer o crescimento acelerado do feto e do neonato e gera uma predisposição à obesidade na prole (Terra *et al.*, 2020)

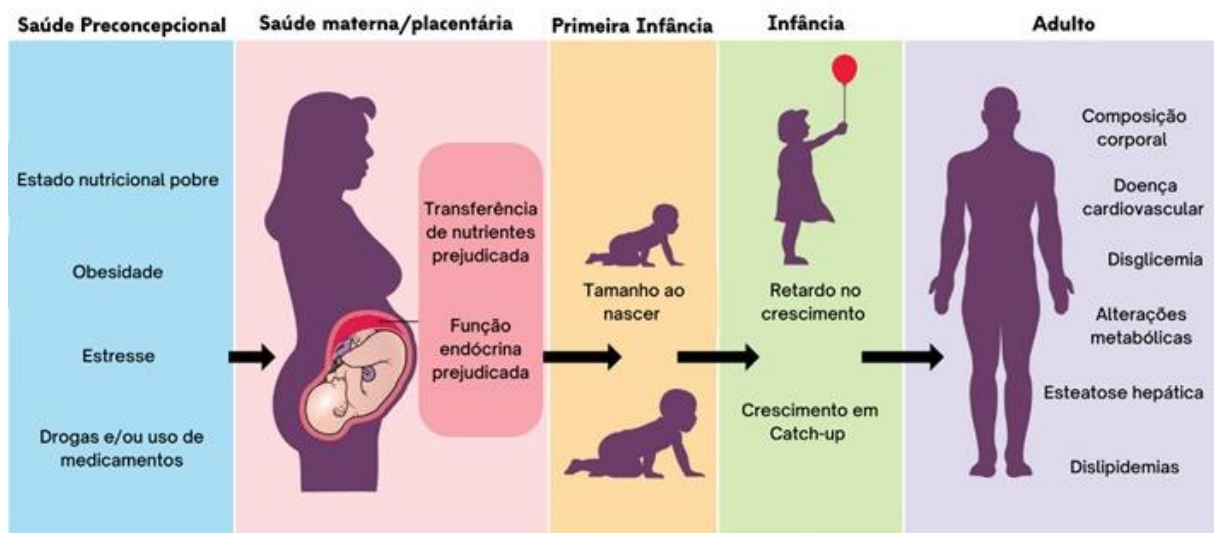


Figura 1 - Possíveis fatores pré-concepcionais e saúde materna/ placentária que podem influenciar o tamanho do nascimento e impacto na saúde do adulto a longo prazo que contribuem para as origens do desenvolvimento de doenças metabólicas. Fonte: adaptada de Hoffman *et al.* (2021)

Tem sido sugerido que a vulnerabilidade fetal a um ambiente intrauterino adverso pode se manifestar como alterações invariáveis do feto em desenvolvimento, concebivelmente envolvendo fisiologia tecidual modificada, secreção de hormônios. Os mecanismos moleculares responsáveis por este processo são em sua maioria

hipotéticos, mas é improvável que sejam condicionados pela sequência do DNA. A alteração epigenética permanente apareceu como um candidato chave para as alterações moleculares provocadas pelo ambiente responsáveis pela programação fetal (Marciniak *et al.*, 2017). A prole de ratas *Wistar* obesas, que foram submetidas à uma dieta obesogênica, tiveram um envelhecimento metabólico precoce quando comparado com a prole de ratas não obesas, tal alteração foi observada de forma dependente do sexo e resulta do estresse oxidativo, mudanças hormonais e funcionais, assim como do aumento de índices metabólicos como a insulina, RI, leptina, acúmulo maior de gordura, aumento de peso, triglicerídeos e acumulação de gordura hepática (Rodríguez-González *et al.*, 2019).

A obesidade materna durante a gestação e lactação tem efeitos duradouros na resposta hiperplástica e hipertrófica do tecido adiposo visceral da prole de camundongos obesas, observando-se uma maior hipertrofia de adipócitos, sugerindo que a obesidade materna pode promover um aumento na deposição de lipídios nos adipócitos na prole de mães obesas (Saullo *et al.*, 2022). Observou-se em um estudo que as mudanças histológicas, bioquímicas e de expressão genética relacionadas à doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) foi maior na prole masculina de mães obesas do que na feminina. Portanto, a dieta obesogênica em animais prenhas causa uma programação para o desenvolvimento de DHGNA em prole masculina, efeito bem maior do que na prole feminina, isso se deve aos possíveis efeitos agravantes de DHGNA causadas pelos hormônios andrógenos, enquanto que os hormônios estrógenos tem efeito protetivo nestas condições, também foram observados níveis reduzidos de testosterona sérica na prole masculina de mães

obesas e níveis aumentados de estrogênio na prole feminina (Lomas-Soria *et al.*, 2018).

A adiposidade visceral tem se mostrado o gatilho que ativa a maioria das vias da SM. Em indivíduos em sobrepeso e obesidade que apresentam tecido adiposo visceral (TAV) hipertrofiado apresentam alterações na modulação hormonal, imunológica e capacidade endócrina desse tecido. Além disso, o TAV é a principal fonte na síntese de ácidos graxos livres (AGLs), inicialmente para o fígado e depois para a grande circulação. Aumento significativo de adiposidade visceral é fonte crucial para síntese de citocinas inflamatórias que irão resultar no aumento do estresse oxidativo e RI em outros tecidos, descritos na Figura 2 (Bovolini *et al.*, 2021).

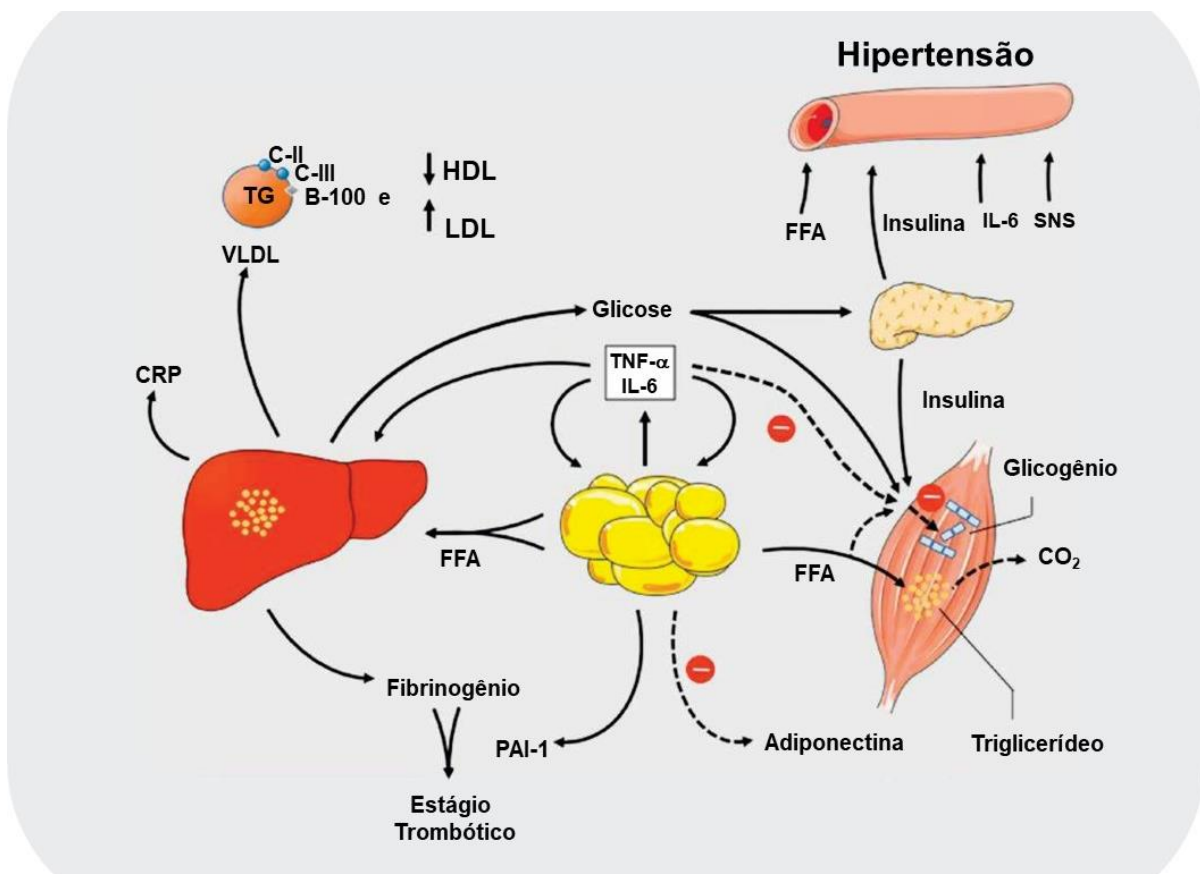


Figura 2 - Fisiopatologia da SM. Fonte: adaptado de Bovolini et al. (2021)

O aumento da prevalência de alterações metabólicas está associado a fatores genéticos, e não genéticos, como o sedentarismo e o aumento do consumo de alimentos hipercalóricos, constituídos, por exemplo, por açúcares de adição, principalmente sacarose e frutose, comumente utilizados como edulcorantes em alimentos processados e refrigerantes (Tappy e Lê, 2010). O aumento exponencial do consumo de açúcares de adição está correlacionado ao crescimento epidêmico da SM, levando ao aumento de outras morbidades e impactando negativamente a expectativa de vida (Bray *et al.*, 2004).

### **2.3. Transição nutricional**

O modelo de transição nutricional foi proposto na década de 1990 para explicar as significativas alterações nas dietas e nos padrões de atividade humana (Popkin e Ng, 2022). Este fenômeno global que envolve o aumento da disponibilidade de alimentos processados e ricos em calorias, juntamente com a diminuição da atividade física resultou em mudanças nos padrões alimentares e no aumento da obesidade e doenças relacionadas, como DM2 e DCVs (Sievert *et al.*, 2019). Essas mudanças têm impacto nos resultados nutricionais, afetando tanto o tamanho quanto a composição corporal. Observa-se uma convergência global em direção a dietas ricas em gordura saturada, sódio, açúcar e carboidratos refinados, ao mesmo tempo em que são pobres em fibras e outros componentes naturais essenciais. Esse padrão alimentar é comumente conhecido como "dieta ocidental", amplamente adotado por uma grande proporção da população dos Estados Unidos, Reino Unido e países europeus.

Em países de baixa e média renda, a falta de regulamentação adequada sobre a venda e marketing de alimentos processados influencia a disponibilidade desses

produtos (Sievert *et al.*, 2019). Alimentos como refrigerantes, doces e biscoitos, ricos em açúcares e carboidratos simples, são amplamente disponíveis e de baixo custo, tornando-se uma fonte rápida de energia em áreas com limitações nutricionais. O marketing agressivo desses alimentos, especialmente voltado para crianças, contribui para o aumento do consumo de açúcares adicionados (Taillie *et al.*, 2019).

A introdução de cadeias de *fast-food* e a adoção de hábitos alimentares ocidentalizados são fatores significativos para o aumento da obesidade em muitos países. As refeições de *fast-food* têm alto teor calórico, gorduras saturadas, açúcares e sódio, além de serem servidas em porções grandes. Essas características contribuem para o ganho de peso e desenvolvimento de obesidade, aumentando o risco de condições como DM, doenças cardiovasculares e câncer (Popkin e Ng, 2022).

Ainda que a prevalência da obesidade seja mais frequente em nações desenvolvidas, os padrões alimentares ocidentalizados estão gradativamente se difundindo em países em desenvolvimento, devido aos processos de urbanização e globalização. Essa disseminação está propensa a resultar em um aumento da obesidade e da SM nessas regiões. O consumo exacerbado de açúcares de adição emerge como o principal contribuinte para a elevada prevalência de obesidade e síndrome metabólica nos países industrializados (Malik e Hu, 2022).

A frutose é um tipo de açúcar encontrado naturalmente em frutas, bem como em alimentos processados que contêm xarope de milho rico em frutose. O metabolismo da frutose ocorre principalmente no fígado, embora também possa ser metabolizada em outros tecidos metabólicos, como o intestino delgado, rins e cérebro. No lúmen do intestino, a sacarose é hidrolisada pela sacarase em glicose e frutose. A

frutose é rapidamente captada para o fígado (via GLUT-2) e, de forma independente da insulina, estimula fatores lipogênicos e a síntese novamente de lipídeos, levando ao acúmulo de triglicerídeos hepáticos e exportação de Lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) (Hannou *et al.*, 2018). No fígado, a frutose é rapidamente convertida em frutose-1-fosfato por meio da enzima frutoquinase. Em seguida, o frutose-1-fosfato é convertido em gliceraldeído-3-fosfato e di-hidroxiacetona fosfato, intermediários importantes nas vias metabólicas do metabolismo da glicose (Hannou *et al.*, 2018).

O consumo excessivo de frutose pode ter várias consequências negativas para a saúde. O excesso de frutose pode levar à produção de ácidos graxos livres e triglicerídeos, resultando em um acúmulo de gordura no fígado, o que pode levar à inflamação e danos ao órgão a longo prazo. Além disso, o consumo excessivo de frutose pode levar ao aumento dos níveis de triglicerídeos no sangue, o que está associado a um maior risco de doenças cardiovasculares. A frutose também pode contribuir para a RI, interferindo na regulação normal do açúcar no sangue e aumentando o risco de desenvolvimento de DM2 (Hannou *et al.*, 2018).

Outras consequências do consumo excessivo de frutose incluem o aumento da produção de ácido úrico, que pode levar à gota, e o aumento da produção de moléculas pró-inflamatórias, contribuindo para processos inflamatórios crônicos no organismo. Adicionalmente a frutose também está relacionada à sobrecarga mitocondrial e estresse oxidativo. Por outro lado, a glicose quando mantida em altas concentrações, desencadeia os mesmos desfechos da frutose, além de estimular secreção de insulina, causando hiperinsulinemia, glicotoxicidade e RI (Tappy e Lê, 2010). Nosso grupo de pesquisa demonstrou que o consumo de uma dieta rica em

sacarose leva ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos, tais como obesidade, dislipidemias e RI, com conseqüente instauração de SM (Flister *et al.*, 2018).

#### **2.4. Influência do estresse nutricional com dietas ricas em açúcares de adição**

Estudos epidemiológicos relatam uma ligação entre o consumo de alimentos e bebidas que são adoçados com açúcares e o aumento da incidência de obesidade, DM2 e SM no mundo (Kereliuk, S. M. *et al.*, 2017).

Recentemente, uma atenção crescente tem sido dada à influência dos carboidratos no desenvolvimento de doenças metabólicas. Isso inclui açúcares e adoçantes adicionados durante a alimentação e durante o processo de produção de alimentos, como açúcar branco ou marrom, xarope de milho, xarope de frutose, mel, melaço, dextrose cristalina, xarope de bordo, sacarose, glicose, maltose, lactose ou açúcar invertido (Czerwonogrodzka-Senczyna *et al.*, 2019).

Há evidências de que os níveis excessivos desses macronutrientes na dieta materna pode contribuir para a hiperglicemia durante o desenvolvimento fetal e está associada a um aumento prevalência de DM2 na idade adulta (Kereliuk, Stephanie M. *et al.*, 2017). Dessa forma, os padrões nutricionais maternos, ou outros fatores como diabetes mellitus gestacional, excesso de ganho de peso durante a gestação, tabagismo ou fatores endócrinos, entre outros, podem exercer impacto sobre o crescimento, a composição corporal e a adiposidade do neonato ao nascer, na infância e adolescência, programando, portanto, a saúde na vida adulta (Puche-Juarez *et al.*, 2023).

A SM está associada à supernutrição materna e seus efeitos epigenéticos. O aumento de peso corporal na prole é especialmente influenciado pela adição de

frutose e sacarose durante os períodos de gestação e lactação. Ondřej (2021) sugere que um mecanismo epigenético relacionado a uma hipersecreção precoce de insulina na prole pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da obesidade (Figura 3). Vale destacar que o estudo utilizou ratos *Wistar*, o mesmo desta tese, comprovando que estes estão sujeitos aos efeitos negativos da programação metabólica. Já os autores Moholdt e Hawley (2020) destacam num tópico sobre o metabolismo materno e a saúde da prole, que a exposição ao DM gestacional, acaba por programar o risco futuro que a prole terá em relação a obesidade, DM2 etc. Esta relação está focada no estilo de vida materno incluindo práticas dietéticas desfavoráveis combinadas com atividade física insuficiente, contribuindo para uma “assinatura epigenética” fetal que induz a um risco elevado para as doenças crônicas não transmissíveis.

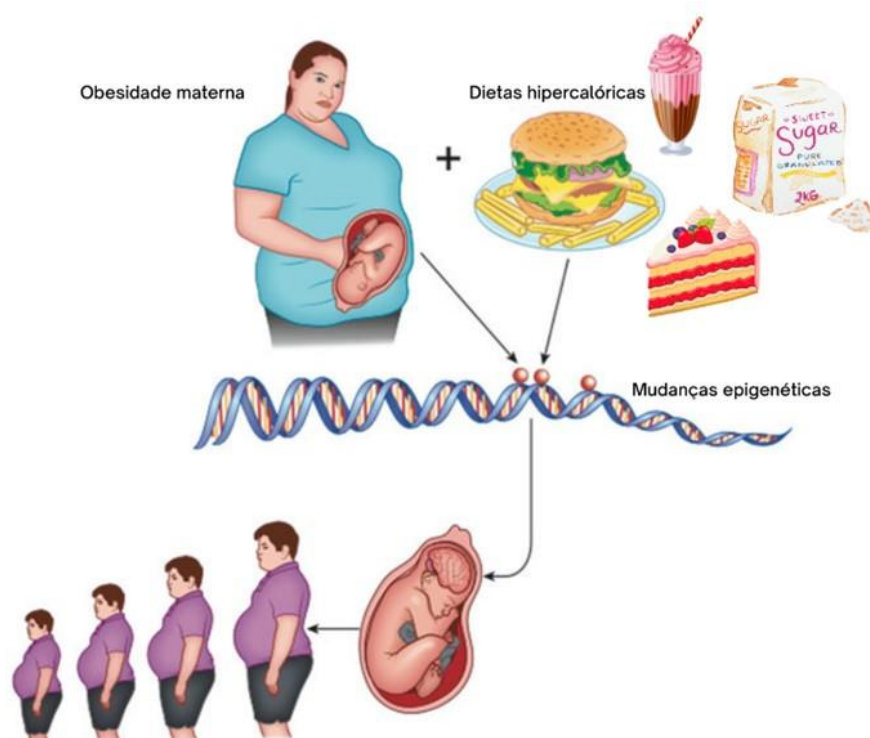


Figura 3 - Obesidade materna e excesso de alimentação nas origens das mudanças epigenéticas que levam à predisposição geracional à obesidade. Fonte: adaptada de Blasi (2020).



A prevalência de mulheres obesas em idade reprodutiva tem aumentado no mundo e, conseqüentemente, os filhos destas mães estão com risco elevado de manifestar sobrepeso ou obesidade na vida adulta. As modificações que estão envolvidas, nesta relação epigenética, afetam a metilação do DNA, as modificações de histonas e os MicroRNAs (miRNAs), que são capazes de regular a expressão genica através de repressão ou degradação na tradução de certas moléculas de RNA mensageiro (Şanlı e Kabaran, 2019).

Embora muitas pesquisas e discussões estejam ocorrendo com relação ao impacto dos açúcares de adição no metabolismo de adultos, existem poucos dados sobre o impacto e possíveis efeitos a longo prazo da alta exposição à frutose/sacarose durante a gestação, a lactação e a infância e suas conseqüências na prole. Pesquisas emergentes sugerem que o consumo destes açúcares tanto pela mãe na gestação quanto pelo filho nos estágios iniciais da vida leva à disfunção metabólica persistente (Bellastella *et al.*, 2019).

A ingestão dietética de açúcares é derivada de várias fontes naturais e artificiais e mulheres grávidas são expostas aos mesmos alimentos e bebidas adoçadas artificialmente que a população geral não grávida. A ingestão de frutas e vegetais frescos durante a gravidez tem diversos efeitos benéficos para a saúde das mães e dos bebês (Lundeen *et al.*, 2020).

Em um estudo de coorte clínico realizado pelo Instituto Norueguês de Saúde Pública demonstro que a ingestão de alimentos ricos em açúcares naturais, como frutas frescas e secas, e vegetais está associada a diminuição do risco de pré-eclâmpsia em mulheres grávidas nulíparas (Brantsaeter *et al.*, 2009; Borgen *et al.*, 2012). Entretanto, quando expostas a bebidas adoçadas artificialmente ricas em frutose e bebidas

açucaradas e não de frutas naturais, a maioria das mulheres grávidas tinham preferências por esses alimentos. No mesmo estudo observou-se um aumento de 14% no consumo de açúcares de adição após o parto (George *et al.*, 2005).

Estudos mais recentes, sobre a nutrição das mulheres grávidas e lactantes nos Estados Unidos apontam para uma baixa ingestão de vitaminas e minerais essenciais, além de um índice de 50% de sobrepeso ou obesidade em mulheres de 20 a 44 anos (Esquivel, 2021). Ressaltam a necessidade de políticas públicas que favoreçam estas pessoas alcançarem um peso saudável, sob o risco de desenvolvimento de hipertensão, diabetes gestacional e, também, de parto cesáreo. As repercussões em seus filhos também são descritas, principalmente a obesidade e a SM. Esquivel (2021) ainda aponta que órgãos do governo elaboraram diretrizes dietéticas que incluem maior consumo de frutas, verduras, legumes e grãos, sendo indicado o menor consumo possível de carne processada, alimentos industrializados ricos em gordura saturada e colesterol, além das bebidas com adição de açúcar. Destacou-se que a diversidade na dieta durante a gravidez e lactação impacta numa redução nas alergias, tanto das mães, quanto dos das crianças.

## **2.5. Treinamento físico como estratégia para modulação de composição corporal**

A obesidade e a hipertensão têm alto risco de eventos coronarianos, e o treinamento físico regular tem sido promovido para reduzir os fatores de risco cardiovascular, melhorando o estilo de vida e apresentando efeitos anti-inflamatórios (Stefani e Galanti, 2017). As diretrizes de atividade física para gerenciamento da obesidade e hipertensão incluem a recomendação de 150 a 300 minutos por semana de atividade moderada ou vigorosa, com maior volume para perda de peso, além do

treinamento de força duas vezes por semana para benefícios adicionais na pressão arterial e metabolismo (Gluchowski *et al.*, 2022).

O treinamento de força, também conhecido como treinamento resistido ou treinamento com pesos, envolve a realização de exercícios que visam fortalecer e desenvolver os músculos. Esse tipo de treinamento geralmente utiliza pesos, máquinas, faixas elásticas ou o próprio peso corporal como resistência (Moesgaard *et al.*, 2022). No treinamento de força, diferentes tipos de fibras musculares são recrutados para executar o movimento, e cada uma delas tem sua função específica. Existem três tipos principais de fibras musculares: tipo I (fibras de contração lenta), tipo IIa (fibras de contração rápida e resistência intermediária) e tipo IIb (fibras de contração rápida e baixa resistência). Durante o treinamento de força, as fibras musculares tipo IIa e tipo IIb são mais recrutadas do que as fibras tipo I, devido à natureza das atividades que envolvem esse tipo de treinamento. Essas fibras têm maior potencial para o crescimento muscular e para a melhora da força e da potência (Lundberg *et al.*, 2022)

O treinamento de força oferece uma série de benefícios para a saúde. Ele é especialmente eficaz na construção e preservação da massa muscular. Ao realizar exercícios de resistência, ocorrem microlesões nos músculos, o que estimula o corpo a reparar e fortalecer essas estruturas musculares. Isso resulta em um aumento da força muscular, da resistência e da capacidade funcional. Além disso, o treinamento de força desempenha um papel fundamental na melhoria da composição corporal (Maestroni *et al.*, 2020). O aumento da massa muscular resultante desse tipo de treinamento ajuda a aumentar o metabolismo basal, o que significa maior gasto calórico. Isso pode auxiliar no controle do peso corporal e na prevenção do acúmulo

excessivo de gordura. O treinamento de força pode ter efeitos benéficos na ação da insulina e na sensibilidade à insulina em indivíduos obesos. Durante o treinamento de força, ocorrem adaptações no metabolismo muscular que podem melhorar a resposta à insulina, através da maior expressão de GLUT4 e conseqüentemente aumentando a captação de glicose pelas células musculares, mesmo na presença de RI, promovendo uma melhor utilização da glicose como fonte de energia (Maestroni *et al.*, 2020)

Quanto ao perfil inflamatório, a obesidade está associada a um estado crônico de inflamação de baixo grau no organismo. O tecido adiposo em excesso produz substâncias inflamatórias, como citocinas pró-inflamatórias, que contribuem para o desenvolvimento de complicações metabólicas e doenças relacionadas à obesidade. O treinamento de força tem demonstrado efeitos positivos na atenuação desse perfil inflamatório em pacientes obesos. Nesta modalidade, ocorrem modulações nas vias inflamatórias, reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e aumentando a liberação de substâncias anti-inflamatórias. Essa redução do estado inflamatório contribui para a melhoria da saúde metabólica, diminuindo o risco de desenvolvimento de doenças associadas à obesidade, como DM2 e DCVs (Nono Nankam *et al.*, 2020).

O consumo materno de uma dieta hipercalórica está relacionado à diminuição do desempenho no exercício e da eficiência do treinamento na prole. Especulamos que isso possa ocorrer devido ao suprimento insuficiente de energia muscular durante o treinamento prolongado. Além disso, esse desempenho comprometido do exercício pode aumentar o risco de desenvolvimento da obesidade na vida adulta (Walter e Klaus, 2014). Observou-se também que o estresse nutricional paterno prejudica a sensibilidade à insulina e a função mitocondrial no músculo esquelético e na

morfologia pancreática da prole de ratos adultos e o exercício no início da vida pode atenuar esses efeitos negativos (Falcão-Tebas *et al.*, 2019).

Terra *et al.* (2020) testaram fêmeas grávidas e lactantes que tiveram exposição a uma dieta hipercalórica e concluíram que as gerações seguintes de ratos, das mães que apesar da dieta mantinham a prática de exercício físico, possuíam menor adiposidade, glicose e de concentrações de triglicerídeos, o que é um resultado importante contra os distúrbios metabólicos. Assim, o exercício materno teve impactos nas gerações futuras, enquanto o sedentarismo ligado a dieta rica em sacarose e frutose foram destacados como fatores de risco.

As mudanças no metabolismo dos adipócitos induzidas pelo exercício resultam em alterações específicas na composição de ácidos graxos, que variam entre os depósitos de tecido adiposo visceral e subcutâneo. Além disso, o exercício afeta a liberação de adipocinas pelo tecido adiposo, o que pode reduzir a inflamação e melhorar a sensibilidade à insulina. Um efeito adicional do exercício é a "browning" do tecido adiposo, onde os adipócitos brancos se transformam em adipócitos bege, que possuem propriedades termogênicas e oxidantes de ácidos graxos como demonstrados na Figura 4. Esse processo é regulado pelas miocinas liberadas durante o exercício (Mika *et al.*, 2019).

O tecido adiposo é um órgão altamente plástico que se adapta em resposta às mudanças nutricionais e hormonais, alterando seu tamanho, composição celular e função. Ele pode expandir seu volume durante a obesidade por meio de hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, mas também diminui rapidamente por lipólise durante o jejum ou exposição ao frio. Os adipócitos têm uma vida longa de aproximadamente dez anos em humanos, e a plasticidade do tecido adiposo é mantida através de

mecanismos moleculares, como a metilação do DNA. A metilação do DNA, regulada pela DNA metiltransferase 1 (DNMT1), desempenha um papel crítico na manutenção da plasticidade do tecido adiposo. Estudos em camundongos analisaram o perfil de metilação do DNA específico do tecido adiposo usando diferentes conjuntos de dados, como captura do promotor de adipócitos Hi-C, sequenciamento de bissulfito e sequenciamento de imunoprecipitação da cromatina (Widmann *et al.*, 2019; Nono Nankam *et al.*, 2020).

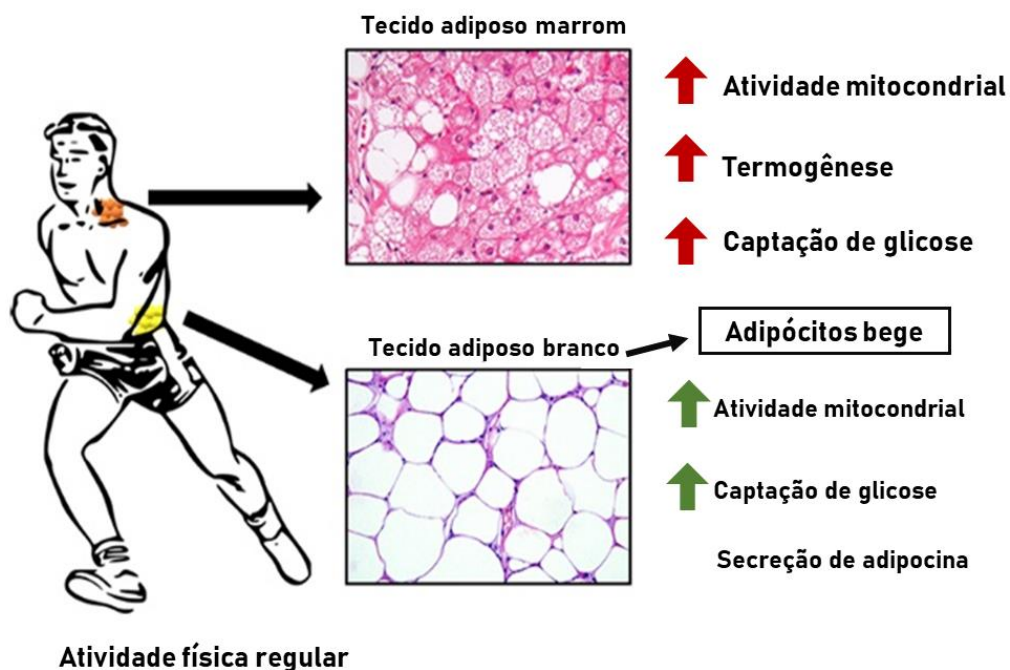


Figura 4 - Impacto da atividade física regular no tecido adiposo branco e marrom. Adaptado de Mika *et al.* (2019)

O treinamento físico reduziu a deposição de gordura e restaurou os parâmetros reprodutivos alterados. O consumo da dieta durante o período peri-puberal induz mudanças a longo prazo no metabolismo e no sistema reprodutivo, mas o treinamento físico de moderada e baixa frequência é capaz de recuperar a deposição de tecido

adiposo e alterações no sistema reprodutivo induzidas pela dieta rica em gordura. Este estudo destaca a importância de uma dieta balanceada e a continuidade da atividade física na adolescência, no que diz respeito à saúde metabólica e reprodutiva (Ibanez *et al.*, 2017). Diante disto, hipotetizamos que ingestão de sacarose pela mãe durante a gestação e lactação gera efeitos deletérios sobre o metabolismo da prole os quais são reprogramados pelo treinamento de força pela prole no período da peripuberdade.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo geral**

- Investigar o impacto do treinamento de força na prole de ratas expostas a uma dieta rica em sacarose antes, durante a gestação e lactação sobre a programação metabólica.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar o papel da sacarose em períodos críticos para o desenvolvimento e suas consequências nas ratas expostas a dieta rica em sacarose.
- Avaliar repercussões metabólicas na prole de ratas *Wistar* expostos a uma dieta rica em sacarose durante os períodos pré-gestacional, gestação e lactação.



## 4. Materiais e Métodos

### 4.1. Desenho experimental

Para este estudo foram inicialmente utilizados 13 casais de ratos (*Rattus norvegicus*, var. Wistar) recém desmamados pertencentes a 05 grupos familiares distintos da colônia do Biotério Central da UFMA com o intuito de assegurar variabilidade genética entre os grupos animais gerados. Após aclimatação, as fêmeas foram divididas em dois grupos: CTR<sub>F0</sub> (n = 6), fêmeas alimentadas com uma ração padrão (Nuvilab<sup>®</sup>, Curitiba, Brasil) e DRS<sub>F0</sub> (n = 7), fêmeas alimentadas com uma dieta rica em sacarose (DRS). A composição centesimal de ambas as rações, bem como o modo de preparo da DRS, seguiram protocolo anteriormente publicado por Sousa *et al.* (2018). Os machos foram alimentados com ração padrão até o acasalamento. Todos os grupos foram pesados duas vezes por semana e mantidos em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura 22± 2°C, com livre acesso à água e ração.

Após 6 semanas de indução dietética, as fêmeas de ambos os grupos foram submetidas a jejum de 8h e anestesiadas (cetamina, 75 mg/kg; e xilazina 10 mg/kg, IM) para coleta de sangue e realização de teste de tolerância à glicose (GTT). O acasalamento foi realizado através do método Poiley (Poiley, 1960), utilizando um macho para cada fêmea, sendo a cobertura confirmada pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal das fêmeas na manhã seguinte. O peso corporal das prenhes de ambos os grupos foi mensurado todos os dias durante a gestação (3 semanas) e lactação (3 semanas). A fim de avaliar o possível impacto da DRS nos parâmetros de fecundidade, a prolificidade dos dois grupos foi comparada.

Ao final do período de amamentação, as fêmeas foram novamente submetidas ao GTT nas mesmas condições. Dois dias após o GTT, as fêmeas foram mantidas em jejum por 8h e anestesiadas para coleta terminal de sangue e tecidos, bem como eutanásia por exsanguinação. As amostras de sangue foram processadas para a obtenção do soro, que foi adequadamente armazenado para análises bioquímicas posteriores. Foram, ainda, coletados os seguintes órgãos: fígado, pâncreas, ovários e depósitos de gordura (periovariana, periuterina, retroperitoneal e mesentérica), os quais foram pesados e armazenados para análises posteriores.

Na manhã seguinte ao nascimento, os filhotes ( $F_1$ ) passaram por sexagem, foram pesados individualmente e as ninhadas ajustadas para 8 filhotes cada, preferencialmente 6 machos e 2 fêmeas. Durante a lactação, os filhotes de ambos os grupos foram pesados uma vez por semana para atenuar o estresse de manipulação. Imediatamente após o desmame, aos 21 dias de vida, os filhotes machos foram divididos em três grupos: grupo  $CTR_{F_1}$  ( $n=7$ ), filhotes das mães  $CTR_{F_0}$  e que não realizariam treinamento de força; 2) grupo  $DRS_{F_1}$  ( $n=7$ ), filhotes das mães  $DRS_{F_0}$  e que não realizariam treinamento de força, e grupo  $DRS-T_{F_1}$  ( $n=7$ ), filhotes das mães  $DRS_{F_0}$  e que realizariam um protocolo de treinamento de força. Todos os grupos  $F_1$  foram alimentados com ração padrão e pesados duas vezes por semana a partir do desmame.

Os animais  $DRS-T_{F_1}$  foram adaptados a um protocolo de treinamento de força por escalada (comprimento: 1,1 x 0,18 m; espaço entre degraus: 2 cm; inclinação: 80°), segundo descrito por (Hornberger Jr e Farrar, 2004). Inicialmente, foram realizadas três sessões de familiarização, em dias consecutivos, nas quais os animais deviam alcançar uma caixa no topo da escada e descansar por 2 min. Esse processo

foi repetido até que os animais conseguissem realizar três escaladas consecutivas sem estímulo adicional. Em seguida, foi conduzido o teste de carga máxima que envolveu de 4 a 9 escaladas com cargas progressivamente maiores presas à cauda. A maior carga carregada até a caixa de descanso foi considerada a carga máxima de carregamento para uma dada sessão de treinamento. Após um intervalo de 48 h, foi realizado um re-teste de força para confirmação da carga máxima.

Durante a peripuberdade (30 a 51 dias de vida), o grupo DRS-T<sub>F1</sub> foi submetido a 11 sessões de treinamento, em dias alternados, com cargas correspondentes a 60% da carga máxima medida. Cada sessão consistiu em 5 escaladas consecutivas com intervalos de 2 minutos (Hornberger Jr e Farrar, 2004). As cargas de treinamento (50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima) realizadas por cada animal em cada sessão foram registradas. A carga era ajustada sempre que o animal ultrapassasse 100% da carga da sessão anterior. A análise da carga de carregamento ocorria ao final de cada semana de treinamento. Além disso, a força relativa de cada animal foi determinada dividindo a massa corporal pela carga máxima de carregamento ao final do experimento

Após o período de treinamento do grupo DRS-T<sub>F1</sub> (51 dias de vida), todos os grupos F1 foram acompanhados até os 120 dias de vida. Na semana anterior ao final do acompanhamento, os animais foram submetidos ao GTT. No dia 120, após jejum de 8h, os animais foram anestesiados e laparatomizados para coleta terminal de sangue via punção arterial, eutanasiados por exsanguinação e coletados os seguintes órgãos: fígado, pâncreas, testículos, epidídimos, ductos deferentes e depósitos de gordura (periepididimal, retroperitoneal, mesentérica e interescapular). Todos os protocolos aqui descritos foram desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia

Experimental (LeFisio) e previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Universidade Federal do Maranhão (n° 23115.038755/2018-22).

#### **4.2. Análises bioquímicas séricas**

As amostras de sangue coletadas foram postas a repousar por 30 min e, em seguida, centrifugadas (3500 rpm, 5 min., temperatura ambiente) para obtenção do soro. Alíquotas de soro foram armazenadas a -80 °C para posterior quantificação espectrofotométrica de: glicose, triglicerídeos, colesterol total (Labstest®, Lagoa Santa, MG, Brasil), insulina (Sigma-Aldrich, EUA) e ácidos graxos livres (Sigma-Aldrich, EUA), seguindo as instruções dos fabricantes.

#### **4.3. Avaliação do eixo glicose-insulina**

Para realização do Teste de Tolerância à Glicose (GTT<sub>ip</sub>) os animais foram submetidos a jejum de 8 horas antes da administração intraperitoneal de glicose (2 g/kg). Amostras de sangue capilar foram coletadas por picote na cauda imediatamente antes (tempo 0) e 15, 30, 60 e 120 min após a injeção para a medição de glicemia por meio de glicosímetro (Accu-check Active, Roche Diagnostic, Alemanha). O índice TyG ( $TyG = \ln [\text{triglicérides de jejum (mg/dL)} \times \text{glicemia de jejum (mg/dL)/2}]$ ) (Simental-Mendía *et al.*, 2008) e o modelo de avaliação da homeostase da glicose para resistência à insulina ( $HOMA-IR = \text{insulina de jejum (U/mL)} / \text{glicose de jejum (mM)} / 22,5$ ) (Matthews *et al.*, 1985) foram utilizados para inferir a RI.

#### **4.4. Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas com o uso do programa GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., Estados Unidos). Todos os dados de cada análise em cada grupo foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para verificação de distribuição normal. As comparações entre os grupos  $CTR_{F0}$  ( $n = 6$ ) e  $DRS_{F0}$  ( $n=7$ ) foram realizadas por teste  $t$  não pareado, bicaudado, seguido de correção de Welch devido diferenças do desvio padrão entre os grupos. Nos grupos  $CTR_{F1}$  ( $n=7$ ),  $DRS_{F1}$  ( $n=7$ ) e  $DRS-T_{F1}$  ( $n=7$ ), as comparações foram realizadas por One-Way ANOVA, seguidas do teste de Tukey para múltiplas comparações. Todos os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) e considerados diferentes quando atingido um nível de significância mínimo de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5. Resultados

### 5.1. A exposição perigestacional à DRS leva ao desenvolvimento de síndrome metabólica materna

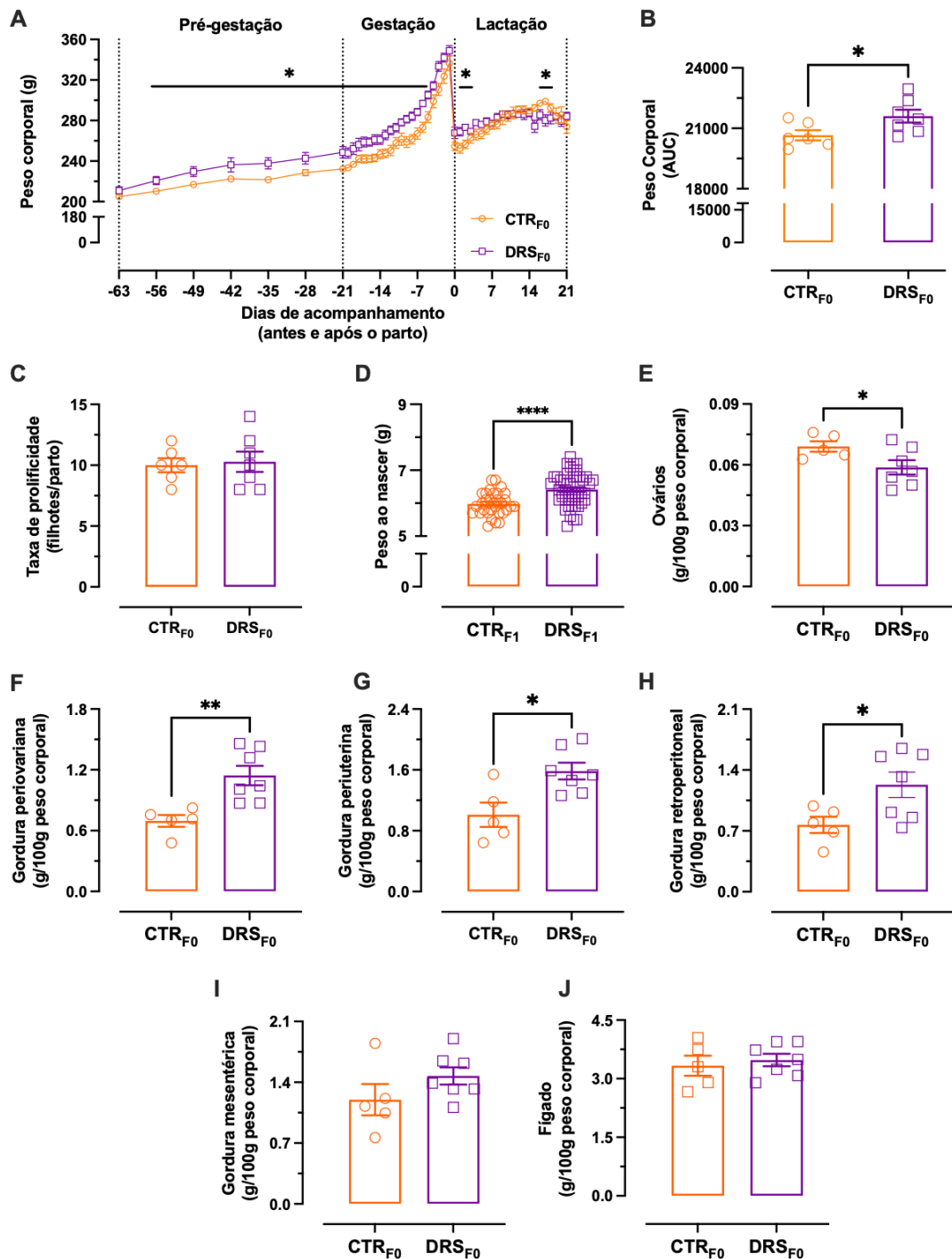
Para avaliar os impactos do consumo excessivo de açúcar sobre a saúde materna, foi realizada a exposição perigestacional de ratas à DRS por um período de seis semanas antes do acasalamento até seis semanas depois do acasalamento (3 semanas de gestação e 3 semanas de amamentação), em comparação a um grupo alimentado com dieta padrão (CTR<sub>F0</sub>). Como mostrado na Figura 5A, o peso corporal dos dois grupos não diferia no início da indução. Porém, a partir da primeira semana de exposição à DRS, o peso corporal das ratas DRS<sub>F0</sub> tornou-se estatisticamente maior que aquele das ratas CTR<sub>F0</sub> ( $P < 0,05$ ), efeito que se manteve até o final do segundo terço da gestação. Ao final da gestação, as ratas CTR<sub>F0</sub> apresentaram ganho de peso adicional fazendo com que a diferença de peso entre os grupos até o final da lactação fosse apenas pontual (Figura 5). Entretanto, a maior área sob a curva (AUC) de evolução ponderal do grupo DRS<sub>F0</sub> ao longo de 12 semanas, em comparação àquela das ratas CTR<sub>F0</sub> ( $p < 0,05$ , Figura 5B) sustenta a exposição perinatal da prole DRS a um ambiente obesogênico.

O incremento de peso observado nas ratas DRS<sub>F0</sub> não teve impacto na sua capacidade reprodutiva, uma vez que o índice de prolificidade não diferiu entre os grupos (Figura 5C). No entanto, o peso médio dos filhotes, machos e fêmeas, nascidos de mães DRS<sub>F0</sub> ( $6,41 \pm 0,07$  g) foi significativamente maior em comparação àqueles nascidos de ratas CTR<sub>F0</sub> ( $5,97 \pm 0,06$  g/100g,  $p < 0,0001$ ), figura 5D. Essa constatação parece se opor ao fato de que as ratas DRS<sub>F0</sub>, quando eutanasiadas após a amamentação, apresentaram uma massa ovariana menor em relação às ratas

controle (CTR<sub>F0</sub>: 0,0696 ± 0,002 g/100g; DRS<sub>F0</sub>: 0,0587 ± 0,0035 g/100g),  $p < 0,05$ ). Por outro lado, o maior peso ao nascer da prole DRS<sub>F1</sub> pode estar relacionado com o maior aporte energético proveniente tanto do tecido adiposo periovariano (CTR<sub>F0</sub>: 0,70 ± 0,06 g/100g; DRS<sub>F0</sub>: 1,14 ± 0,10 g/100g,  $p < 0,01$ ) quanto do periuterino (CTR<sub>F0</sub>: 1,01 ± 0,16 g/100g; DRS<sub>F0</sub>: 1,58 ± 0,11 g/100g,  $p < 0,05$ ). Além destes, o coxim retroperitoneal também apresentou aumento significativo (CTR<sub>F0</sub>: 0,77 ± 0,09 g/100g; DRS<sub>F0</sub>: 1,23 ± 0,01 g/100g,  $p < 0,05$ ), (Figura 5F, 5G e 5H, respectivamente). Entretanto, não foram encontradas diferenças no peso relativo do tecido adiposo mesentérico e do fígado (Figura 5I e 5J, respectivamente).

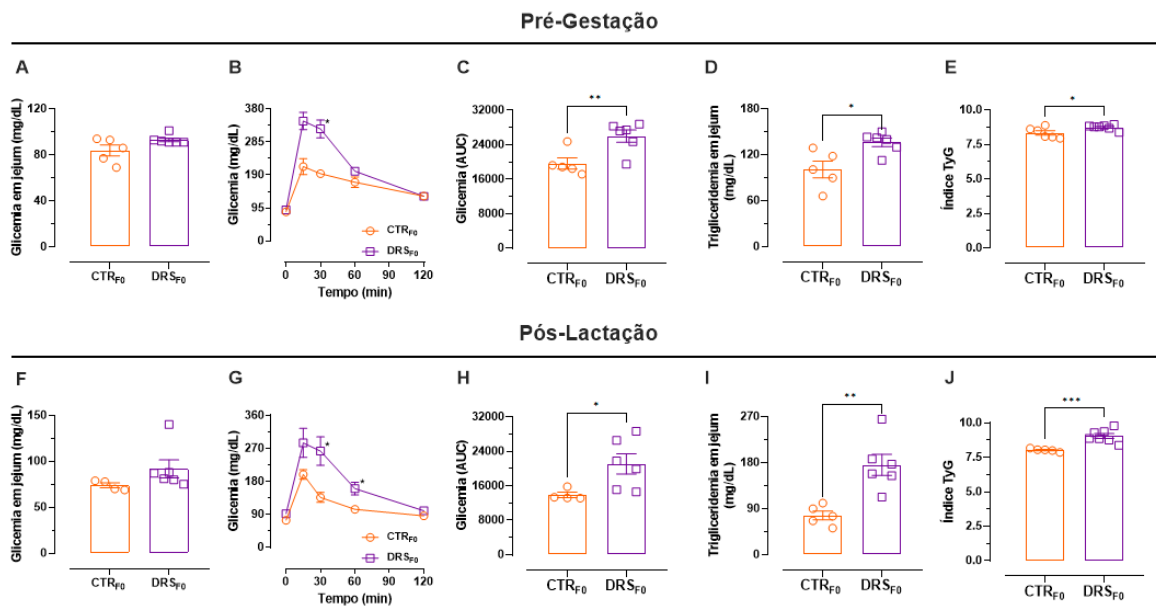
A avaliação do perfil metabólico das ratas F0 demonstrou que as seis semanas de exposição pré-gestacional à DRS não foram suficientes para causar hiperglicemia de jejum (CTR<sub>F0</sub>: 80,83 ± 4,79 mg/dL; DRS<sub>F0</sub>: 93,17 ± 1,60 mg/dL; Figura 6A), embora tenha causado intolerância à glicose, evidenciada tanto pela análise do gráfico ponto a ponto quanto pela área sob a curva do GTT<sub>ip</sub> (Figuras 6B e 6C, respectivamente).

De maneira semelhante, observa-se na Figura 6D um aumento significativo nos níveis séricos de triglicerídeos (CTR<sub>F0</sub>: 100,80 ± 11,00 mg/dL; DRS<sub>F0</sub>: 136,20 ± 5,43 mg/dL;  $p < 0,05$ ), o qual sugere ineficiência do controle da síntese e exportação de triglicerídeos pelo fígado, provavelmente decorrente de quadro inicial de resistência hepática à insulina. Esta sugestão é reforçada pelo aumento do índice TyG (CTR<sub>F0</sub>: 8.35 ± 0,15; DRS<sub>F0</sub>: 8.75 ± 0,07,  $p < 0,05$ ). Estes dados evidenciam que as ratas DRS<sub>F0</sub> apresentavam disfunções metabólicas pré-gestacionais suficientes para classificá-las como portadoras de SM.



**Figura 5 - A exposição perigestacional à DRS leva ao desenvolvimento de síndrome metabólica materna.** (A) Peso corporal de ratas nos períodos de pré-gestação, gestação e lactação. (B) Área sobre a curva. (C) Taxa de prolificidade. (D) Peso ao nascer da prole macho e fêmea. (E) Peso relativo dos ovários. (F) Gordura periovariana. (G) Gordura periuterina. (H) Gordura retroperitoneal. (I) Gordura mesentérica. (J) Fígado. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n=7). A análise estatística foi realizada através do teste t de Student não pareado. \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle. \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle. \*\*\* $p < 0,0001$  quando comparado ao grupo controle.



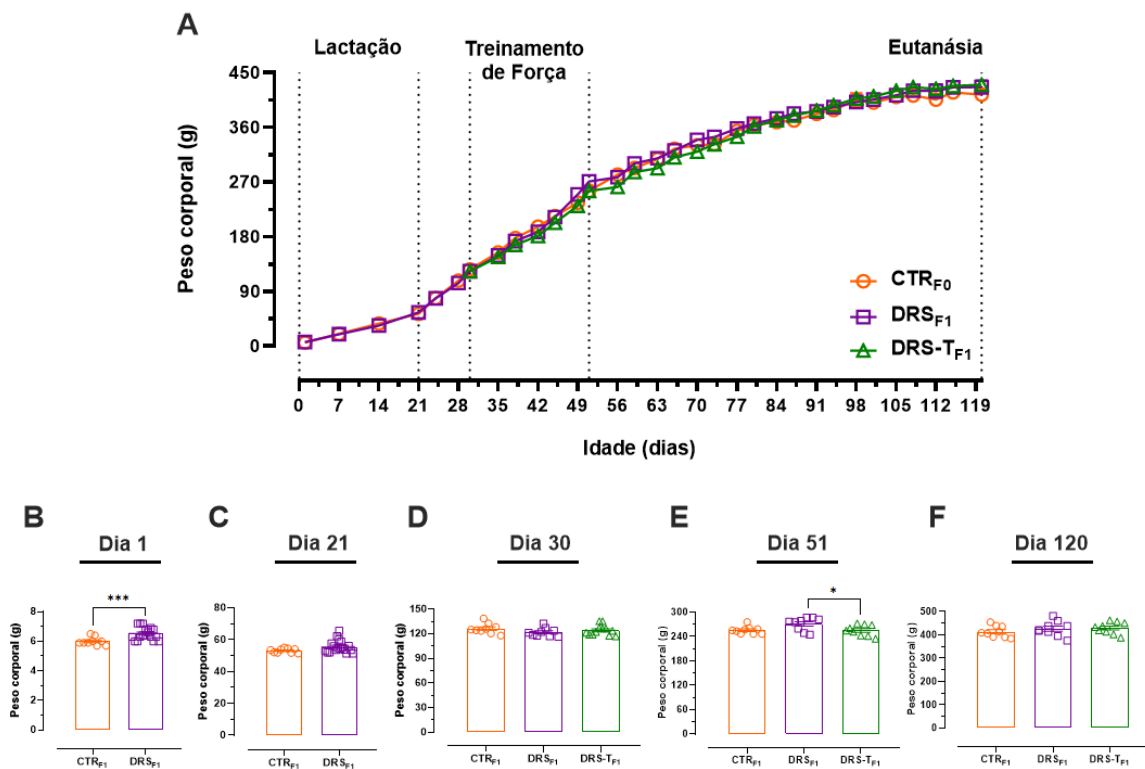


**Figura 6 - Parâmetros bioquímicos de ratas pré-gestação e pós lactação.** Ratas pré-gestação: (A) Glicemia em jejum; (B) Teste de tolerância à glicose; (D) triglicerídeos; (E) índice de TyG. Ratas pós-gestação: (F) Glicemia em jejum; (G) Teste de tolerância à glicose; (H) triglicerídeos; (J) índice de TyG. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n= 7). Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n=7). A análise estatística foi realizada através do teste t de Student não pareado. \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle. \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle. \*\*\* $p < 0,0001$  quando comparado ao grupo controle.

A avaliação deste mesmo perfil após a amamentação demonstrou o recrudescimento dos mesmos parâmetros. As ratas  $DRS_{F0}$  não apresentaram alteração da glicemia de jejum quando comparadas às  $CTR_{F0}$  (Figura 6F). Porém, ampliaram o grau de intolerância à glicose (Figuras 6G e 6H). Igualmente, houve ampliação da hipertrigliceridemia das ratas  $DRS_{F0}$  ( $175,70 \pm 20,75$  mg/dL), em relação às  $CTR_{F0}$  ( $76,70 \pm 8,62$  mg/dL;  $p < 0,01$ ), que pode estar relacionada com a maior diferença do índice TyG ( $CTR_{F0}$ :  $8,02 \pm 0,05$ ;  $DRS_{F0}$ :  $9,04 \pm 0,18$ ,  $p < 0,001$ , Figura 6J). Diante destes dados, observa-se que as ratas  $DRS_{F0}$  apresentaram quadro de síndrome metabólica desde antes da gestação, o qual persistiu até o final da lactação, expondo a prole a um ambiente metabólico disfuncional em fases cruciais do desenvolvimento, tais como a fecundação, gestação e a lactação.

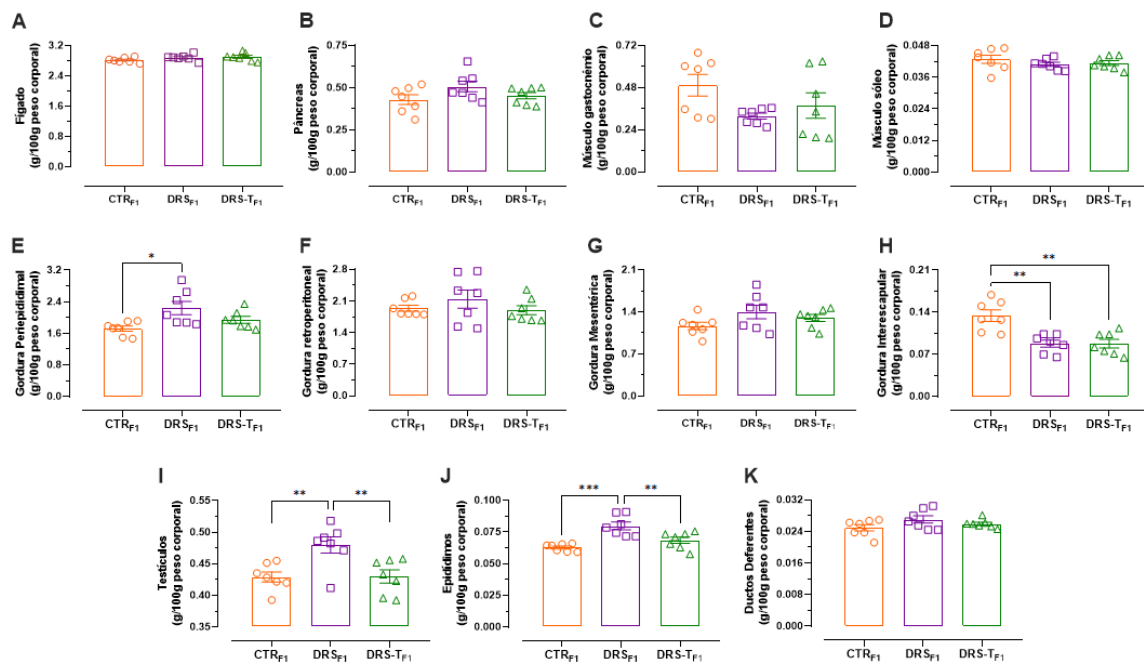
## 5.2. A exposição materna à DRS associa-se a mal prognóstico morfofuncional na prole

Conforme mostrado na Figura 7B, os filhotes machos das mães DRS<sub>F0</sub> apresentaram peso ao nascer maior que aqueles das mães CTR<sub>F0</sub> (CTR<sub>F1</sub>: 6,00 ± 0,09 g; DRS<sub>F1</sub>: 6,50 ± 0,10 g; p < 0,001). No entanto, essa diferença se dispersa ao longo da lactação e não volta a ser observada durante todo o período de acompanhamento ponderal (Figura 7A).



**Figura 7 - Evolução ponderal da prole machos em períodos críticos para o desenvolvimento.** (A) Peso corporal da prole macho; (B) Peso ao nascer; (C) Peso ao desmame com 21 dias; (D) Peso aos 30 dias de vida; (E) Peso corporal ao final do treinamento de força; (F) Peso aos 120 dias de vida. Os valores foram expressos com média ± e.p.m., sendo CTR (n= 6) e DRS (n=7). A análise estatística foi realizada através do teste t de Student não pareado. \*p<0,05 quando comparado ao grupo controle. \*\*p<0,01 quando comparado ao grupo controle. \*\*\*p<0,0001 quando comparado ao grupo controle.

Quando analisados outros parâmetros morfológicos, os ratos  $DRS_{F1}$  apresentaram aumento estatisticamente significativo do peso do coxim adiposo periepididimal ( $CTR_{F1}$ :  $1,70 \pm 0,07$  g/100g;  $DRS_{F1}$ :  $2,24 \pm 0,24$  g/100g;  $p < 0,05$ ), dos testículos ( $CTR_{F1}$ :  $0,43 \pm 0,01$  g/100g;  $DRS_{F1}$ :  $0,48 \pm 0,01$  g/100g;  $p < 0,001$ ) e dos epidídimos ( $CTR_{F1}$ :  $0,063 \pm 0,01$  g/100g;  $DRS_{F1}$ :  $0,080 \pm 0,003$  g/100g;  $p < 0,001$ ), conforme mostrado nas Figuras 8E, 8I e 8J, respectivamente. Por outro lado, os ratos  $DRS_{F1}$  tiveram redução do tecido adiposo marrom, aqui representado pelo coxim adiposo interescapular ( $CTR_{F1}$ :  $0,134 \pm 0,009$  g/100g;  $DRS_{F1}$ :  $0,088 \pm 0,005$  g/100g;  $p < 0,01$ ) (Figura 8H). Não foram observadas diferenças nos demais órgãos e tecidos apresentados na Figura 8.



**Figura 8 - Parâmetros morfométricos de órgãos e tecidos da prole macho aos 120 dias de vida.** (A) fígado; (B) pâncreas; (C) músculo gastrocnêmico; (D) músculo sóleo; (E) gordura periepididimal; (F) gordura retroperitoneal; (G): gordura mesentérica; (H) gordura interescapular; (I) Testículos; (J) Epidídimos; (K) Ductos deferentes. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo  $CTR_{F1}$  (n=7),  $DRS_{F1}$  (n=7) e  $DRS-T_{F1}$  (n=7). A análise estatística foi analisada por ANOVA seguido de pós-teste Newman-Keuls (Graph Pad Prism). \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle. \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle. \*\*\* $p < 0,0001$  quando comparado ao grupo controle.

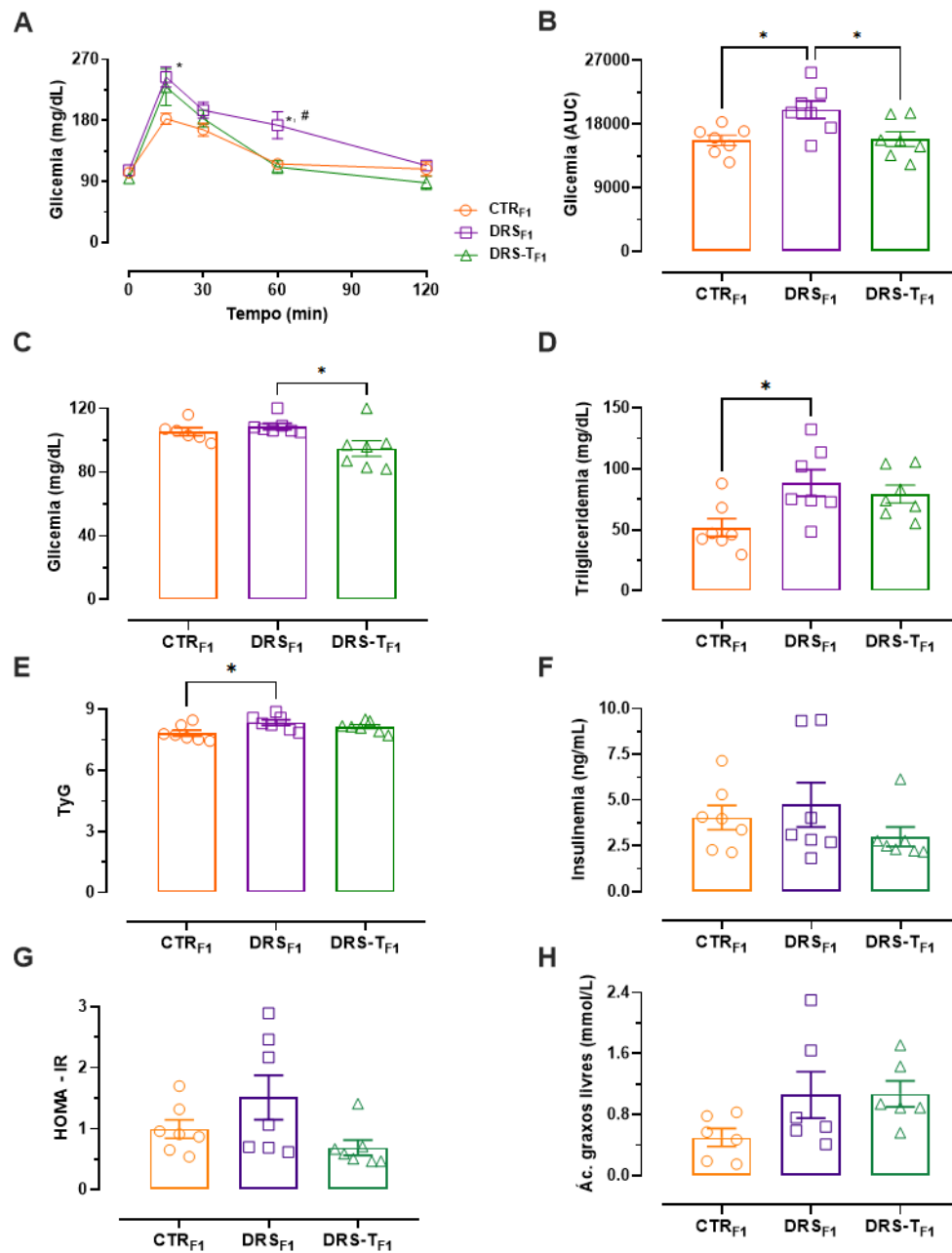
Assim como suas mães, os ratos  $DRS_{F1}$  não apresentaram alteração da glicemia de jejum quando comparados aos CTR (Figura 9C). No entanto, apresentaram intolerância à glicose, evidenciada tanto pela análise do gráfico ponto a ponto, quanto pela área sob a curva do GTT<sub>ip</sub> (Figuras 9A e 9B, respectivamente). Ainda, os ratos  $DRS_{F1}$  apresentaram aumento dos níveis séricos de triglicerídeos ( $CTR_{F1}$ :  $51,90 \pm 7,42$  mg/dL;  $DRS_{F1}$ :  $88,38 \pm 10,89$  mg/dL,  $p < 0,05$ ) e do índice TyG ( $CTR_{F1}$ :  $7,831 \pm 0,14$ ;  $DRS_{F1}$ :  $8,351 \pm 0,13$ ;  $p < 0,05$ ), Figuras 9D e 9E, respectivamente. Por outro lado, não foram verificadas diferenças estatísticas nos níveis séricos de insulina (Figura 9F) e ácidos graxos livres (Figura 9H), que podem estar relacionadas com a grande variabilidade interna destes analitos nos grupos analisados.

Em conjunto, estes dados sugerem que o ambiente metabólico disfuncional das ratas  $DRS_{F0}$  impactou negativamente o perfil morfofuncional da prole  $DRS_{F1}$ , levando-os a alterações compatíveis com a síndrome metabólica e aumento da massa de órgãos e tecidos (peri) gonadais que podem associar-se a disfunções reprodutivas nestes animais. Não obstante, a consistente redução massa do tecido adiposo interescapular, com conseqüente redução na produção de calor, poderá associar-se ao aumento geral de adiposidade em idades mais tardias que aquela analisada neste estudo.

### 5.3. O exercício de força durante a peripuberdade atenua o mal prognóstico morfofuncional decorrente da exposição materna à DRS

Conforme mostrado na Figura 7E, observa-se que a prole DRS-T<sub>F1</sub>, filhos de ratas DRS<sub>F0</sub> que realizaram exercício de força durante a peripuberdade, apresentaram redução de peso corporal ao final do período de treinamento aos 51 dias de vida, quando comparado ao grupo DRS<sub>F1</sub> que não realizou o treinamento (DRS<sub>F1</sub>: 271,2 ± 5,4; DRS-T<sub>F1</sub>: 255,3 ± 4,7 g p < 0,05).

No entanto, este efeito foi rapidamente revertido após o destreinamento, de modo que nenhuma diferença de peso corporal entre os grupos foi observada até a eutanásia aos 120 dias de vida (CTR<sub>F1</sub>: 414,0 ± 8,2 g; DRS<sub>F1</sub>: 426,5 ± 10,8 g, DRS-T<sub>F1</sub>: 430,0 ± 8,5 g, Figuras 7A – 7F). Por outro lado, a prática de exercício de força durante a peripuberdade foi capaz de reprogramar os impactos da exposição materna à DRS sobre os tecidos (peri) gonadais da prole. Como mostrado nas Figuras 8E, 8I e 8J, respectivamente, os ratos DRS-T<sub>F1</sub> apresentaram atenuação do acúmulo de tecido adiposo periepídidimo (1,94 ± 0,09 g/100g) e reversão do aumento de massa dos testículos (0,43 ± 0,01 g/100g) e epidídimos (0,069 ± 0,002 g/100g), quando comparados aos valores verificados nos ratos DRS<sub>F1</sub> (2,24 ± 0,24 g/100g; 0,48 ± 0,01 g/100g; 0,080 ± 0,003; respectivamente). Entretanto, o exercício não afetou a atrofia do tecido adiposo interescapular (Figura 8H), sugerindo um impacto mais profundo da exposição materna à DRS sobre a resposta termogênica e gasto metabólico basal da prole. Não foram observadas diferenças nos demais órgãos e tecidos apresentados na Figura 8.



**Figura 9 - Parâmetros bioquímicos de prole macho aos 120 dias de vida.** (A) Teste de Tolerância à glicose; (B) Área sob a curva; (C) Glicemia em jejum; (D). Triglicerídeos totais; (E): índice TyG; (F): insulina; (G) HOMA-IR; (H) Ácidos graxos livres. Os valores foram expressos com média  $\pm$  e.p.m., sendo CTR<sub>F1</sub> (n= 7), DRS<sub>F1</sub> (n=7) e DRS-T<sub>F1</sub> (n=7). A análise estatística foi analisada por ANOVA seguido de pós-teste Newman-Keuls (Graph Pad Prism). \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle. \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle. \*\*\* $p < 0,0001$  quando comparado ao grupo controle.

No que diz respeito aos impactos metabólicos, o treinamento de força durante a peripuberdade mostrou-se capaz de reprogramar a homeostase da glicose do grupo DRS-T<sub>F1</sub> (Figura 9A, 9B e 9C). Os ratos DRS-T<sub>F1</sub> apresentaram glicemia de jejum menor que o grupo DRS<sub>F1</sub> (DRS<sub>F1</sub>: 108,7 ± 1,9 mg/dL, DRS-T<sub>F1</sub>: 94,7 ± 4,9 mg/dL, p < 0,05), assim como foi verificada a reversão da intolerância à glicose no grupo DRS-T<sub>F1</sub> quando comparado ao grupo DRS<sub>F1</sub> (Figuras 9B e 9C). O treinamento de força também atenuou a hipertrigliceridemia (Figura 9D) e a sensibilidade à insulina, predita pelo cálculo do TyG (Figura 9E), nos ratos do grupo DRS-T<sub>F1</sub>, posto que estas médias não diferem daquelas do grupo CTR<sub>F1</sub>. Importante notar que, embora não tenham sido verificadas diferenças estatisticamente significativas, a menor variabilidade interna dos níveis séricos de insulina e do HOMA-IR no grupo DRS-T<sub>F1</sub> reforçam os impactos positivos do treinamento de força durante a peripuberdade como um potencial reprogramador metabólico em descendentes de mães metabolicamente disfuncionais.

## 6. Discussão

O consumo excessivo de açúcares de adição durante a gestação tem sido diretamente associado ao ganho de peso materno até o final da gestação (Renault *et al.*, 2015). Este comportamento é ainda mais preocupante em países latino-americanos, nos quais o consumo médio destes açúcares representa 25% da ingestão calórica diária (Malik e Hu, 2022), o que abre questionamentos sobre seu impacto na saúde da díade mãe-filho. Desta forma, neste estudo foi demonstrado que o consumo excessivo de sacarose durante a perigestação, em proporção similar àquela consumida em países latino-americanos, induz disfunções metabólicas compatíveis com a SM, tanto nas mães diretamente expostas, quanto na sua prole. Além disso,

demonstrou-se que a realização de exercício resistido durante a peripuberdade atenua os desfechos metabolicamente desfavoráveis na prole.

A importância biológica da nutrição materna está bem estabelecida, não apenas porque é a única via para suprimento das necessidades nutricionais do feto, como também porque afeta a capacidade de ajuste metabólico materno frente aos hormônios secretados pela placenta (Tzanetakou *et al.*, 2011). Experimentalmente, há diferentes meios de promover má nutrição fetal, sendo os principais modelos baseados na restrição calórico-proteica ou na super-nutrição por excesso de gordura e/ou sacarose (Reusens e Remacle, 2001). Uma dieta não saudável durante a gravidez aumenta o risco de obesidade, DM2, hiperlipidemia, hipertensão e DHGNA na prole. A prole exposta a um ambiente pré e pós-natal com alto teor de gordura e alto teor de sacarose apresentou aumento da adiposidade, conforme evidenciado pelo aumento do peso corporal e da adiposidade (Ingvorsen *et al.*, 2021).

O alto consumo de carboidratos simples, como a sacarose, durante a gestação, promove o estabelecimento de hiperplasia e hipertrofia nos depósitos de tecido adiposo perigonadal na prole masculina. O aumento desse depósito e o desenvolvimento desses processos estão diretamente relacionados à quantidade e ao tipo de carboidratos ingeridos durante o período pós-natal ao longo da vida (Gabriela *et al.*, 2022). Essas descobertas nos convidam a prestar atenção especial ao consumo desnecessário de carboidratos simples durante as janelas metabólicas críticas para o desenvolvimento (fases da gestação, lactação, primeira infância, adolescência e idade adulta).

Considerando que esses animais apresentam menor quantidade de gordura interescapular, é provável que produzam menos calor e, conseqüentemente,



acumulem mais gordura. Como o tecido adiposo periepídídimal está aumentando nos animais do grupo DRS<sub>F1</sub>, o peso desse tecido parece estar sendo atenuado no grupo DRS-T<sub>F1</sub>, e levando em conta a relação dessa gordura com o desenvolvimento e função dos tecidos reprodutivos masculinos, procedemos à avaliação do peso dos testículos, epidídimos e ductos deferentes. Školníková *et al.* (2020) demonstrou que uma dieta rica em sacarose materna durante a gravidez e a lactação afetou a deposição de gordura marrom e o metabolismo lipídico na prole masculina adulta, induzindo grandes mudanças no transcriptoma no fígado, tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom.

Os resultados do presente estudo demonstram que uma dieta materna rica em sacarose causou um aumento no peso dos testículos e epidídimos em comparação com o grupo controle, provavelmente devido ao maior suprimento energético proveniente da gordura periepídídimal. Animais em idade puberal que ingeriram 30% de açúcar durante 30 dias também apresentaram aumento no peso testicular, mas com diminuição do número de túbulos seminíferos (De León-Ramírez *et al.*, 2021). Esse impacto negativo foi associado ao acúmulo de triglicerídeos nos testículos resultando no aumento peso testicular dos animais que consumiram a dieta rica em açúcar. Vale destacar que insultos em janelas metabólicas críticas para o desenvolvimento tendem a serem mais severas do que aquelas apresentadas entre as gerações F1. Quando avaliado o peso os epidídimos dos grupos testados, observou-se um aumento significativo nos animais do grupo DRS<sub>F1</sub> em relação ao controle e DRS-T<sub>F1</sub>.

Um estudo avaliou a influência de uma dieta obesogênica materna de alta energia (contendo 20,5% de açúcares simples, 20,5% de polissacarídeos, 22,5% de

proteínas, 20% de banha animal e 5% de gordura como macronutrientes, oferecida às mães desde o desmame até 120 dias de vida, gestação e lactação) sobre os parâmetros bioquímicos de suas proles de ratos *Wistar* machos e fêmeas em diferentes idades. Observaram um aumento significativo nos valores de triglicerídeos dos machos do grupo experimental, em comparação ao grupo controle, aos 36 dias de vida (Rodríguez-González *et al.*, 2019). No mesmo estudo de Rodríguez-González *et al.* (2019) não foi possível observar diferenças significativas na dosagem de colesterol total e glicemia entre os dois grupos experimentais em machos descendentes de mães alimentadas com a dieta obesogênica, em nenhum dos tempos analisados.

Outro estudo avaliou as consequências de uma dieta obesogênica materno alta energia (contendo 21% açúcares simples) também durante a gestação e lactação sobre os parâmetros bioquímicos na prole masculina. Constatou-se que a dieta materna aumentou a leptina, os triglicerídeos e massa gorda da prole masculina de ratos *Wistar*. Extrapolando esse resultado para o presente trabalho, observa-se que os animais DRS de ambos os sexos desenvolveram hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia tão logo aos 30 dias de vida, já no final de sua infância (Vega *et al.*, 2015).

No presente estudo, constata-se que o treinamento de força exerceu efeitos benéficos sobre a hipertrigliceridemia e a sensibilidade à insulina nos animais do grupo DRS-T<sub>F1</sub>, os quais não diferiram estatisticamente do grupo controle. Embora não se tenham verificado diferenças estatisticamente significativas, observou-se que os animais do grupo DRS-T<sub>F1</sub> apresentaram níveis glicêmicos mais favoráveis, refletindo uma menor RI. Em um estudo do nosso grupo, avaliamos os efeitos da

dieta materna rica em sacarose antes e durante a gestação e lactação sobre a homeostase da glicose. Observamos que os animais filhos de mães DRS apresentaram intolerância à glicose aos 30 dias de vida, quando comparados aos animais filhos de mães CTR (Souza, 2022). Observou-se uma diminuição da glicemia em jejum em animais DRS-T<sub>F1</sub> em comparação com CTR<sub>F1</sub>. A dieta rica em sacarose alterou a homeostase glicêmica tão cedo na infância, o que em alguns estudos é mostrado mais tardiamente na vida. Em ratos alimentados com uma dieta com 60% de sacarose durante os períodos intrauterino e de lactação, a RI foi observada em ratos *Wistar* com 90 dias de idade (D'alessandro *et al.*, 2014).

Constatamos que o consumo de uma dieta rica em açúcares de adição pode induzir alterações metabólicas significativas nos filhos de mães com SM. Essas modificações têm o potencial de prejudicar a saúde não apenas dos filhos, mas também das próximas gerações. No entanto, diante desse cenário desafiador, o treinamento de força surge como uma estratégia promissora. Ele demonstrou ser capaz de reprogramar as alterações metabólicas em órgãos-chave do metabolismo, melhorando a RI, o ganho de peso e, conseqüentemente, o funcionamento geral do metabolismo. O treinamento de força não apenas se revela eficaz no desenvolvimento de pré-adolescentes, mas também desempenha um papel fundamental na prevenção de doenças metabólicas transmitidas via epigenética pelas mães, oferecendo uma perspectiva de futuro mais saudável para as próximas gerações.

## 7. Considerações finais

A SM tem acometido cada vez mais crianças e adolescentes, essas fases são críticas para o desenvolvimento, fazendo-se necessária uma mudança imediata de hábitos alimentares e de vida. O consumo excessivo de açúcares de adição em todas as fases está relacionado ao desenvolvimento de DCNTs na vida adulta. O presente estudo demonstrou que uma dieta rica em sacarose em mães causou prejuízos metabólicos na sua prole macho e que o treinamento de força durante a adolescência foi capaz de reverter alterações metabólicas.

Em síntese, os resultados desta pesquisa indicam que o ambiente metabólico desfavorável das ratas que consumiram uma dieta rica em sacarose em períodos críticos para o desenvolvimento causou um impacto adverso sobre o desenvolvimento morfofuncional de sua prole, predispondo-os a condições relacionadas à SM e ao aumento da massa de órgãos e tecidos (peri)gonadais, potencialmente associados a disfunções reprodutivas. Além disso, a redução consistente do tecido adiposo interescapular, com sua conseqüente diminuição na produção de calor, sugere um aumento da adiposidade em idades posteriores àquelas investigadas neste estudo.

Destaca-se que o treinamento de força emergiu como uma intervenção benéfica, uma vez que os resultados demonstraram melhorias significativas na hipertrigliceridemia e na sensibilidade à insulina, aproximando-se dos resultados observados no grupo controle. Embora as diferenças nos níveis glicêmicos não tenham alcançado significância estatística, a tendência a valores mais favoráveis sugere uma redução da RI.

Nesse contexto, é crucial reconhecer a importância do treinamento de força na adolescência como uma estratégia potencialmente eficaz na mitigação dos efeitos adversos do ambiente metabólico prejudicial, oferecendo perspectivas promissoras para a prevenção e o tratamento de distúrbios metabólicos em jovens. Portanto, a incorporação de programas de treinamento de força deve ser considerada como parte integral da promoção da saúde metabólica e do bem-estar de adolescentes, com implicações significativas para a saúde a longo prazo.

## 8. Referências bibliográficas

ALBERTI, K. G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-5, Oct 20 2009. ISSN 0009-7322.

BARKER, D. J. In utero programming of chronic disease. **Clin Sci (Lond)**, v. 95, n. 2, p. 115-28, Aug 1998. ISSN 0143-5221 (Print)

0143-5221.

\_\_\_\_\_. The origins of the developmental origins theory. **J Intern Med**, v. 261, n. 5, p. 412-7, May 2007. ISSN 0954-6820 (Print)

0954-6820.

BARKER, D. J. et al. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. **Lancet**, v. 341, n. 8850, p. 938-41, Apr 10 1993. ISSN 0140-6736 (Print)

0140-6736.

BARKER, D. J. et al. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. **Bmj**, v. 298, n. 6673, p. 564-567, 1989. ISSN 0959-8138.

BAY, J. L.; VICKERS, M. H. Adolescent education: an opportunity to create a Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) circuit breaker. **J Dev Orig Health Dis**, v. 7, n. 5, p. 501-504, Oct 2016. ISSN 2040-1744.

BELLASTELLA, G. et al. How much does obesity affect the male reproductive function? **International Journal of Obesity Supplements**, v. 9, n. 1, p. 50-64, 2019. ISSN 2046-2174.

BLASI, C. Obesity and Related Type 2 Diabetes: A Failure of the Autonomic Nervous System Controlling Gastrointestinal Function? **Gastrointestinal Disorders**, v. 2, n. 4, p. 423-447, 2020. ISSN 2624-5647.

BORGEN, I. et al. Maternal sugar consumption and risk of preeclampsia in nulliparous Norwegian women. **Eur J Clin Nutr**, v. 66, n. 8, p. 920-5, Aug 2012. ISSN 0954-3007.

BOVOLINI, A. et al. Metabolic syndrome pathophysiology and predisposing factors. **International Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 03, p. 199-214, 2021. ISSN 0172-4622.

BRANTSAETER, A. L. et al. A dietary pattern characterized by high intake of vegetables, fruits, and vegetable oils is associated with reduced risk of preeclampsia in nulliparous pregnant Norwegian women. **J Nutr**, v. 139, n. 6, p. 1162-8, Jun 2009. ISSN 0022-3166.

BRAY, G. A.; NIELSEN, S. J.; POPKIN, B. M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 4, p. 537-543, 2004. ISSN 0002-9165.

CHOW, L. S. et al. Exerkines in health, resilience and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 18, n. 5, p. 273-289, 2022. ISSN 1759-5029.

CZERWONOGRODZKA-SENCZYNA, A. et al. Fructose Consumption and Lipid Metabolism in Obese Children and Adolescents. **Adv Exp Med Biol**, v. 1153, p. 91-100, 2019. ISSN 0065-2598 (Print)

0065-2598.

D'ALESSANDRO, M. E. et al. Maternal sucrose-rich diet and fetal programming: changes in hepatic lipogenic and oxidative enzymes and glucose homeostasis in adult offspring. **Food & function**, v. 5, n. 3, p. 446-453, 2014.

DE LEÓN-RAMÍREZ, Y. M. et al. Histomorphological testicular changes and decrease in the sperm count in pubertal rats induced by a high-sugar diet. **Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger**, v. 235, p. 151678, 2021. ISSN 0940-9602.

ESQUIVEL, M. K. Nutrition for Pregnant and Lactating Women: The Latest Recommendations From the Dietary Guidelines for Americans 2020-2025 and Practice Implications. **American Journal of Lifestyle Medicine**, v. 15, n. 4, p. 392-396, 2021. ISSN 1559-8276.

FAHED, G. et al. Metabolic syndrome: Updates on pathophysiology and management in 2021. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 786, 2022. ISSN 1422-0067.

FALCÃO-TEBAS, F. et al. Four weeks of exercise early in life reprograms adult skeletal muscle insulin resistance caused by a paternal high-fat diet. **The Journal of physiology**, v. 597, n. 1, p. 121-136, 2019. ISSN 1469-7793.

FLISTER, K. F. T. et al. Long-term exposure to high-sucrose diet down-regulates hepatic endoplasmic reticulum-stress adaptive pathways and potentiates de novo lipogenesis in weaned male mice. **J Nutr Biochem**, v. 62, p. 155-166, Dec 2018. ISSN 0955-2863.

GABRIELA, C.-S. et al. Maternal and Offspring Sugar Consumption Increases Perigonadal Adipose Tissue Hypertrophy and Negatively Affects the Testis Histological Organization in Adult Rats. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, 2022.

GEORGE, G. C. et al. Food choices of low-income women during pregnancy and postpartum. **J Am Diet Assoc**, v. 105, n. 6, p. 899-907, Jun 2005. ISSN 0002-8223 (Print)

0002-8223.

GLUCHOWSKI, A. et al. 'A Lot of People Just Go for Walks, and Don't Do Anything Else': Older Adults in the UK Are Not Aware of the Strength Component Embedded in the Chief Medical Officers' Physical Activity Guidelines—A Qualitative Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 16, p. 10002, 2022. ISSN 1660-4601.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 15, n. 4, p. 183-187, 2004. ISSN 1043-2760.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; PINAL, C. The developmental origins of adult disease. **Maternal & child nutrition**, v. 1, n. 3, p. 130-141, 2005. ISSN 1740-8695.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. The thrifty phenotype hypothesis. **Br Med Bull**, v. 60, p. 5-20, 2001. ISSN 0007-1420 (Print)

0007-1420.

HALES, C. N. et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. **Bmj**, v. 303, n. 6809, p. 1019-22, Oct 26 1991. ISSN 0959-8138 (Print)

0959-8138.

HANNOU, S. A. et al. Fructose metabolism and metabolic disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 128, n. 2, p. 545-555, 2018. ISSN 0021-9738.



HOFFMAN, D. J. et al. Developmental origins of metabolic diseases. **Physiological reviews**, v. 101, n. 3, p. 739-795, 2021. ISSN 0031-9333.

HORNBERGER JR, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 16-31, 2004. ISSN 1066-7814.

IBANEZ, C. A. et al. A High Fat Diet during Adolescence in Male Rats Negatively Programs Reproductive and Metabolic Function Which Is Partially Ameliorated by Exercise. **Front Physiol**, v. 8, p. 807, 2017. ISSN 1664-042X (Print)

1664-042x.

INGVORSEN, C. et al. Effects of maternal high-fat/high sucrose diet on hepatic lipid metabolism in rat offspring. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 48, n. 1, p. 86-95, 2021. ISSN 0305-1870.

JAHAN-MIHAN, A. et al. The role of maternal dietary proteins in development of metabolic syndrome in offspring. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9185-9217, 2015.

JAZWIEC, P. A.; SLOBODA, D. M. Nutritional adversity, sex and reproduction: 30 years of DOHaD and what have we learned? **Journal of Endocrinology**, v. 242, n. 1, p. T51-T68, 2019. ISSN 0022-0795.

JAZWIEC, P. A.; SLOBODA, D. M. Nutritional adversity, sex and reproduction: 30 years of DOHaD and what have we learned? **J Endocrinol**, v. 242, n. 1, p. T51-t68, Jul 1 2019. ISSN 0022-0795.

KERELIUK, S. M.; BRAWERMAN, G. M.; DOLINSKY, V. W. Maternal Macronutrient Consumption and the Developmental Origins of Metabolic Disease in the Offspring. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 7, Jul 6 2017. ISSN 1422-0067.

KERELIUK, S. M.; BRAWERMAN, G. M.; DOLINSKY, V. W. Maternal Macronutrient Consumption and the Developmental Origins of Metabolic Disease in the Offspring. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1451, 2017. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/7/1451> >.

LIU, B. et al. Early pregnancy fasting plasma glucose and lipid concentrations in pregnancy and association to offspring size: a retrospective cohort study. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 16, n. 1, p. 56, 2016. ISSN 1471-2393.

LOMAS-SORIA, C. et al. Maternal obesity has sex-dependent effects on insulin, glucose and lipid metabolism and the liver transcriptome in young adult rat offspring. **The Journal of physiology**, v. 596, n. 19, p. 4611-4628, 2018. ISSN 0022-3751.

LUCAS, A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. **Archives of disease in childhood**, v. 71, n. 4, p. 288, 1994.

LUNDBERG, T. R. et al. The effects of concurrent aerobic and strength training on muscle fiber hypertrophy: a systematic review and meta-analysis. **Sports medicine**, v. 52, n. 10, p. 2391-2403, 2022. ISSN 1179-2035.

LUNDEEN, E. A. et al. Sugar-sweetened beverage intake among pregnant and non-pregnant women of reproductive age. **Maternal and Child Health Journal**, v. 24, n. 6, p. 709-717, 2020. ISSN 1573-6628.

MAESTRONI, L. et al. The benefits of strength training on musculoskeletal system health: practical applications for interdisciplinary care. **Sports Medicine**, v. 50, n. 8, p. 1431-1450, 2020. ISSN 1179-2035.

MALIK, V. S.; HU, F. B. The role of sugar-sweetened beverages in the global epidemics of obesity and chronic diseases. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 18, n. 4, p. 205-218, 2022. ISSN 1759-5029.

MARCINIAK, A. et al. Fetal programming of the metabolic syndrome. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 2, p. 133-138, 2017. ISSN 1028-4559.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-9, Jul 1985. ISSN 0012-186X (Print)

0012-186x.

MIKA, A. et al. Effect of exercise on fatty acid metabolism and adipokine secretion in adipose tissue. **Frontiers in physiology**, v. 10, p. 26, 2019. ISSN 1664-042X.

MOESGAARD, L. et al. Effects of periodization on strength and muscle hypertrophy in volume-equated resistance training programs: a systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, v. 52, n. 7, p. 1647-1666, 2022. ISSN 0112-1642.

MOHOLDT, T.; HAWLEY, J. A. Maternal lifestyle interventions: targeting preconception health. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 31, n. 8, p. 561-569, 2020. ISSN 1043-2760.

NONO NANKAM, P. A. et al. Changes in systemic and subcutaneous adipose tissue inflammation and oxidative stress in response to exercise training in obese black African women. **The Journal of physiology**, v. 598, n. 3, p. 503-515, 2020. ISSN 0022-3751.

OLIVEIRA, L. V. A. et al. Prevalência da Síndrome Metabólica e seus componentes na população adulta brasileira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 4269-4280, 2020. ISSN 1413-8123.

ONDŘEJ, Š. Parental overnutrition by carbohydrates in developmental origins of metabolic syndrome. **Physiological Research**, v. 70, n. Suppl 4, p. S585, 2021.

ONG, T. P.; SOUZA, F. I. S. D. Nutrição no início da vida: evidências científicas para prevenção de doenças. 2022.

ORGANIZATION, W. H. Advancing the global agenda on prevention and control of noncommunicable diseases 2000 to 2020: looking forwards to 2030. 2023. ISSN 9240072691.

POILEY, S. A systematic method of breeder rotation for non-inbred laboratory animal colonies. *Proc Anim Care Panel*, 1960. p.159-166.

POPKIN, B. M.; NG, S. W. The nutrition transition to a stage of high obesity and noncommunicable disease prevalence dominated by ultra-processed foods is not inevitable. **Obesity Reviews**, v. 23, n. 1, p. e13366, 2022. ISSN 1467-7881.

PUCHE-JUAREZ, M. et al. Influence of Adipose Tissue on Early Metabolic Programming: Conditioning Factors and Early Screening. **Diagnostics (Basel)**, v. 13, n. 9, Apr 22 2023. ISSN 2075-4418 (Print)

2075-4418.

RAVELLI, A. C. et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. **Lancet**, v. 351, n. 9097, p. 173-7, Jan 17 1998. ISSN 0140-6736 (Print)

0140-6736.

RAVELLI, G.-P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **New England Journal of Medicine**, v. 295, n. 7, p. 349-353, 1976. ISSN 0028-4793.

REMACLE, C. et al. Developmental programming of adult obesity and cardiovascular disease in rodents by maternal nutrition imbalance. **Am J Clin Nutr**, v. 94, n. 6 Suppl, p. 1846s-1852s, Dec 2011. ISSN 0002-9165.

RENAULT, K. M. et al. Intake of sweets, snacks and soft drinks predicts weight gain in obese pregnant women: detailed analysis of the results of a randomised controlled trial. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0133041, 2015. ISSN 1932-6203.

REUSENS, B.; REMACLE, C. Intergenerational effect of an adverse intrauterine environment on perturbation of glucose metabolism. **Twin Res**, v. 4, n. 5, p. 406-11, Oct 2001. ISSN 1369-0523 (Print)

1369-0523 (Linking). Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11869496> >.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L. et al. Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex-dependent manner. **The Journal of physiology**, v. 597, n. 23, p. 5549-5563, 2019. ISSN 0022-3751.

ŞANLI, E.; KABARAN, S. Maternal obesity, maternal overnutrition and fetal programming: effects of epigenetic mechanisms on the development of metabolic disorders. **Current genomics**, v. 20, n. 6, p. 419-427, 2019. ISSN 1389-2029.

SANTIAGO, J. A.; POTASHKIN, J. A. Physical activity and lifestyle modifications in the treatment of neurodegenerative diseases. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 15, p. 1185671, 2023. ISSN 1663-4365.

SAULLO, C. et al. Effects of a maternal high-fat diet on adipose tissue in murine offspring: A systematic review and meta-analysis. **Biochimie**, v. 201, p. 18-32, 2022. ISSN 0300-9084.

SIEVERT, K. et al. Processed foods and nutrition transition in the Pacific: Regional trends, patterns and food system drivers. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1328, 2019. ISSN 2072-6643.

SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; RODRÍGUEZ-MORÁN, M.; GUERRERO-ROMERO, F. The product of fasting glucose and triglycerides as surrogate for identifying insulin

resistance in apparently healthy subjects. **Metabolic syndrome and related disorders**, v. 6, n. 4, p. 299-304, 2008. ISSN 1540-4196.

ŠKOLNÍKOVÁ, E. et al. Maternal high-sucrose diet affects phenotype outcome in adult male offspring: role of Zbtb16. **Frontiers in Genetics**, v. 11, p. 529421, 2020. ISSN 1664-8021.

SOUSA, R. M. L. et al. Long-term high-protein diet intake reverts weight gain and attenuates metabolic dysfunction on high-sucrose-fed adult rats. **Nutr Metab (Lond)**, v. 15, p. 53, 2018. ISSN 1743-7075 (Print)

1743-7075.

SOUZA, I. L. S. Impacto da exposição perigestacional a uma dieta rica em sacarose sobre o desenvolvimento precoce de disfunções metabólicas na prole de ratas Wistar. 2022.

STEFANI, L.; GALANTI, G. Physical Exercise Prescription in Metabolic Chronic Disease. **Adv Exp Med Biol**, v. 1005, p. 123-141, 2017. ISSN 0065-2598 (Print)

0065-2598.

TAILLIE, L. S. et al. Governmental policies to reduce unhealthy food marketing to children. **Nutr Rev**, v. 77, n. 11, p. 787-816, Nov 1 2019. ISSN 0029-6643 (Print)

0029-6643.

TAPPY, L.; LÊ, K.-A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. **Physiological reviews**, v. 90, n. 1, p. 23-46, 2010. ISSN 0031-9333.

TERRA, M. M. et al. Multigenerational effects of chronic maternal exposure to a high sugar/fat diet and physical training. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 11, n. 2, p. 159-167, 2020. ISSN 2040-1744.

TZANETAKOU, I. P.; MIKHAILIDIS, D. P.; PERREA, D. N. Nutrition During Pregnancy and the Effect of Carbohydrates on the Offspring's Metabolic Profile: In Search of the "Perfect Maternal Diet". **Open Cardiovasc Med J**, v. 5, p. 103-9, 2011. ISSN 1874-1924 (Electronic)

1874-1924 (Linking). Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21673843> >.

VEGA, A. et al. Identification of the link between the hypothalamo-pituitary axis and the testicular orphan nuclear receptor NR0B2 in adult male mice. **Endocrinology**, v. 156, n. 2, p. 660-669, 2015. ISSN 0013-7227.

VICKERS, M. H. Developmental programming of the metabolic syndrome-critical windows for intervention. **World journal of diabetes**, v. 2, n. 9, p. 137, 2011.

WALTER, I.; KLAUS, S. Maternal high-fat diet consumption impairs exercise performance in offspring. **Journal of nutritional science**, v. 3, 2014. ISSN 2048-6790.

WARBURTON, D. E. R.; BREDIN, S. S. D. Health benefits of physical activity: a systematic review of current systematic reviews. **Curr Opin Cardiol**, v. 32, n. 5, p. 541-556, Sep 2017. ISSN 0268-4705.

WIDMANN, M.; NIEß, A. M.; MUNZ, B. Physical exercise and epigenetic modifications in skeletal muscle. **Sports medicine**, v. 49, n. 4, p. 509-523, 2019. ISSN 0112-1642.

## ANEXO A

Sousa et al. *Nutrition & Metabolism* (2018) 15:53  
<https://doi.org/10.1186/s12986-018-0290-y>

Nutrition & Metabolism

RESEARCH

Open Access

# Long-term high-protein diet intake reverts weight gain and attenuates metabolic dysfunction on high-sucrose-fed adult rats



Rosângela Maria Lopes Sousa<sup>1,2†</sup>, Nathalee Liberal Xavier Ribeiro<sup>1,2†</sup>, Bruno Araújo Serra Pinto<sup>1,2</sup>, Jonas Rodrigues Sanches<sup>1,2</sup>, Mariana Uchôa da Silva<sup>1</sup>, Caio Fernando Ferreira Coêlho<sup>1,2</sup>, Lucas Martins França<sup>1,2</sup>, José Albuquerque de Figueiredo Neto<sup>2,3</sup> and Antonio Marcus de Andrade Paes<sup>1,2\*</sup> 

## Abstract

**Background:** Consumption of added sugars has been considered a worldwide public health concern by its association with metabolic syndrome and its comorbidities. Meanwhile, current studies have suggested high-protein diets to promote weight loss and improved metabolic outcomes. Thus, this study aimed to investigate the effects of long-term high-protein diet (HPD, 34.3% protein) intake on high-sucrose-fed rats.

**Methods:** Weaned male Wistar rats were randomized into two groups: rats fed a standard chow (CT/CT, 10% sucrose) or rats fed a high-sucrose diet (HSD, 25% sucrose) for a 20-week observational period. Subsequently, HS/HS animals were randomized into 3 new groups: rats maintained on HSD diet (HS/HS); rats submitted to HSD replacement by standard chow (HS/CT); and those with HSD replaced by HPD (HS/HP). All groups were followed up for 12 weeks during which we investigated the effects of HPD on body weight, energy intake, obesity development, glycemic/lipid profile, glucose tolerance, insulin resistance, tissue weight (adipose tissue, liver and skeletal muscles), lipolytic activity, liver lipoperoxidation and histology, as well as serum markers of hepatic function.

**Results:** Post-weaning exposure to HSD led to metabolic syndrome phenotype at adulthood, herein characterized by central obesity, glucose intolerance, dyslipidaemia and insulin resistance. Only HPD feeding was able to revert weight gain and adipose tissue accumulation, as well as restore adipose tissue lipolytic response to sympathetic stimulus. On the other hand, either HPD or withdrawal from HSD promoted very similar metabolic outcomes upon 12-week nutritional intervention. HS/HP and HS/CT rats showed reduced fasting serum levels of glucose, triacylglycerol and total cholesterol, which were correlated with the improvement of peripheral insulin sensitivity, as inferred from *k*ITT and TyG Index values. Both nutritional interventions restored liver morphofunctional patterns, but only HPD restored lipid peroxidation.

(Continued on next page)

\* Correspondence: [marcuspaes@ufma.br](mailto:marcuspaes@ufma.br)

<sup>†</sup>Rosângela Maria Lopes Sousa and Nathalee Liberal Xavier Ribeiro contributed equally to this work.

<sup>1</sup>Laboratory of Experimental Physiology, Department of Physiological Sciences – DCF, Health and Biological Sciences Centre, Federal University of Maranhão – UFMA, Avenida dos Portugueses, 1966. Cidade Universitária D. Delgado, São Luís, MA 65080-805, Brazil

<sup>2</sup>Health Sciences Graduate Program, Health and Biological Sciences Centre, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.





## ANEXO B

Hindawi  
International Journal of Vascular Medicine  
Volume 2019, Article ID 4090549, 7 pages  
<https://doi.org/10.1155/2019/4090549>

## Research Article

## Effects of Vitamin C on the Prevention of Ischemia-Reperfusion Brain Injury: Experimental Study in Rats

Kelston Paulo Felice de Sales <sup>1</sup>, Bruno Araújo Serra Pinto,<sup>2</sup>  
Nathalee Liberal Xavier Ribeiro,<sup>2</sup> Thamys Marinho Melo,<sup>2</sup>  
Leonardo Victor Galvão-Moreira <sup>3</sup>, Sebastião Barreto de Brito Filho,<sup>1,4</sup> and Flávio Nigri<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Vascular and Endovascular Surgery, University Hospital, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

<sup>2</sup>Laboratory of Experimental Physiology, Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

<sup>3</sup>School of Medicine, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

<sup>4</sup>Department of Medicine II, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

<sup>5</sup>Head of Neurosurgery Teaching and Assistance Unit, Department of Surgical Specialties, Pedro Ernesto University Hospital, Nervous System Electric Stimulation Laboratory (LabEEL) – Neurosurgery Teaching and Assistance Unit, Pedro Ernesto University Hospital, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

Correspondence should be addressed to Kelston Paulo Felice de Sales; [kelston@hotmail.com](mailto:kelston@hotmail.com)

Received 2 July 2019; Accepted 23 September 2019; Published 15 December 2019

Academic Editor: Antonio Bozzani

Copyright © 2019 Kelston Paulo Felice de Sales et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Background.** Reperfusion syndrome after carotid endarterectomy is a complication associated with cerebrovascular self-regulation in a chronically hypoperfused cerebral hemisphere, leading to severe neurological damage. Vitamin C is an important antioxidant in brain metabolism that has shown some neuroprotective actions. **Objective.** To investigate the potential effects of vitamin C on cerebral reperfusion in comparison with placebo (saline) in rats. **Methods.** Male Wistar rats were divided into 3 groups: (i) Sham ( $n = 4$ ), animals exposed to carotid arteries dissection without clamping; (ii) Control ( $n = 4$ ), animals that received an intraperitoneal injection of 0.9% saline solution (0.1 mL/kg) and underwent carotid arteries dissection with temporary clamping; (iii) Vitamin C ( $n = 4$ ), animals that received an intraperitoneal injection of vitamin C (750 mg/kg) and underwent carotid arteries dissection with temporary clamping. Behavioral assessment was then performed in all groups, which included the open field, Morris water maze and rotarod tests. Levels of malondialdehyde (MDA) in the hippocampus and striatum were measured using a fluorometric assay. **Results.** Rats treated with vitamin C presented with a similar behavior as compared to the Sham group in all the three tests ( $p > 0.05$ ), but it was significantly different from controls ( $p < 0.05$ ). Vitamin C was also found to reduce MDA levels in both hippocampus and striatum when compared to placebo ( $p < 0.05$ ). **Conclusion.** In the present study, vitamin C was associated with behavioral and motor preservation as well as decreased cerebral MDA levels after induced cerebral ischemia in rats.

### 1. Introduction

Carotid atherosclerotic disease is a leading cause of stroke, accounting for 20–30% of all cases [1, 2]. Notably, patients submitted to carotid endarterectomy have shown reduced rates of stroke and death, similarly to those who underwent stenting [3]. Nonetheless, temporary artery occlusion can trigger lesions resulting from cerebral ischemia followed by reperfusion, characterizing a postoperative cerebral hyperperfusion syndrome (CHS). Indeed, individuals who undergo carotid revascularization with endarterectomy are more likely to develop CHS as compared to those treated with carotid stent angioplasty [1, 4].

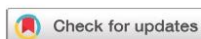
CHS following carotid endarterectomy occurs more frequently in chronic hypertensive patients and/or in those with greater carotid stenosis, being characterized by severe ipsilateral headache, seizures, and intracranial hemorrhage [5–7]. Increased nitric oxide levels during clamping of internal carotid artery and release of oxygen-derived free radicals produced during brain perfusion restoration are involved in endothelial dysfunction and deterioration of post-endarterectomy autoregulation mechanisms [8]. Higher production of reactive oxygen species (ROS) and proinflammatory cytokines are some of the major regulating mechanisms of inflammation induced by ischemia-reperfusion [9]. Still, although CHS is



## ANEXO C

Food &  
Function

PAPER

View Article Online  
View Journal | View IssueCite this: *Food Funct.*, 2021, **12**, 3586

## Myricetin improves metabolic outcomes but not cognitive deficit associated to metabolic syndrome in male mice

Caio Fernando Ferreira Coêlho,<sup>†a</sup> Ivana Leticia Santos Souza,<sup>a</sup>  
Vinicyus Teles Chagas,<sup>a,b</sup> Nathalee Liberal Xavier Ribeiro,<sup>a</sup>  
Bruno Araújo Serra Pinto,<sup>a,c</sup> Lucas Martins França<sup>†b,a,c</sup> and  
Antonio Marcus de Andrade Paes<sup>†b,\*a,c</sup>

Myricetin is a flavonol highly prevalent in edible vegetables and fruits, with recognized hypoglycemic and anti-obesity effects, besides great antioxidant capacity. Thus, this study sought to investigate whether myricetin is able to improve metabolic and behavioral outcomes found in monosodium L-glutamate (MSG) obese mice, a model of metabolic syndrome characterized by early hyperinsulinemia associated to obesity, dyslipidemia, hepatic steatosis, anxiety and cognitive deficit. Newborn male mice received MSG (4 mg kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, s.c.) on alternate days during the first 10 days of life for obesity induction, while control pups received equimolar saline solution. From postnatal day 90 to 135, MSG mice were orally treated with myricetin (50 mg kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) or distilled water, while control animals received vehicle. During the last week of treatment, all groups were submitted to behavioral tests: open field maze, elevated plus maze and Morris water maze. At the end of treatment, animals were euthanized for collection of liver, serum and adipose tissue fat pads. Myricetin treatment reduced the elevated serum levels of glucose and triglycerides, typically found in MSG mice, as well as restored peripheral insulin sensitivity and liver steatosis. Moreover, myricetin ameliorated the lack of thigmotaxis and exploratory behavior, but did not improve the cognitive deficit presented by MSG mice. Therefore, this study contributes to the pharmacological validation of myricetin as an affordable and healthy therapeutic adjuvant for the treatment of metabolic syndrome and most of its comorbidities.

Received 7th January 2021.  
Accepted 24th March 2021

DOI: 10.1039/d1fo00073j

rsc.li/food-function

### 1. Introduction

Obesity and type 2 diabetes *mellitus* (T2DM) have emerged as epidemic diseases worldwide.<sup>1,2</sup> Usually, obesity may lead to T2DM, and these two entities comprise diagnostic criteria for metabolic syndrome (MetS), alongside fasting hyperglycemia, dyslipidemia and hypertension.<sup>3</sup> MetS may unleash other comorbidities not comprised in its current definition, such as non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), mild cognitive deficit and Alzheimer's disease (AD).<sup>4,5</sup> Indeed, obesity is

related to mood disorders, since overweight can lead to neuroinflammation and anxiety/depressive symptoms.<sup>6</sup> Consequently, MetS patients are usually subjected to polypharmacy regimens, which bring worse side effects and elevated costs to public health system.<sup>7</sup>

For their multitarget properties, flavonoids have been proposed as therapeutic adjuvants in MetS.<sup>8</sup> Unique flavonoids have been identified as secondary metabolites present in different parts of edible plants, occurring in either glycoside or aglycone forms.<sup>9</sup> These compounds can scavenge reactive oxygen species and enhance endogenous antioxidant defenses, attenuating lipoperoxidation-derived cell damage. They represent a large family of low-molecular weight polyphenols and are classified into six subclasses: flavonols, flavones, isoflavones, flavanones, anthocyanidins, and flavanols.<sup>10</sup> Among them, flavonols display the strongest scavenger activity, and are reported to have biological beneficial effects, such as anti-inflammatory, anti-obesity and hypoglycemic.<sup>8</sup> Quercetin and kaempferol are flavonols consistently studied as co-adjuvants for MetS-comorbidities therapy.<sup>11</sup> However, other com-

<sup>a</sup>Laboratory of Experimental Physiology, Health Sciences Graduate Program, Federal University of Maranhão, 1966, São Luís, MA, 65080-805, Brazil.  
E-mail: marcuspaes@ufma.br

<sup>b</sup>Department of Morphological Sciences, Federal University of Maranhão, 1966, São Luís, MA, 65080-805, Brazil

<sup>c</sup>Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, 1966, São Luís, MA, 65080-805, Brazil

<sup>†</sup>Current address: Development and Plasticity of the Neuroendocrine Brain, Lille Neuroscience & Cognition, Insem, University of Lille, CHU Lille. UMR-S 1772, Bâtiment Bisert. 1 place de Verdun, 59045 Lille Cedex, France.

## ANEXO D



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA  
 CIAEP: 01.0341.2014



Comissão de Ética no Uso de Animais

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada: "INTRODUÇÃO DIETÉTICA PRECOCE DE AÇÚCARES DE ADIÇÃO E SUA CORRELAÇÃO COM A INICIAÇÃO E PROGRESSÃO DA SÍNDROME METABÓLICA E SUAS COMORBIDADES", Processo nº 23115.038755/2018-22, sob a responsabilidade da Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes, 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 considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 30/11/2018.

We certify that the proposal: "EARLY DIETARY INTRODUCTION OF ADDED SUGARS AND ITS CORRELATION WITH THE INITIATION AND PROGRESS OF METABOLIC SYNDROME AND THEIR COMORBITIES ", Processo n. 23115.038755/2018-22, under the responsibility of Prof. Dr. Antonio Marcus Andrade Paes, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of 11/30/2018.

**Finalidade da Proposta: Pesquisa**      **Área: Ciências da Saúde**

**Vigência da Proposta: 16/12/2019 a 16/12/2022.**

Origem: Biotério Central da UFMA

Amostra

Espécie:	Ratos ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Sexo:	Fêmeas	Idade: 75 - 90 dias	30
				Peso: 200-250 g	
Linagem/Raça:	Wistar		Machos	Idade: 75 - 90 dias	30
				Peso: 250-350 g	

**Local do experimento:** Biotério setorial da Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS/UFMA.

São Luís, 16 de dezembro de 2019.

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho  
 Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais - CEUA/UFMA