



**Universidade Federal do Maranhão**  
**Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa,**  
**Pós-Graduação e Internacionalização**  
**Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto**  
**Mestrado Acadêmico**



**PREJUÍZOS METABÓLICOS E COMPORTAMENTAIS**  
**TARDIOS DECORRENTES DE EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA**  
**E NEONATAL À DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL**

**NAYRA OLIVEIRA SOUSA**

**São Luís- MA**  
**2024**

**NAYRA OLIVEIRA SOUSA**

**PREJUÍZOS METABÓLICOS E COMPORTAMENTAIS TARDIOS  
DECORRENTES DE EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA E NEONATAL À  
DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como pré-requisito para obtenção do título de mestre em Saúde do Adulto.

Área de concentração: Saúde e Metabolismo Humano.

Linha de pesquisa: Alterações Endócrinas

Orientador: Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto

Coorientadora: Profa. Dra. Karla Frida Torres Flister

**São Luís- MA  
2024**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a)  
autor(a).

Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Oliveira Sousa, Nayra.

Prejuízos metabólicos e comportamentais tardios decorrentes de exposição intrauterina e neonatal à diabetes mellitus gestacional / Nayra Oliveira Sousa. - 2024.

77 f.

Coorientador(a) 1: Karla Frida Torres Flister.

Orientador(a): Bruno Araújo Serra Pinto.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2024.

1. Diabetes Gestacional. 2. Diabetes Mellitus Tipo 2. 3. Hepáticos. 4. Prejuízos comportamentais e. I. Araújo Serra Pinto, Bruno. II. Frida Torres Flister, Karla. III. Título.

**NAYRA OLIVEIRA SOUSA**

**PREJUÍZOS METABÓLICOS E COMPORTAMENTAIS TARDIOS  
DECORRENTES DE EXPOSIÇÃO INTRAUTERINA E NEONATAL À  
DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como pré-requisito para obtenção do título de mestre em Saúde do Adulto.

Aprovada em: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2024

**Banca Examinadora**

---

Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão

---

Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Jonas Rodrigues Sanches  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Caio Fernando Ferreira Coelho

*À minha família,  
em especial a minha mãe a quem eu tanto amo.*

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**,

“Certamente que a Tua bondade, fidelidade e a Tua misericórdia me seguirão em todos os dias da minha vida”.

A **mim**, estou muito orgulhosa de mim mesma, especialmente por ter acreditado que conseguiria, apesar de todas as minhas limitações, inseguranças e medos. Perseverei fiel aos meus sonhos.

A toda **minha família**, em especial a quem dedico este mestrado, minha querida e forte mãe, **Nágile Oliveira Sousa** e meu forte e sensível pai **Marcos Antonio Sousa**. Vocês sempre me seguraram, e me acolheram quando as coisas não saíam como planejei. Especialmente minha **Mãe**, que sempre me apoiou nos meus sonhos, minhas escolhas e orou incessantemente por mim e pelo meu futuro. Eu não teria chegado até aqui se não fosse você, acredite, você é minha maior força.

Ao meu irmão, **Igor Oliveira Sousa** que infelizmente não posso falar muito, pois isso quebraria a regra mundial dos irmãos. Contudo, minha vida seria sem graça se eu não tivesse você, sua risada, brincadeiras e companhia, cura meus dias ruins.

A minha linda e carinhosa sobrinha, **Ana Vitória Pinheiro Sousa**, mesmo que tenha pouca idade, vive me surpreendendo com suas palavras, força e atitude. É admirável como consegue transformar todos os meus momentos tristes em momentos alegres. Esse mestrado dedico a você também, minha doce Vivi.

A minha avó, **Maria de Fátima Araújo Oliveira**, e as minhas queridas tias: **Klecymari Araújo Oliveira, Roselane Oliveira Lopes, Rejane Araújo Oliveira, Rosejane Araújo Oliveira, Kelem Rita Mendes Vale e Déborah Alencar Chaves**, minhas inspirações de força, amor e coragem.

Ao meu professor, meu pai na ciência, mestre, e orientador, **Dr. Bruno Araújo Serra Pinto**, que me acolheu e acreditou em meu potencial de uma forma que eu não acreditava ser capaz de corresponder. Sempre disponível e disposto a ajudar, querendo que eu aproveitasse cada segundo dentro do mestrado para absorver algum tipo de conhecimento. E mesmo com todas as adversidades pessoais, de saúde e familiares, esteve presente, sempre com muita paciência compartilhou comigo sua experiência, compreensão e confiança. Você foi e é referência profissional e pessoal para meu crescimento. Obrigada por estar ao meu lado e acreditar tanto em mim! Você faz parte desta realização. Meu “amor”.

A minha querida, Professora **Dra. Samira Abdalla da Silva**, que me enxergou durante a graduação e conseguiu ver algo em mim que nem eu sei o que foi. Sou extremamente grata, por sempre ser facilitadora, amorosa e carinhosa.

A minha querida coorientadora, **Profa. Dra. Karla Frida Torres Flister**, por todos os ensinamentos e suporte durante os experimentos e na escrita. Sempre muito atenciosa, compreensiva e paciente.

Aos meus alunos Ic's e amigos, **Jefferson Oliveira de Almeida Santos e Luiza de Katulica R. Oliveira**. Hoje eu percebo o quanto crescemos e desenvolvemos juntos no decorrer dos experimentos. A idas e vindas ao laboratório foram mais alegres e divertidas com vocês. Obrigada por toda parceria, diálogos e aporte emocional.

As minhas girls, **Jessica Furtado Soares e Odara Champoudry da Silva**, sempre muito solícitas no meu caminho com “*little scientist*”, obrigada por toda ajuda, apoio emocional, e parceria.

**Lucas Martins França**, certamente em um apocalipse zumbi, você seria uma das pessoas que eu gostaria de ter por perto. Sou grata por toda ajuda, e por todas as vezes que você me salvou.

A minha linda e estilosa amiga, **Thamys Marinho Melo**, que sempre com paciência e entendimento esteve presente, transmitindo-me segurança e confiança.

Ao meu amigo e professor da graduação, **Jonas Rodrigues Sanches**, que nunca mediu esforços para ajudar tanto nos experimentos, quanto nos estudos. Te agradeço por todo auxílio e também pelas conversas e conselhos no campo profissional.

A minha amiga, **Jaqueline Pessoa Pontes**, sempre amorosa, prestativa e acolhedora, nos experimentos e fora deles também. Obrigada!

Ao meu amigo **Romullo Brêno Lopes Fróes**, sempre muito prestativo e auxiliador, obrigada por toda ajuda durante os experimentos, e fora deles.

**Dyhelle Christina Campos Mendes**, que desde o início me incentivou a não desistir deste sonho, e de muitos outros.

**Thamyres Cristhina Lima Costa**, minha professora querida que sonhou este sonho comigo desde a graduação, obrigada por ter sido uma excelente professora.

**Gabryelle Azevedo Silva**, minha melhor amiga, com quem compartilho meus momentos mais que especiais.

As minhas três primas malas, **Camila Oliveira Lopes, Karla Giovanna Oliveira da Conceição e Karla Beatriz Oliveira da Conceição**, amo muito vocês, obrigada por toda parceria e todo apoio incondicional, não somente e hoje, mas nos últimos 25 anos.

A minha amiga querida, **Deborah da Silva Vasconcelos**, você foi muito importante neste processo, obrigada por todas as conversas, conselhos, ensinamentos e principalmente, por acreditar tanto mim e em meu potencial.

As minhas novas amigas, **Marlene Correia Torreão**, **Cristiane Raquel Sousa Cabral** e **Carla Mendes**, que deixam tudo mais leve, inclusive a jornada da vida.

A **dona Gilvanira Ferreira Braga**, minha madrinha do programa Jovem aprendiz, você marcou minha trajetória, nunca me esquecerei de você.

Ao querido, **Prof. Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes** que me aceitou e acolheu no LeFisio, como pesquisadora e como aluna. Muito obrigada, principalmente por partilhar seus conhecimentos e sabedoria com todos nós.

Ao **Laboratório de Fisiologia Experimental (LeFisio)**, me sinto honrada em fazer parte deste laboratório com muitas pessoas maravilhosas e, eu tenho certeza que não seria possível realizar um trabalho tão grandioso como este sem o apoio do LeFisio e das pessoas presentes nele.

Aos meus **poucos** amigos, do mestrado e da vida que não citei aqui, mas de alguma forma influenciaram em meu crescimento ao longo da minha trajetória.

E por fim, não menos importante a **Universidade Federal do Maranhão (UFMA)**, a **Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPEMA)**, a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** e ao **Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD)**.



*“Você não sabe o quanto eu caminhei para chegar até aqui. Percorri milhas e milhas antes de dormir. Eu nem cochilei, os mais belos montes escalei, nas noites escuras de frio, chorei.*

*... A vida ensina, e o tempo traz o tom, pra nascer uma canção, com a fé do dia a dia, encontro a solução.”*

*A estrada – Cidade Negra*

## RESUMO

O diabetes mellitus é uma síndrome de etiologia múltipla caracterizado por um quadro de hiperglicemia associada a distúrbios no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. As alterações nesta doença são metabólicas e estruturais atingindo diversos tecidos. Quando a doença ocorre durante a gestação, denomina-se, diabetes gestacional (DG), sendo considerada a complicação mais comum durante a gravidez, e caracterizada por uma intolerância à glicose durante o período gestacional. Além de trazer prejuízos para a gestante, o DG estabelece um ambiente intrauterino adverso para o feto, predispondo-o ao desenvolvimento futuro de doenças crônicas não transmissíveis, como doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e doenças neurodegenerativas. Estas alterações metabólicas e neurológicas ainda são pouco elucidadas e, principalmente são poucos estudos que investigam essas repercussões tardias do DG comparado ao Diabetes *mellitus* tipo 2. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo, investigar o desenvolvimento de problemas metabólicos e comportamentais em ratos adultos expostos ao DG no período intrauterino e neonatal. Inicialmente, 16 casais de ratos Wistar foram postos em acasalamento monogâmico e, após a constatação da gestação no 13º dia, as ratas foram divididas em dois grupos para a indução do DG: um grupo que permanecia controle composto por 6 ratas que receberam apenas uma dose de solução salina, e um grupo diabetes gestacional composto por 10 ratas que receberam uma única dose de estreptozotocina (STZ; 40 mg/Kg.; i.p.). Após o desmame, a prole dessas ratas foi dividida em: grupo controle (CTR), constituído por ratos adultos com uma nutrição padrão e filhos de mães sem intervenção; grupo DM tipo 2 (DM2), constituído por ratos filhos de mães sem intervenção e que, na vida adulta, receberam solução de sacarose 40% (12 semanas) para indução de DM2 (controle positivo de alterações metabólicas e comportamentais); e grupo DG, constituído por ratos com uma nutrição padrão e filhos de ratas que receberam STZ. Nos três grupos de ratos, avaliou-se a morfometria corporal, perfil glicêmico e lipídico, resistência à insulina, avaliação histopatológica hepática, ansiedade e processamento cognitivo. Em nossos resultados, as mães desenvolveram DG com perda de peso, hiperglicemia severa e RI. A partir disto, evidenciou-se na prole DG uma redução de nascimentos, peso e hiperglicemia neonatal. Na vida adulta, o grupo DG desenvolveu várias doenças crônicas, como: diabetes, marcada por hiperglicemia, dislipidemia e resistência à insulina, sem obesidade; DHGNA, caracterizada por prejuízos à função hepática e esteatose microvesicular com inflamação lobular e ballooning; além de ansiedade e déficits de cognição. Por sua vez, o grupo DM2 apresentou obesidade, alterações metabólicas mais severas que o DG e uma DHGNA mais amena, composta apenas por esteatose. Os problemas comportamentais foram semelhantes entre os grupos DG e DM2. Desta forma, demonstramos que condições adversas durante o período gestacional e neonatal, como o DG, são determinantes para o desenvolvimento futuro de alterações metabólicas e prejuízos neurológicos, mesmo que o indivíduo mantenha uma nutrição saudável após o aleitamento.

**Palavras-chave:** Diabetes Gestacional; Diabetes *Mellitus* Tipo 2; Prejuízos comportamentais e hepáticos.

## ABSTRACT

Diabetes mellitus is a condition with various causes, characterized by high blood sugar levels and disruptions in the metabolism of carbohydrates, fats, and proteins. These changes affect both the metabolism and structure of different tissues in the body. When this condition occurs during pregnancy, it's called gestational diabetes (GD), which is the most common complication during pregnancy. GD involves intolerance to glucose during pregnancy and not only poses risks to the pregnant woman but also creates an unfavorable environment for the developing fetus. This environment can predispose the fetus to developing chronic diseases later in life, such as non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and neurodegenerative disorders. However, the exact metabolic and neurological changes caused by GD are not fully understood, and there's a lack of research on the long-term effects of GD compared to Type 2 Diabetes mellitus. This study aimed to investigate the development of metabolic and behavioral issues in adult rats exposed to GD during the intrauterine and neonatal periods. Initially, 16 pairs of Wistar rats were mated, and after confirming pregnancy on the 13th day, the rats were divided into two groups for GD induction: a control group, where rats received only saline solution, and a gestational diabetes group, where rats received a dose of streptozotocin (STZ) to induce GD. After weaning, the offspring were further divided into three groups: a control group with standard nutrition, a group induced with type 2 diabetes (T2DM) through a sucrose solution, and a group with offspring of rats that received STZ during pregnancy (DG). Various parameters were evaluated in the rats, including body measurements, blood sugar and lipid levels, insulin resistance, liver function, and behavioral traits such as anxiety and cognitive abilities. The results showed that mothers developed GD with significant weight loss, severe hyperglycemia, and insulin resistance. The offspring of the GD group showed reduced birth rates, weight, and neonatal hyperglycemia. In adulthood, the DG group exhibited several chronic conditions including diabetes, NAFLD, and behavioral issues like anxiety and cognitive deficits. The T2DM group, on the other hand, developed obesity and more severe metabolic changes compared to the GD group but showed milder NAFLD. These findings demonstrate that adverse conditions during gestation and early life, such as GD, can significantly impact the future development of metabolic disorders and neurological issues, even if the individual maintains a healthy diet after weaning.

**Key-words:** Gestational diabetes; Type 2 Diabetes *Mellitus*; Behavioral and liver damage.

## LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença. ....	12
Figura 2- O papel dos hormônios liberado pela placenta na patogênese do DG. ....	14
Figura 3- Os mecanismos da atividade biológica do lactogênio placentário (PL) nas células $\beta$ pancreáticas. ....	15
Figura 4- Esquema do desenho experimental. ....	29
Figura 5 - Campo Aberto. ....	31
Figura 6 - Teste de Reconhecimento de Objetos. ....	32
Figura 7 - Teste de Labirinto aquático. ....	33
Figura 8- Diabetes gestacional nas progenitoras. ....	35
Figura 9 - Impacto do diabetes gestacional sobre os neonatos. ....	36
Figura 10 - Alterações morfométricas induzidas por diabetes mellitus tipo 2 e gestacional. ..	37
Figura 11- Alterações bioquímicas induzidas por diabetes mellitus tipo 2 e gestacional. ....	38
Figura 12 - Danos hepáticos subsequentes ao diabetes mellitus tipo 2 e gestacional. ....	40
Figura 13 - Transtornos comportamentais e cognitivos subsequentes ao diabetes mellitus tipo 2 e gestacional. ....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGLs	Ácidos Graxos Livres
Akt	Proteína Quinase B
ALX	Aloxana
APP	Proteína Amiloide
A $\beta$	Peptídeos Peptídeos Beta- Amiloide
BCL-X	Linfoma de Células B Extra Grande
$\beta$	Beta
CTR	Grupo Controle
DA	Doença de Alzheimer
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCVs	Doenças cardiovasculares
DG	Diabetes Gestacional
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
DM3	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 3
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOHaD	Developmental Origins of Health and Disease
EDI	Enzima Degradadora de Insulina
ENF	Emaranhados Neurofibrilares
GLUT	Transportadores de glicose
LeFisio	Laboratório de Fisiologia Experimental
GSK3	Glicogênio Sintase Quinase 3
HPL	Hormônio Lactogênio Placentário Humano
IKK	Serina Quinase
IKK $\beta$	Inibidor Da Subunidade Beta do Fator Nuclear Kappa-B
IRS	Receptor Do Substrato de Insulina
JAK2	Proteína Janus Kinase 2
PDX1	Fator Promotor de Insulina 1

PI3K	Fosfatidilinositol-3-Quinase
PIP3	Fosfatidilinositol 3-4-5-Trifosfato
PKB	Proteína Quinase B
PL	Lactogênio Placentário
PN	Placas Neuríticas
PS	Placas Senis
RI	Resistência à insulina
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SM	Síndrome Metabólica
STZ	Estreptozotocina
TLR4	Receptor do Tipo Toll 4
TNF- $\alpha$	Fator De Necrose Tumoral Alfa
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>10</b>
2.1. Diabetes mellitus e Origem desenvolvimentistas da Saúde e da Doença ( <i>Developmental Origins of Health and Diseases - DOHaD</i> ).....	10
2.2. Diabetes <i>mellitus</i> Gestacional.....	12
2.3. Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2.....	16
2.3.1 Alterações metabólicas e neurológicas associadas ao DM2.....	19
2.3 Modelos experimentais.....	22
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
3.1. OBJETIVO GERAL.....	26
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	26
<b>4. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>27</b>
<b>5. METODOLOGIA.....</b>	<b>28</b>
5.1. Desenho experimental .....	28
5.2. Indução do diabetes gestacional .....	30
5.3. Avaliação da obesidade .....	30
5.4 Dosagens bioquímicas .....	30
5.5 Avaliação da tolerância à glicose e resistência à insulina .....	30
5.6. Testes comportamentais .....	31
5.6.1 Campo aberto.....	31
5.6.2 Reconhecimento de Objetos .....	31
5.6.3 Labirinto aquático.....	32
5.8. Avaliação histológica .....	33
5.9. Análise estatística .....	33
<b>6 RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>

<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
<b>APÊNDICE – Certificado de autorização da CEUA .....</b>	<b>67</b>



## 1. INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* gestacional (DG) é uma condição clínica na qual a mulher, sem diagnóstico prévio de diabetes *mellitus* (DM), desenvolve algum grau de intolerância à glicose e consequente hiperglicemia em qualquer momento da gravidez (SBD,2020). O DG é uma das complicações médicas graves mais comum na gravidez, afetando globalmente uma em cada seis gestantes e com tendência a crescimento, por conta da expansão dos casos de obesidade entre mulheres em idade reprodutiva. É um preocupante problema de saúde pública que aumenta drasticamente o risco de complicações durante a gravidez tanto para a mãe (*e.g.* eclampsia) quanto para o feto (*e.g.* macrosomia fetal e adiposidade) (Zhu, Y.; Zhang, 2016; Zajdenverg et al., 2022).

O *International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups* reconhece diversos fatores de riscos para o desenvolvimento de DG, tais como sobrepeso e obesidade, idade materna avançada (> 40 anos), tabagismo, história prévia de DG, histórico familiar de DM2 e nutrição desbalanceada/sedentarismo antes e durante a gravidez (Mcintyre et al., 2019). Ademais, o DG confere risco aumentado para desenvolvimento posterior de problemas cardiovasculares, obesidade, DM tipo 2 e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) para a gestante e descendentes (Franzago et al., 2019).

Como citado acima, filhos expostos à hiperglicemia gestacional são mais propensos a desenvolver doenças cardiometabólicas na vida adulta, isto porque a vida intrauterina compõe um período fundamental e crítico para a programação metabólica do indivíduo. Evidências demonstram que insultos em períodos considerados janelas críticas para o desenvolvimento podem acarretar, algumas vezes de forma irreversível, no desenvolvimento/agravamento futuro de doenças crônicas não transmissíveis (Yan; Yang, 2014; Chavatte-Palmer et al., 2016; Hoffman et al., 2021; Di Gesù et al., 2022; Hoffman, 2022). Estes insultos e suas repercussões são alvo de estudo das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (do inglês, *Developmental Origins of Health and Diseases - DOHaD*), que hipotetizam que insultos ambientais, maternos, de crescimento e desenvolvimento fetal/infantil atuando no início da vida (no momento da concepção, e/ou durante a vida fetal, infância e primeira infância) aumentam a susceptibilidade a doenças futuras (Amadou et al., 2023).

Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no surgimento do DG e, principalmente, na transmissão transgeracional dos danos do DG para os descendentes ainda não foram totalmente desvendados. Sabe-se que disfunções metabólicas maternas pré-gestacionais, como des-

regulação da secreção e/ou resistência periférica à insulina, bem como um ambiente pró-inflamatório (associado à obesidade, por exemplo) são cruciais para o desenvolvimento de hiperglicemia gestacional. A glicose atravessa facilmente a barreira placentária e promove hiperinsulinemia fetal, que por sua vez, é fundamental para reprogramações metabólicas e estruturais no feto em curto prazo, como supercrescimento fetal e/ou adiposidade, e em longo prazo, como doenças cardiometabólicas (Mcintyre et al., 2019).

Evidências demonstram que o diabetes durante a gestação, além de causar alterações na gestante também leva a consequências fetais e posteriormente repercussões na vida adulta, posto que o DG afeta profundamente o eixo intestino-fígado-cérebro levando ao desenvolvimento de doença hepática gordurosa- não alcoólica (DHGNA) e prejuízos neurológicos em seus descendentes (Nguyen et al., 2020; Koralegedara et al., 2022). A DHGNA é um termo amplo usado para cobrir um espectro de condições caracterizadas por evidência de esteatose hepática na ausência de causas secundárias, como o consumo de álcool e infecções virais. Estima-se que esta doença acometa aproximadamente 20 a 30% da população adulta mundialmente, sendo comumente associada à síndrome metabólica, obesidade, diabetes tipo 2 e dislipidemia (Nd, 2019; Antunes et al., 2023).

Além das alterações metabólicas, existem indícios que o DG também está relacionado a prejuízos cognitivos e comportamentais nas mães e descendentes. De fato, uma meta-análise realizada a partir de 12 estudos clínicos evidenciou que bebês filhos de gestantes com DG apresentam prejuízos no desenvolvimento cognitivo, da linguagem e da motricidade quando comparados a bebês de 1 a 2 anos não expostos ao diabetes. Alguns dos estudos levantados também evidenciaram uma baixa pontuação de QI observada em crianças (3-12 anos) de progenitoras com DG (Camprubi Robles et al., 2015). Mesmo que impactantes, estes resultados não são homogêneos e baseados em estudos observacionais, o que impossibilita a investigação de mecanismos fisiopatológicos e estabelecimento de uma relação de causa e efeito.

Em estudos pré-clínicos, Huerta-Cervantes et al. (2020) demonstraram que a prole de ratas com DG induzido por dose única de estreptozotocina (STZ) apresentou maior estresse oxidativo no córtex pré-frontal, comportamento ansiogênico e déficits cognitivos. Contudo, o estudo se limitou a avaliações comportamentais na prole, sem investigar de forma mais aprofundada as alterações metabólicas na mesma e correlacioná-las com os problemas cognitivos e o surgimento de DHGNA. No estudo citado também não foi apontado nenhuma possível via molecular associada aos achados. O Laboratório de Fisiologia Experimental da UFMA tem demonstrado em publicações recentes, associações entre o consumo excessivo de açúcar e o desenvolvimento precoce de doenças metabólicas e neurocomportamentais (Flister, Karla Frida

Torres et al., 2018; Sousa et al., 2018; França et al., 2020; Pinto et al., 2022). Contudo, estudos do eixo fígado-cérebro induzidas por transmissão transgeracional ainda são insipientes. A partir disto, buscamos no presente estudo investigar o impacto metabólico e neurológico tardio causado pela exposição intrauterina e neonatal à DG. Hipotetizamos que a exposição perigestacional ao DG será capaz de programar negativamente o metabolismo e a função neurocomportamental da prole, mesmo na ausência de intervenções dietéticas na vida adulta.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Diabetes mellitus e Origem desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (*Developmental Origins of Health and Diseases - DOHaD*)

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou em 2019 cerca de 463 milhões de pessoas vivendo com diabetes no mundo, o que representa 9,3% da população global. Esse número deve aumentar para 700 milhões até 2045 (Organization, 2016). Além disso, estimativas projetam para o ano de 2025, 438 milhões de indivíduos afetados por essa doença, porém com mais cinco anos pela frente, essa previsão já foi ajustada para 463 milhões (Guariguata, 2012). No Brasil, a prevalência do diabetes também é alta atingindo cerca de 16 milhões de brasileiros, o que representa aproximadamente 7,7% da população (Klinger et al., 2020).

O DM é uma síndrome de etiologia múltipla, caracterizada por um quadro de hiperglicemia crônica associada a distúrbios no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. Isso decorre da ausência de insulina e/ou da incapacidade desse hormônio em exercer adequadamente seus efeitos. Sua classificação baseia-se na etiopatogenia, compreendendo o diabetes tipo 1 (DM1), o diabetes tipo 2, o DG e outros tipos de diabetes (Sapra; Bhandari, 2024).

O diabetes tipo 1 é caracterizado pela destruição das células  $\beta$ -pancreáticas pelo sistema autoimune que geralmente se desenvolve na infância ou adolescência, enquanto o diabetes tipo 2 é caracterizado pela resistência periférica a ação da insulina que geralmente se desenvolve na fase adulta e está associada principalmente a fatores genéticos, ao estilo de vida e aos fatores de risco, como obesidade e sedentarismo (Gregório; Pitanga, 2023). A hiperglicemia persistente no diabetes tipo 2, leva a formação de produtos finais de glicação avançada, estresse oxidativo e inflamação de baixo grau e resultam em danos aos vasos provocando o desenvolvimento de retinopatia, nefropatia, neuropatia e o surgimento de doenças cardiovasculares (SBD, 2022).

O diabetes gestacional (DG) é caracterizado pelo aumento da glicemia por volta da 24ª semana de gestação em mulheres sem histórico de diabetes antes da concepção. O DG quando não controlado adequadamente pode acarretar inúmeras complicações para mãe, tais como pré-eclâmpsia, parto pré-termo, desenvolvimento de diabetes tipo 2 e doenças cardíacas, bem como complicações para o recém-nascido como macrossomia, hipoglicemia neonatal, distúrbios respiratórios, obesidade e diabetes infantil (Pinheiro et al., 2023).

Embora a fisiopatologia do diabetes não seja totalmente compreendida, acredita-se que os genes e o estilo de vida são os principais fatores de risco para o seu desenvolvimento, pois evidências indicam que a nutrição ou perturbações metabólicas nas fases iniciais da vida, nos primeiros 1000 dias desde a concepção até aos dois anos de idade, desempenham um importante papel na determinação da suscetibilidade ao diabetes na idade adulta, processo que é objeto de estudo da teoria das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (*Developmental Origins of Health and Diseases* - DOHaD) (Alves; Alves, 2023).

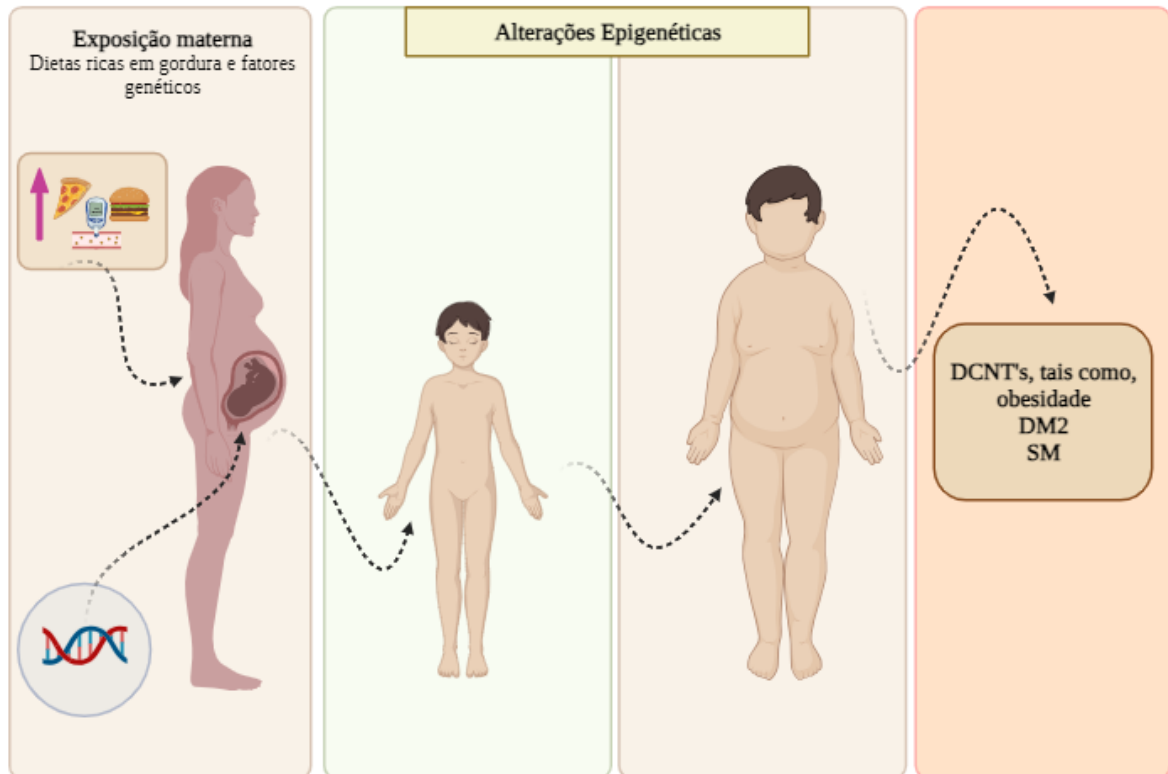
A teoria DOHaD investiga os efeitos intergeracionais e transgeracionais de exposições precoces a fatores ambientais e ou metabólicos durante os períodos críticos do desenvolvimento humano, desde a concepção até primeira infância, que podem influenciar negativamente na saúde do indivíduo propiciando o surgimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT's) ao longo da vida (Gargiulo, 2022).

Este conceito foi inicialmente introduzido pelo epidemiologista David Barker e colaboradores (1989), através da observação da alta taxa de mortalidade da população adulta por doenças cardiovasculares na Inglaterra no período (1968 a 1978) quando comparadas com as taxas de mortalidade da população inglesa adulta 50 anos antes. Essa população foi gerada por mães que enfrentavam um estado nutricional precário durante a fome Holandesa entre os anos 1944 a 1945 em um ambiente intrauterino desfavorável, o que contribuiu para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Lumey et al., 2007; Moura, 2007).

Os indivíduos expostos a fome retratam bem como essa programação fetal pode influenciar a saúde dos descendentes ao longo da vida, no final da Segunda Guerra Mundial, foi evidenciado que as condições de inanição no período pré-natal acarretaram diferentes padrões de composição corporal na vida adulta. Caso a mãe houvesse sofrido desnutrição durante o último trimestre da gestação, esse grupo apresentava uma baixa incidência de obesidade. No entanto, se a desnutrição ocorresse no primeiro semestre da gestação, a incidência de obesidade aumentava significativamente nos descendentes (Ravelli et al., 1976).

A teoria DOHaD foi adaptada ao longo da história, englobando outros conceitos importantes de programação metabólica como os mecanismos epigenéticos, que promovem a modificação da expressão gênica por meio de modificações químicas nos filamentos de histonas sem provocar mudanças na sequência de DNA (Colovati, 2020). Dessa forma, a conjectura da teoria DOHaD, defende que condições adversas durante as fases iniciais da vida intrauterina promovem alterações epigenéticas que podem colaborar para prejuízos metabólicos tardios que aumentam o risco de desenvolvimento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT's) no decorrer da vida (Figura 03) (Barker et al., 1989). Diversos fatores de risco como a exposição

intrauterina e neonatal à DG, toxinas ambientais, estresse na maternidade, dietas ricas em açúcares ou em gorduras e tabagismo, podem afetar o desenvolvimento fetal e infantil, pois influenciam a programação metabólica por meio da ativação ou inativação de genes nas janelas críticas de desenvolvimento como é mostrado na Figura 1 das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (De Asis-Cruz et al., 2022).



**Figura 1** - Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença.

Exposições gestacionais quando induzidas pelo Diabetes *Mellitus* Gestacional (DG) leva a um risco aumentado de complicações tanto para a mãe quanto para seus descendentes, alvos de estudo do DOHaD. **Fonte.** AUTORA (2023).

Compreender como isso pode influenciar o desenvolvimento dessas doenças, especialmente o DG é essencial. Desta maneira, o tema em questão será aprofundado nos próximos tópicos.

## 2.2. Diabetes *mellitus* Gestacional

O DG é uma condição na qual a mulher sem diabetes tipo 2 desenvolve algum grau de intolerância à glicose durante a gravidez, estimando-se que, na atualidade, 1 em cada 6 nascimentos ocorra em mulheres com alguma forma de hiperglicemia (Metzger; Coustan, 1998).

O diagnóstico de DG ocorre entre o segundo e terceiro trimestre de gravidez e de acordo com os critérios do *International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG), este diagnóstico é fechado quando a gestante apresenta glicemia de jejum  $\geq 92$  mg/dL ou por teste de tolerância oral à glicose (TTOG) realizado entre 24 e 28 semanas de gestação com pelo menos um valor alterado (glicemia de jejum  $\geq 92$  mg/dL e/ou, após 1h  $\geq 180$  mg/dL e/ou após 2h  $\geq 153$  mg/dL) (Brown, F. M.; Wyckoff, 2017).

A gestação constitui um período crítico na vida da mulher, no qual ela se expõe a múltiplas alterações físicas e hormonais que visam garantir o adequado crescimento e desenvolvimento fetal. Neste período, o metabolismo energético da progenitora se altera drasticamente para assegurar o aporte de glicose para o feto, podendo ser categorizado em duas fases distintas: 1) fase anabólica, referente ao primeiro trimestre da gestação e caracterizada pela utilização de lipídeos como principal fonte energética, a fim de poupar glicose para o consumo fetal. Nesta fase, a mãe tende a ter hipoglicemia e baixa secreção de insulina; 2) fase catabólica, que se inicia a partir do segundo trimestre e é caracterizada por hiperinsulinemia como resposta compensatória à secreção placentária de hormônios hiperglicemiantes para o feto (*e.g.* hormônio lactogênio placentário, cortisol e hormônio do crescimento), levando a intolerância à glicose e resistência à insulina (RI) para a mãe. Nesta fase, progenitoras com fatores de risco podem desenvolver DG (Parrettini et al., 2020).

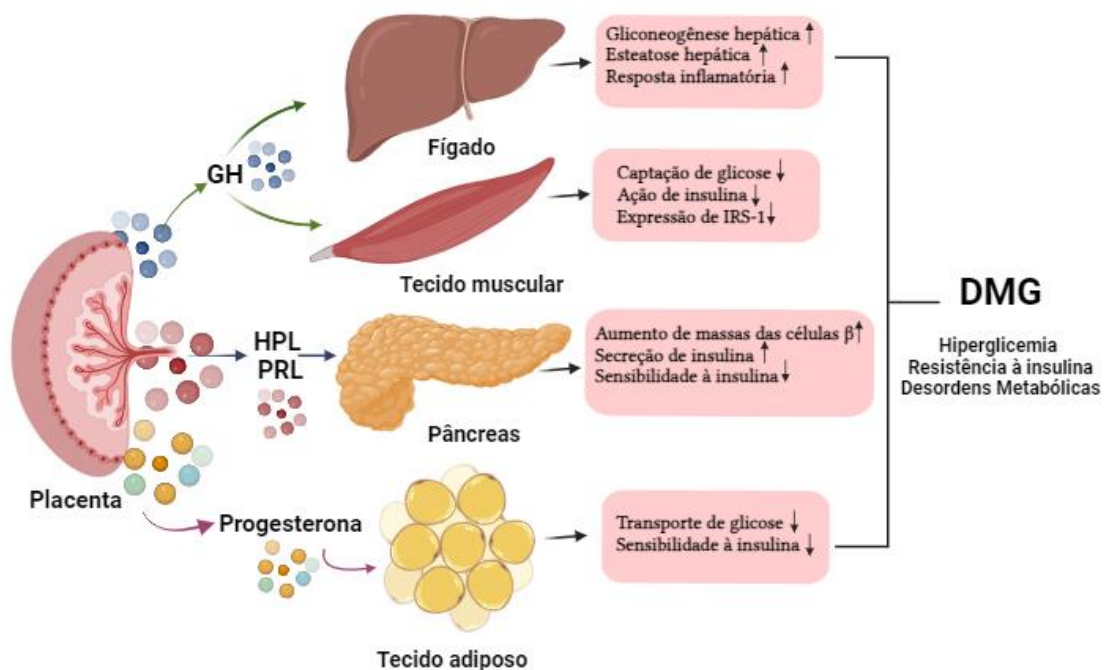
A placenta, órgão fetal momentâneo, na qual forma a interface entre o embrião e a mãe, possui uma função imprescindível para o crescimento do feto no período de gestação, trabalhando como uma glândula complexa que conduz toda a classe de nutrientes para o feto. Este órgão se diferencia em diversas fases, desde proliferação a diferenciação celular para a constituição das vilosidades coriônicas e estruturas extravilositárias – células especiais que se estendem na membrana placentária (Gude et al., 2004).

No DG, placentas de mães com hiperglicemia são frequentemente maiores (Taricco et al., 2003). Eventualmente, o papel da placenta não é simplesmente mediar a transferência de solutos: ela é um órgão metabólico e endócrino central da gravidez. Assim, esse órgão produz inúmeros hormônios que têm influência significativa no estabelecimento e manutenção de uma gravidez saudável, regulando o metabolismo da glicose, dos lipídeos, e da sua adaptação ao longo da gestação (Armistead et al., 2020).

Adicionalmente, na gravidez diabética uma ampla gama de distúrbios no metabolismo lipídico foi descrita e os lipídios maternos podem ser os determinantes mais fortes do crescimento fetal em recém-nascidos com DG (Teles, 2021). Tanto os triglicerídeos maternos,

quanto os ácidos graxos não esterificados, indicando que a dislipidemia materna no DG pode aumentar a disponibilidade de lipídios para o feto (Herrera; Desoye, 2016; Teles, 2021)

Em gestações complicadas por obesidade ou DG, os níveis de expressão de moléculas placentárias são interrompidos, e essa falta de equilíbrio pode estar associada a outras complicações metabólicas (Hill, 2018). O estado de RI da mãe, ocorre em virtude da liberação de hormônios diabetogênicos pela placenta, bem como, estrogênio, progesterona, cortisol, somatotropina coriônica humana, hormônio lactogênio placentário, prolactina, hormônio liberador de corticotropina e a progesterona como mostra a Figura 2 (Lain; Catalano, 2007; Al-Rifai et al., 2021; Choudhury; Rajeswari, 2021).



**Figura 2- O papel dos hormônios liberado pela placenta na patogênese do DG.**

No início da gravidez a placenta libera diversos hormônios, que funcionam como agentes principais na orquestração das adaptações maternas às mudanças metabólicas durante a gestação. Hormônio de crescimento (GH); lactogênio placentário (HPL); prolactina (PRL) e progesterona constituem os hormônios chaves metabólicos derivados da placenta que exercem efeitos reguladores sobre os níveis de glicose no sangue através da modulação do metabolismo da glicose no fígado, tecido muscular, pâncreas e tecido adiposo. **Fonte:** Adaptada de Gao et al. (2021).

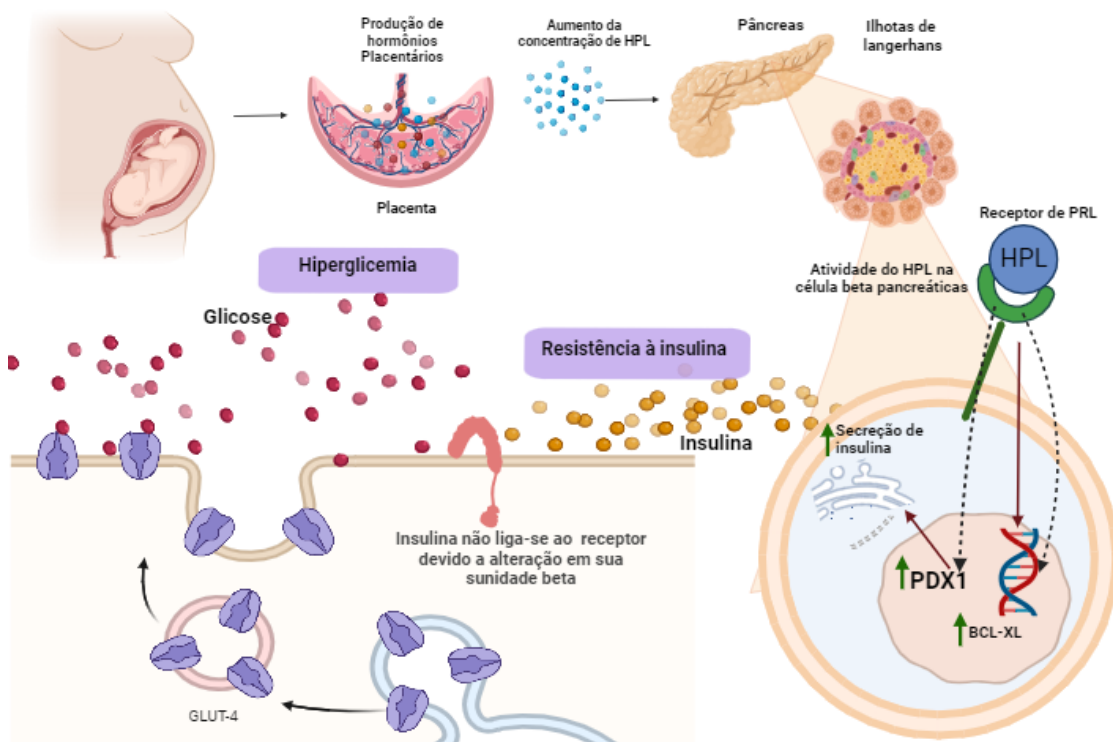
A placenta produz o hormônio lactogênio placentário humano (HPL), que possui uma estrutura análoga ao hormônio do crescimento (GH) e níveis crescentes a partir do segundo trimestre de gravidez, esse número pode ultrapassar em até mil vezes as concentrações normais de GH. Adicionalmente, a placenta ainda produz outros hormônios, como estrógeno,



progesterona e prolactina, que bloqueiam e diminuem a sensibilidade à insulina, o que permite o desenvolvimento do DG (Friesen, 1971; Ryan, 2003).

Apesar dos efeitos metabólicos do hormônio HPL ainda não serem bem definidos, devido às limitações presente na literatura ainda serem consideradas substanciais, impedindo assim conclusões firmes sobre os processos mecânicos que envolvem o HPL no contexto de condições metabólicas comuns, contudo acredita-se que sua ação é capaz de provocar mudanças nos receptores de insulina.

As seguintes variações moleculares parecem estar relacionadas à diminuição da captação de glicose pelos tecidos periféricos: 1) diminuição da fosforilação da tirosina quinase; 2) remodelamento do substrato 1 do receptor de insulina (IRS1) e da fosfatidilinositol 3- cinase (Figura 3) (Sibiak et al., 2020).



**Figura 3- Os mecanismos da atividade biológica do lactogênio placentário (PL) nas células  $\beta$  pancreáticas.** O HPL liga-se ao receptor de prolactina (PRL Receptor) para promover o aumento e a maturação das células  $\beta$ , e estimular a secreção de insulina através da expressão pancreática do fator promotor de insulina 1 (PDX1). O HPL também ativa a vias da proteína tirosina-quinase (JAK2) e do transdutor de sinal e ativador de transcrição 5 (STAT5), e a fosforilação da proteína tirosina cinase, para proteger as células  $\beta$  da apoptose. Independentemente dos mecanismo supracitados, o HPL contribui para o aumento da expressão da proteína anti-apoptótica BCL-X. **Fonte:** Adaptado de Sibiak et al. (2020).

Níveis elevados da demanda de glicose materna atravessam a placenta gerando uma hiperglicemia fetal, e as células  $\beta$  pancreáticas ampliam sua função em resposta à essa

hiperglicemia, um mecanismo compensatório frente ao aumento da RI para manter os parâmetros normoglicêmicos (Lain; Catalano, 2007).

A hiperglicemia materna tem sido relacionada a macrosomia fetal, e ainda, os filhos de mães diabéticas possuem uma incidência elevada de complicações perinatais e um aumento do risco de obesidade de DM2 na vida adulta (Harmancıoğlu; Kabaran, 2023). Em modelos experimentais de DG, observou-se uma restrição de crescimento intrauterino, causada pela hiperglicemia materna, e aumento da secreção de insulina e a hiperestimulação das células  $\beta$  pancreáticas durante a vida fetal resultando em um quadro de hipoinsulinemia fetal devido à exaustão das células  $\beta$  pancreáticas, estabelecendo um crescimento fetal restrito (Holemans et al., 2003; Rudge; Calderon, 2006).

Além dessa restrição de crescimento intrauterino, causada por hiperglicemia materna associada ao aumento da secreção de insulina e a hiperestimulação das células  $\beta$  excretoras; a alta vascularização da placenta e a coexistência do diabetes podem afetar a estrutura e função placentária, aumentando a incidência de complicações fetais (Gauster et al., 2012).

O DG está intimamente ligado aos princípios das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (DOHaD), pois filhos nascidos de mães com DG apresentam maior suscetibilidade de manifestar distúrbios metabólicos na vida adulta, dentre os quais, hipoglicemia, doenças cardiovasculares, obesidade e DM2. Essas associações sugerem que a exposição ao DG durante a vida intrauterina pode ter um impacto duradouro na saúde metabólica da mãe e do feto, aumentando o risco de doenças metabólicas futuras (Desisto et al., 2014; Brawerman; Dolinsky, 2018).

E, assim como o DG, o DM2 também está associado ao aumento de morbidades materno-fetais, o mau controle metabólico durante o período da organogênese é o principal fator predisponente das complicações causadas por essa patologia, principalmente malformações (Fernandes et al., 2012). Porém, mesmo já sendo bem estabelecida tal relação, ainda se testemunha um alto nível de morbimortalidade associada tanto ao DM2, quanto ao DG, pelos seus desfechos negativos visualizados a longo prazo (Ghassibe-Sabbagh et al., 2019). E diante da relevância do tema, o próximo tópico visa esclarecer a fisiopatologia do DM2 e suas principais complicações, sejam elas relacionadas a obesidade e hábitos alimentares ou herdadas da maternidade durante o DG.

### **2.3. Diabetes *Mellitus* tipo 2**

O DM2 é uma condição metabólica caracterizada por RI, disfunção das células  $\beta$  pancreáticas, aumentando os níveis glicêmicos (Rodacki et al., 2022). A OMS estima que, até o ano de 2030, haverá 366 milhões de pessoas com diabetes sendo 90% portadores do DM2.

Este crescimento da prevalência de diabetes é impulsionado principalmente pelo aumento da prevalência de obesidade e pelo estilo de vida sedentário existente na sociedade moderna. O acesso a uma abundância de alimentos ricos em carboidratos deu origem a uma pandemia global de distúrbios atribuídos ao metabolismo dos carboidratos e dos lipídios regulados pela insulina. Este distúrbio metabólico pode se tornar aparente em doenças etiologicamente relacionadas, como SM, obesidade, DM2 e DHGNA (De Oliveira; Dos Santos Torres, 2021).

A fisiopatologia do DM2 é complexa e multifatorial envolvendo vários órgãos e sistemas do corpo. Um dos pilares fundamentais do DM2 é a RI que afeta as células, principalmente dos músculos, fígado e tecido adiposo, onde a resposta à insulina, hormônio anabólico, é reduzida, isto significa que estas células têm dificuldade em captar e utilizar a glicose circulante no sangue, resultando em níveis elevados de hiperglicemia (Rodacki et al., 2022).

A insulina é um hormônio anabólico produzido e secretado pelas células  $\beta$  – pancreáticas, sua síntese é estimulada por glicose, aminoácidos e lipídeos, este processo envolve diversos mecanismos de vias de sinalização. Estas vias de sinalização não são sensibilizadas apenas pela interação da glicose, mas também por meio da ação de neurotransmissores, como acetilcolina e hormônios, glucagon e melatonina (Montenegro Jr et al., 2016).

No DM2, as vias de sinalização da insulina podem sofrer alterações significativas, resultando tanto na RI, quanto na disfunção normal do metabolismo da glicose, metabolismo lipídico e até mesmo síntese proteica e degradação muscular. As mudanças observadas nas vias de sinalização da insulina no DM2 incluem, redução na resposta celular dos tecidos, hepático, muscular e tecido adiposo à insulina, levando à menor captação de glicose pelas células e, conseqüentemente um quadro de hiperglicemia (Bueno, 2023).

A desregulação da fosforilação dos substratos do receptor de insulina (IRS), interrompem a transmissão adequada do sinal intracelular da insulina. Redução da via fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), que leva a diminuição da capacidade de PI3K em gerar fosfatidilinositol 3-4-5-trifosfato (PIP3), afetando a sinalização subsequente da insulina. Redução na ativação da proteína Akt (PKB), uma enzima chave na via de sinalização da insulina, e esta redução pode prejudicar a translocação do transportador de glicose GLUT4 para

a membrana celular, resultando em menor captação de glicose para as células, bem como o aumento da produção de hepática de glicose (gliconeogênese) (Carvalho et al., 2002).

Além deste aumento da produção de glicose hepática, o aumento do tecido adiposo abdominal induz a uma elevação dos ácidos graxos livres para o fígado através da veia porta; conseqüentemente, agrava a resistência hepática à insulina, bem como a liberação de citocinas pró-inflamatórias através da veia porta para o fígado, (Ferrari et al., 2019).

Estudos sugerem que a relação da RI e o papel do processo inflamatório crônico neste cenário não podem ser descartados. Geralmente a RI é induzida pela obesidade, cuja elucidação remonta à década de 1990. Nesta época, estudos avaliaram a associação da RI a marcadores inflamatórios clássicos como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e foi mostrado que adipócitos tratados com TNF- $\alpha$  apresentavam prejuízo na sinalização insulínica. Essa resposta foi associada, principalmente, com redução na transcrição de IRS-1 e GLUT4 (Ferrari et al., 2019).

Citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$ , podem levar à ativação da enzima c-Jun N-terminal cinase (JNK), que atua como um determinante crítico da inflamação associada à obesidade e RI, (Solinas; Becattini, 2017) ativando serina ou treonina cinases e desta forma reduzindo a sinalização da insulina por fosforilação de proteínas em resíduos de serina ou treonina (Hameed et al., 2015). Além disso, a ativação desta enzima está relacionada com vias de sinalização que ativam o fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) que, por sua vez, estimula a produção de diversas citocinas pró-inflamatórias (Ferrari et al., 2019). Contudo, a ativação de JNK também promove a ativação do NF- $\kappa$ B em ilhotas pancreáticas, levando à sua disfunção. Desta forma, é iniciado um ciclo vicioso de disfunção das células  $\beta$  induzida por inflamação, que retroalimenta o processo inflamatório crônico (Agrawal; Kant, 2014).

No DM2 a capacidade do fígado em produzir glicose é aumentada, mesmo na presença de insulina, resultando no aumento da exportação de triglicerídeos e VLDL oriundo do excesso de ácidos graxos livres circulantes, este aumento de ácidos graxos livres circulantes, bem como outros ligantes como lipopolissacarídeos bacterianos, são capazes de ativar proteínas transmembranares, denominadas receptores do tipo Toll 4 (TLR4), que desencadeiam uma série de vias inflamatórias, reduzindo a captação da glicose pela sinalização insulínica (Song et al., 2006). Este é um processo denominado de inflamação metabólica (Jin; Flavell, 2013). O TLR4 é altamente expresso nas células, incluindo o tecido adiposo. No desenvolvimento da obesidade ocorre infiltração de maior número de células imunes neste tecido, particularmente macrófagos, e estes apresentam aumento de expressão de TLR4 (Watanabe et al., 2013). Ao se ligarem aos receptores TLR4, os ácidos graxos livres ativam a JNK e a cinase do inibidor do fator de

transcrição NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B cinase (IKK), (Kim, Sears, 2010) enzimas das quais os IRS-1 são alvos, levando à interferência na fosforilação em resíduos de tirosina e subsequente redução na translocação do GLUT4 (Guo, 2014)

A ativação da IKK promove a fosforilação da IKK $\beta$ , induzindo a degradação proteossomal de IKK $\beta$  e ativando o NF- $\kappa$ B. Essa degradação da IKK $\beta$  promove, por conseguinte, a transcrição gênica de mediadores inflamatórios, como o TNF- $\alpha$  e interleucina-6 (IL-6) (Barma et al., 2009). Ademais, a IKK $\beta$  promove a fosforilação em resíduos de serina do IR e dos substratos dos IRS-1e IRS-2, o que reduz o sinal da insulina em diferentes tecidos.

Em síntese, a disfunção nas vias de sinalização da insulina devido à RI no DM2 possui diversos processos metabólicos e fisiológicos no corpo, levando à deterioração da resposta natural dos tecidos à ação da insulina e ativando citocinas pró-inflamatórias que contribuem para a complexidade das complicações metabólicas e neurológicas associadas ao DM2 (Barma et al., 2009).

### **2.3.1 Alterações metabólicas e neurológicas associadas ao DM2**

Como foi supracitado no tópico anterior, o DM2 é definido pela resistência periférica à insulina endógena levando eventualmente a uma falha da secreção insulínica por esgotamento de células  $\beta$  pancreáticas na fase mais avançada da doença. Essa resistência periférica à insulina endógena é caracterizada pela redução da atividade da insulina na captação de glicose pelas células-alvo, devido à menor atividade dos receptores de insulina, levando à ineficiência na translocação da proteína transportadora específica para glicose, GLUT-1. Como consequência, há redução na resposta dos tecidos periféricos, compensação do aumento da gliconeogênese e cetogênese e maior ocorrência de problemas metabólicos e neurológicos (Ferrari et al., 2019). As principais complicações envolvem a formação de produtos finais da glicação avançada (*advanced glycation end-products* - AGEs) com liberação das citocinas e fatores de crescimento pró-inflamatórios; geração de ROS nas células endoteliais; atividade pró-coagulante nas células endoteliais; proliferação das células musculares lisas vasculares e síntese da matriz extracelular; e lesão vascular (Ferrari et al., 2019)

Um dos importantes fatores de riscos associados ao DM2 e a RI é a Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA), um amplo espectro de alterações hepáticas, desde o acúmulo isolado de gordura (esteatose), até situações em que se associa infiltrado inflamatório lobular e balonização (esteatohepatite não alcoólica, EHNA), com potencial para fibrose progressiva, cirrose e suas complicações, como o carcinoma hepatocelular. De acordo com a Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL); Associação Europeia para o Estudo da

Diabetes (EASD); Associação Europeia para o Estudo da Obesidade (EASO), o diagnóstico médico é realizado a partir de evidências em exames de imagem ou histologia, com mais de 5% de esteatose presente nos hepatócitos, sem proeminência de causas secundárias, como álcool e hepatite viral (De Oliveira; Dos Santos Torres, 2021).

A prevalência mundial de DHGNA chega a 25%, sendo considerada a doença hepática mais comum no mundo (Maurice; Manousou, 2018). A prevalência da DHGNA aumenta para 45 a 75% nos diabéticos e 95% nos pacientes obesos (Younossi, Z. et al., 2019; Younossi, Z. M. et al., 2021). Tendo como base estudos populacionais, de acordo com o gênero, a prevalência da doença é de aproximadamente 30 a 40% em homens e 15 a 20% em mulheres (Browning et al., 2004; Byrne; Targher, 2015).

A DHGNA como uma doença multifatorial, pode ser desenvolvida pela interação entre fatores genéticos, dietéticos e ambientais que desencadeiam RI nos tecidos adiposos, lipólise e disfunção no adipócito, levando um aumento no fornecimento de ácidos graxos livres (AGL) para o fígado, ocasionando acúmulo de triglicerídeos (TG) no fígado e de metabólitos lipotóxicos, responsáveis por efeitos adversos, como: disfunção mitocondrial e estresse oxidativo (Cano et al., 2021). Esclarecendo em outras palavras, estas lesões nos hepatócitos possam ser constituídas de precursores de triglicerídeos tóxicos ou de seus subprodutos metabólicos (Mana, 2021; Zhu, B. et al., 2021).

Adiposidade visceral, presença de síndrome metabólica, RI, desequilíbrio na regulação dos lipídios, mudanças na composição da microbiota intestinal e perturbações nos padrões circadianos, podem desencadear processos inflamatórios e aumentar a exposição do fígado a citocinas, subprodutos intestinais e outros agentes inflamatórios, promovendo o acúmulo de gordura nos hepatócitos que pode resultar em estresse oxidativo no retículo endoplasmático devido à lipotoxicidade (Mana, 2021).

Em dado momento em que os mecanismos para lidar com essas tensões ficam sobrecarregados, os hepatócitos sofrem lesões e apoptose, desencadeando a liberação de mediadores que estimulam a proliferação celular necessária para reparar as lesões hepáticas. Tal processo envolve células imunes, células endoteliais dos sinusóides hepáticos, células estreladas hepáticas e células ductais. O recrutamento e ativação dessas células desencadeiam uma cascata inflamatória que desempenha um papel crucial na reparação tecidual, remodelação vascular, fibrogênese e na proliferação de células epiteliais imaturas no fígado, contribuindo para o início e a instauração do processo inflamatório (Zhu, B. et al., 2021).

Essas adaptações podem inadvertidamente aumentar a suscetibilidade a outros estímulos estressores ou podem ser insuficientes para interromper as sequências de sinalização, o que agrava o processo de morte celular (Mana, 2021; Zhu, B. et al., 2021).

Os hepatócitos lesionados desencadeiam respostas regenerativas que envolvem a proliferação de miofibroblastos, células do sistema imunológico e células progenitoras, processos que não são observados em fígados saudáveis (Rangwala et al., 2011; Guy et al., 2015; Zhu, B. et al., 2021). Ao longo do tempo, essas respostas regenerativas conduzem à formação de cicatrizes, que podem progredir para cirrose hepática e perpetuar o estímulo para desenvolvimento de neoplasias, aumentando assim, o risco de carcinoma hepatocelular (Angulo et al., 2015). Desta maneira, a DHGNA é o resultado da soma das respostas à lesão e aos processos de reparação desencadeados pela lipotoxicidade (Zhu, B. et al., 2021).

Outros fatores de risco associados ao diabetes têm sido relacionados também, em vários estudos observacionais, ao desenvolvimento de demência, como *Finnish Geriatric Intervention Study to Prevent Cognitive Impairment and Disability*, (o estudo FINGER) que possui como objetivo conhecer os fatores de risco associados ao estilo de vida que pudessem predispor ao declínio cognitivo da população em geral. Em adição, dados epidemiológicos sugerem relação entre a Doença de Alzheimer (DA) e o DM2, embora os supostos mecanismos comuns dessa inter-relação sejam obscuros (Da Silva et al., 2021).

Evidências demonstram que há uma tendência mundial no surgimento de demência, principalmente DA esporádica, relacionado ao comprometimento cardiovascular, sendo o DM um dos principais fatores de risco, chegando-se a uma linha de proposição em que a DA seria considerada como o diabetes *mellitus* tipo 3 (DM3), devido à sua similaridade em relação às anomalias histopatológicas, moleculares e bioquímicas. É interessante ressaltar que em alguns trabalhos há a referência ao termo DM3, relativo a uma forma de diabetes presente na DA (De La Monte; Wands, 2008).

A fisiopatologia da DA não está totalmente esclarecida, contudo a teoria da cascata de amiloide em que a proteína amiloide (APP) é sequencialmente clivada pelas enzimas  $\beta$  e  $\gamma$  secretases, resulta na produção de peptídeos beta-amiloide ( $A\beta$ ). Na DA ocorre progressivo desenvolvimento de agregados fibrilares de  $A\beta$  de tamanho variável em 42 aminoácidos e se depositam e formam as placas senis (PS) e neuríticas (PN) no interstício cerebral, e há formação de emaranhados neurofibrilares (ENF) compostos de proteína Tau hiperfosforilada agregadas nos microtúbulos dos neurônios (Da Silva et al., 2021).

Fisiologicamente, os neurônios são incapazes de sintetizar ou armazenar glicose e são dependentes de seu transporte através da barreira hematoencefálica, sendo mediado por

transportadores do tipo GLUT 1, 3 e 4 (Devraj et al., 2011). No Sistema Nervoso Central (SNC), a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e 2 (IGF2) desempenham funções cruciais na regulação e manutenção da função cognitiva. Esses hormônios têm receptores presentes nos neurônios e nas células gliais. Em doenças neurodegenerativas, como a DA, é comum encontrar níveis elevados desses hormônios, possivelmente como uma resposta compensatória à resistência (De La Monte; Wands, 2008). Quando o receptor neuronal de insulina é inibido, ocorrem sérias alterações no metabolismo oxidativo, acompanhadas por distúrbios comportamentais, tais como, ansiedade e déficit cognitivo (Hoyer, 2004).

A enzima glicogênio-sintase-quinase 3 (GSK3) regula o metabolismo da glicose controlando a ativação e inativação da enzima glicogênio sintase. A isoforma GSK3 $\beta$ , altamente expressa no SNC, é regulada principalmente pela ação da insulina, que a inativa. Em situações de RI, a GSK3 é ativada, favorecendo a fosforilação da proteína tau e a clivagem amiloidogênica da APP (Hoyer, 2004; Correia et al., 2012). A resistência ou deficiência de insulina pode levar ao aumento da produção de A $\beta$  e induzir danos mitocondriais devido ao estresse oxidativo (Li, X. et al., 2015).

No cérebro, a insulina desempenha um papel fundamental no aprendizado e na memória (Formiga et al., 2015). O aumento significativo da insulina periférica reflete diretamente em um aumento da insulina no SNC. No entanto em casos de hiperinsulinemia crônica, os receptores de insulina podem ser regulados negativamente, afetando sua utilização cerebral (Arsa et al., 2009). Em condições normais, a A $\beta$  é degradado pela enzima degradadora de insulina (EDI). A EDI é importante para decompor o excesso do peptídeo A $\beta$  e na DA, esta enzima não está funcionando de forma eficiente, o que contribui para o aumento dos níveis de peptídeo A $\beta$ . Pacientes que possuem DA e DM2 tendem a ter predisposição genética à diminuição da EDI e, muitas vezes, apresentam hiperinsulinemia crônica ocasionada pela RI. Assim, a competição entre A $\beta$  e insulina pela enzima EDI culminam na diminuição da capacidade de degradação e, conseqüentemente ao acúmulo de A $\beta$  levando a neurodegeneração (Li, X. et al., 2015; Schilling, 2016).

### **2.3 Modelos experimentais**

Os modelos experimentais na pesquisa científica são representações simplificadas e controladas de eventos passados ou presentes, visando capturar aspectos específicos da realidade. Esses modelos são construídos com base em validações anteriores e devem ser precisos em sua representação, ao mesmo tempo em que reconhecem e demonstram claramente



suas limitações em relação à complexidade do fenômeno real que estão tentando reproduzir (Hochman et al., 2004; Ferreira et al., 2005).

O modelo experimental utilizado nesta pesquisa é o modelo de animal, conhecido por desempenhar um papel fundamental em diversas áreas da pesquisa biológica. Este modelo é selecionado com base na semelhança dos mecanismos patológicos com os encontrados em doenças humanas, permitindo que sirvam como representações dessas condições (Hochman et al., 2004).

Cabe salientar, que a eficácia de um modelo animal, é crucial que possibilite a investigação de fenômenos biológicos, sejam eles naturais, induzidos ou comportamentais, e que esses sejam comparáveis aos observados em humanos. Anteriormente, os animais de laboratório eram utilizados sem considerar a importância de sua condição sanitária e genética. Contudo, com o avanço científico, surgiu a necessidade de condições específicas para esses animais, resultando na criação da "Ciência em animais de laboratório". Atualmente, os pesquisadores demandam que os animais estejam em condições ideais e mantenham um ambiente controlado para garantir a consistência e qualidade dos resultados experimentais, uma vez que são considerados como componentes biológicos ativos e as condições específicas de cada espécie podem impactar nos resultados dos experimentos (Hochman et al., 2004; Ferreira et al., 2005).

Em nosso estudo, o modelo experimental em animais utilizado foi o modelo induzido que se trata de um modelo no qual o animal é submetido a um procedimento capaz de provocar uma morbidade, com a finalidade de se realizar um procedimento experimental. Ainda, este procedimento pode ser de natureza clínica ou cirúrgica, classificando os animais em “modelo clínico induzido” ou “modelo cirúrgico induzido”, respectivamente. O modelo experimental induzido permite a livre escolha de espécies. Um exemplo de “modelo clínico induzido” é o uso da aloxana (ALX) substância capaz de provocar hiperglicemia permanente em várias espécies de roedores. Dessa forma, é possível desenvolver um estado diabético que permite, por exemplo, o estudo das complicações sistêmicas do diabetes e possíveis modalidades de tratamentos (Carvalho et al., 2003).

O estudo do diabetes utilizando modelos experimentais é essencial para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da doença. Em roedores, além do uso da ALX, o modelo de administração de Estreptozotocina (STZ) também é muito utilizado (Al-Watban; Andres, 2006), por ser um agente beta-citotóxico, utilizado no tratamento de tumores carcinoides e endócrinos do pâncreas, atua por meio da diminuição da ação da adenina nicotinamida das

células  $\beta$ -pancreáticas, inibindo a síntese de DNA, conseqüentemente, bloqueando de forma irreversível a produção de insulina (Carvalho et al., 2003).

Dependendo da dose de aplicação a STZ pode ocasionar hiperglicemia grave ou moderada, induzindo o DM em animais, semelhante ao DM1 ou DM2 em humanos (Carvalho et al., 2003). Modelos de hiperglicemia moderada, com glicemia entre 120 a 300 mg/dl, reproduzem o quadro glicêmico mais comumente identificado em pacientes diabéticos (Kiss et al., 2012), sendo então um bom modelo para estudo das repercussões da hiperglicemia durante a gestação (Jawerbaum; White, 2017).

Os protocolos para a indução do DG pela STZ podem variar com doses entre 30 e 135 mg/Kg para administração por via intraperitoneal; entre 15 e 65 mg/Kg para via intravenosa e na dose de 45 mg/Kg para via subcutânea. O tampão utilizado para diluição da STZ, e os dias de gestação para a indução do DG-STZ, variam do 1º ao 13º dia após a confirmação da prenhez (Maschio et al., 2017).

Dentre as complicações ocasionadas pelo DG induzidos por STZ em modelos experimentais, apresentam-se o alargamento placentário sendo fortemente alterado, levando a uma diminuição considerável nos índices de apoptose e proliferação (Zakaria et al., 2001), mecanismos estes que desempenham papel importante na função placentária, como maturação e liberação da placenta, o que compromete a sua função, levando ao estresse fetal, anormalidades no desenvolvimento e ao aborto (Facciotti et al., 2009).

Estudos evidenciam que estes resultados estão conectados ao modelo farmacológico clássico da indução do diabetes com uso de drogas diabetogênicas, aloxana (ALX) e estreptozotocina (STZ), que levam a uma ablação completa ou parcial das células  $\beta$  pancreáticas e deficiência de insulina, ao invés de somente gerar uma RI (Caluwaerts et al., 2003). O que pode explicar o fenômeno do catabolismo decorrente do estado de hipoinsulinemia em que há uma redução da ação da lipoproteína lipase nos músculos e tecido adiposo gerando uma diminuição do peso corporal nas ratas, mesmo sem haver mudanças notáveis na ingestão de alimentos, o que não decorre no DG em humanos (Abdul Aziz et al., 2016).

Outras pesquisas com modelos animais de ratas diabéticas estabelecidas por meio da droga farmacológica, estreptozotocina, foi observado que os efeitos tóxicos direto no pâncreas nas células  $\beta$ -ilhotas, ocasionou uma hiperglicemia intrauterina grave induzindo a hipertrofia de ilhotas fetais e superestimulação das células  $\beta$  fetais. Os resultados, concluíram que, a hipoinsulinemia gera uma restrição do crescimento fetal, e o feto abaixo do peso, desenvolverá uma RI quando adulto (Van Assche et al., 2001). Outro estudo estabeleceu com sucesso um modelo de rato para simular a descendência com alto peso ao nascer de diabetes materno

induzida por uma única dose baixa de estreptozotocina. Porventura os dois estudos contribuíram com a ideia de que condições adversas do ambiente no início da vida podem induzir a resistência insulina ou disfunção das células  $\beta$  na prole (Queiroz, 2020).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Investigar o desenvolvimento de alterações metabólicas e comportamentais tardios em ratos adultos expostos no período intrauterino e neonatal ao DG.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o desenvolvimento de alterações metabólicas e comportamentais em prole de ratas com DG;
- Investigar o desenvolvimento de alterações metabólicas e comportamentais herdadas intergeracionalmente na prole saudável de mães com DG;
- Comparar os impactos metabólico e comportamental tardios do DG com danos relacionados ao DM2 induzido na vida adulta.

#### **4. JUSTIFICATIVA**

Evidências apontam que a hiperglicemia materna no período gestacional é responsável por causar mudanças no ambiente intrauterino, gerando alterações epigenéticas que irão intergeracionalmente programar o metabolismo do descendente. Esta programação será determinante para o desenvolvimento precoce e o agravamento de doenças crônicas não transmissíveis como câncer, obesidade e DM2 no indivíduo (Ma et al., 2015).

Apesar do conhecimento desta programação metabólica associada ao DG estar bem consolidado, pouco se sabe sobre os efeitos desta programação em nível neural e os mecanismos moleculares envolvidos nessa interação, e de maneira ainda mais desconhecida é como essa programação intrauterina interage com insultos metabólicos na vida adulta do indivíduo.

Desta forma, nosso estudo busca investigar os efeitos transgeracionais metabólicos e neurológicos em roedores expostos ao ambiente intrauterino e neonatal do DG, bem como descobrir possíveis vias mecánísticas envolvidas nesta interação.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1. Desenho experimental

Inicialmente, casais de ratos nulíparos da linhagem Wistar (n=16 casais; 12 semanas de idade;  $\pm$  350g) foram acondicionados para acasalamento único e monogâmico. Os cruzamentos foram realizados segundo o esquema de criação rotativa simples, de modo a garantir a variabilidade genética entre os animais gerados e evitar consanguinidade (Bothe, 2010). O diagnóstico de prenhez foi realizado através do acompanhamento do ganho de peso corporal e de esfregaços de lavados vaginais para constatação da presença de espermatozoides.

As ratas prenhas (n=16) foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos experimentais: grupo controle (CTR; n=6), alimentadas com água e ração padrão; e grupo diabético gestacional (DG; n=10), que recebeu no 13º dia de prenhez uma dose única de STZ para indução de DG.

Para avaliação do sucesso de indução do DG nas mães, 3 dias após a administração de STZ foi aferida a glicemia de jejum em glicosímetro através de alíquotas de sangue periférico coletadas da veia caudal. Após o desmame, as fêmeas foram separadas da prole, submetidas ao teste de tolerância à glicose e, por fim, foram eutanasiadas para coleta de sangue, que foi utilizado para determinações bioquímicas finais (lipidograma e RI).

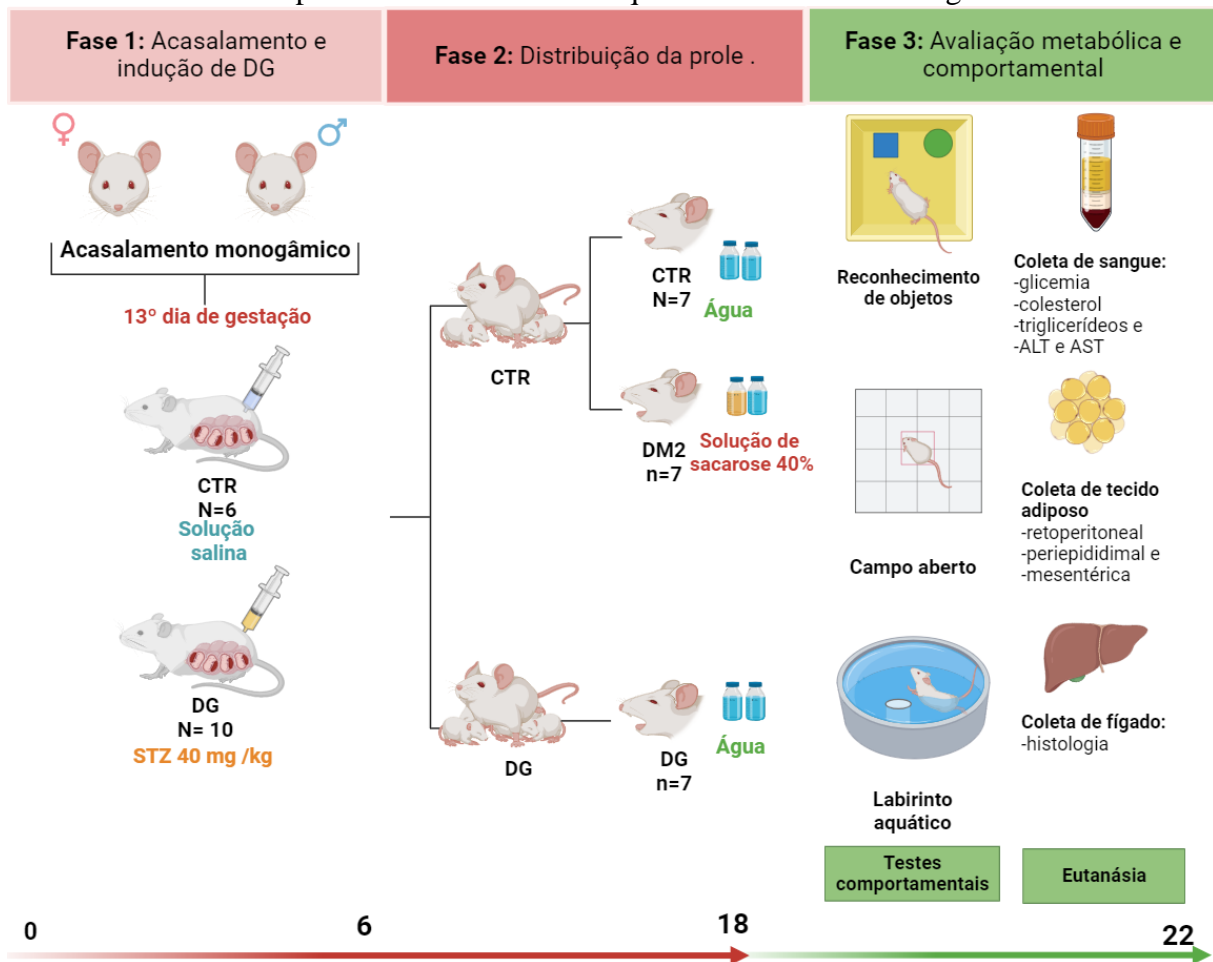
Um dia após o nascimento da prole, ajustou-se a ninhada para 8 filhotes afim de garantir nutrição adequada para os filhotes, buscando preferencialmente 6 machos e 2 fêmeas e foi contabilizado o número de nascidos, peso dos filhotes e sua glicemia. Foram incluídos no estudo, filhotes com peso entre 6 e 8 gramas. Após o desmame (21º de vida), os machos da prole foram separados em três grupos seguindo os grupos maternos:

- Grupo CTR (n=7), composto por filhotes de mães não diabéticas que receberam dois bebedouros com água filtrada;
- Grupo DM2 (n=7), composto por filhotes de mães não diabéticas que, a partir da 6ª semana de vida, receberam um bebedouro com água filtrada e outro com solução de sacarose 40% (SS40; açúcar União®) para indução de DM2;
- Grupo DG (n=7), composto por filhotes de mães diabéticas que receberam dois bebedouros com água filtrada;

Os 3 grupos seguiram sem sofrer intervenções até a 6ª semana de vida, quando o grupo DM2 passou a receber a SS40. A partir deste período, todos os animais foram semanalmente pesados por mais 12 semanas, totalizando 18 semanas de vida.

Na semana anterior à eutanásia, todos animais foram submetidos aos testes de tolerância à glicose e aos testes comportamentais do campo aberto, reconhecimento de objetos e labirinto aquático, que avaliam ansiedade, memória episódica e memória espacial, respectivamente. Por fim, na 18ª semana de vida, os animais foram submetidos a jejum (8 horas), anestesiados, laparotomizados para coleta de sangue, coxins adiposos retroperitoneal, periepídidimal e mesentérico e fígado. O tecido adiposo foi utilizado para avaliação morfométrica, o sangue para dosagens bioquímicas finais (glicemia de jejum, lipidograma, atividade de enzimas hepáticas e RI) e o fígado para avaliação morfométrica e histopatológica.

O desenho experimental encontra-se esquematizado abaixo na figura 04.



**Figura 4- Esquema do desenho experimental.**

Fonte: AUTORA (2023).

Todos os animais foram mantidos no Biotério Setorial do prédio de Pós-Graduação do CCBS/UFMA em gaiolas de polietileno forradas com maravalha, enriquecimento ambiental (com algodão e rolo de papel higiênico), em ambiente controlado ( $22 \pm 2$  °C; 60% de umidade, exaustão e ciclo claro/escuro de 12 horas), máximo de 3 animais/gaiola para prevenir o estresse ou alteração do bem estar animal, e livre acesso a ração (Nuvital, Nuvilab®), água e/ou SS40.

Todos os protocolos experimentais se encontram aprovados pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA-UFMA) sob registro nº 23115.000747/2022-90.

## **5.2. Indução do diabetes gestacional**

Para indução do DG, foi administrado nas ratas prenhas (13º dia de gestação) uma dose única de estreptozotocina 40 mg/Kg por via intraperitoneal (Sigma-Aldrich®; tampão citrato; pH 4,5) após jejum de 12 horas. Imediatamente após a aplicação, as ratas foram alimentadas normalmente. Foram mantidas no experimento, ratas que apresentaram níveis glicêmicos em jejum (8h) superiores a 200 mg/dL após 3 dias de indução (Huerta-Cervantes et al., 2020).

## **5.3. Avaliação da obesidade**

O desenvolvimento de obesidade foi determinado pelo cálculo do índice de Lee dado pelo quociente da raiz cúbica do peso corporal (g), pelo comprimento naso-anal (cm) (Bernardis; Patterson, 1968).

## **5.4 Dosagens bioquímicas**

Para a determinação da glicemia de jejum foram coletadas alíquotas de sangue da veia caudal dos animais após jejum de 8 horas e analisadas em glicosímetro Accu-chek Active® (Roche). O sangue coletado na eutanásia foi submetido a processo de coagulação e centrifugação (3500 rpm, 10 min) para obtenção do soro, o qual foi utilizado para determinação dos níveis de triglicerídeos e colesterol total e atividade das enzimas hepáticas alanina e aspartato aminotransferase (ALT e AST) por métodos colorimétricos usando kits laboratoriais (Labtest®).

## **5.5 Avaliação da tolerância à glicose e resistência à insulina**

Para o teste de tolerância à glicose (GTT), os animais foram submetidos a 8 horas de jejum antes da administração de glicose 2g/kg por via intraperitoneal. O sangue foi coletado por seção na cauda imediatamente antes (tempo 0) e após o *bolus* de glicose nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos para aferição da glicemia como descrito no tópico anterior. Os dados foram expressos pela área sob a curva glicêmica (AUC) (Flister, K. F. T. et al., 2018).

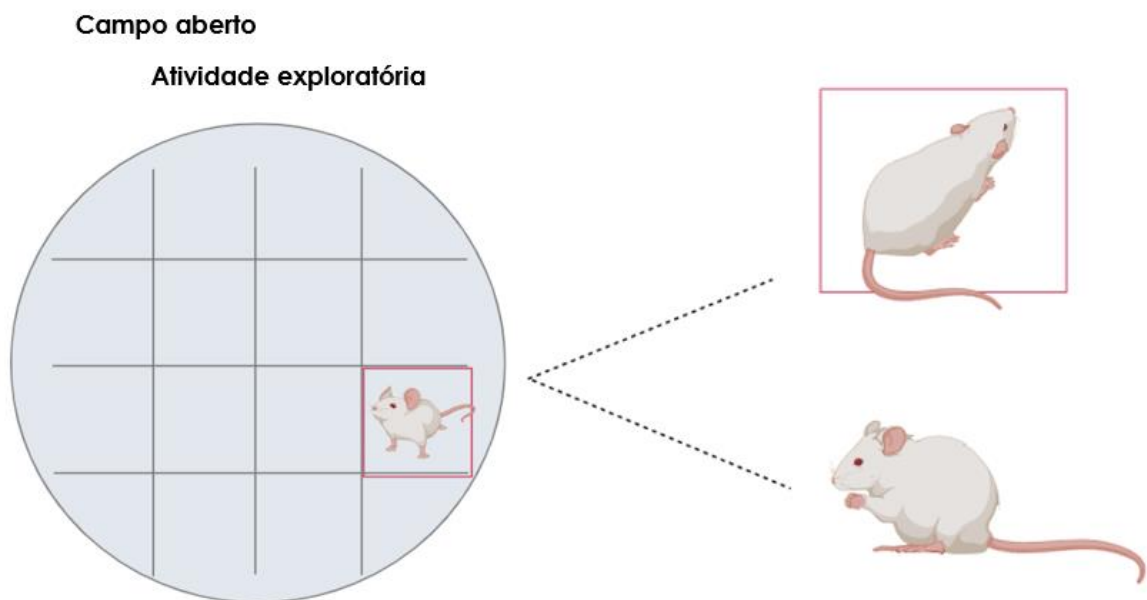
O grau de RI foi avaliado pelo cálculo do índice TyG [ $\text{Ln} [(\text{glicemia de jejum (mg / dL)} \times \text{triglicerídeos de jejum (mg / dL)}) \times 2^{-1}]$ ] (Guerrero-Romero et al., 2010).



## 5.6. Testes comportamentais

### 5.6.1 Campo aberto

Para avaliação de comportamento de ansiedade e atividade exploratória, os animais foram submetidos ao teste do campo aberto, onde foram colocados individualmente no centro de uma arena circular (140 cm<sup>2</sup>) com paredes de acrílico transparente dividida em 9 quadrantes pelo período de 5 minutos. Foi contabilizado o número total de quadrantes percorridos pelo animal no campo e a frequência de entradas nos quadrantes centrais da arena como é mostrado na figura 5 (Hall; Ballachey, 1932).



**Figura 5 - Campo Aberto**

**Fonte:** Adaptado de Hall; Ballagey, 1932.

### 5.6.2 Reconhecimento de Objetos

O teste de reconhecimento de objetos foi realizado em três etapas: 1) habituação; 2) familiarização; e 3) teste propriamente dito. Durante a habituação os animais foram inseridos individualmente em uma caixa - idêntica à utilizada nas etapas posteriores - e mantidos para livre exploração por 5 minutos. Após 24 horas, os animais foram submetidos à familiarização, onde foram introduzidos individualmente no centro da caixa com a inserção de dois objetos idênticos localizados em quadrantes opostos. Permitiu-se a livre exploração dos objetos por 5 minutos e foi contabilizado o tempo de exploração de ambos objetos. Após 1 hora iniciou-se a fase 3 onde um dos objetos foi substituído por um de forma diferente. Os animais foram nova-

mente inseridos na caixa, onde permaneceram por 5 minutos. Nesta etapa também foi contabilizado o tempo de exploração de cada objeto. A avaliação de memória episódica foi feita a partir do tempo gasto pelo animal para explorar o novo objeto em relação ao tempo de exploração total como é mostrado na figura 06 (Ennaceur; Meliani, 1992).

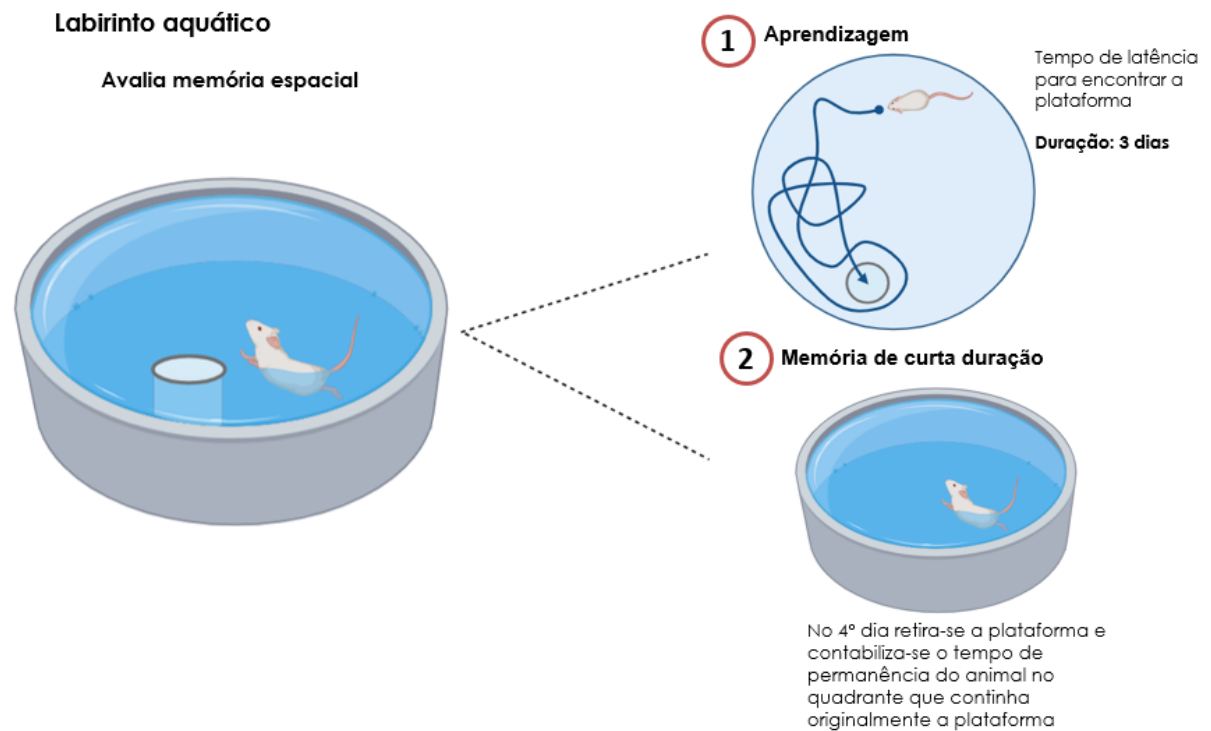


**Figura 6 - Teste de Reconhecimento de Objetos**

Fonte: Adaptado de Ennaceur; Meliani, 1992.

### 5.6.3 Labirinto aquático

No teste do labirinto aquático, os animais foram inseridos individualmente em uma piscina circular dividida em quatro quadrantes e com presença de uma plataforma de escape em um dos quadrantes. Inicialmente, foi avaliada a capacidade de aprendizado espacial dos animais a partir do tempo de latência para encontrar a plataforma durante 3 dias consecutivos de treino; e, posteriormente, a plataforma foi retirada e então avaliada a capacidade de consolidação de memórias de curta duração, a partir do tempo de permanência do animal no quadrante que continha originalmente a plataforma como é mostrado na figura 07 (Morris, 1984).



**Figura 7 - Teste de Labirinto aquático**  
Fonte: Adaptado de Morris 1984

## 5.8. Avaliação histológica

Após a coleta, os fígados foram pesados, acondicionados em frasco com formol tamponado 10% durante 72 horas para posterior processamento histológico tradicional. Em seguida foram transferidos para frascos com etanol 50% durante 24 horas, etanol 70% por 24 horas, etanol 90% por 12 horas, etanol 100% por 12 horas, diafanizados em xilol durante 2 horas e emblocados em parafina, para obtenção de cortes sequenciais de 5 $\mu$ m de espessura, que foram corados hematoxilina e eosina (H&E) e analisadas pelo *NAFLD Activity Score*, que define pontuações para danos hepáticos: esteatose (0 a 3), inflamação lobular e portal (0 a 3) e *ballooning* (0 a 2) (Brown, G. T.; Kleiner, 2016).

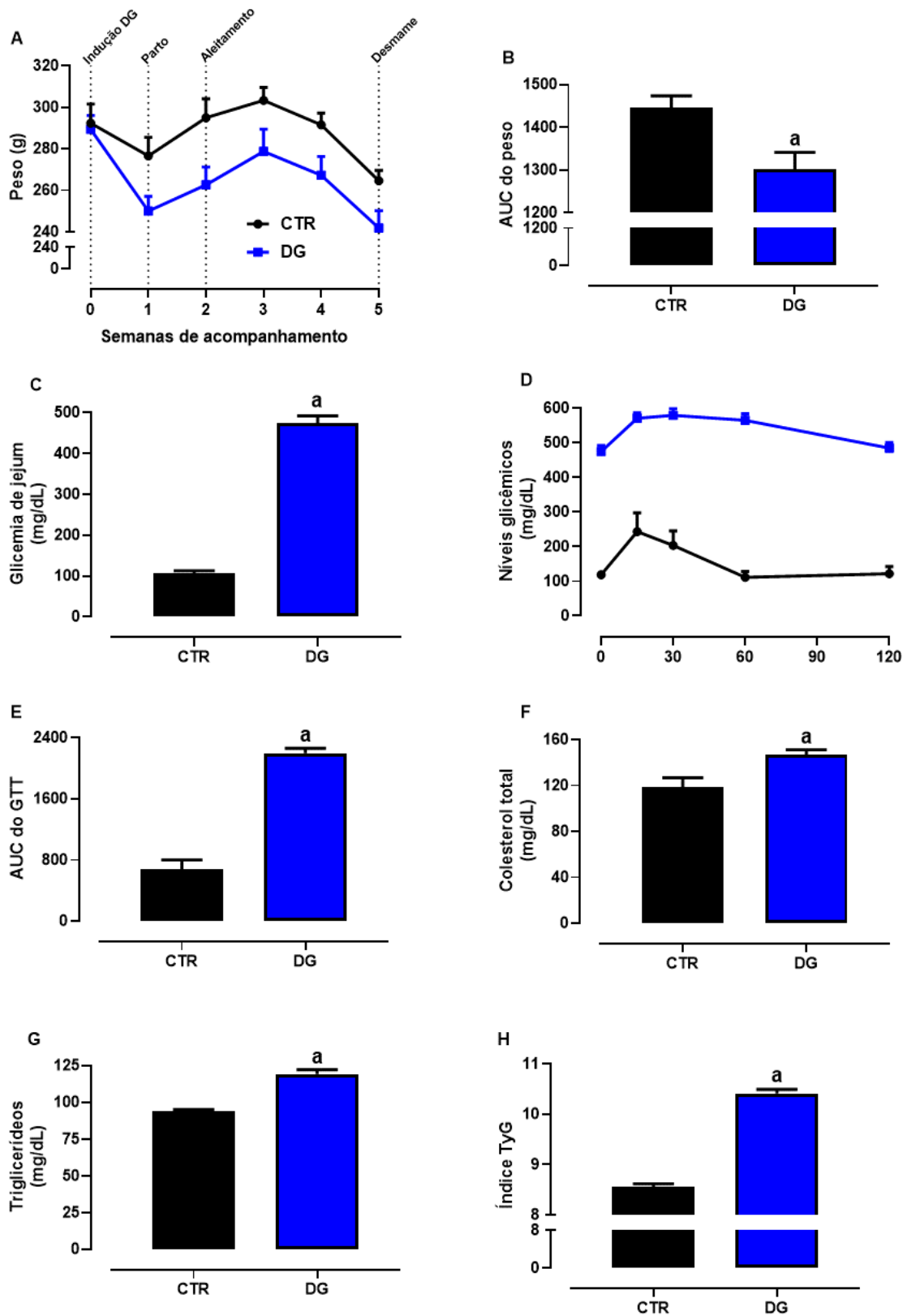
## 5.9. Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., USA) e expressos como média  $\pm$  erro padrão e submetidos a testes de normalidade (*Kolmogorov-Smirnov*) seguida de testes estatísticos paramétricos (teste *t* de *Student* não pareado e bicaudal ou *One-Way ANOVA – Newman Keuls*). As diferenças foram significativas quando  $p < 0,05$ .

## 6 RESULTADOS

O crescimento de casos de gestações tardias e obesidade materna estão diretamente relacionados à expansão do DG na última década. Esta é uma informação preocupante, pois a presença do DG configura uma situação obstétrica de alto risco, especialmente pelo fato do DG favorecer o surgimento de complicações para a gestante e para o feto, tais como eclampsia, polidrâmnio, distocia de ombro, parto pré-termo, macrossomia fetal e hiperglicemia neonatal (Johns et al., 2018). Apesar das complicações maternas, fetais e neonatais serem bem documentadas, pouco se sabe sobre as repercussões destas na vida adulta do descendente. Assim, tendo em vista que a hiperglicemia e RI possuem forte associação com o desenvolvimento de DHGNA e demências, buscamos em nosso estudo entender se o ambiente gestacional e neonatal adverso proporcionado pelo DG acarretam no desenvolvimento futuro de alterações metabólicas e prejuízos neurológicos.

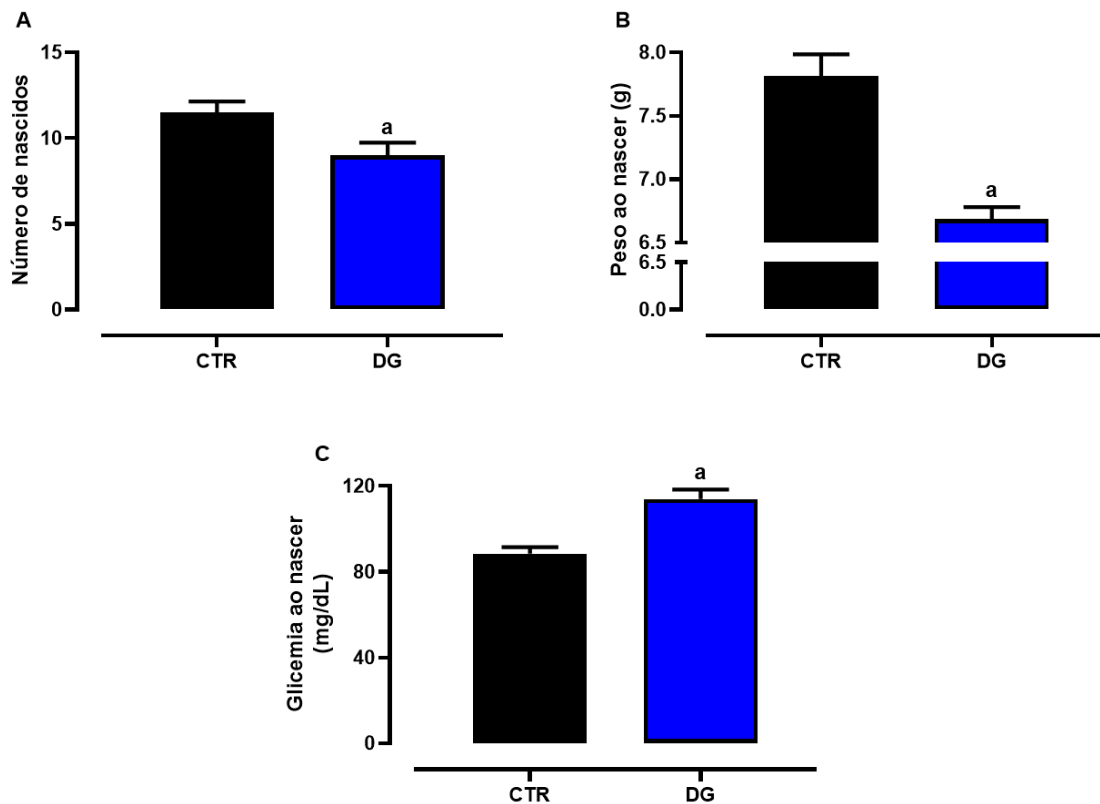
Nossos resultados demonstraram que a administração única de STZ na segunda semana de gestação foi capaz de induzir uma série de alterações metabólicas nas progenitoras, com destaque para progressiva perda de peso ( $p < 0,0001$ ; Figura 5A-B), hiperglicemia severa ( $p < 0,0001$ ; Figura 5C), intolerância à glicose ( $p < 0,0001$ ; Figura 5D-E), elevação dos níveis de colesterol total ( $p < 0,05$ ; Figura 5F) e triglicerídeos ( $p < 0,0001$ ; Figura 5G) e RI ( $p < 0,0001$ ; Figura 5H), demonstrando sucesso na indução de DG nas gestantes.



**Figura 8- Diabetes gestacional nas progenitoras.**

A, peso (g); B, área sob a curva (AUC) do peso; C, glicemia em jejum (mg/dL); D, níveis glicêmicos no teste de tolerância à glicose (GTT; mg/dL); E, AUC do GTT; F, colesterol total (mg/dL); G, triglicerídeos (mg/dL); H, índice de resistência à insulina TyG avaliado em ratos controle (CTR; n=6) e com diabetes gestacional (DG; n=10) no período de 5 semanas. Pontos e barras representam a média  $\pm$  SEM (teste t de Student não pareado e bicaudal). <sup>a</sup> significa  $p < 0,05$  quando comparado ao CTR.

Com o sucesso da indução de DG nas mães, buscamos avaliar o impacto negativo deste ambiente uterino adverso sobre características neonatais da prole e observamos uma redução da ninhada ( $p < 0,05$ ; Figura 6A), baixo peso nos neonatos ( $p < 0,0001$ ; Figura 6B) e elevação dos níveis glicêmicos após o desmame ( $p < 0,01$ ; Figura 6C) quando comparados à prole CTR.

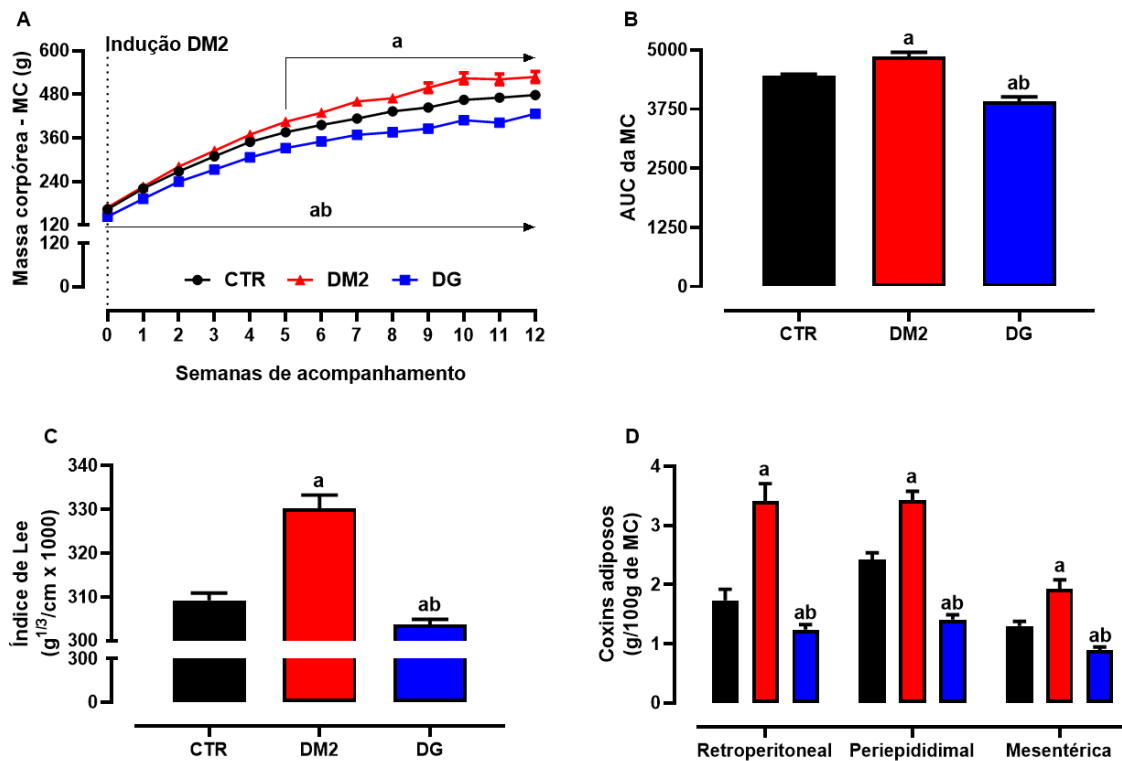


**Figura 9 - Impacto do diabetes gestacional sobre os neonatos.**

A, quantidade de nascidos; B, peso ao nascer (g); C, glicemia em jejum no desmame (mg/dL) avaliado na prole de ratas controle (CTR) e com diabetes gestacional (DG). Barras representam a média  $\pm$  SEM (teste t de Student não pareado e bicaudal). <sup>a</sup> significa  $p < 0,05$  quando comparado ao CTR.

Com 6 semanas de vida, o grupo CTR foi dividido em 2 grupos, um que continuou sem intervenções (grupo CTR) e outro que passou a receber solução de sacarose por 12 semanas para indução de diabetes *mellitus* tipo 2 (grupo DM2). A prole de mães diabéticas (grupo DG) foi mantida por todo período de acompanhamento sem intervenções. Ao longo de 12 semanas de acompanhamento, os animais DM2 desenvolveram ganho de peso a partir da 5ª semana ( $p < 0,01$ ; Figura 7A-B) e obesidade central ( $p < 0,0001$ ; Figura 7C) com acúmulo adiposo retro-peritoneal ( $p < 0,0001$ ; Figura 7D), periepididimal ( $p < 0,0001$ ; Figura 7D) e mesentérico ( $p < 0,001$ ; Figura 7D). Por outro lado, os animais DG apresentaram manutenção do peso baixo do

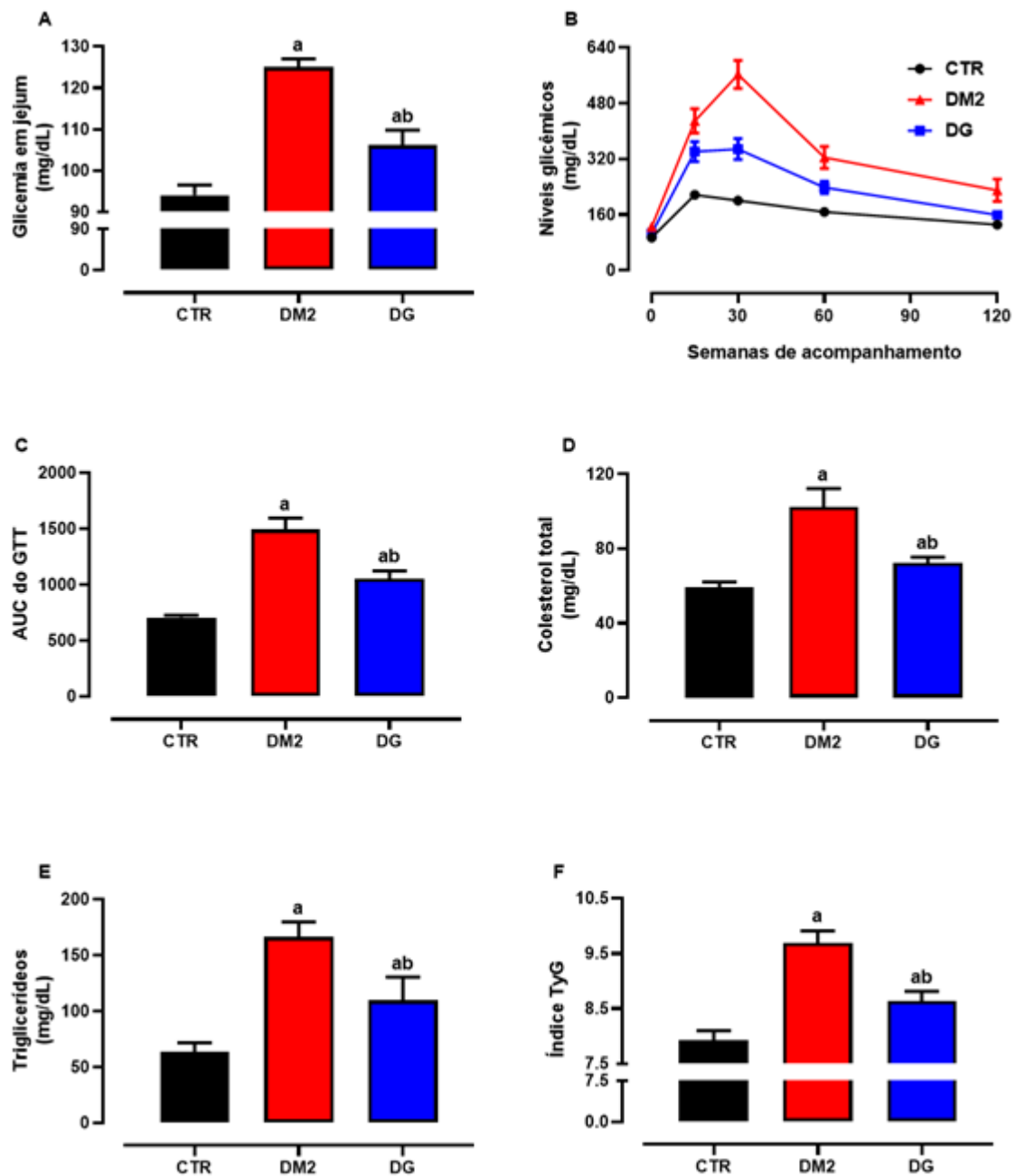
nascimento ( $p < 0,0001$ ; Figura 7A-B), magros ( $p < 0,05$ ; Figura 7C) e com atrofia adipocitária ( $p < 0,05$ ; Figura 7D).



**Figura 10 - Alterações morfométricas induzidas por diabetes mellitus tipo 2 e gestacional.**

A, massa corpórea (g); B, AUC da massa corpórea; C, índice de Lee ( $\text{g}^{1/3}/\text{cm} \times 1000$ ); D, coxins adiposos ( $\text{g}/100$  g de massa corpórea) avaliados em ratos controle (CTR), com diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e expostos na vida intrauterina à diabetes gestacional (DG). Pontos e barras representam a média  $\pm$  SEM (ANOVA Newman Keuls). <sup>a</sup> representa  $p < 0,05$  em relação ao CTR e <sup>b</sup> representa  $p < 0,05$  em relação ao DM2.

Mesmo sem o desenvolvimento de obesidade, os animais DG apresentaram uma série de alterações bioquímicas características de síndrome metabólica, tais como hiperglicemia ( $p < 0,01$ ; Figura 8A), intolerância à glicose ( $p < 0,001$ ; Figura 8B-C), hipercolesterolemia ( $p < 0,05$ ; Figura 8D), hipertrigliceridemia ( $p < 0,05$ ; Figura 8E) e resistência à insulina ( $p < 0,05$ ; Figura 8F). Todas estas alterações também foram observadas no grupo DM2, no entanto com maior grau de severidade (Figura 8).



**Figura 11- Alterações bioquímicas induzidas por diabetes mellitus tipo 2 e gestacional.**

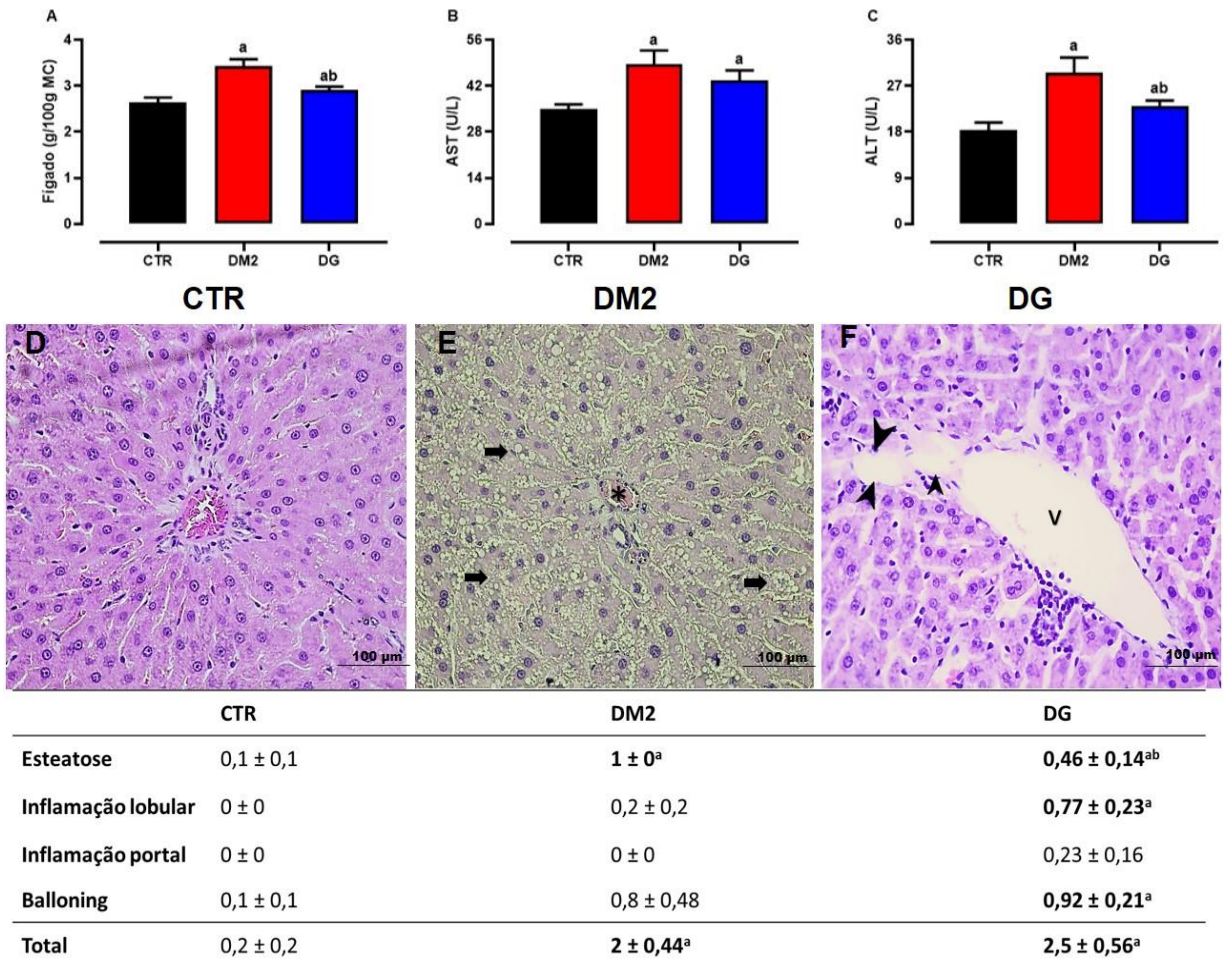
A, glicemia em jejum (mg/dL); B, níveis glicêmicos no teste de tolerância à glicose (GTT; mg/dL); C, AUC do GTT; D, colesterol total (mg/dL); E, triglicerídeos (mg/dL); F, índice de resistência à insulina – TyG avaliados em ratos controle (CTR), com diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e expostos na vida intrauterina à diabetes gestacional (DG). Pontos e barras representam a média  $\pm$  SEM (ANOVA Newman Keuls). <sup>a</sup> representa  $p < 0,05$  em relação ao CTR e <sup>b</sup> representa  $p < 0,05$  em relação ao DM2.

Tendo em vista que a prole DG desenvolveu síndrome metabólica na vida adulta, buscamos investigar as repercussões hepáticas associadas ao quadro. O fígado dos animais DG se apresentou mais pesado ( $p < 0,05$ ; Figura 9A) e com elevação da atividade de AST ( $p < 0,05$ ; Figura 9B) e ALT ( $p < 0,05$ ; Figura 9C), que inferem prejuízos da função hepática. Ademais,



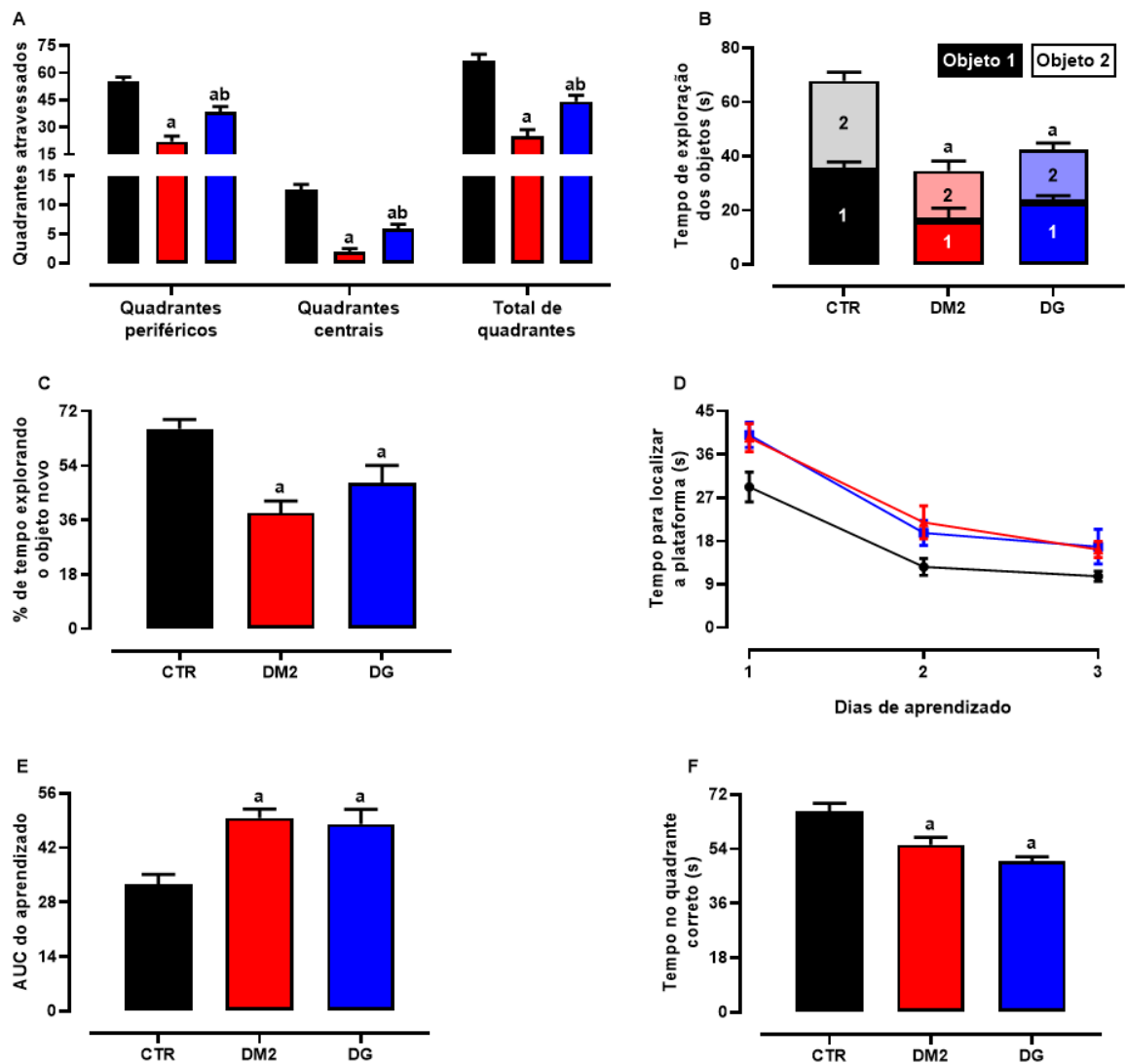
os hepatócitos dos animais DG apresentaram esteatose microvesicular ( $p < 0,05$ ), com inflamação lobular ( $p < 0,05$ ) e *ballooning*, caracterizando o desenvolvimento de uma EHNA. O grupo DM2 apresentou um fígado ainda mais pesado ( $p < 0,001$ ; Figura 9A), com expressiva elevação de ALT ( $p < 0,001$ ; Figura 9C) em relação ao DG, porém com atividade de AST superior somente ao CTR ( $p < 0,05$ ; Figura 9B). Os hepatócitos do grupo DM2 apresentaram maior expansão da esteatose ( $p < 0,01$ ) (Figura 9E), porém sem presença dos outros achados, o que caracteriza um quadro menos severo de DHGNA.

Por fim, com o intuito de investigar se as alterações metabólicas acarretaram em prejuízos neurológicos, os animais foram submetidos a testes comportamentais de avaliação de ansiedade e cognição. Os grupos DM2 e DG apresentaram um padrão semelhante nestas avaliações, marcado por redução da ambulação no campo aberto ( $p < 0,0001$ ; Figura 8A), o que indica um comportamento de ansiedade; menor exploração a objetos na fase de habituação do teste de reconhecimento de objetos ( $p < 0,0001$ ; Figura 8B) e menor exploração ao objeto novo ( $p < 0,0001$ ; Figura 8C), o que caracteriza perda de memória episódica; e maior tempo para aprender a localização da plataforma no labirinto aquático ( $p < 0,01$ ; Figura 5D-E) e memorizar o seu quadrante de origem (DM2:  $p < 0,01$  e DG:  $p < 0,0001$ ; Figura 5F), o que caracteriza déficit de aprendizado e memória espacial dependente do hipocampo.



**Figura 12 - Danos hepáticos subsequentes ao diabetes mellitus tipo 2 e gestacional.**

A, peso relativo do fígado (g/100g peso); B, atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST; U/L); C, atividade da enzima alanina aminotransferase ALT; U/L). D-F, Cortes histopatológicos representativos corados com H&E do fígado de ratos controle (CTR), com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e expostos na vida intrauterina à diabetes gestacional (DG). Barras e valores representam a média ± SEM (ANOVA Newman Keuls). a representa  $p < 0,05$  em relação ao CTR e b representa  $p < 0,05$  em relação ao DM2. Apresentando hepatócitos com esteatose microvesicular (setas), veia porta (asterisco), balloning (cabeça de seta) e centro lobular (v).



**Figura 13 - Transtornos comportamentais e cognitivos subsequentes ao diabetes mellitus tipo 2 e gestacional.**

A, número de quadrantes centrais, periféricos e totais atravessados no campo aberto; B, tempo de exploração de objetos iguais no teste de reconhecimento de objetos; C, % do tempo de interação com o objeto novo no teste de reconhecimento de objetos; D, tempo para localizar a plataforma ao longo de 3 dias de aprendizado no labirinto aquático; E, AUC do aprendizado; F, tempo de permanência no quadrante em que antes se encontrava a plataforma no labirinto aquático avaliado em de ratos controle (CTR), com diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e expostos na vida intrauterina à diabetes gestacional (DG). Pontos e barras representam a média  $\pm$  SEM (ANOVA Newman Keuls). <sup>a</sup> representa  $p < 0,05$  em relação ao CTR e <sup>b</sup> representa  $p < 0,05$  em relação ao DM2.

## 7. DISCUSSÃO

O diabetes gestacional (DG) constitui uma das complicações médicas mais graves e comuns durante a gestação, sendo responsável por complicações durante a gravidez (*e.g.* eclâmpsia e parto pré-termo), desenvolvimento de doenças cardiometabólicas para mãe (*e.g.* problemas cardiovasculares, obesidade, DM2 e doença hepática gordurosa não-alcoólica) e problemas para o feto (*e.g.* macrosomia fetal e adiposidade) (Pavlovic; Carvajal, 2013; Alesi et al., 2021).

Tais insultos e suas repercussões são alvo de estudo das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (do inglês, *Developmental Origins of Health and Diseases - DOHaD*), que hipotetizam que danos durante períodos críticos da vida, como a gestação, são determinantes para o surgimento futuro de doenças crônicas não transmissíveis para o indivíduo (Amadou et al., 2023). Trabalhos experimentais e clínicos evidenciam que o DG predispõe o desenvolvimento de doenças na vida adulta, como hipertensão arterial e DM2 (Boloker et al., 2002; Yu et al., 2021; Zhang et al., 2023). Assim, tendo em vista que no DG o feto/neonato é exposto durante a vida uterina e lactação a elevados níveis de glicose, buscamos neste estudo avaliar o impacto destas condições adversas sobre o eixo fígado-cérebro em animais adultos filhos de mães com DG.

Inicialmente, em nosso estudo obtivemos sucesso na indução de DG nas progenitoras que, após o recebimento de dose única de estreptozotocina (STZ) ao final da segunda semana de gestação, apresentaram sintomas típicos de diabetes *melittus* gestacional, tais como hiperglicemia severa, perda de peso, dislipidemia e RI. Apesar de não mensurado, é pressuposto que nossas ratas também apresentaram hipoinsulinemia, uma característica do modelo de indução.

Corroborando nossos dados, estudos com ratas que receberam doses de 40 a 100 mg/kg de STZ antes e durante a gestação desenvolveram perda ponderal, hiperglicemia, intolerância à glicose, dislipidemias, hiperfagia, poliúria, polidipsia e danos hepáticos (Huerta-Cervantes et al., 2020) (Sinzato et al., 2009; Spadotto et al., 2012; Damasceno et al., 2013; Santos, 2017)

Nas ratas gestantes, o perfil diabetogênico surge como consequência direta da STZ, uma nitrosureia de glicosamina que, por conta da similaridade estrutural com a glicose, é captada pelos transportadores de glicose GLUT-2, onde exerce estresse oxidativo e efeitos alquilantes no DNA de células  $\beta$ -pancreáticas, levando a destruição massiva delas, inibição da síntese e secreção da insulina e consequentemente hiperglicemia ( $\geq 250$  mg/dL) (Lenzen, 2008). Ademais, a hipoinsulinemia impede a captação de nutrientes para músculos e adipócitos, le-

vando a atrofia dos mesmos e perda de peso; interfere nas vias lipogênicas hepáticas promovendo dislipidemias e esteatose; e a hiperglicemia e estresse oxidativo atuam para a RI (Petersen; Shulman, 2018).

Além de todas as repercussões para as mães, evidenciamos que a indução do DG foi determinante para desfechos na prole no período neonatal, que apresentou diminuição de ninhada, baixo peso corporal e hiperglicemia.

Em humanos, a exposição intrauterina a elevados níveis de glicose promove aborto espontâneo, malformação e outras complicações congênitas, entretanto em roedores, os fetos mortos não são abortados e os conceptos são reabsorvidos pelo útero. Em nosso estudo observamos redução de nascimentos, contudo não realizamos contagem de implantes no corno uterino para determinar a razão morte fetal/implantes totais. Damasceno et al. (2002) descreveram uma série de anormalidades neonatais associadas ao DG em ratas, tais como redução da ninhada e aumento da reabsorção de conceptos, além de malformações musculoesqueléticas e viscerais nos neonatos. Sugere-se que o aumento de espécies reativas de oxigênio decorrente do DG esteja envolvido nesta perturbação da embriogênese.

O baixo peso ao nascer e a hiperglicemia neonatal são variáveis comumente observadas em roedores filhos de mães diabéticas. Estes são dados corroborados em várias pesquisas experimentais (Saito et al., 2010; Bequer et al., 2016; Kappen et al., 2019; Kappen et al., 2022) e surgem como resultado da elevação severa dos níveis de glicose no meio intrauterino, gerando uma exaustão das células  $\beta$  pancreáticas do feto, comprometendo os processos de síntese e secreção de insulina. Com isso, observa-se um desequilíbrio do eixo glicose-insulina nos neonatos levando a uma hiperglicemia precoce e, tendo em vista o papel anabólico da insulina sobre o tecido muscular e adiposo, perda importante de massa corpórea e consequente microsomia neonatal (Huerta-Cervantes et al., 2020).

Com a constatação de prejuízos neonatais na prole, prosseguimos nosso estudo avaliando as repercussões tardias do ambiente intrauterino e neonatal adverso. Para isto, além do acompanhamento dos filhos de ratas diabéticas até a vida adulta (grupo DG), inserimos no estudo um grupo de ratos adultos que passaram a receber altas doses de sacarose para indução de DM2 (grupo DM2). Em suma, o ambiente gestacional adverso do DG levou ao desenvolvimento de sinais clássicos de DM como hiperglicemia, intolerância à glicose, dislipidemias e resistência insulínica. Ademais, nossos animais DG não desenvolveram aumento ponderal e acúmulo adiposo, provavelmente por conta dos prejuízos neonatais. Por outro lado, os animais adultos expostos ao consumo excessivo de sacarose desenvolveram todos sinais clássicos de

DM2, como alto peso, obesidade central, hiperglicemia, intolerância à glicose, dislipidemias e RI, em maior grau de severidade que os animais DG.

Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa tem relatado uma série de efeitos adversos associados ao consumo excessivo de sacarose, mesmo em concentrações e períodos diversos, tais como aumento de massa corpórea com obesidade central, hiperglicemia, intolerância à glicose, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e RI (Flister, Karla Frida Torres et al., 2018; Sousa et al., 2018; França et al., 2020; Pinto et al., 2022).

A sacarose é lisada nos enterócitos em glicose e frutose e, embora isômeras, possuem efeitos metabólicos distintos. A glicose em excesso estimula demasiadamente a secreção de insulina, que prejudica as vias de sinalização normais e provoca glicotoxicidade e RI (Fernandez-Twinn et al., 2019). O excesso de glicose em conjunto com substratos lipídicos e/ou proteicos também promovem a formação de produtos de glicação avançada (AGEs), que são fundamentais para o desenvolvimento do DM2 e morbidades associadas (Paula et al., 2022). Por outro lado, a frutose não atua sobre a secreção de insulina, mas sofre alta captação hepática e é rapidamente convertida em trioses que desregulam a síntese *de novo* de lipídeos no fígado e promovem o acúmulo de gordura ectópica, dislipidemias e disfunção do tecido adiposo (Tappy; Lê, 2010; Johnson et al., 2024).

Enquanto os mecanismos de desenvolvimento de síndrome metabólica e diabetes na vida adulta subjacentes ao consumo de sacarose já são bem estabelecidos, os mecanismos deletérios associados ao DG ainda são meramente especulativos. Corroborando nossos dados, estudos demonstram que roedores expostos ao DG desenvolvem perda de peso, hiperglicemia e RI (López-Soldado; Herrera, 2003; Takada et al., 2007; Aref et al., 2013), hiperinsulinemia (Anwer, 2014) e dislipidemia aterogênica (El-Sayyad et al., 2014; Paula et al., 2022; Da Cruz et al., 2023).

Após constatação de alterações metabólicas decorrentes do ambiente uterino adverso (grupo DG) e do consumo excessivo de açúcares na vida adulta (grupo DM2), buscamos entender como estas alterações impactaram sobre o fígado e o cérebro destes animais, dois órgãos de grande importância fisiológica e intimamente associados.

No que se refere ao cérebro, constatamos em nossos animais DG uma menor ambulação e atividade exploratória, comportamento de ansiedade, déficits de aprendizagem e memória espacial e episódica. Resultados similares foram encontrados nos animais DM2.

O impacto negativo do DM2 sobre o comportamento e cognição já se encontra bem descrito. Modelos experimentais de DM2 induzem com sucesso ansiedade e desespero comportamental (*despair behaviour*) (Pinto et al., 2022) (Wayhs et al., 2010; Cavalcanti et al.,

2020), redução de ambulação e atividade exploratória (Pinto et al., 2022) (Shalimova et al., 2019), déficits na consolidação de memórias dependentes do hipocampo (Jurdak et al., 2008; Stranahan et al., 2008; Kamal et al., 2013; Hussain et al., 2019; Pinto et al., 2022) e memórias não diretamente relacionadas ao hipocampo (Stranahan et al., 2008; Jurdak; Kanarek, 2009; Hussain et al., 2019).

Sinais do DM2, especialmente hiperglicemia e RI, estão diretamente relacionadas a declínio da neurogênese e plasticidade de neurônios e glia, redução da densidade de espinhas dendríticas, detrimento de conexões axodentríticas e aumento de marcadores de apoptose no hipocampo, levando a considerável atrofia hipocampal, que além do evidente prejuízo cognitivo, também compromete o comportamento, as emoções e até a motricidade (Savva et al., 2009; Pinto et al., 2016).

Ademais, amplas evidências associam o DM2 com o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer (DA). Meta-análises demonstram que idosos com DM2 têm alta propensão para déficits cognitivos, de atenção e comportamentais, bem como diabéticos possuem 50% de chances de desenvolverem DA (Bello-Chavolla et al., 2019). Acredita-se que a resistência neuronal à insulina atue como um mecanismo subjacente conectando ambas morbidades. De fato, uma corrente de pesquisadores inclusive descreve que prejuízos na sinalização da insulina em nível cerebral precedem as perdas cognitivas da DA, elencando a mesma como um DM3 (Nguyen et al., 2020).

Enquanto a relação do DM2 com alterações comportamentais e neurológicas já se encontra bem descrita, o impacto tardio do DG é bem menos documentado. De forma semelhante aos nossos achados, pesquisadores descreveram comportamento ansiogênico na prole de ratas com DG nos testes do campo aberto, enterrar bolinhas (*marble burying test*) e labirinto em cruz elevado (Aviel-Shekler et al., 2020; Huerta-Cervantes et al., 2020). Outrossim, redução da capacidade de aprendizagem e consolidação de memórias espaciais e não espaciais (associativas) também foram observadas tardiamente em ratos após exposição uterina a altos níveis de glicose (Chandna et al., 2015; Huerta-Cervantes et al., 2020). Estes estudos também evidenciaram que os déficits nos ratos são mais proeminentes em machos que fêmeas e mais em adultos (6 meses de vida) que jovens (até 2 meses) (Huerta-Cervantes et al., 2020).

Nenhum desses estudos aprofunda investigações com o intuito de desvendar mecanismos de ação pelo qual o DG pode acarretar em danos neurológicos e comportamentais, contudo observou-se nesses animais aumento da excitabilidade e maior expressão de AGEs no hipo-

campo, proporcionando um ambiente neural mais oxidativo e com mais marcadores pró-inflamatórios (TNF $\alpha$  e IL-6), que podem estar relacionados às alterações no desenvolvimento neural (Chandna et al., 2015; Huerta-Cervantes et al., 2020).

Em paralelo à investigação de alterações neurológicas e comportamentais oriundas do DG e do DM2, buscamos investigar também a influência do ambiente uterino adverso sobre o tecido hepático dos animais. E constatamos nos animais DG aumento de peso do fígado, aumento da atividade de enzimas marcadoras de dano hepático, esteatose microvesicular, inflamação e *balloning*. O grupo DM2 também apresentou aumento de peso do fígado e esteatose microvesicular, porém sem a presença de infiltrados inflamatórios e *balloning*.

Achados como estes indicam instauração de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), que é definida como um amplo espectro de desordens hepáticas associadas ao acúmulo excessivo de gordura no interior dos hepatócitos na ausência de causas secundárias, como consumo abusivo de álcool e infecções virais (Rhee, 2019).

Em via de regra, a doença inicia-se com o acúmulo intra-hepático de gordura que, quando acomete 5% do volume total do fígado, passa a ser chamado de esteatose simples. Esta esteatose pode evoluir para uma esteatohepatite não alcoólica (EHNA), um estado mais grave caracterizado por maior acúmulo lipídico, presença de infiltrado inflamatório, *balloning* e até fibrose. A EHNA constitui a principal causa para o desenvolvimento de afecções hepáticas mais graves como cirrose, falência hepática e carcinoma hepatocelular (Li, Y. Y. et al., 2023).

Estima-se que a DHGNA acometa cerca de 30% da população adulta em nível global, entretanto esta prevalência pode aumentar para 70% em diabéticos, evidenciando a forte relação entre as morbidades (Younossi, Z. M. et al., 2016). Isto se dá especialmente pelos sintomas de patogênese comuns, como RI, hiperinsulinemia, hiperglicemia, aumento da gliconeogênese e inflamação do tecido adiposo (Dewidar et al., 2020).

Em roedores a DHGNA se apresenta com grandes variações. Em semelhança aos nossos animais, existem estudos em que os animais expostos a processos diabetogênicos apresentam aumento de massa hepática (Chen et al., 2011; Fatani et al., 2011; Fernandes-Lima et al., 2016; Pinto et al., 2022), enquanto em outros este aumento ponderal não é evidente (Pinto et al., 2016; Softic et al., 2017; Flister, Karla Frida Torres et al., 2018). Porém, mesmo nos estudos onde não foram observadas diferenças ponderais, os fígados acumularam gordura ectópica e apresentaram prejuízos funcionais.

De modo geral, animais com síndrome metabólica e diabetes induzidos por dieta hiperlipídica (Lieber et al., 2004), rica em frutose (Mamikutty et al., 2014), sacarose (Sousa et al., 2018; França et al., 2020) ou *fast food* (Charlton et al., 2011) apresentam DHGNA marcada



por aumento dos níveis de ALT, acentuada esteatose micro- e macrovesicular, EHNA, inflamação, *balloning*, fibrose e até tumores benignos. O aumento dos níveis de lipídeos na dieta agrava mais os prejuízos hepáticos do que açúcares.

O surgimento de todos estes achados se dá especialmente em virtude da RI, que atua desregulando a síntese *de novo* de lipídeos (DNL), um processo fisiológico modulado pelo fígado que atua esterificando o excesso de carboidratos da dieta em triglicerídeos (TG) e promovendo a exportação lipídica para a circulação na forma de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL). A desregulação da DNL acarreta em hiperativação de enzimas lipogênicas, promovendo produção lipídica intra-hepática descontrolada (Jeon et al., 2023). A RI também interfere sobre o receptor ativado pelo proliferador de peroxissomo alfa (PPAR- $\alpha$ ), que regula a beta-oxidação e o transporte dos ácidos graxos, prevenindo o acúmulo hepático de gordura e a hipertrigliceridemia (Tahri-Joutey et al., 2021). Em suma, a RI favorece processos lipogênicos em contraponto a processos oxidativos, promovendo o desenvolvimento da esteatose hepática.

Poucos estudos abordam o impacto tardio do DG sobre a fisiologia hepática. A maioria dos estudos avalia a prole em períodos perinatais, onde esta prole de ratas diabéticas apresenta aumento de peso do fígado, hipertrigliceridemia, inflamação e vacuolização das células hepáticas, em semelhança ao nosso estudo (Ohta et al., 2017; Radford; Han, 2019; Dong et al., 2021). Em contrapartida uma série de evidências demonstram que a supernutrição materna durante a gestação e/ou lactação leva ao desenvolvimento de DHGNA na prole (Bayol et al., 2010; Oben et al., 2010; Bringhenti et al., 2015). Em vários desses estudos, a prole exposta à supernutrição materna apresenta aumento de triglicerídeos e gotículas de lipídeos no fígado, embora esta esteatose nem sempre persista na idade adulta (Oben et al., 2010; Hellgren et al., 2014; Bringhenti et al., 2015).

Estudos também evidenciam uma associação entre baixo peso ao nascer e o desenvolvimento de DHGNA na prole, bem como alterações no metabolismo lipídico e no tecido adiposo. Sugere-se que esta programação metabólica esteja relacionada a desequilíbrios nas vias de biossíntese do colesterol (Lecoutre et al., 2019).

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O DG tem acometido cada vez mais mulheres durante a gestação. O DG aumenta o risco de complicações tanto para mãe quanto para o feto, posto que mulheres com DG têm maior probabilidade de desenvolver pré-eclâmpsia, hipertensão, e um risco significativamente aumentado de DM2 posterior a gravidez. Além disso, o DG está associado a um maior risco de nascimento prematuro, macrossomia fetal e hipoglicemia neonatal para o feto.

Nossos resultados destacaram o desenvolvimento de problemas metabólicos e neurológicos em ratos adultos expostos no período intrauterino e neonatal ao DG. Nesse sentido em nosso estudo buscamos entender melhor os mecanismos por trás do resultados observados, visto que obtivemos tardiamente na prole de ratas com DG, presença de hiperglicemia, RI, dislipidemia aterogênica, DHGNA e declínio cognitivo.

É importante reconhecer que existem algumas limitações presentes em nossa pesquisa que podem impactar a interpretação abrangente das repercussões do DG na prole, tais como, dosagem da insulina e avaliação da expressão gênica de certos genes relacionados a vias mecânicas cruciais, limitando nossa capacidade de elucidar completamente os mecanismos subjacentes às repercussões observadas.

Ainda que mais estudos de investigações moleculares mais aprofundados se façam necessários para entender melhor as vias moleculares envolvidas, nosso estudo sobre o DG contribui para a compreensão mais ampla dos mecanismos subjacentes à RI e a fisiopatologia do DM. Não beneficiando apenas mulheres grávidas, mas também consolidando a construção de políticas públicas de saúde relacionadas à prevenção e ao tratamento do diabetes em toda a população.

Outrora, a identificação precoce do DG através do rastreamento durante a gravidez permite a implementação de intervenções preventivas e terapêuticas, como o controle da glicemia por meio de dieta, exercícios e, em alguns casos medicação que podem reduzir o risco de complicações tanto para mãe quanto para o feto.

Em síntese, nossos achados sobre o DG servem como base para o entendimento da origem de doenças e mecanismos patogênicos, assim como estudos populacionais que correlacionem estas doenças crônicas não-transmissíveis, visando a melhoria nos resultados de saúde materna e fetal, assim como também para a discussão de políticas públicas de prevenção e tratamento mais eficazes e melhor promoção da saúde relacionadas ao diabetes.

## 9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Com a finalização desta dissertação, intitulada como “Prejuízos metabólicos e comportamentais tardios decorrentes de exposição intrauterina e neonatal à diabetes *mellitus* gestacional” observou-se que as repercussões e os impactos adversos na saúde materna e fetal, podem afetar e instaurar tardiamente as DCNT’s nos descendentes durante a vida adulta. Mostrando que é de extrema relevância o estudo mais aprofundado sobre o DG e quais os mecanismos fisiopatológicos por trás disso.

Nesse sentido, em nossa pesquisa experimental, conseguimos entender o papel crucial do DG sobre metabolismo, mecanismos subjacentes e sobre as complicações advindas nas progenitoras e nos descendentes. Com isso, as perspectivas futuras deste trabalho visam acrescentar e esclarecer quais os genes relacionados com essa alteração metabólica, tanto na DHGNA, quanto no déficit cognitivo relacionadas ao DG, e para isso realizaremos alguns testes, como dosagem de insulina e expressão gênica, visando a publicação do artigo desta dissertação em uma revista com o fator de impacto A2, como o da revista *Brain Research*.

## REFERÊNCIAS

- ABDUL AZIZ, S. H.; JOHN, C. M.; MOHAMED YUSOF, N. I. S.; NORDIN, M. *et al.* Animal model of gestational diabetes mellitus with pathophysiological resemblance to the human condition induced by multiple factors (nutritional, pharmacological, and stress) in rats. **BioMed research international**, 2016, 2016.
- AGRAWAL, N. K.; KANT, S. Targeting inflammation in diabetes: Newer therapeutic options. **World journal of diabetes**, 5, n. 5, p. 697, 2014.
- AL-RIFAI, R. H.; ABDO, N. M.; PAULO, M. S.; SAHA, S. *et al.* Prevalence of gestational diabetes mellitus in the middle east and North Africa, 2000–2019: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression. **Frontiers in endocrinology**, 12, p. 668447, 2021.
- AL-WATBAN, F. A.; ANDRES, B. L. Polychromatic LED in oval full-thickness wound healing in non-diabetic and diabetic rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, 24, n. 1, p. 10-16, 2006.
- ALESI, S.; GHELANI, D.; RASSIE, K.; MOUSA, A. Metabolomic biomarkers in gestational diabetes mellitus: a review of the evidence. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, n. 11, p. 5512, 2021.
- ALVES, J. G. B.; ALVES, L. V. Early-life nutrition and adult-life outcomes. **Jornal de Pediatria**, 2023.
- AMADOU, C.; HEUDE, B.; DE LAUZON-GUILLAIN, B.; LIORET, S. *et al.* Early origins of metabolic and overall health in young adults: An outcome-wide analysis in a general cohort population. **Diabetes & Metabolism**, 49, n. 2, p. 101414, 2023.
- ANGULO, P.; MACHADO, M. V.; DIEHL, A. M., 2015, **Fibrosis in nonalcoholic Fatty liver disease: mechanisms and clinical implications**. Thieme Medical Publishers. 132-145.
- ANTUNES, C.; AZADFARD, M.; HOILAT, G. Fatty Liver.[Updated 2023 Jan 1]. **StatPearls [Internet]**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.
- ANWER, T. Melatonin ameliorates hyperinsulinemia, glucose intolerance and insulin resistance in STZ-Nicotinamide induced type 2 diabetic rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 6, n. 2, p. 133-136, 2014.

AREF, A.-B. M.; AHMED, O. M.; ALI, L. A.; SEMMLER, M. Maternal rat diabetes mellitus deleteriously affects insulin sensitivity and Beta-cell function in the offspring. **Journal of diabetes research**, 2013, 2013.

ARMISTEAD, B.; JOHNSON, E.; VANDERKAMP, R.; KULA-EVERSOLE, E. *et al.* Placental regulation of energy homeostasis during human pregnancy. **Endocrinology**, 161, n. 7, p. bqaa076, 2020.

ARSA, G.; LIMA, L.; ALMEIDA, S. S. d.; MOREIRA, S. R. *et al.* Diabetes Mellitus tipo 2: Aspectos fisiológicos, genéticos e formas de exercício físico para seu controle. **Rev bras cineantropom desempenho hum**, 11, n. 1, p. 103-111, 2009.

AVIEL-SHEKLER, K.; HAMSHAWI, Y.; SIRHAN, W.; GETSELTER, D. *et al.* Gestational diabetes induces behavioral and brain gene transcription dysregulation in adult offspring. **Translational psychiatry**, 10, n. 1, p. 412, 2020.

BARKER, D. J.; OSMOND, C.; GOLDING, J.; KUH, D. *et al.* Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. **British Medical Journal**, 298, n. 6673, p. 564-567, 1989.

BARMA, P.; BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, A.; KUNDU, R. *et al.* Lipid induced overexpression of NF- $\kappa$ B in skeletal muscle cells is linked to insulin resistance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 1792, n. 3, p. 190-200, 2009.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; FOWKES, R. C.; STICKLAND, N. C. A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat offspring. **Endocrinology**, 151, n. 4, p. 1451-1461, 2010.

BELLO-CHAVOLLA, O. Y.; ANTONIO-VILLA, N. E.; VARGAS-VÁZQUEZ, A.; ÁVILA-FUNES, J. A. *et al.* Pathophysiological mechanisms linking type 2 diabetes and dementia: review of evidence from clinical, translational and epidemiological research. **Current diabetes reviews**, 15, n. 6, p. 456-470, 2019.

BEQUER, L.; GÓMEZ, T.; MOLINA, J. L.; ARTILES, D. *et al.* Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. **Biomédica**, 36, n. 2, p. 230-238, 2016.

BERNARDIS, L.; PATTERSON, B. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, 40, n. 4, p. 527-528, 1968.

BOLOKER, J.; GERTZ, S. J.; SIMMONS, R. A. Gestational diabetes leads to the development of diabetes in adulthood in the rat. **Diabetes**, 51, n. 5, p. 1499-1506, 2002.

BOTHE, G. W., 2010, **Revisiting Poiley: An improved rotational breeding method**. AMER ASSOC LABORATORY ANIMAL SCIENCE 9190 CRESTWYN HILLS DR, MEMPHIS, TN .... 707-708.

BRAWERMAN, G. M.; DOLINSKY, V. W. Therapies for gestational diabetes and their implications for maternal and offspring health: Evidence from human and animal studies. **Pharmacological Research**, 130, p. 52-73, 2018.

BRINGHENTI, I.; ORNELLAS, F.; MARTINS, M. A.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. *et al.* Early hepatic insult in the offspring of obese maternal mice. **Nutrition Research**, 35, n. 2, p. 136-145, 2015.

BROWN, F. M.; WYCKOFF, J. Application of one-step IADPSG versus two-step diagnostic criteria for gestational diabetes in the real world: impact on health services, clinical care, and outcomes. **Current Diabetes Reports**, 17, p. 1-13, 2017.

BROWN, G. T.; KLEINER, D. E. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. **Metabolism**, 65, n. 8, p. 1080-1086, 2016.

BROWNING, J. D.; SZCZEPANIAK, L. S.; DOBBINS, R.; HORTON, J. D. *et al.* Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. **Hepatology**, 40, n. 6, p. 1387-1395, 2004.

BUENO, A. F. Análise da Proteína Quinase Fosforilada (P-AKT) e do Fator de Transcrição Nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) no quadríceps de ratos com cirrose induzida pelo modelo de ligadura do ducto biliar submetidos a um treinamento de exercício físico. 2023.

BYRNE, C. D.; TARGHER, G. NAFLD: a multisystem disease. **Journal of hepatology**, 62, n. 1, p. S47-S64, 2015.

CALUWAERTS, S.; HOLEMANS, K.; VAN BREE, R.; VERHAEGHE, J. *et al.* Is low-dose streptozotocin in rats an adequate model for gestational diabetes mellitus? **The Journal of the Society for Gynecologic Investigation: JSGI**, 10, n. 4, p. 216-221, 2003.

CAMPRUBI ROBLES, M.; CAMPOY, C.; GARCIA FERNANDEZ, L.; LOPEZ-PEDROSA, J. M. *et al.* Maternal diabetes and cognitive performance in the offspring: a systematic review and meta-analysis. **PloS one**, 10, n. 11, p. e0142583, 2015.

CANO, R.; PÉREZ, J. L.; DÁVILA, L. A.; ORTEGA, Á. *et al.* Role of endocrine-disrupting chemicals in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease: a comprehensive review. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, n. 9, p. 4807, 2021.

CARVALHEIRA, J. B.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. Vias de sinalização da insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 46, p. 419-425, 2002.

CARVALHO, E. N. d.; CARVALHO, N. A. S. d.; FERREIRA, L. M. Modelo experimental de indução do diabetes mellitus em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 18, p. 60-64, 2003.

CAVALCANTI, C. L.; GONÇALVES, M. C. R.; ALVES, A. F.; DE ARAÚJO, E. V. *et al.* Antidepressant, anxiolytic and neuroprotective activities of two zinc compounds in diabetic rats. **Frontiers in neuroscience**, 13, p. 1411, 2020.

CHANDNA, A.; KUHLMANN, N.; BRYCE, C.; GREBA, Q. *et al.* Chronic maternal hyperglycemia induced during mid-pregnancy in rats increases RAGE expression, augments hippocampal excitability, and alters behavior of the offspring. **Neuroscience**, 303, p. 241-260, 2015.

CHARLTON, M.; KRISHNAN, A.; VIKER, K.; SANDERSON, S. *et al.* Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, 301, n. 5, p. G825-834, Nov 2011.

CHAVATTE-PALMER, P.; TARRADE, A.; ROUSSEAU-RALLIARD, D. Diet before and during pregnancy and offspring health: the importance of animal models and what can be learned from them. **International journal of environmental research and public health**, 13, n. 6, p. 586, 2016.

CHEN, G.-C.; HUANG, C.-Y.; CHANG, M.-Y.; CHEN, C.-H. *et al.* Two unhealthy dietary habits featuring a high fat content and a sucrose-containing beverage intake, alone or in combination, on inducing metabolic syndrome in Wistar rats and C57BL/6J mice. **Metabolism**, 60, n. 2, p. 155-164, 2011.

CHOUDHURY, A. A.; RAJESWARI, V. D. Gestational diabetes mellitus-A metabolic and reproductive disorder. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 143, p. 112183, 2021.

COLOVATI, V. L. V. E. **Exposições ambientais pré-natal, mecanismos epigenéticos e placentários como resposta e a relação com desfechos de crescimento e neurodesenvolvimento**. 2020. -, Universidade de São Paulo.

CORREIA, S. C.; SANTOS, R. X.; CARVALHO, C.; CARDOSO, S. *et al.* Insulin signaling, glucose metabolism and mitochondria: major players in Alzheimer's disease and diabetes interrelation. **Brain research**, 1441, p. 64-78, 2012.

DA CRUZ, L. L.; BARCO, V. S.; PAULA, V. G.; GALLEGO, F. Q. *et al.* Severe Diabetes Induction as a Generational Model for Growth Restriction of Rat. **Reproductive Sciences**, p. 1-13, 2023.

DA SILVA, F. G.; DA SILVA, L. A. M.; OLIVEIRA, K. S. M.; VIEIRA, J. L. *et al.* Risco de doença de alzheimer em idosos com diabetes mellitus tipo 2: uma revisão sistemática/Risk of alzheimer's disease in elderly with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. **Brazilian Journal of Development**, 7, n. 8, p. 80491-80508, 2021.

DAMASCENO, D. C.; SINZATO, Y.; BUENO, A.; NETTO, A. *et al.* Mild diabetes models and their maternal-fetal repercussions. **Journal of diabetes research**, 2013, 2013.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; CALDERON, I. d. M. P.; RUDGE, M. V. C. Oxidative stress and diabetes in pregnant rats. **Animal reproduction science**, 72, n. 3-4, p. 235-244, 2002.

DE ASIS-CRUZ, J.; ANDESCAVAGE, N.; LIMPEROPOULOS, C. Adverse prenatal exposures and fetal brain development: insights from advanced fetal magnetic resonance imaging. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, 7, n. 5, p. 480-490, 2022.

DE LA MONTE, S. M.; WANDS, J. R. Alzheimer's disease is type 3 diabetes—evidence reviewed. **Journal of diabetes science and technology**, 2, n. 6, p. 1101-1113, 2008.

DE OLIVEIRA, L. B.; DOS SANTOS TORRES, M. R. Prevalência de doença hepática gordurosa não alcoólica apontada por ultrassonografia em pacientes com diabetes tipo 2 hospitalizados. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, 20, n. 2, p. 307-313, 2021.

DESISTO, C. L.; KIM, S. Y.; SHARMA, A. J. Peer reviewed: Prevalence estimates of gestational diabetes mellitus in the United States, pregnancy risk assessment monitoring system (prams), 2007–2010. **Preventing chronic disease**, 11, 2014.

DEVRAJ, K.; KLINGER, M. E.; MYERS, R. L.; MOKASHI, A. *et al.* GLUT - 1 glucose transporters in the blood–brain barrier: Differential phosphorylation. **Journal of neuroscience research**, 89, n. 12, p. 1913-1925, 2011.



DEWIDAR, B.; KAHL, S.; PAFILI, K.; RODEN, M. Metabolic liver disease in diabetes—from mechanisms to clinical trials. **Metabolism**, 111, p. 154299, 2020.

DI GESÙ, C. M.; MATZ, L. M.; BOLDING, I. J.; FULTZ, R. *et al.* Maternal gut microbiota mediate intergenerational effects of high-fat diet on descendant social behavior. **Cell reports**, 41, n. 2, 2022.

DONG, X.; LIN, D.; SHENG, J.; XIE, Y. Intrauterine hyperglycemia induces liver inflammation in mouse male offspring. **International Immunopharmacology**, 99, p. 107974, 2021.

EL-SAYYAD, H. I.; AL-HAGGAR, M. M.; EL-GHAWET, H. A.; BAKR, I. H. Effect of maternal diabetes and hypercholesterolemia on fetal liver of albino Wistar rats. **Nutrition**, 30, n. 3, p. 326-336, 2014.

ENNACEUR, A.; MELIANI, K. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. **Behavioural brain research**, 51, n. 1, p. 83-92, 1992.

FACCIOTTI, P. R.; RICCI, R. E.; MARIA, D. A.; BERTOLINI, M. *et al.* Patterns of cell proliferation and apoptosis by topographic region in normal *Bos taurus* vs. *Bos indicus* crossbreeds bovine placentae during pregnancy. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 7, n. 1, p. 1-7, 2009.

FATANI, S.; ITUA, I.; CLARK, P.; WONG, C. *et al.* The effects of diet-induced obesity on hepatocyte insulin signaling pathways and induction of non-alcoholic liver damage. **International Journal of General Medicine**, p. 211-219, 2011.

FERNANDES-LIMA, F.; MONTE, T. L. R. G.; NASCIMENTO, F. A. d. M.; GREGÓRIO, B. M. Short Exposure to a High-Sucrose Diet and the First 'Hit' of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. **Cells Tissues Organs**, 201, n. 6, p. 464-472, 2016.

FERNANDES, R. S. R.; SIMÕES, A. F. B.; FIGUEIREDO, A. C. N.; RIBEIRO, A. R. S. *et al.* Prognóstico obstétrico de pacientes portadoras de diabetes mellitus pré-gestacional. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 34, p. 494-498, 2012.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; HJORT, L.; NOVAKOVIC, B.; OZANNE, S. E. *et al.* Intrauterine programming of obesity and type 2 diabetes. **Diabetologia**, 62, p. 1789-1801, 2019.

FERRARI, F.; BOCK, P. M.; MOTTA, M. T.; HELAL, L. Mecanismos bioquímicos e moleculares da captação da glicose estimulada pelo exercício físico no estado de resistência à insulina: papel da inflamação. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 113, p. 1139-1148, 2019.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Experimental models in research. **Acta Cir Bras**, 20, n. Suppl 2, p. 28-34, 2005.

FLISTER, K. F. T.; PINTO, B. A. S.; FRANÇA, L. M.; COELHO, C. F. F. *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. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 62, p. 155-166, 2018.

FLISTER, K. F. T.; PINTO, B. A. S.; FRANÇA, L. M.; COELHO, C. F. F. *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**, 62, p. 155-166, Dec 2018.

FORMIGA, F.; REÑE, R.; PÉREZ-MARAVÉ, M. Demencia y diabetes: ¿relación casual o causal? **Medicina Clínica**, 144, n. 4, p. 176-180, 2015.

FRANÇA, L. M.; DOS SANTOS, P. C.; BARROSO, W. A.; GONDIM, R. S. D. *et al.* Post-weaning exposure to high-sucrose diet induces early non-alcoholic fatty liver disease onset and progression in male mice: role of dysfunctional white adipose tissue. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, 11, n. 5, p. 509-520, 2020.

FRANZAGO, M.; FRATICELLI, F.; STUPPIA, L.; VITACOLONNA, E. Nutrigenetics, epigenetics and gestational diabetes: consequences in mother and child. **Epigenetics**, 14, n. 3, p. 215-235, 2019.

FRIESEN, H. G. Human placental lactogen and human pituitary prolactin. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, 14, n. 3, p. 669-684, 1971.

GAO, X.; HE, J.; ZHU, A.; XIE, K. *et al.* Modelling gestational diabetes mellitus: large animals hold great promise. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, 22, p. 407-420, 2021.

GARGIULO, A. H. **Ciência da disseminação em DOHaD para a promoção da saúde nas futuras gerações**. 2022. -, Universidade de São Paulo.

GAUSTER, M.; DESOYE, G.; TÖTSCH, M.; HIDEN, U. The placenta and gestational diabetes mellitus. **Current diabetes reports**, 12, p. 16-23, 2012.

GHASSIBE-SABBAGH, M.; MEHANNA, Z.; ABI FARRAJ, L.; SALLOUM, A. K. *et al.* Gestational diabetes mellitus and macrosomia predispose to diabetes in the Lebanese population. **Journal of clinical & translational endocrinology**, 16, p. 100185, 2019.

GREGÓRIO, L. C.; PITANGA, F. H. Endocrinopatias prevalentes em indivíduos com Síndrome de Down em um município do Meio Oeste Catarinense. **Seven Editora**, 2023.

GUARIGUATA, L. By the numbers: new estimates from the IDF Diabetes Atlas Update for 2012. **Diabetes research and clinical practice**, 98, n. 3, p. 524-525, 2012.

GUDE, N. M.; ROBERTS, C. T.; KALIONIS, B.; KING, R. G. Growth and function of the normal human placenta. **Thrombosis research**, 114, n. 5-6, p. 397-407, 2004.

GUERRERO-ROMERO, F.; SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; GONZALEZ-ORTIZ, M.; MARTÍNEZ-ABUNDIS, E. *et al.* The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 95, n. 7, p. 3347-3351, 2010.

GUO, S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models to disease mechanisms. **The Journal of endocrinology**, 220, n. 2, p. T1, 2014.

GUY, C. D.; SUZUKI, A.; ABDELMALEK, M. F.; BURCHETTE, J. L. *et al.* Treatment response in the PIVENS trial is associated with decreased Hedgehog pathway activity. **Hepatology**, 61, n. 1, p. 98-107, 2015.

HALL, C.; BALLACHEY, E. L. A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. **University of California Publications in Psychology**, 1932.

HAMEED, I.; MASOODI, S. R.; MIR, S. A.; NABI, M. *et al.* Type 2 diabetes mellitus: from a metabolic disorder to an inflammatory condition. **World journal of diabetes**, 6, n. 4, p. 598, 2015.

HARMANCI OĞLU, B.; KABARAN, S. Maternal high fat diets: impacts on offspring obesity and epigenetic hypothalamic programming. **Frontiers in Genetics**, 14, p. 1158089, 2023.

HELLGREN, L. I.; JENSEN, R. I.; WATERSTRADT, M. S.; QUISTORFF, B. *et al.* Acute and perinatal programming effects of a fat - rich diet on rat muscle mitochondrial function and hepatic lipid accumulation. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, 93, n. 11, p. 1170-1180, 2014.

HERRERA, E.; DESOYE, G. Maternal and fetal lipid metabolism under normal and gestational diabetic conditions. **Hormone molecular biology and clinical investigation**, 26, n. 2, p. 109-127, 2016.

HILL, D. J. Placental control of metabolic adaptations in the mother for an optimal pregnancy outcome. What goes wrong in gestational diabetes? **Placenta**, 69, p. 162-168, 2018.

HOCHMAN, B.; FERREIRA, L. M.; BÔAS, F. C. V.; MARIANO, M. Experimental model in hamster (*Mesocricetus auratus*) to study heterologous graft of scars and cutaneous diseases in plastic surgery. **Acta Cirurgica Brasileira**, 19, p. 69-78, 2004.

HOFFMAN, D. J. Childhood Growth and Adult Health: Is It Time to Modify the Methods Used to Study Growth? **The Journal of Nutrition**, 152, n. 8, p. 1803-1804, 2022.

HOFFMAN, D. J.; POWELL, T. L.; BARRETT, E. S.; HARDY, D. B. Developmental origins of metabolic diseases. **Physiological reviews**, 101, n. 3, p. 739-795, 2021.

HOLEMANS, K.; AERTS, L.; VAN ASSCHE, F. A. Fetal growth restriction and consequences for the offspring in animal models. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, 10, n. 7, p. 392-399, 2003.

HOYER, S. Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. **European journal of pharmacology**, 490, n. 1-3, p. 115-125, 2004.

HUERTA-CERVANTES, M.; PEÑA-MONTES, D. J.; MONTOYA-PÉREZ, R.; TRUJILLO, X. *et al.* Gestational diabetes triggers oxidative stress in hippocampus and cerebral cortex and cognitive behavior modifications in rat offspring: Age- and sex-dependent effects. **Nutrients**, 12, n. 2, p. 376, 2020.

HUSSAIN, Y.; JAIN, S. K.; SAMAIYA, P. K. Short-term westernized (HFFD) diet fed in adolescent rats: Effect on glucose homeostasis, hippocampal insulin signaling, apoptosis and related cognitive and recognition memory function. **Behavioural brain research**, 361, p. 113-121, 2019.

JAWERBAUM, A.; WHITE, V. Review on intrauterine programming: consequences in rodent models of mild diabetes and mild fat overfeeding are not mild. **Placenta**, 52, p. 21-32, 2017.

JEON, Y. G.; KIM, Y. Y.; LEE, G.; KIM, J. B. Physiological and pathological roles of lipogenesis. **Nature Metabolism**, p. 1-25, 2023.

JIN, C.; FLAVELL, R. A. Innate sensors of pathogen and stress: linking inflammation to obesity. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 132, n. 2, p. 287-294, 2013.

JOHNS, E. C.; DENISON, F. C.; NORMAN, J. E.; REYNOLDS, R. M. Gestational diabetes mellitus: mechanisms, treatment, and complications. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, 29, n. 11, p. 743-754, 2018.

JOHNSON, R. J.; SÁNCHEZ - LOZADA, L. G.; LANASPA, M. A. The fructose survival hypothesis as a mechanism for unifying the various obesity hypotheses. **Obesity**, 32, n. 1, p. 12-22, 2024.

JURDAK, N.; KANAREK, R. B. Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. **Physiology & behavior**, 96, n. 1, p. 1-5, 2009.

JURDAK, N.; LICHTENSTEIN, A. H.; KANAREK, R. B. Diet-induced obesity and spatial cognition in young male rats. **Nutritional neuroscience**, 11, n. 2, p. 48-54, 2008.

KAMAL, A.; RAMAKERS, G. M.; GISPEN, W. H.; BIESSELS, G. J. *et al.* Hyperinsulinemia in rats causes impairment of spatial memory and learning with defects in hippocampal synaptic plasticity by involvement of postsynaptic mechanisms. **Experimental brain research**, 226, p. 45-51, 2013.

KAPPEN, C.; KRUGER, C.; JONES, S.; HERION, N. J. *et al.* Maternal diet modulates placental nutrient transporter gene expression in a mouse model of diabetic pregnancy. **PLoS One**, 14, n. 11, p. e0224754, 2019.

KAPPEN, C.; KRUGER, C.; JONES, S.; SALBAUM, J. M. Nutrient Transporter Gene Expression in the Early Conceptus—Implications From Two Mouse Models of Diabetic Pregnancy. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 10, p. 777844, 2022.

KISS, A. C. I.; WOODSIDE, B.; FELÍCIO, L. F.; ANSELMO-FRANCI, J. *et al.* Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development and behavior of Wistar rats. **Physiology & behavior**, 107, n. 3, p. 292-300, 2012.

KLINGER, M. K.; DE MORAES, M. A.; SHIRASSU, M. M.; RIBEIRO, A. B. *et al.* Diabetes mellitus e recomendações frente à Covid-19. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, 17, n. 202, p. 49-54, 2020.

KORALEGEDARA, I. S.; WARNASEKARA, J. N.; DAYARATNE, K. G.; DE SILVA, F. N. *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a significant predictor of gestational diabetes mellitus (GDM) and early pregnancy miscarriages—prospective study in Rajarata Pregnancy Cohort (RaPCo). **BMJ Open Gastroenterology**, 9, n. 1, p. e000831, 2022.

LAIN, K. Y.; CATALANO, P. M. Metabolic changes in pregnancy. **Clinical obstetrics and gynecology**, 50, n. 4, p. 938-948, 2007.

LECOUTRE, S.; MONTEL, V.; VALLEZ, E.; POURPE, C. *et al.* Transcription profiling in the liver of undernourished male rat offspring reveals altered lipid metabolism pathways and predisposition to hepatic steatosis. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 317, n. 6, p. E1094-E1107, 2019.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, 51, n. 2, p. 216-226, 2008.

LI, X.; SONG, D.; LENG, S. X. Link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease: from epidemiology to mechanism and treatment. **Clinical interventions in aging**, p. 549-560, 2015.

LI, Y. Y.; ZHENG, T. L.; XIAO, S. Y.; WANG, P. *et al.* Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: Dilemmas and future directions. **Liver International**, 2023.

LIEBER, C. S.; LEO, M. A.; MAK, K. M.; XU, Y. *et al.* Model of nonalcoholic steatohepatitis. **Am J Clin Nutr**, 79, n. 3, p. 502-509, Mar 2004.

LÓPEZ-SOLDADO, I.; HERRERA, E. Different diabetogenic response to moderate doses of streptozotocin in pregnant rats, and its long-term consequences in the offspring. **Journal of Diabetes Research**, 4, p. 107-118, 2003.

LUMEY, L.; STEIN, A. D.; KAHN, H. S.; VAN DER PAL-DE BRUIN, K. M. *et al.* Cohort profile: the Dutch Hunger Winter families study. **International journal of epidemiology**, 36, n. 6, p. 1196-1204, 2007.

MA, R. C.; TUTINO, G. E.; LILLYCROP, K. A.; HANSON, M. A. *et al.* Maternal diabetes, gestational diabetes and the role of epigenetics in their long term effects on

offspring. **Progress in biophysics and molecular biology**, 118, n. 1-2, p. 55-68, 2015.

MAMIKUTTY, N.; THENT, Z. C.; SAPRI, S. R.; SAHRUDDIN, N. N. *et al.* The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. **Biomed Res Int**, 2014, p. 263897, 2014.

MANA, M. F. **Doença hepática gordurosa não alcoólica em pacientes com diabetes mellitus tipo 2: fatores associados, papel dos polimorfismos PNPLA3 e FGF21 e biomarcadores séricos**. 2021. -, [sn].

MASCHIO, B. H.; LAURINO, L. F.; VIROEL, F. J. M.; GERENUTTI, M. Protocolos perinatais empregados para a avaliação do diabetes mellitus gestacional induzido por estreptozotocina em ratas. **R. Soc. bras. Ci. Anim. Lab.**, p. 76-95, 2017.

MAURICE, J.; MANOUSOU, P. Non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical medicine**, 18, n. 3, p. 245, 2018.

MCINTYRE, H. D.; CATALANO, P.; ZHANG, C.; DESOYE, G. *et al.* Gestational diabetes mellitus. **Nature reviews Disease primers**, 5, n. 1, p. 47, 2019.

METZGER, B.; COUSTAN, D. Committee O. Summary and recommendations of the fourth international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. **Diabetes care**, 21, p. B161, 1998.

MONTENEGRO JR, R.; CHAVES, M.; FERNANDES, V. Fisiologia pancreática: Pâncreas endócrino. 2016.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of neuroscience methods**, 11, n. 1, p. 47-60, 1984.

MOURA, A. S. Janelas críticas para programação metabólica e epigênese transgeracional. **Kac G, Sichieri R, Gigante DP. Epidemiologia nutricional. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, Atheneu**, p. 543-551, 2007.

ND, A. M. Non-alcoholic fatty liver disease, an overview. **Integrative Medicine: A Clinician's Journal**, 18, n. 2, p. 42, 2019.

NGUYEN, T. T.; TA, Q. T. H.; NGUYEN, T. K. O.; NGUYEN, T. T. D. *et al.* Type 3 diabetes and its role implications in Alzheimer's disease. **International journal of molecular sciences**, 21, n. 9, p. 3165, 2020.

OBEN, J. A.; MOURALIDARANE, A.; SAMUELSSON, A.-M.; MATTHEWS, P. J. *et al.* Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. **Journal of hepatology**, 52, n. 6, p. 913-920, 2010.

OHTA, T.; TORINIWA, Y.; RYUMON, N.; INABA, N. *et al.* Maternal high-fat diet promotes onset of diabetes in rat offspring. **Anim Sci J**, 88, n. 1, p. 149-155, Jan 2017.

ORGANIZATION, W. H. **World Health Statistics 2016 [OP]: Monitoring Health for the Sustainable Development Goals (SDGs)**. World Health Organization, 2016. 9241565268.

PARRETTINI, S.; CAROLI, A.; TORLONE, E. Nutrition and metabolic adaptations in physiological and complicated pregnancy: focus on obesity and gestational diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, 11, p. 611929, 2020.

PAULA, V. G.; SINZATO, Y. K.; DE MORAES-SOUZA, R. Q.; SOARES, T. S. *et al.* Metabolic changes in female rats exposed to intrauterine hyperglycemia and postweaning consumption of high-fat diet. **Biology of reproduction**, 106, n. 1, p. 200-212, 2022.

PAVLOVIC, M.; CARVAJAL, J. Hipoglicemiantes orales para el tratamiento de la diabetes mellitus gestacional: Revisión sistemática de la literatura. **Revista chilena de obstetricia y ginecología**, 78, n. 3, p. 167-178, 2013.

PETERSEN, M. C.; SHULMAN, G. I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. **Physiological reviews**, 2018.

PINHEIRO, L. G. V.; SOARES, C. L. R.; LIMA, B. L. O.; SANCHES, N. M. *et al.* Obesidade, gestação e complicações maternas e neonatais: uma revisão sistemática: Obesidade, gestação e complicações maternas e neonatais. **Scientific Electronic Archives**, 16, n. 4, 2023.

PINTO; MELO, T. M.; FLISTER, K. F.; FRANÇA, L. M. *et al.* Early and sustained exposure to high-sucrose diet triggers hippocampal ER stress in young rats. **Metab Brain Dis**, 31, n. 4, p. 917-927, Aug 2016.

PINTO; MELO, T. M.; FLISTER, K. F. T.; FRANÇA, L. M. *et al.* Hippocampal Endoplasmic Reticulum Stress Hastens Motor and Cognitive Decline in Adult Male Rats Sustainably Exposed to High-Sucrose Diet. **Antioxidants**, 11, n. 7, p. 1395, 2022.



QUEIROZ, H. S. N. M. d. Estudo dos efeitos do diabetes mellitus materno sobre as propriedades miogênicas, mecânicas e estruturas de artérias de ratos. 2020.

RADFORD, B.; HAN, V. Offspring from maternal nutrient restriction in mice show variations in adult glucose metabolism similar to human fetal growth restriction. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, 10, n. 4, p. 469-478, 2019.

RANGWALA, F.; GUY, C. D.; LU, J.; SUZUKI, A. *et al.* Increased production of sonic hedgehog by ballooned hepatocytes. **The Journal of pathology**, 224, n. 3, p. 401-410, 2011.

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**, 295, n. 7, p. 349-353, 1976.

RHEE, E.-J. Nonalcoholic fatty liver disease and diabetes: an epidemiological perspective. **Endocrinology and metabolism**, 34, n. 3, p. 226-233, 2019.

RODACKI, M.; TELES, M.; GABBAY, M.; MONTENEGRO, R. *et al.* Classificação do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, p. 557753.552022-557751, 2022.

RUDGE, M. V. C.; CALDERON, I. d. M. P. A responsabilidade do obstetra sobre o diagnóstico e o tratamento do diabetes melito gestacional. : SciELO Brasil. 28: 571-574 p. 2006.

RYAN, E. A. Hormones and insulin resistance during pregnancy. **The Lancet**, 362, n. 9398, p. 1777-1778, 2003.

SAITO, F. H.; DAMASCENO, D. C.; KEMPINAS, W. G.; MORCELI, G. *et al.* Research Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development. 2010.

SANTOS, G. M. R. F. d. Diabetes gestacional induzido por estreptozotocina: contribuição do estresse oxidativo e da enzima NADPH oxidase no desenvolvimento de lesões cardiovasculares na prole. 2017.

SAPRA, A.; BHANDARI, P. Diabetes. *In: StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Priyanka Bhandari declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing

Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC., 2024.

SAVVA, G. M.; WHARTON, S. B.; INCE, P. G.; FORSTER, G. *et al.* Age, neuropathology, and dementia. **N Engl J Med**, 360, n. 22, p. 2302-2309, May 28 2009.

SCHILLING, M. A. Unraveling Alzheimer's: making sense of the relationship between diabetes and Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's disease**, 51, n. 4, p. 961-977, 2016.

SHALIMOVA, A.; GRAFF, B.; GAŁECKI, D.; WOLF, J. *et al.* Cognitive dysfunction in type 1 diabetes mellitus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 104, n. 6, p. 2239-2249, 2019.

SIBIAK, R.; JANKOWSKI, M.; GUTAJ, P.; MOZDZIAK, P. *et al.* Placental lactogen as a marker of maternal obesity, diabetes, and fetal growth abnormalities: current knowledge and clinical perspectives. **Journal of Clinical Medicine**, 9, n. 4, p. 1142, 2020.

SINZATO, Y. K.; LIMA, P. H. O.; CAMPOS, K. E. d.; KISS, A. C. I. *et al.* Neonatally-induced diabetes: lipid profile outcomes and oxidative stress status in adult rats. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 55, p. 384-388, 2009.

SOFTIC, S.; GUPTA, M. K.; WANG, G.-X.; FUJISAKA, S. *et al.* Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling. **The Journal of clinical investigation**, 127, n. 11, p. 4059-4074, 2017.

SOLINAS, G.; BECATTINI, B. JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response. **Molecular metabolism**, 6, n. 2, p. 174-184, 2017.

SONG, M. J.; KIM, K. H.; YOON, J. M.; KIM, J. B. Activation of Toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes. **Biochemical and biophysical research communications**, 346, n. 3, p. 739-745, 2006.

SOUSA, R. M. L.; RIBEIRO, N. L. X.; PINTO, B. A. S.; SANCHES, J. R. *et al.* Long-term high-protein diet intake reverts weight gain and attenuates metabolic dysfunction on high-sucrose-fed adult rats. **Nutrition & metabolism**, 15, p. 1-13, 2018.

SPADOTTO, R.; DAMASCENO, D. C.; GODINHO, A. F.; AMORIM, E. M. P. *et al.* Reproductive physiology, and physical and sexual development of female offspring born to diabetic dams. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 56, p. 96-103, 2012.

STRANAHAN, A. M.; NORMAN, E. D.; LEE, K.; CUTLER, R. G. *et al.* Diet - induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle - aged rats. **Hippocampus**, 18, n. 11, p. 1085-1088, 2008.

TAHRI-JOUTEY, M.; ANDREOLETTI, P.; SURAPUREDDI, S.; NASSER, B. *et al.* Mechanisms Mediating the Regulation of Peroxisomal Fatty Acid Beta-Oxidation by PPAR $\alpha$ . **Int J Mol Sci**, 22, n. 16, Aug 20 2021.

TAKADA, J.; MACHADO, M. A.; PERES, S. B.; BRITO, L. C. *et al.* Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. **Metabolism**, 56, n. 7, p. 977-984, 2007.

TAPPY, L.; LÊ, K.-A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. **Physiological reviews**, 2010.

TARICCO, E.; RADAELLI, T.; DE SANTIS, M. N.; CETIN, I. Foetal and placental weights in relation to maternal characteristics in gestational diabetes. **Placenta**, 24, n. 4, p. 343-347, 2003.

TELES, L. d. F. d. S. **Relação entre ganho de peso gestacional e composição corporal do conceito**. 2021. -, Universidade de São Paulo.

VAN ASSCHE, F. A.; HOLEMANS, K.; AERTS, L. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. **British medical bulletin**, 60, n. 1, p. 173-182, 2001.

WATANABE, Y.; NAGAI, Y.; TAKATSU, K. Activation and regulation of the pattern recognition receptors in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance. **Nutrients**, 5, n. 9, p. 3757-3778, 2013.

WAYHS, C. A. Y.; MANFREDINI, V.; SITTA, A.; DEON, M. *et al.* Protein and lipid oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats submitted to forced swimming test: the insulin and clonazepam effect. **Metabolic Brain Disease**, 25, p. 297-304, 2010.

YAN, J.; YANG, H. Gestational diabetes mellitus, programing and epigenetics. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, 27, n. 12, p. 1266-1269, 2014.

YOUNOSSI, Z.; TACKE, F.; ARRESE, M.; CHANDER SHARMA, B. *et al.* Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology**, 69, n. 6, p. 2672-2682, 2019.

YOUNOSSI, Z. M.; KOENIG, A. B.; ABDELATIF, D.; FAZEL, Y. *et al.* Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta - analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. **Hepatology**, 64, n. 1, p. 73-84, 2016.

YOUNOSSI, Z. M.; NOUREDDIN, M.; BERNSTEIN, D.; KWO, P. *et al.* Role of noninvasive tests in clinical gastroenterology practices to identify patients with nonalcoholic steatohepatitis at high risk of adverse outcomes: expert panel recommendations. **Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG**, 116, n. 2, p. 254-262, 2021.

YU, C.; CHEN, S.; WANG, X.; WU, G. *et al.* Exposure to maternal diabetes induces endothelial dysfunction and hypertension in adult male rat offspring. **Microvascular Research**, 133, p. 104076, 2021.

ZAJDENVERG, L.; FAÇANHA, C. F. S.; DUALIB, P. M.; GOLBERT, A. *et al.* Rastreamento e diagnóstico da hiperglicemia na gestação. **Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2022.

ZAKARIA, R.; ISMAIL, Z.; CHATTERJEE, A. Effects of diabetes on fetoplacental growth and fetal outcome in pregnant rats. **Biomed Res**, 12, n. 2, p. 165-168, 2001.

ZHANG, X.; WANG, Y.; XIAO, W.; JIANG, D. *et al.* Hyperglycaemia in pregnancy and offspring blood pressure: a systematic review and meta-analysis. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, 15, n. 1, p. 10, 2023.

ZHU, B.; CHAN, S.-L.; LI, J.; LI, K. *et al.* Non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis, diagnosis, and treatment. **Frontiers in cardiovascular medicine**, 8, p. 742382, 2021.

ZHU, Y.; ZHANG, C. Prevalence of gestational diabetes and risk of progression to type 2 diabetes: a global perspective. **Current diabetes reports**, 16, p. 1-11, 2016.

