

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

WENICIOS FERREIRA CHAVES

**EXPOSIÇÃO MATERNA À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA E
ADMINISTRAÇÃO NEONATAL DE KAEMPFEROL:** Aspectos somáticos, bioquímicos
e do comportamento alimentar.

Recife

2020

WENICIOS FERREIRA CHAVES

**EXPOSIÇÃO MATERNA À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA E
ADMINISTRAÇÃO NEONATAL DE KAEMPFEROL: Aspectos somáticos, bioquímicos
e do comportamento alimentar.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Nutrição.

Área de concentração: Bases experimentais da Nutrição

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

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Isabeli Lins Pinheiro

Recife

2020

C512e Chaves, Wenícios Ferreira
Exposição materna à dieta hipercalórica e hiperlipídica e administração neonatal de Kaempferol: aspectos somáticos, bioquímicos e do comportamento alimentar / Wenícios Ferreira Chaves. – 2020.
91 f.; il.

Orientadora: Raquel da Silva Aragão.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Nutrição. Recife, 2020.
Inclui referências e anexos

1. Dieta hiperlipídica. 2. Obesidade. 3. Polifenóis. 4. Perfil bioquímico. 5. Sequência Comportamental de Siedade. I. Aragão, Raquel da Silva (orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2020 - 019)

WENICIOS FERREIRA CHAVES

**EXPOSIÇÃO MATERNA À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA E
ADMINISTRAÇÃO NEONATAL DE KAEMPFEROL: aspectos somáticos, bioquímicos
e do comportamento alimentar.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Nutrição.

Aprovada em: 29/01/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^o Dr^o Marcio Alberto Torsoni (Examinador Externo)
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Prof^a Dr^a Gisélia de Santana Muniz (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a Dr^a Sandra Lopes de Souza (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Recife, PE

2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por guiar os meus caminhos e permitir que cada plano se concretize, colocando pessoas especiais que só me fazem evoluir mais e mais...

Agradeço imensamente aos meus pais Severino Chaves e Irenice Ferreira que mesmo diante das dificuldades da vida, não mediram esforços para que me dedicasse integralmente aos estudos. Sou grato a Deus pelo presente que é ser seu filho, me empenho a cada dia e levanto a cada tropeço para um dia retribuir todo amor e dedicação que investiram em mim. Também agradeço aos meus irmãos e demais familiares por todo apoio durante esse caminho trilhado.

À minha orientadora, Raquel Aragão, a quem me acolheu ao final da graduação e que tem a minha admiração, sempre com suas propostas instigantes e nas estimulando a buscar soluções diante das adversidades. Espero um dia ser um pesquisador tão incrível quanto você, que tem verdadeiro amor pelo que faz, apesar de todas as dificuldades e ainda conseguir transmitir esse compromisso aos meus estudantes.

À minha co-orientadora, Isabeli Lins, que topou esse desafio e que muito me ensinou e auxiliou durante essa árdua jornada, sempre tentando mostrar o lado bom das coisas e que a ciência é feita para a vida. Nossas conversas e discussões científicas me trouxeram muitos aprendizados pessoais e profissionais, fundamentais para o meu amadurecimento.

Ao prof Raul Manhães, que primeiro me deu uma oportunidade, acreditando no meu potencial e me impulsionando. Embora o senhor me considere um ~filho desnaturado~ ou cabeça dura, sei que me deseja o melhor para meu futuro. Apesar dos meus tropeços por não o ouvir em alguns momentos, eles foram fundamentais para que pudesse aprender.

Aos meus amigos Lucas Lopes e Yasmim Verçosa pela compreensão e apoio durante esses anos do mestrado, que nos afastaram fisicamente, mas nossa cumplicidade nos permitiu driblar essa distância, tornando nossos encontros cada vez melhores.

Aos meus amigos de Laboratório (Erika Cadena, Carol Cadete, Luana Olegário, Renata Santos, Thaynan Oliveira, Henrique Gouveia, Barbara Juacy, Carolina Ramos e Jacqueline Maria) com quem aprendi muito todos os dias e pude compreender que o trabalho em equipe nos faz alçar voos muito mais altos. Além disso, tornar a rotina mais leve com nossas confraternizações e festas surpresas com ou sem motivo foram fundamentais para preservar a nossa saúde mental.

À minha turma do mestrado, todos muito capacitados e verdadeiramente dedicados à ciência. Em especial aos meus amigos e futuros mestres, Keyla Torres (Kueila), Nathalia Rocha (Stefany ou Hacker), Allan Victor (Ilanvitu), Mariana Mesquita (Mari), Isabella Teodora (Bella), Regina Escorel (Reginalda), Juliana Necker (Ju), Isabella Ribeiro (Bella), José Henrique (Zé), Marcella Campos (Passarinha), e Walkeane Santos (Valdisnei, Waltinho, dentre outros nomes), vocês foram incríveis e tornaram nossa turma inesquecível. Nossos encontros com ou sem motivos, regados a muitas conversas, risadas e troca de ideias. Não tenho dúvidas que um dia alcançaremos muito mais do que almejamos, o mundo será pequeno diante de tanto talento e entrega.

Aos meus estagiários Breno José e Alvaro Nascimento que contribuíram imensamente para execução do projeto. Espero também ter contribuído para formação de vocês, assim como contribuíram para minha.

À banca por aceitar o convite e pelas contribuições que enriquecerão ainda mais o meu trabalho, sei que suas colocações serão fundamentais para alcançar a tão sonhada publicação.

Aos estudantes e docentes do LabDiMe (Laboratório de Distúrbios Metabólicos), que me receberam por duas vezes nesse último ano, proporcionando uma experiência única. Saibam que vocês não me deram escolha, não poderia ter escolhido melhor local para realizar meu doutorado.

Ao Veterinário Dr Edeones França, sempre nos ensinando a importância do compromisso e respeito aos nossos ratinhos. Também sou grato a Douglas e Sr Pedro por todo apoio prestado durante nossas atividades no biotério, vocês são excelentes profissionais.

À profª Debora Nepomuceno que nos auxiliou durante o planejamento e elaboração das dietas, sempre com seu jeito doce e sua vasta experiência.

RESUMO

A ingestão excessiva de alimentos industrializados durante o período crítico parece programar o comportamento alimentar da prole, predispondo às doenças. Estratégias nutricionais, como o uso de polifenóis, parecem exercer efeitos protetores na prole. Este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da exposição materna à dieta hipercalórica/hiperlipídica e administração neonatal de kaempferol, sobre o crescimento somático, perfil bioquímico e comportamento alimentar da prole. Ratas Wistar foram divididas de acordo com a dieta no período crítico em: Controle (C; n= 12; 12% kcal/lipídios) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; n= 12; 51% kcal/lipídios). Na prole, foi administrado veículo (V) ou kaempferol (K), do 8º ao 21º dia pós-natal (DPN). Foram mensurados o peso corporal (PC), ingestão calórica e adiposidade materna. Na prole, foram avaliados parâmetros de crescimento somático no 7º, 14º, 21º, 25º e 30º DPN, exceto o PC do 8º ao 21º e 25º ao 30º DPN. O comportamento alimentar foi avaliado pelo consumo alimentar e sequência comportamental de saciedade (SCS) no 30º DPN. Após a SCS, foram mensurados o perfil bioquímico e peso relativo de órgãos e tecidos. Em relação a dieta, não houve diferença entre grupos no PC e ingestão calórica materna, no entanto as ratas HH apresentaram maior adiposidade retroperitoneal e mesentérica. A prole HH apresentou maior peso corporal aos 21º, no entanto as medidas murinométricas foram maiores durante a lactação e pós-desmame. A dieta materna não modificou os parâmetros avaliados no comportamento alimentar da prole. Contudo, a prole HH teve o aumento do colesterol total e adiposidade no coxín retroperitoneal, mas a redução a creatinina. Enquanto ao efeito do kaempferol, a prole HHK teve maior PC entre o 15º ao 21º e 25º ao 30º DPN, enquanto o HHV do 17º ao 21º DPN. As medidas murinométricas da prole HHK foram maiores que o grupo CK em diferentes momentos da lactação e pós-desmame. Não houve diferença entre grupos na ingestão relativa, microestrutura do comportamento alimentar. Contudo, nos grupos HHK e CK houve a antecipação do ponto de saciedade se comparados aos grupos HHV e CV, respectivamente. Na prole HHK houve a redução da adiposidade no coxín retroperitoneal e da creatinina sérica no 30º DPN. Assim, o kaempferol favoreceu o crescimento somático e apesar de inalterar a estrutura do comportamento alimentar, reduziu a adiposidade e antecipou da saciedade na prole.

Palavras-chave: Dieta hiperlipídica. Obesidade. Polifenóis. Perfil bioquímico. Sequência Comportamental de Saciedade.

ABSTRACT

The excessive industrialized food intake during critic period seems to program the offspring's eating behavior, predisposing to disease. The nutritional strategies, such as polyphenols use, can to exert protective effects on offspring. This study aimed to evaluate the effects of maternal exposure to hypercaloric/hyperlipidic diet and neonatal administration of kaempferol on somatic growth, biochemical profile and feeding behavior in offspring. Wistar rats were divided according to diet in the critic period into: Control (C; n = 12; 12% kcal/lipids) or Hypercaloric/Hyperlipidic (HH; n = 12; 51% kcal/lipids). In offspring, vehicle (V) or kaempferol (K) were administered from the 8th to the 21st postnatal day (PND). Body weight (BW), caloric intake and maternal adiposity were measured. In the offspring, somatic growth parameters were evaluated at 7th, 14th, 21st, 25th and 30th DPN, except for BW from 8th to 21st and 25th to 30th PND. Eating behavior was assessed by food intake and satiety behavioral sequence (BSS) at 30th PND. After SCS, the biochemical profile and relative weight of organs and tissues were measured. In relation to diet, there was no difference between groups in BW and maternal caloric intake, however the HH rats presented higher retroperitoneal and mesenteric adiposity. The HH offspring presented higher BW at 21st, however the murinometric measurements were higher during lactation and after weaning. The maternal diet did not modify the parameters evaluated on the feeding behavior in offspring. However, HH offspring had increased total cholesterol and adiposity in retroperitoneal pad, but decreased creatinine. Meanwhile the effect of kaempferol, HHK offspring presented higher BW between 15th to 21st and 25th to 30th PDN, while the HHV of the 17th to 21st PND. The murinometric measurements of HHK offspring were higher than the CK group at different times of lactation and after weaning. There was no difference between groups in relative intake, microstructure of eating behavior. However, in HHK and CK groups there were an anticipation of satiety point compared to the HHV and CV groups, respectively. In HHK offspring, there was a reduction in adiposity in the retroperitoneal pad and serum creatinine at 30th PND. Thus, kaempferol favored somatic growth and although it did not change the structure of eating behavior, but reduced adiposity and anticipated satiety offspring.

Keywords: High-fat diet. Obesity. Polyphenols. Biochemical profile. Behavioral Satiety Sequence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Neurônios anorexígenos e orexígenos interagindo com o sistema serotoninérgico (Adaptado: HEISLER et al., 2006).....	24
Figura 2 –	Classificação dos nutrientes e não nutrientes contidos nos alimentos.....	25
Figura 3 –	Estrutura básica dos flavonoides e seus subgrupos (Adaptado de PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).....	27
Figura 4 –	Distribuição dos animais nos diferentes grupos experimentais do estudo.....	34
Figura 5 –	Delineamento experimental em ordem cronológica dos procedimentos e técnicas realizadas no estudo.....	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Evolução semanal do peso corporal e da ingestão calórica materna durante o período crítico.....	40
Gráfico 2 –	Peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal e mesentérico das ratas lactantes.....	43
Gráfico 3 –	Evolução do peso corporal da prole durante a lactação.....	44
Gráfico 4 –	Acompanhamento das medidas murinométricas da prole.....	45
Gráfico 5 –	Mensuração do consumo alimentar da prole pós-desmame.....	46
Gráfico 6 –	Tempo total gasto (%) nos comportamentos avaliados na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS).....	47
Gráfico 7 –	Determinação do ponto de saciedade avaliado na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS).....	48
Gráfico 8 –	Acompanhamento do peso corporal da prole durante a manipulação farmacológica.....	51
Gráfico 9 –	Evolução do peso corporal da prole pós-desmame.....	52
Gráfico 10 –	Acompanhamento das medidas murinométricas da prole durante a lactação.....	53
Gráfico 11 –	Medidas murinométricas da prole pós-desmame.....	55
Gráfico 12 –	Mensuração do consumo alimentar diário da prole pós-desmame cujo administração de veículo ou kaempferol ocorreu na lactação.....	56
Gráfico 13 –	Tempo total gasto (%) nos comportamentos avaliados na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) da prole cujo foi administrado veículo ou kaempferol neonatal.....	57
Gráfico 14 –	Determinação do ponto de saciedade avaliado na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) da prole cujo foi administrado veículo ou kaempferol neonatal.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição calórica e de macronutrientes das dietas experimentais.....	32
Tabela 2 –	Formulação utilizada para elaboração da dieta hipercalórica e hiperlipídica.....	32
Tabela 3 –	Caracterização das ninhadas ao nascimento.....	42
Tabela 4 –	Avaliações da microestrutura do comportamento alimentar da prole.....	49
Tabela 5 –	Peso relativo do tecido adiposo e perfil bioquímico da prole aos 30 dias.....	50
Tabela 6 –	Avaliações da microestrutura do comportamento de alimentação da prole.....	59
Tabela 7 –	Peso relativo do tecido adiposo da prole aos 30 dias.....	60

LISTA DE SIGLAS

AgRP	Peptídeo Relacionado a Agouti
A β	Amiloide Beta
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro)
CA	Circunferência Abdominal
CART	<i>Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript</i> (Transcrito Regulado pela Cocaína)
CNA	Comprimento Nasoanal
CT	Circunferência Torácica
DCNTs	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DCVs	Doenças Cardiovascular
DMSO	Dimetilsulfóxido
EAP	Eixo Anteroposterior
EL	Eixo Latero-Lateral
FVL	Frutas, verduras e legumes
HH	Grupo Dieta Hiperlipídica (<i>high-fat diet</i>)
i.p.	Intraperitoneal
MAO	Monoamina Oxidase
NArc	Núcleo Arqueado
Nf- κ B	<i>Nuclear Factor Kappa B</i> (Fator Nuclear Kappa B)
NPY	Neuropeptídeo Y
PC	Peso Corporal
POMC	Pró-Opiomelanocortina
PVN	Núcleo Paraventricular

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SCS	Sequência Comportamental de Saciedade
SERT	Transportador de Serotonina
SNC	Sistema Nervoso Central
TPH	Triptofano Hidroxilase
VMH	Núcleo ventromedial do hipotálamo
5-HT	5-hidroxitriptamina
5-HT _r	Receptor de serotonina
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)
ω-3	Ômega 3

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1	Obesidade	17
2.2	Dietas hipercalóricas e hiperlipídicas.....	18
2.3	Plasticidade fenotípica	20
2.4	Comportamento alimentar.....	22
2.5	Compostos bioativos	24
2.6	Kaempferol	26
3	HIPÓTESE	29
4	OBJETIVO GERAL.....	30
4.1	Objetivos específicos	30
5	MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1	Animais	31
5.2	Manipulação dietética.....	31
5.3	Administração de kaempferol.....	32
5.4	Grupos experimentais.....	33
5.5	Avaliações nas ratas gestantes e lactantes:	34
5.5.1	Peso corporal e consumo alimentar	34
5.5.2	Mensuração do peso do tecido adiposo branco	35
5.6	Avaliações na prole:.....	35
5.6.1	Mensuração das medidas murinométricas	35
5.6.2	Avaliação do consumo alimentar.....	35
5.6.3	Sequência comportamental de saciedade.....	36
5.6.4	Coletas de amostras	36
5.6.5	Análise do perfil bioquímico	37
5.6.6	Mensuração do peso relativo de órgãos e do tecido adiposo branco	37
5.7	Desenho experimental da metodologia	38
5.8	Análise estatística	39
6	RESULTADOS	40
6.1	Artigo Original 1 – Dieta hiperlipídica materna altera o crescimento, adiposidade e bioquímica na prole jovem em ratos.....	40
6.1.1	Avaliações Maternas	40
6.1.2	Caracterização das ninhadas ao nascimento	42

6.1.3	Peso relativo do tecido adiposo das ratas lactantes.....	43
6.1.4	Evolução do crescimento somático da prole.....	44
6.1.5	Análises do comportamento alimentar pós-desmame.....	46
6.1.6	Avaliações do perfil bioquímico e peso relativo do TAB na prole	50
6.2	Artigo Original 2 - Kaempferol favorece o crescimento somático, inaltera o comportamento alimentar, enquanto reduz a adiposidade na prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica.	51
6.2.1	Crescimento somático da prole durante e pós exposição ao Kaempferol.....	51
6.2.2	Análises do comportamento alimentar da prole que teve a administração do kaempferol durante a lactação.	56
6.2.3	Análises bioquímicas e peso relativo do TAB ao 30° DPN da prole cuja administração de kaempferol ocorreu durante a lactação.	59
7	DISCUSSÃO.....	61
7.1	Artigo Original 1 - Dieta hiperlipídica materna altera o crescimento, adiposidade e bioquímica na prole jovem em ratos.	61
7.2	Artigo Original 2 - Kaempferol favorece o crescimento somático, inaltera o comportamento alimentar, enquanto reduz a adiposidade na prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica.	65
8	CONCLUSÃO.....	70
	REFERÊNCIAS	71
	ANEXO A – PARECER DO CEUA PARA TESTE DA PROTEINA.	90
	ANEXO B – PARECER DO CEUA PARA EXECUÇÃO DO MESTRADO. ...	91

1 INTRODUÇÃO

A obesidade tem se tornado o agravo nutricional de maior ocorrência na população, em todo o mundo (FOX; FENG; ASAL, 2019; POPKIN; ADAIR; NG, 2012). Apesar do seu caráter multifatorial, a crescente incidência de obesidade parece ser agravada pela alta exposição aos alimentos industrializados, ricos em açúcares, gordura e calorias, somado ao sedentarismo (FOX; FENG; ASAL, 2019; HRUBY et al., 2016). Esse cenário da saúde é pautado nos fenômenos da transição epidemiológica e nutricional, os quais o Brasil e o mundo vem enfrentando (CONDE; MONTEIRO, 2014; POPKIN, 2015). Também são atribuídos a esses fenômenos o crescimento paralelo na incidência de alterações metabólicas atreladas à obesidade, como a hipertensão, insulinoresistência e dislipidemias (CORDAIN et al., 2005). A difusão precoce da obesidade e suas comorbidades tem se tornado notória, principalmente durante a gestação, lactação e primeira infância, podendo promover prejuízos a curto e longo prazo na saúde do binômio mãe-filho (MARCHI et al., 2015).

Nos humanos, essa fase corresponde ao período crítico, enquanto em roedores apenas a gestação e lactação, sendo o momento crítico no desenvolvimento e crescimento da progênie (ALFARADHI; OZANNE, 2011; HALES; BARKER, 1992). Durante esse período, processos de hiperplasia e hipertrofia celulares são acentuadas, objetivando formar órgãos e sistemas necessários à sobrevivência da prole (DESAI; HALES, 1997a). Por essa razão, no período crítico, o ambiente passa a ter grande influência sobre a expressão genética, tornando a prole mais suscetível às mudanças fenotípicas, incluindo aspectos físicos, bioquímicos e comportamentais (BOLTON; BILBO, 2014; CARDENAS-PEREZ et al., 2018). A alimentação materna, enquanto fator ambiental, em sua quantidade e/ou qualidade é capaz de modular a expressão fenotípica dos filhotes (CATON et al., 2019; HERNANDEZ et al., 2012). Consequentemente, comprometendo sistemas que se originam ainda durante a fase uterina, como o sistema nervoso central (BRUMMELTE et al., 2017). Esse resultado se deve, em parte, às perturbações nas vias de sinalização neurotróficas, como às relacionadas ao sistema serotoninérgico (BRUMMELTE et al., 2017).

Esse sistema apresenta ampla distribuição orgânica, central e periférica, sendo composto pela serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT), sua família de receptores (5-HT_{1-7R}) e o transportador de serotonina (SERT) (YABUT et al., 2019). Esse último, é uma proteína transportadora localizada na membrana do neurônio pré-sináptico, responsável por regular a disponibilidade da 5-HT na fenda sináptica (DE FELICE, 2016). Nos mamíferos adultos, esse sistema auxilia a regulação fisiológica, dentre outras, do comportamento alimentar e balanço energético (DIETRICH; HORVATH, 2013). Estudos evidenciam que mutações ou a redução

na expressão do SERT no hipotálamo, principal estrutura de regulação central comportamento alimentar, estão relacionadas com a obesidade (CHEN et al., 2012; GIANNACCINI et al., 2013). Algumas das alterações serotoninérgicas parecem ter relação com processos inflamatórios, sendo o último possivelmente revertido por substâncias de ocorrência natural (BOLTON; BILBO, 2014; PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

Os alimentos são matrizes complexas formadas por componentes nutricionais, essenciais no funcionamento celular, e não nutricionais (BRASIL, 2002). Esses últimos, representam metabólitos encontrados em vegetais in natura e alguns derivados, sendo provenientes da interação entre o vegetal e o ambiente (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016). Os metabólitos são classificados como substâncias bioativas, em razão dos benefícios à saúde e redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) quando ingeridas (BRASIL, 2002). Um componente não nutricional em destaque são os polifenóis, sua principal característica é a presença de anéis fenólicos que lhes conferem propriedades anti-inflamatórias, anticancerígenas, entre outras, tendo os vegetais como principais fontes (SRIVASTAVA; MISHRA, 2015). Os polifenóis podem ser subdivididos estruturalmente em flavonoides e não flavonoides, tendo ampla ocorrência na natureza (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016)

Nesse contexto, a classe dos flavonóis destaca-se com uma das mais abundantes na dieta humana, despertando o interesse em estudos com substâncias isoladas, como o kaempferol, com o objetivo de entender seus mecanismos de ação (EL GHARRAS, 2009; CAO et al., 2014). A administração de kaempferol em roedores tem evidenciado efeitos benéficos em relação ao comportamento de ansiedade e depressão, através da sua ação no sistema nervoso central (VISSIENNON et al., 2012). Esse flavonol, também exibe efeitos anti-inflamatórios pela supressão da via NF-Kb, mas também na reversão de quadros de dislipidemias (KADIOGLU et al., 2015; KONG et al., 2013a). Ademais, o kaempferol pode inibir a ação de monoaminas oxidases A e B, responsáveis pela degradação da serotonina (SLOLEY et al., 2000).

Diante do exposto, o kaempferol apresenta inúmeros efeitos benéficos à saúde em modelos experimentais. No entanto, ainda são escassos os estudos que avaliam esses potenciais efeitos no contexto neonatal. Assim, acredita-se que administração do kaempferol possa minimizar, na prole, as alterações bioquímicas, comportamentais e neuroquímicas provocadas pela exposição materna crítico à dieta hipercalórica e hiperlipídica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Obesidade

O excesso de peso e a desnutrição representam os principais agravos nutricionais no mundo, gerando altos custos para saúde pública através das suas comorbidades associadas (APOVIAN, 2016; KOLČIĆ, 2012). A desnutrição é considerada uma condição clínica provocada pela deficiência de um ou mais nutrientes, tendo como critérios diagnósticos a avaliação nutricional, bioquímica e clínica (DE LIMA; GAMALLO; OLIVEIRA, 2010). Por outro lado, o excesso de peso e a obesidade são definidas como doenças crônicas não transmissíveis, cujo indivíduo apresenta o IMC $\geq$ a 25 ou a 30 kg/m², respectivamente, além do acúmulo de gordura na região abdominal (WHO, 2016). O excesso de peso surge a partir de um desequilíbrio entre a ingestão e o gasto calórico, promovendo um balanço energético positivo, que resultará no acúmulo excessivo de gordura (GALGANI; RAVUSSIN, 2008; PATAKY et al., 2017). Essas alterações da composição corporal contribuem para aumentar o risco de desenvolver comorbidades associadas, como diabetes e hipertensão (APOVIAN, 2016).

A desnutrição, mundialmente, tem apresentado uma queda de 39,3% a 22,2% entre a década de 90 ao ano de 2017, representando um total de 102,6 milhões de pessoas (WHO, 2017). Enquanto, estima-se que o sobrepeso tenha atingido mais de 1,9 bilhões de indivíduos e a obesidade 650 milhões em 2016, alcançando mundialmente o status de pandemia (WHO, 2016; POPKIN; ADAIR; NG, 2012). A OMS destaca que da população com sobrepeso ou obesidade, 340 milhões são crianças e adolescentes (WHO, 2016). Segundo dados do VIGITEL 2017, cerca de 54% da população brasileira apresenta sobrepeso e 18,9% obesidade, havendo um aumento de 11% e 7,5% em relação à última década, respectivamente (BRASIL, 2017, 2007). No Brasil, a incidência de obesidade infantil, estimada em meta-análise, chega à atingir 14,1% de indivíduos, tendo o nordeste superado a média nacional com 16,6% (AIELLO et al., 2015; IBGE, 2010). Desse modo, notam-se mudanças no perfil dos principais agravos nutricionais no Brasil e no mundo (CONDE; MONTEIRO, 2014; POPKIN, 2015).

A transição nutricional é um fenômeno epidemiológico caracterizado pela inversão do cenário nutricional, onde, observa-se um aumento da prevalência de obesidade atrelada a redução no número de casos de desnutrição (POPKIN, 2015; POPKIN; ADAIR; NG, 2012). Essa mudança de perfil entre os agravos nutricionais tem repercutido nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, recentemente, incluindo o Brasil (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003; CONDE; MONTEIRO, 2014). Por sua vez, o crescimento excessivo no número de obesos é resultante de uma interação multifatorial, que incluem componentes epigenéticos, fenotípicos e

ambientais (BLOCK; EL-OSTA, 2017; GRUNDY, 1998). Dentre os aspectos ambientais, os componentes socioeconômicos, como a renda familiar, escolaridade, acesso aos alimentos, composição nutricional e cultura alimentar, tem relevante contribuição para esse panorama atual da saúde (DINSA et al., 2012; HRUBY et al., 2016).

A revolução industrial iniciada na França e Inglaterra, no século XVIII, foi o marco histórico na escala de produção dos alimentos ultraprocessados, cujo crescimento exponencial foi possível graças a modernização e automação das indústrias, objetivando suprir a demanda mundial por alimentos (CORDAIN et al., 2005; GENIUS, 2005). Além disso, essa produção em massa foi acompanhada, também, da adição excessiva de conservantes, aromatizantes e outras substâncias nesses alimentos, promovendo repercussões negativas na alimentação e nutrição até o presente (DIXON; HINDE; BANWELL, 2006; FOX; FENG; ASAL, 2019; KOMLOS, 1990). Assim, o acesso a esses alimentos tornou-se facilitado, principalmente pelos povos ocidentais, propiciando um consumo excessivo de industrializados, ricos em sódio, carboidratos refinados e gordura saturada (HALL, 2018; KEARNEY, 2010). Esse padrão alimentar tem sido correlacionado com a crescente prevalência da obesidade, diabetes, hipertensão e dislipidemias (CORDAIN et al., 2005; POPKIN, 2015).

Esse contexto da saúde tem despertado o interesse da comunidade científica, que através de estudos epidemiológicos e experimentais tem buscado entender a relação entre a nutrição inadequada, nas diferentes fases da vida, e a gênese das DCNTs (PARADIS et al., 2017; NGUYEN M. DANG, 2010). Inúmeras dietas experimentais foram formuladas com base nos hábitos alimentares ocidentais e surgiram com o intuito de estudar, em modelos experimentais, as alterações morfofuncionais, bioquímicas e comportamentais por trás da obesidade (PARADIS et al., 2017). Nesse âmbito, as dietas hipercalóricas e hiperlipídicas figuram entre os modelos mais efetivos nos estudos de indução à obesidade, síndrome metabólica e outras doenças crônicas não transmissíveis em roedores (WONG et al., 2016; BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007). Contudo, essas dietas apresentam características próprias, diferindo quanto aos ingredientes utilizados na formulação e a sua composição nutricional (WONG et al., 2016; CRESCENZO et al., 2015).

2.2 Dietas hipercalóricas e hiperlipídicas

A denominação de dieta hiperlipídica deriva da expressão em inglês *high-fat diet* (HFD), tendo como características fundamentais modificações qualitativas e quantitativas no teor de lipídios (CRESCENZO et al., 2015; HARIRI; THIBAUT, 2010). Dessa forma, em relação ao manejo quantitativo, a dieta hiperlipídica deverá apresentar o valor mínimo de 30% de

contribuição calórica total dos lipídios (kcal/lipídios) (BUETTNER; SCHÖLMERICH; BOLLHEIMER, 2007). Essas dietas podem ainda ser classificadas de acordo com a contribuição calórica em *high-fat* (30 a 50% kcal/lipídios) ou *very high-fat diet* (acima de 50% kcal/lipídios) (GAJDA et al., 2007). Em relação a qualidade, geralmente, as HFDs têm a adição de óleo de peixe, fonte de ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega-3 (ω -3), ou a banha animal, devido a maior proporção de ácidos graxos saturados (VIGGIANO et al., 2016). Outras gorduras adicionadas às dietas são as interesterificadas, obtidas através de processos químicos, e outros óleos vegetais (MARTÍNEZ et al., 2019; MIYAMOTO et al., 2018).

Dessa forma, a ingestão excessiva de gordura saturada é descrita como um dos principais disruptores neuroendócrinos das vias de sinalização periféricas e centrais da homeostase (GIANNACCINI et al., 2013). Essas alterações estão envolvidas nas alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais associadas à obesidade induzida por dietas (ASLANI et al., 2015; MILANSKI et al., 2009). A suscetibilidade à essas injúrias parecem se associar ao balanço oxidativo e ao estabelecimento de uma inflamação sistêmica de baixo grau (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011). Esses, são mediados por células imunes que expressam receptores *Toll-like 4*, normalmente, responsivos ao lipopolissacarídeo presente nas membranas bacterianas (FREEMAN et al., 2014). Contudo, foi relatado que a ingestão crônica de HFD também é capaz de exacerbar a ativação sistêmica desses receptores (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; LEMES et al., 2018). Desse modo, haverá a fosforilação e posterior degradação da proteína inibidora I κ B α , que permitirá a transcrição do Nf- κ B e consequente liberação de citocinas inflamatórias e apoptóticas (CAVALIERE et al., 2018).

Entre os órgãos periféricos mais afetados pela inflamação sistêmica estão o músculo esquelético, o fígado e o pâncreas, que agem em conjunto com o sistema nervoso viabilizando a homeostase energética (KORNER; WOODS; WOODWORTH, 2009). A ingestão de HFD (58% kcal/lipídios) pós-desmame por 5 ou 8 semanas provoca, no fígado, uma intensa infiltração de macrófagos e esteatose hepática, associada ao aumento dos níveis LDL-c, triglicerídeos e redução do HDL-c (MELI et al., 2013). Essa exposição crônica à dieta experimental prolonga a manutenção dos níveis séricos de ácidos graxos, estimulando o pâncreas a produzir insulina em excesso (YE, 2013). Apesar disso, nas fibras musculares, assim como no SNC, há uma perceptível insensibilidade à insulina causada pela lipotoxicidade da HFD, corroborando para sustentação do quadro dislipidêmico (PATAKY et al., 2017).

A nível central, a inflamação provocada pela HFD altera a expressão e densidade neural em estruturas-alvo, como o hipotálamo, formada por neurônios que regulam o balanço

energético (ARAUJO et al., 2016; MILANSKI et al., 2009). A exposição de roedores adultos à dieta hiperlipídica (36g lipídios/100g) levou a resistência hipotalâmica à insulina e leptina, importantes sinalizadores que estimulam a expressão de peptídeos promotores de saciedade (MILANSKI et al., 2009). Também foram observados efeitos deletérios na sinalização do córtex pré-frontal, núcleo estriado e hipocampo, regiões que integram a rede neural de regulação do comportamento alimentar (FREEMAN et al., 2014; FRANCIS; STEVENSON, 2013;). Esses resultados também foram evidenciados na prole de mães alimentadas com HFD durante o período crítico, havendo o aumento da expressão de peptídeos promotores da fome, ingestão alimentar, peso corporal, resistência à insulina e deposição de gordura (LEMES et al., 2018; MELO et al., 2014).

2.3 Plasticidade fenotípica

A incidência de doenças metabólicas, degenerativas e desordens comportamentais na vida adulta tem progredido em todo o mundo (SAKLAYEN, 2018; PRINCE et al., 2013). Com isso, a herança genética tem se tornado insuficiente para explicar os possíveis mecanismos que desencadeiam o crescimento de novos casos (BLOCK; EL-OSTA, 2017; AKBARIAN; BEERI; HAROUTUNIAN, 2013). Ao longo da história, estudos epidemiológicos em populações inseridas em ambientes nutricionalmente desfavoráveis, como a Fome Holandesa, na segunda Guerra Mundial, originaram hipóteses que pudessem explicar essa maior suscetibilidade à doenças metabólicas na vida adulta (HALES; BARKER, 1992; RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976). Nesse sentido, a ciência tem recorrido a meios que justifiquem o cenário atual da saúde, sendo, cada vez mais notória as explicações pautadas na plasticidade fenotípica e através de mecanismos epigenéticos (KADER; GHAI; MAHARAJ, 2018).

A plasticidade fenotípica representa o potencial do genótipo em expressar diferentes fenótipos, a partir dos inúmeros estímulos no ambiente em que o organismo está inserido (ZHANG; PRADHAN, 2014; WEST-EBERHARD, 1986). Nesse sentido, alguns genes poderão ser silenciados ou superexpressos através de alterações estruturais no DNA, sem afetar sua composição, dentre elas as modificações na cromatina e DNA, tais como acetilações e metilações (ZHANG; PRADHAN, 2014). Por esses mecanismos, a plasticidade fenotípica tem apresentado a transmissão de caracteres comportamentais e fisiológicos adquiridos ao longo das gerações (JIMENEZ-CHILLARON et al., 2016). Essa plasticidade gera a programação metabólica no organismo, observada nas respostas adaptativas em órgãos e funções, cuja finalidade é a manutenção da vida em meio às condições adversas (BLOCK; EL-OSTA, 2017; DESAI; HALES, 1997a).

Outros conceitos, contribuem para o entendimento da capacidade adaptativa do organismo, a partir da sua relação com o peso ao nascer, dentre elas a capacidade e carga metabólica (WELLS, 2010a; WEST-EBERHARD, 1986). Na “capacidade metabólica”, o peso ao nascer é preditor da eficiência do órgão em manter a homeostase durante a infância (WELLS, 2010a). Enquanto, a “carga metabólica” representa o volume de atividade imposto que o órgão suporta ao manter a homeostase (WELLS, 2010a). O “fenótipo poupador” também é resultado dessa programação, onde, o feto concebido numa condição nutricional escassa, desenvolve mecanismos fisiológicos, como a maior captação energética e menor gasto calórico, otimizando a sua sobrevivência (DESAI; HALES, 1997a; HALES; BARKER, 1992). Esses conceitos endossam a Hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença (DOHaD), na qual influências do ambiente em fases críticas podem repercutir na saúde do indivíduo a curto e/ou longo prazo por modificar as características e funções de órgãos (MANDY; NYIRENDA, 2018)

Nesse sentido, o período crítico equivale à uma janela de desenvolvimento e crescimento, onde, o indivíduo e sua carga genética se tornam mais vulneráveis às injúrias ambientais, tais como a nutrição materna (BARKER, 2007; DOBBING, 1970). Nos mamíferos, essa fase corresponde ao período crítico, que nos seres humanos abrange a gestação, lactação e primeira infância (DIETZ, 1997). Enquanto nos modelos experimentais, como os roedores, o período crítico compreende a gestação e lactação (ALFARADHI; OZANNE, 2011). É durante essa fase da vida que o organismo experimenta intensas reações de diferenciação e crescimento celulares, que o tornará apto a interagir com o ambiente e sobreviver (MORGANE et al., 1993). O desenvolvimento do sistema nervoso simboliza um evento importante relativo ao período crítico, por coordenar o funcionamento dos demais sistemas, sendo indispensável à vida (DOBBING, 1970).

Nos humanos, a neurogênese tem início no primeiro mês gestacional, tendo um padrão de reações rápidas, se estendendo até os primeiros anos de vida, quando adquire um ritmo mais lento (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002). No rato *Wistar*, etapas similares ocorrem aproximadamente no 14º dia de gestação, se estendendo até o 21º dia de vida pós-natal (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002). Durante esse período, acontecem processos biológicos heterogêneos, como formação de sinapses, organização e refinamento de estruturas-alvo, mielinização neural, arborização axonal e dendrítica (HUA; SMITH, 2004). Esses são regulados por sinais tróficos emitidos por substâncias, como a insulina e o fator neurotrófico derivado cérebro (BDNF) (COLE; FRAUTSCHY, 2007; KOWIAŃSKI et al., 2018). Em roedores, por volta do 12º dia gestacional surgem os primeiros neurônios serotoninérgicos,

sintetizando a serotonina um dia após, assumindo também esse papel trófico e tendo outras atribuições na vida adulta (GASPAR; CASES; MAROTEAUX, 2003; JIANG et al., 2016; LEVITT et al., 1997).

2.4 Comportamento alimentar

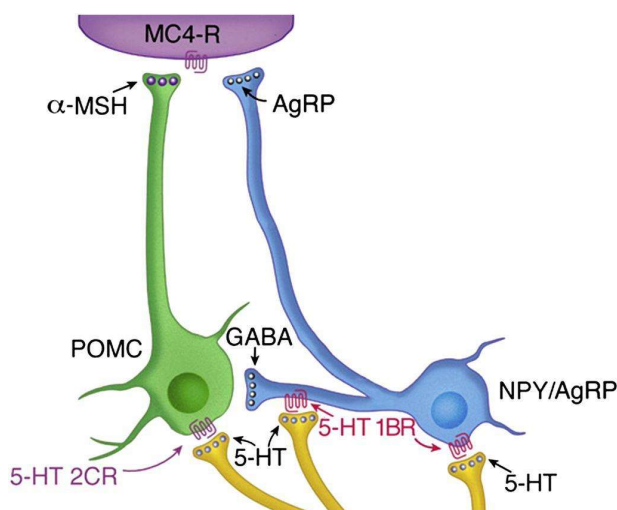
O comportamento alimentar pode ser definido como os aspectos psicobiológicos relacionados à escolha dos alimentos, frequência e duração da refeição (LIU; KANOSKI, 2018). Do ponto de vista fisiológico, esse comportamento é subdividido nos componentes hedônico e homeostático (ROH; KIM, 2016; ALONSO-ALONSO et al., 2015). O comportamento hedônico está envolvido diretamente com a sensação do “prazer” ao comer e afetividade, tendo a sua regulação, principalmente, através do sistema dopaminérgico (ALONSO-ALONSO et al., 2015). A inervação dopaminérgica promove a integração entre estruturas encefálicas de caráter hedônico, como a área tegumentar ventral, o núcleo accumbens, amígdala e o hipocampo, participando do chamado “sistema de recompensa” (WISS; AVENA; RADA, 2018). Esse sistema é sensível à sinais humorais e nutricionais, desencadeados pela exposição às drogas, mas também alimentos ricos em açúcares ou gordura, considerados palatáveis (COCCURELLO; MACCARRONE, 2018; WISS; AVENA; RADA, 2018). A posteriori, culminando no aumento nos níveis centrais de dopamina, estimulando os receptores D1 e D2, reforçando a sensação de recompensa e aumentando a ingestão alimentar (PIGNATELLI; BONCI, 2015; ROSSI; STUBER, 2018).

Por outro lado, o comportamento alimentar homeostático responde pela regulação do balanço energético, um sistema de compensação entre a ingestão alimentar e o gasto energético (ROH; KIM, 2016). O balanço resulta de respostas adaptativas provenientes da interação entre órgãos periféricos, dentre eles o músculo esquelético, vísceras e tecido adiposo, com estruturas centrais do encéfalo (TIMPER; BRÜNING, 2017). O hipotálamo é uma das áreas mais exploradas nos estudos do comportamento alimentar e homeostase energética, devido a sua complexa rede de interação local e sistêmica (SOHN, 2015). Essa estrutura se situa estrategicamente na eminência mediana, cuja a maior vascularização e permeabilidade da barreira hematoencefálica favorecem a captação de sinais hormonais e nutricionais da periferia (TIMPER; BRÜNING, 2017). O hipotálamo é formado por inúmeros núcleos especializados no controle do balanço energético, tendo como destaque os núcleos arqueado, paraventricular, lateral e ventromedial (WATERSON; HORVATH, 2015). Por sua vez, duas populações de neurônios formam os núcleos hipotalâmicos, sendo eles os anorexígenos e orexígenos, promovendo respostas de saciedade e fome, respectivamente (QIN; LI; TANG, 2018).

A população de neurônios anorexígenos compõe os núcleos arqueado e paraventricular, quando estimulados geram o balanço energético negativo, reduzindo a ingestão e aumentando o gasto energético (QIN; LI; TANG, 2018; SOHN, 2015). Essa alteração no balanço energético é mediada pela expressão de peptídeos anorexígenos, dentre eles a pró-ópio melanocortina (POMC) e o transcrito relacionado a anfetamina e cocaína (CART) (PATEL; ACHARYA, 2018). A insulina, leptina e serotonina são alguns dos sinais periféricos e centrais, respectivamente, que desencadeiam o aumento da expressão desses peptídeos pelos neurônios anorexígenos (DONOVAN; TECOTT, 2013; YANAGI et al., 2018). Então, o POMC e o CART atuarão nos receptores de melanocortinas, especialmente o subtipo 4 (MC4R) expresso no hipotálamo, através da conversão endógena do POMC à hormônio estimulante dos melanócitos (MSH), reduzindo assim a ingestão alimentar (HEYDER et al., 2019). Estudos tem relacionado o comprometimento da via anorexígena com o desenvolvimento de obesidade e outras comorbidades, ocasionada por mutações que levam à alterações estruturais e funcionais dos MC4R (HEYDER et al., 2019).

Os neurônios orexígenos são relacionados aos comportamentos de fome, implicando no balanço energético positivo, quando a ingestão calórica sobrepõe o gasto (SOHN, 2015). A excitação desses neurônios promove a expressão de neuropeptídio Y (NPY) e a proteína relacionada ao Agouti (AgRP), peptídeos antagonistas da via das melanocortinas (DIETRICH; HORVATH, 2013; WATERSON; HORVATH, 2015). Os neurônios NPY/AgRP são modulados por inúmeros hormônios, como a insulina e grelina, mas também expressam receptores de neurotransmissores, como o GABA e a 5-HT (LOH et al., 2017). Camundongos knockout para receptor de insulina em neurônios NPY tem maiores adiposidade, ingestão alimentar e peso corporal em longo prazo (LOH et al., 2017). As vias GABAérgicas promovem à fome, inibindo a expressão de POMC/CART por projeções entre os núcleos hipotalâmicos (RAU; HENTGES, 2019). Enquanto a 5-HT, expressa seus receptores em ambas as populações neurais, sendo mais comuns os subtipos 5-HT₁R e 5-HT₂C (DONOVAN; TECOTT, 2013; VOIGT; FINK, 2015). Com isso, a exposição à 5-HT permite, simultaneamente, a inibição do NPY/AgRP, enquanto estimula a expressão de POMC/CART (**Figura 2**) (MARTIN-GRONERT et al., 2016; VOIGT; FINK, 2015).

Figura 1 - Neurônios anorexígenos e orexígenos interagindo com o sistema serotoninérgico



Fonte: Adaptado, HEISLER et al., 2006.

Contudo, a obesidade é um agravo na saúde que parece afetar estas vias centrais de regulação do comportamento alimentar, comprometendo a ingestão, saciedade e escolha alimentar (DESAI; HAN; ROSS, 2016; RIVERA et al., 2015)(RIVERA et al., 2015; DESAI et al., 2016). Desse modo, foi descrita a relação entre o aumento da ingestão calórica e/ou preferência por alimentos palatáveis observado em humanos obesos com a menor sinalização central dos sistemas serotoninérgicos e dopaminérgico, respectivamente (VAN GALEN et al., 2018). Corroborando, outros estudos mostram que as implicações no comportamento alimentar provenientes da obesidade podem diferir de acordo com a fase da vida (JUDGE et al., 2008; SUN et al., 2013). Nesse sentido, a prole, recém-nascida de mães obesas apresentam maior expressão de AgRP, mas é na fase adulta que a hiperfagia é agravada pela redução na expressão de POMC (DESAI; HAN; ROSS, 2016). Assim, se faz necessária a utilização de algumas estratégias farmacológicas ou nutricionais são necessárias para amenizar ou reverter os prejuízos provocados pela obesidade (KAKKAR; DAHIYA, 2015; KONSTANTINIDI; KOUTELIDAKIS, 2019).

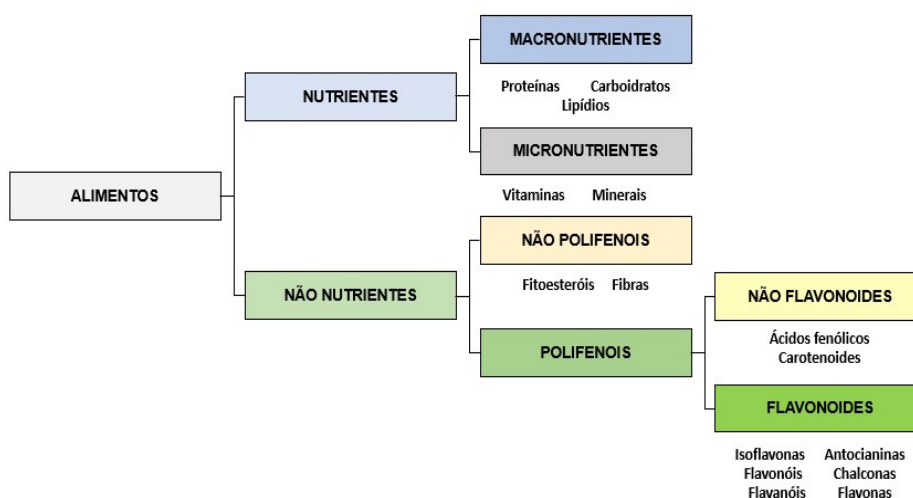
2.5 Compostos bioativos

Os vegetais e alguns alimentos derivados apresentam em sua composição uma complexa variedade de nutrientes e substâncias não nutritivas (BRASIL, 2002). Os nutrientes representam substratos orgânicos essenciais ao corpo, que se dividem em macronutrientes ou micronutrientes, quando deficientes geram patologias que comprometem o crescimento (BRASIL, 2002; TUCUNDUVA PHILIPPI et al., 1999). O grupo dos macronutrientes incluem

as proteínas, carboidratos e lipídios, tendo como principais atribuições a estruturação e sinalização celulares, além do fornecimento de energia para o organismo (WU, 2016; GALGANI; RAVUSSIN, 2008). Enquanto, os micronutrientes compreendem as vitaminas e minerais, que exercem principalmente o papel de cofatores enzimáticos ou pró-hormônios, regulando o metabolismo (CHRISTAKOS et al., 2011; SHENKIN, 2006). Todavia, na literatura tem sido descrito a existência de compostos de ocorrência natural que não se enquadram nessas classificações (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

Assim, os não nutrientes se manifestam nos vegetais na forma de metabólitos, presentes em frutas, verduras, ervas, chás, vinhos e outros derivados (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; KRIS-ETHERTON et al., 2002). Esses metabólitos podem surgir por reações endógenas de defesa, promovidas pela interação entre o vegetal e o ambiente, e lhes conferindo cor e sabor (EL GHARRAS, 2009). Os polifenóis são o grupo mais bem documentado, sendo classificados em duas famílias, os não flavonoides, representados pelos ácidos fenólicos, como o resveratrol, e os flavonoides (DZIAŁO et al., 2016). Algumas frutas como as uvas e *berries* exibem o espectro de cor do azul ao roxo pelo alto teor de flavonoides, em especial as antocianinas (CHEN et al., 2014). Já, os carotenoides estão presentes nos vegetais com pigmentação amarela a laranja, como a manga e a cenoura, no organismo agem como precursores da vitamina A (EGGERSDORFER; WYSS, 2018) (**Figura 2**).

Figura 2 - Classificação dos nutrientes e não nutrientes contidos nos alimentos.



Fonte: O autor, 2020.

Através de estudos epidemiológicos se observou em algumas populações maiores longevidade e qualidade de vida, associadas aos seus hábitos de vida (ESTRUCH et al., 2006). Em especial, os hábitos alimentares desses indivíduos tem em comum a base diversificada de alimentos naturais e derivados, ricos em compostos bioativos (MARTINEZ-GONZALEZ; MARTIN-CALVO, 2016). Na dieta dos povos mediterrâneos, rica em vegetais, chás e vinhos, o grupo dos polifenóis está presente em abundância, mostrando correlação positiva com os baixos índices de doenças cardiovasculares (DCVs) e metabólicas (NOAD et al., 2016; ESTRUCH et al., 2006), além do efeito antidiabético observado em roedores (GHORBANI, 2017). Em franceses, foi identificado um fenômeno conhecido como “paradoxo francês”, onde, há a baixa prevalência de DCVs, apesar do alto consumo de gordura saturada (FERRIERES, 2004). Esse cenário se relaciona à ingestão crônica de polifenóis, em especial, através do consumo de vinhos (FERRIERES, 2004).

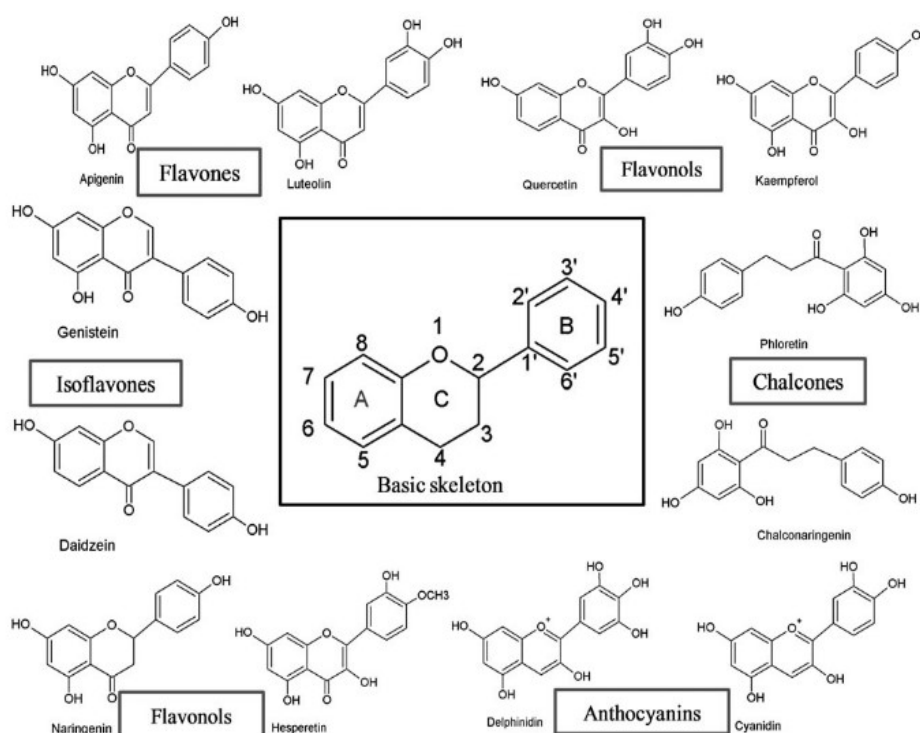
Estudos em cultura de células e animais têm utilizado essas substâncias de maneira isolada com o propósito de desvendar as vias celulares e moleculares associadas aos benefícios vistos em humanos (ZENG et al., 2017; YU et al., 2013). No Brasil, os não nutrientes e outras substâncias bioativas são inspecionados e regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 02/2002 (BRASIL, 2002). Estudos *in vitro* evidenciaram que polifenóis, como o resveratrol, reduzem a expressão de peptídeos apoptóticos neurais e a deposição das placas amiloides β em culturas expostas aos agentes de glicação avançada (KO et al., 2015). Corroborando, o tratamento de neurônios com resveratrol em diferentes concentrações exibiu maior viabilidade celular, pela atenuação da disfunção mitocondrial e apoptose celular (ZENG et al., 2017).

2.6 Kaempferol

Os flavonoides representam o grupo de maior ocorrência nos alimentos, com cerca de 4000 diferentes moléculas já identificadas (SRIVASTAVA; MISHRA, 2015). Essas moléculas apresentam uma estrutura básica em comum, diferindo quanto à disposição e os tipos de radicais, sendo distribuídos em 6 subgrupos principais, sendo eles: flavonóis, flavonas, chalconas, isoflavonas, flavononas e antocianinas (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016) (**Figura 3**). Os flavonóis compõem o subgrupo mais estudado e recorrente na alimentação (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; SRIVASTAVA; MISHRA, 2015). Essas substâncias têm gerado interesse de pesquisa e publicação em razão dos seus efeitos benéficos comprovados em modelos experimentais (LAGOA et al., 2009). Os flavonóis mais conhecidos na literatura são a quercetina, miricetina e kaempferol (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016). Esse

último apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_6$, insolúvel em água e com meia-vida que varia entre 3 a 5 horas (ZHOU et al., 2016). Seu principal sitio de metabolização é o intestino, a administração intraperitoneal age de modo similar à oral, onde o fármaco passa a ser absorvido na região mesentérica próxima ao intestino, sendo posteriormente metabolizado no fígado ao ácido hidroxifenil acético (HPAA) (TURNER et al., 2011; ZABELA et al., 2016). Em relação aos demais, os estudos envolvendo a manipulação pelo kaempferol são escassos, mas há indícios da sua interação com o SNC e o metabolismo (YU et al., 2013; DA-SILVA et al., 2007).

Figura 3 - Estrutura básica dos flavonoides e seus subgrupos.



Fonte: Adaptado de PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016.

A administração de kaempferol, utilizando diversas formas de manipulação, promove benefícios ao sistema nervoso. A aplicação intravenosa aguda de kaempferol (7,5 e 10mg/kg) minimiza os efeitos da reperfusão pós-isquemia cerebral em ratos adultos, reduzindo o volume de infarto e aumentando viabilidade neural na área afetada (YU et al., 2013). A administração via intraperitoneal promoveu maiores taxa de sobrevivência de neurônios, volume de lesão estriatal e déficit motor, quando submetidos à degeneração do núcleo estriado em ratos adultos que receberam 14 e 21mg/kg de kaempferol (LAGOA et al., 2009). Assim como, o aumento na retenção de memória e densidade neural no hipocampo, em modelos de Alzheimer, com dose

de 5, 7 e 10mg/kg por 21 dias (DARBANDI, 2016). O extrato de *Ginkgo biloba*, com elevado conteúdo de kaempferol e outros flavonóis, em culturas de célula nervosa de ratos, reduziu a toxicidade neural da N-metil-D-Aspartato e inibiu a ação da monoamina oxidase A e B, responsáveis por degradar a 5-HT central e periférica (SLOLEY et al., 2000).

Outros sistemas, como o cardiovascular e muscular, quando submetidos à substâncias tóxicas também apresentam interação positiva com o kaempferol (ZHOU; LIU, 2018; XIAO et al., 2012). O pré-tratamento com diferentes doses de kaempferol (1, 2, 5, 10 e 20mg/kg) apresentou efeito cardioprotetor, estimulando enzimas antioxidantes e a viabilidade de cardiomiócitos de ratos adultos expostos à substância cardiotóxica (XIAO et al., 2012). Camundongos diabéticos tratados com kaempferol (50mg/kg) oral por 7 semanas melhoraram o controle glicêmico pela hexoquinase e oxidação muscular (ZHOU; LIU, 2018). Assim como a manipulação farmacológica, as HFDs podem induzir inúmeros efeitos deletérios no organismo, como discutido nos tópicos anteriores (PATASY et al., 2017; MELI et al., 2013). Nessa perspectiva, alguns estudos têm associado à manipulação através de HFDs e kaempferol a fim de compreender os efeitos protetores e suas vias de ação no organismo (KONG et al., 2013; CHANG et al., 2011).

Coelhos alimentados com dieta hipercolesterolêmica tiveram área de aterosclerose aórtica e níveis de lipídios séricos similares ao grupo fenofibrato, droga para tratamento de dislipidemias, após receberem kaempferol (30 e 150mg/kg) via oral (KONG et al., 2013b) por 10 semanas. Ratos manipulados com HFD (45% kcal/lipídios) e kaempferol via oral (75, 150 e 300mg/kg) por 8 semanas reduziram o peso do tecido adiposo branco, lipídios séricos e hepáticos, grau de esteatose e tamanho dos adipócitos, resultados equivalentes ao controle e fenofibrato (CHANG et al., 2011). No entanto, apesar destes achados, ainda é pouco compreendido o papel do kaempferol e seus efeitos benéficos no organismo de animais expostos à HFD no período crítico do desenvolvimento. Em especial, os efeitos precoces produzidos no perfil bioquímico, comportamento alimentar homeostático e funcionamento do sistema serotoninérgico da prole. Dessa forma, essas indagações fundamentam a necessidade em realizar o presente estudo.

3 HIPÓTESE

A exposição materna à dieta hipercalórica/hiperlipídica comprometerá o crescimento somático, além de promover dislipidemia, hiperglicemia, atraso do ponto de saciedade e hiperfagia na prole. No entanto, a exposição neonatal ao kaempferol irá reverter os efeitos deletérios provocados pela manipulação nutricional materna.

4 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da exposição materna à dieta hipercalórica e hiperlipídica associada ou não à administração neonatal do kaempferol sobre os aspectos somáticos, perfil bioquímico e do comportamento alimentar da prole em ratos.

4.1 Objetivos específicos

Nas ratas gestantes e lactantes:

- Avaliar o peso corporal e consumo alimentar;
- Mensurar o peso dos coxins de tecido adiposo branco;

Na prole:

- Avaliar a evolução do crescimento somático;
- Quantificar o consumo alimentar pós-desmame;
- Avaliar da sequência comportamental de saciedade;
- Mensurar o peso de órgãos e tecido adiposo branco;
- Analisar do perfil bioquímico;

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais

Para o estudo foram utilizadas 24 ratas fêmeas da linhagem *Wistar*, nulíparas, idade entre 90 – 120 dias e peso entre 220 – 260g. O acasalamento seguiu a proporção de um macho para duas fêmeas (1:2). A confirmação da gestação foi realizada a técnica do esfregaço vaginal. Após a coleta do material foram confeccionadas lâminas coradas a fresco para visualização em microscópio ótico. As ratas foram consideradas gestantes mediante a presença de espermatozoides nas lâminas. Todos os animais utilizados no acasalamento foram obtidos no biotério de criação do Departamento de Nutrição (DN/UFPE). Após confirmação da gestação, as ratas gestantes foram divididas em grupos conforme a manipulação dietética até o fim da lactação.

Após o nascimento dos filhotes, foram utilizadas ninhadas com 8 animais, sendo machos e fêmeas. No grupo controle foram utilizados filhotes com peso entre 6-8 gramas no primeiro dia pós-natal (DPN). As fêmeas filhotes tinham a finalidade de ajustar o número ideal de filhotes nas ninhadas. Os filhotes machos foram divididos conforme a manipulação farmacológica, do 8º ao 21º dias de vida pós-natal (item 5.3.). Os filhotes foram identificados através de marcações feitas com violeta genciana. Ao 22º dia de vida a prole foi desmamada, passando a receber dieta padrão de biotério. As ratas e sua prole foram mantidas, da ambientação ao final da lactação, em gaiolas de polipropileno opaca (46x34x20cm) com maravalha esteril, ambiente de ciclo invertido de luz claro/escuro (12/12h), temperatura 22± 2°C e com água e ração *ad libitum*. Após o desmame, os filhotes foram mantidos em gaiolas de polipropileno (30x20x19cm) transparente e em biotério sob as condições descritas anteriormente. Todos os animais foram alojados no biotério de experimentação animal do Laboratório de Experimentação em Nutrição e Instrumentações Biomédicas (LENIB/UFPE). Todos os procedimentos mencionados neste projeto foram realizados mediante aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPE (**Processo nº:** 0001/2019).

5.2 Manipulação dietética

Durante o período crítico foram utilizadas duas dietas para os diferentes grupos, sendo controle Presence® (3,44 kcal/g; 18,6% kcal/lipídios) ou hipercalórica e hiperlipídica (4,6 kcal/g; 51% kcal/lipídios) (OLIVEIRA et al., 2018) (**Tabela 1**). Essas dietas foram confeccionadas no Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED) da UFPE. Todas as dietas utilizadas tinham o valor mínimo de 18% para proteínas, conforme recomendado à

fase de crescimento (AIN-93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). A dieta hipercalórica/hiperlipídica teve o aumento do seu conteúdo de lipídio pela adição de banha animal (Aurora®) (**Tabela 2**).

Tabela 1 - Distribuição calórica e de macronutrientes das dietas experimentais.

Ingredientes (g)	Controle Presence® (g/100g)	Hipercalórica/Hiperlipídica (g/100g)
Proteínas (%/kcal)	27,0	19,0
Carboidratos (%/kcal)	61,7	30,0
Lipídeos (%/kcal)	11,3	51,0
VET (kcal/g)	3,44	4,62

Tabela 2 - Formulação utilizada para elaboração da dieta hipercalórica e hiperlipídica.

Ingredientes (g)	Hipercalórica/Hiperlipídica (g/100g)
Amido de milho (87% carboidratos)	24,50
Amido dextrinizado (92% carboidratos)	8,00
Caseína (>85% proteína)	25,50
Sacarose	6,17
Óleo de soja (7,61 ml)	7,00
Banha animal (100% lipídeos)	19,00
Celulose	5,00
Mix mineral (AIN-93G)	3,50
Mix vitamínico	1,00
L-metionina	0,38
Bitartarato de colina	0,25
TBHQ	0,0014
Calorias (kcal/100g)	462,00

Por fim, os *pellets* elaborados foram secados em estufa à temperatura constante de 60°C. A dieta foi acondicionada em pote hermético e higienizado, mantidas a temperatura de 4°C para conservação.

5.3 Administração de kaempferol

Inicialmente, após o nascimento os animais foram alocados randomicamente nos grupos experimentais, sendo obtidos de acordo com o tipo de manipulação neonatal realizada. Para manipulação farmacológica foi utilizado o flavonoide isolado, Kaempferol (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) com uma aplicação ao dia, durante o período da lactação. O Kaempferol (1mg/kg) foi obtido no formato de cristais sólidos, posteriormente, dissolvido em solução obtida pela mistura (v/v) de dimetilsulfóxido (DMSO) e salina (NaCl), numa concentração final de 1,0% DMSO. Foi utilizado um volume de 10µl/g de peso corporal do animal, sendo administrado por via intraperitoneal (i.p.) do 8º ao 21º dia de vida. A dose de kaempferol

utilizada neste projeto foi adaptada de estudos prévios de relação dose-efeito (XIAO et al., 2012).

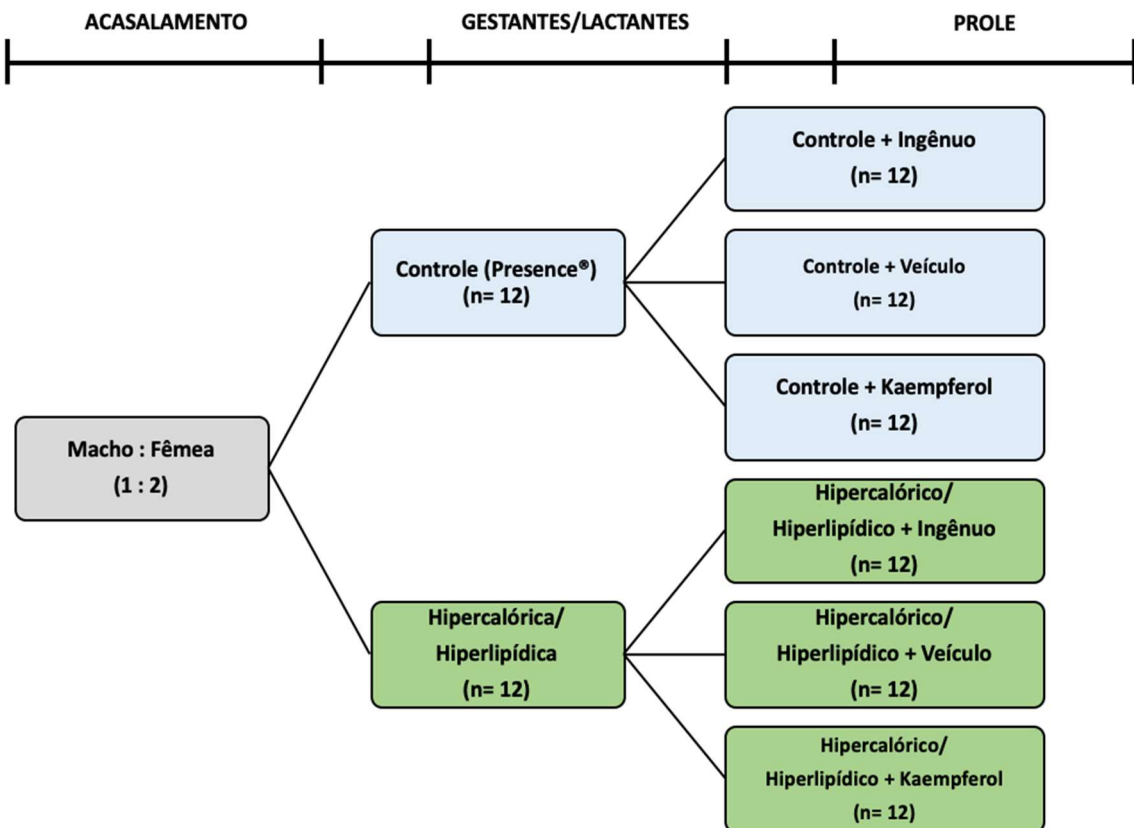
Diariamente, os filhotes tiveram o peso aferido individualmente para preparo das doses, sendo aplicadas através de seringa para insulina descartável. Outros cuidados incluíram a alternância dos quadrantes inferiores esquerdo e direito ao administrar as substâncias, a fim de evitar complicações como edemas, desconforto, entre outras.

5.4 Grupos experimentais

No primeiro dia de gestação, as ratas foram alocadas em dois grupos a partir da manipulação nutricional no período crítico, sendo Controle Presence® (C; n= 12) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; n= 12). Porém, após o nascimento, a ninhada foi subdividida de acordo com o tratamento, onde, ao final serão obtidos os seguintes subgrupos (**Figura 4**):

- a) *Controle Ingênuo (C)*: Os filhotes machos oriundos de mães alimentadas com dieta Presence® e que não receberam manipulação farmacológica em nenhum momento.
- b) *Controle Veículo (CV)*: Os filhotes machos oriundos de mães alimentadas com dieta Presence® e que receberam o veículo da droga (1,0%; 10µl/g) intraperitoneal, diariamente, do 8° ao 21° DPN.
- c) *Controle Kaempferol (CK)*: Os filhotes machos oriundos de mães alimentadas com dieta Presence® e que receberam solução Kaempferol (1mg/kg; 10µl/g) intraperitoneal, diariamente, do 8° ao 21° DPN.
- d) *Hipercalórico/Hiperlipídico Ingênuo (HH)*: Os filhotes machos oriundos de mães alimentadas com dieta hipercalórica e hiperlipídica e que não receberam manipulação farmacológica em nenhum momento.
- e) *Hipercalórico/Hiperlipídico Veículo (HHV)*: Os filhotes machos oriundos de mães alimentadas com dieta hipercalórica e hiperlipídica e que receberam o veículo da droga (1,0%; 10µl/g) intraperitoneal, diariamente, do 8° ao 21° DPN.
- f) *Hipercalórico/Hiperlipídico Kaempferol (HHK)*: Os filhotes machos oriundos de mães alimentadas com dieta hipercalórica e hiperlipídica e que receberam solução Kaempferol (1mg/kg; 10µl/g) intraperitoneal, diariamente, do 8° ao 21° DPN.

Figura 4 - Distribuição dos animais nos diferentes grupos experimentais do estudo.



Fonte: O autor, 2020.

5.5 Avaliações nas ratas gestantes e lactantes:

5.5.1 Peso corporal e consumo alimentar

O peso corporal (PC) das ratas de ambos os grupos foi avaliado semanalmente durante toda a gestação e lactação, sendo determinados no 1º, 7º, 14º, 20º dias de gestação e 7º, 14º e 21º dias de lactação. A escolha desses dias teve por objetivo amenizar o estresse por manipulações excessivas.

O consumo alimentar das gestantes e lactantes foi obtido através da diferença entre a cota ofertada (CO) e o rejeito (RJ), sendo convertido em ingestão calórica pela multiplicação do valor calórico (VC) da respectiva dieta. A ingestão calórica foi então relacionada ao PC para obter a ingestão calórica relativa (ICR), com o intuito de eliminar possíveis vieses. Para essas análises foi utilizada uma balança eletrônica semi-analítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte).

$$ICR: \frac{(CO - RJ) \times VC}{PC} \times 100$$

5.5.2 Mensuração do peso do tecido adiposo branco

Ao final da lactação, no 22º dia, as ratas foram anestesiadas com injeção de ketamina (12mg/kg de peso) e xilazina (6mg/kg de peso), posteriormente eutanasiadas por decapitação. Foram coletadas as gorduras dos coxins retroperitoneal e mesentérico, à fresco. As gorduras foram pesadas individualmente em balança eletrônica semi-analítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte). Foi calculado o peso relativo de cada gordura (PRG) através da seguinte fórmula:

$$PGR: \frac{\text{Peso da gordura} \times 100}{\text{Peso corporal}}$$

5.6 Avaliações na prole:

5.6.1 Mensuração das medidas murinométricas

No 1º DPN, foi realizada a caracterização da ninhada através do peso da ninhada, quantificação do número total de filhotes e número de machos. A posteriori, os filhotes tiveram as medidas murinométricas aferidas individualmente aos 7, 14, 21, 25 e 30 DPN. O peso corporal foi coletado diariamente do 8º ao 21º DPN e novamente do 25º ao 30º DPN. Foram consideradas como medidas murinométricas: o PC, circunferência abdominal (CA), circunferência torácica (CT), comprimento nasoanal (CNA), eixos laterolateral (EL) e anteroposterior (EAP) do crânio.

Para coleta do PC foi utilizada uma balança eletrônica semi-analítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte). A CA foi representada pelo perímetro imediatamente anterior às patas posteriores e o CT o perímetro posterior às patas anteriores, ambas aferidas com fita inelástica (precisão de 0,1cm; PrimeMed®). O CNA foi considerado como a distância entre o focinho e o ânus do animal, aferido com paquímetro (precisão de 0,1mm; KINGTOOLS®). Para fins da mensuração, o EL representa a linha perpendicular ao eixo longitudinal, dividindo ao meio os pavilhões auditivos. Enquanto o EAP, foi considerado como a linha média entre o focinho e a região externa da crista occipital, ambos aferidos por paquímetro (precisão de 0,01mm; KINGTOOLS®). As medidas murinométricas foram avaliadas no horário compreendido entre 08:00 às 10:00 horas e por único pesquisador.

5.6.2 Avaliação do consumo alimentar

Após o desmame, os filhotes foram acondicionados em gaiolas individuais de polipropileno (30x20x19cm), passando por adaptação de 3 dias (22° ao 25°DPN). Então, o consumo alimentar foi avaliado diariamente por cinco dias consecutivos (26° ao 30°DPN). Posteriormente, a ingestão alimentar foi relativizada, conforme metodologia descrita acima (item 5.5.1). A ração utilizada após o desmame foi a Presence®. Para fins de mensuração foi utilizada uma balança semi-analítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte).

5.6.3 Sequência comportamental de saciedade

No 30° DPN, foi realizada a análise da sequência comportamental de saciedade, segundo a descrição de HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, (1998). No dia do teste, o animal foi mantido na gaiola individual e transparente, passando pelo jejum prévio de 3h. Ao fim do jejum, o peso corporal do animal foi aferido. Posteriormente, foram oferecidos aproximadamente 30g de ração controle aos animais. Então, o comportamento alimentar foi filmado por 60 minutos com auxílio de uma câmera equipada com sistema infravermelho.

O consumo alimentar foi obtido pela diferença entre a quantidade de ração oferecida e o rejeito após 1hr. A taxa de alimentação foi calculada pela razão entre o consumo relativo e o tempo total de alimentação (OROZCO-SÓLIS et al., 2009). As imagens obtidas foram analisadas por dois observadores treinados que avaliaram os seguintes comportamentos:

- a) **Alimentação:** O animal se mostrou ingerindo alimento, roendo, mastigando e segurando ração com as patas;
- b) **Limpeza:** O animal realizou movimentos de cuidado com o corpo, lambendo as patas anteriores e movimentando-as sobre a cabeça, com lambidas contínuas no ventre, dorso e patas posteriores;
- c) **Repouso/descanso:** O rato esteve em posição de descanso, com o corpo recolhido e repousado sobre o assoalho da gaiola ou dormindo (posição anterior e olhos fechados);

Durante a análise da SCS, os comportamentos supracitados foram quantificados em 12 seções de 5 minutos, totalizando 60 minutos de vídeo. O ponto de saciedade foi determinando através da interseção entre os comportamentos de alimentação e o descanso. Outras medidas foram aferidas, como a ingestão relativa, tempo de latência para alimentação, duração e taxa de alimentação. Os resultados dos comportamentos foram apresentados em média de segundos (s), percentual (%) ou gramas/minuto (g/min).

5.6.4 Coletas de amostras

Ao completar 30 dias de vida, os animais dos grupos C (n= 6), CV (n= 6), CK (n= 6), HH (n= 6), HHV (n= 6) e HHK (n= 6) foram submetidos a eutanásia por decapitação em horário padronizado (11:00 horas). Após esse procedimento, o sangue foi coletado com auxílio do funil, acondicionado em microtubos. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500rpm durante 20 minutos. O soro coletado e foi posteriormente congelado em ultrafreezer -82°C até o momento das análises.

5.6.5 Análise do perfil bioquímico

Foi considerado o perfil bioquímico do animal o conjunto de resultados das avaliações dos níveis séricos de creatinina, albumina, glicose, colesterol total e triglicerídeos. Todas as análises foram através de ensaio colorimétrico de ponto final, cuja leitura foi realizada em espectrofotômetro EPOCH™ (BIOTEK®, Winooski, Vermont, USA). Para tais, foram utilizados o os kits creatinina (Ref 35), albumina (Ref 19), glicose (Ref 133), colesterol total (Ref 76) e triglicérides (Ref 87) (Labtest, Lago Santa, Minas Gerais, Brasil). Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

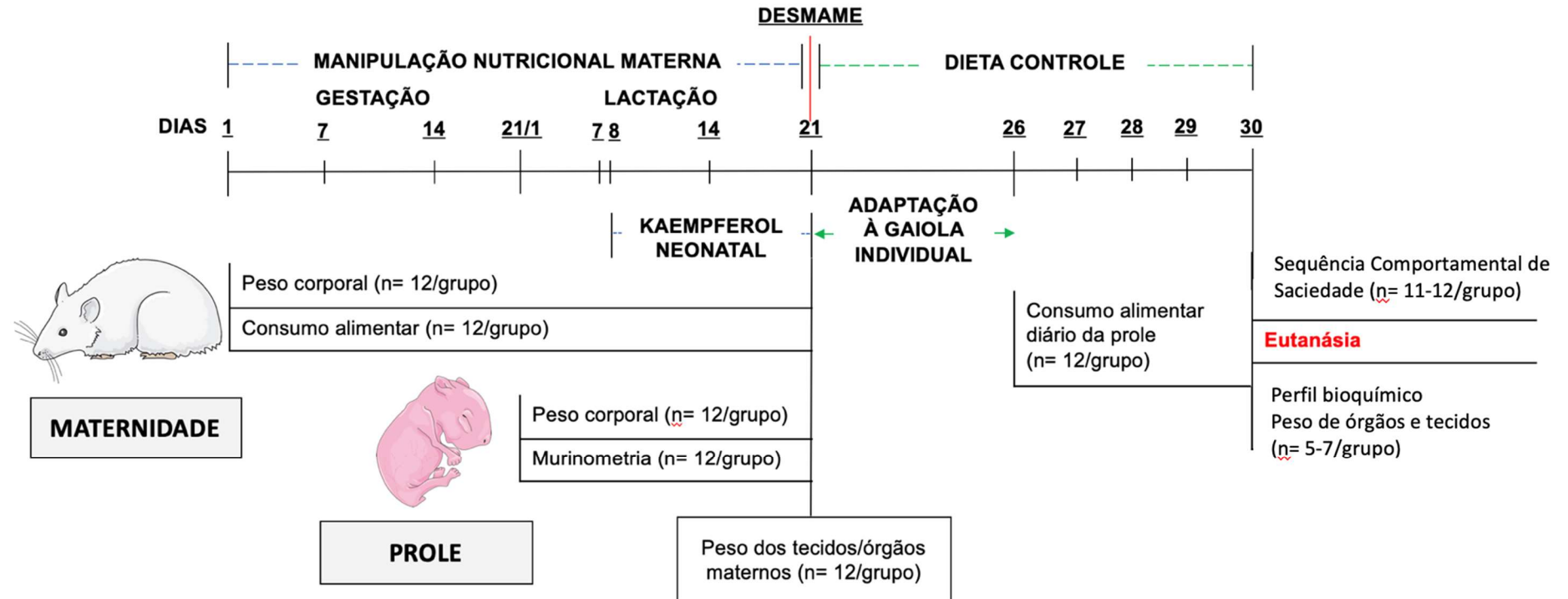
5.6.6 Mensuração do peso relativo de órgãos e do tecido adiposo branco

No 30° DPN, após eutanásia, foram coletados fígado, encéfalo, pulmão, rim esquerdo, baço, coração e gorduras dos coxins retroperitoneal, epididimal e mesentérico. Os órgãos e gorduras foram pesadas individualmente em balança eletrônica semi-analítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte). Foi calculado o peso relativo de cada gordura e órgão semelhante as ratas mães.

5.7 Desenho experimental da metodologia

A realização dos experimentos desta dissertação ocorreu numa ordem cronológica previamente estabelecida, conforme descrito abaixo (Figura 5).

Figura 5 - Delineamento experimental em ordem cronológica dos procedimentos e técnicas realizadas no estudo.



Fonte: O autor, 2020.

5.8 Análise estatística

Os dados coletados foram inicialmente armazenados em planilhas elaboradas no software Excel, versão 2016. Posteriormente, as análises estatísticas e confecção dos gráficos foram realizadas através do software *GraphPad Prism* versão 6.0, 2017. A normalidade dos dados foi avaliada através do teste *D'Agostino & Pearson*. Os dados apresentaram distribuição normal, sendo expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Os dados paramétricos foram utilizados os testes T de *student* não pareado ou *ANOVA two-way* com ou sem medidas repetidas seguido pelo pós-teste de *Bonferroni*. Na legenda de cada parâmetro foi descrito o teste estatístico aplicado. O nível de significância foi mantido em 5% ($p < 0,05$).

6 RESULTADOS

Os resultados abaixo foram apresentados conforme o planejamento de submissão dos artigos em: Artigo Original 1 – *“Dieta hiperlipídica materna altera o crescimento, adiposidade e bioquímica na prole jovem em ratos”* e Artigo Original 2 – *“Kaempferol favorece o crescimento somático, inaltera o comportamento alimentar, enquanto reduz a adiposidade na prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica”*.

6.1 Artigo Original 1 – Dieta hiperlipídica materna altera o crescimento, adiposidade e bioquímica na prole jovem em ratos.

6.1.1 Avaliações Maternas

Na gestação e lactação foram mensurados o peso corporal e ingestão calórica semanalmente. Não foram observadas diferenças no peso corporal entre os grupos durante toda manipulação nutricional (**Gráfico 1A e B**). A ingestão calórica também não diferiu entre os grupos na gestação e lactação (**Gráfico 1C e D**).

Gráfico 1 - Evolução semanal do peso corporal e da ingestão calórica materna durante o período crítico.

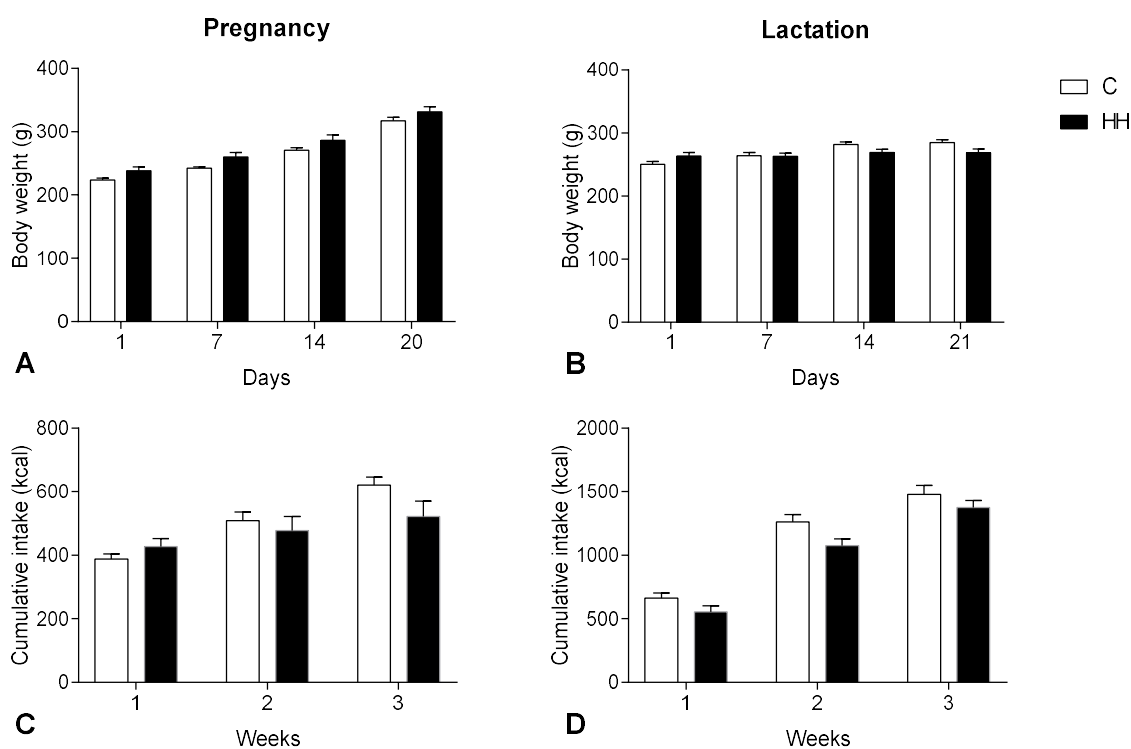


Gráfico 1 - Evolução semanal do peso corporal e da ingestão calórica materna durante o período crítico. As ratas mães foram alimentadas com dieta controle (C= 12; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH= 12; 4,6 kcal/g) durante gestação e lactação. O peso corporal

(1A e B), ingestão calórica (1C e D) foram mensurados semanalmente durante a gestação (1A e C) e lactação (1B e D). Dados expressos em Média $\pm$ EPM. *ANOVA-two way* medidas repetidas seguido do pós-teste de *Bonferroni*.

6.1.2 Caracterização das ninhadas ao nascimento

No 1º DPN as ninhadas foram caracterizadas quanto ao peso total da ninhada, número total de filhotes, número de machos e fêmeas e peso médio ao nascer, porém essas características não expressaram diferença entre os grupos (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Caracterização das ninhadas ao nascimento.

Órgãos/grupos	C (n= 12)	HH (n= 12)	P valor
Peso total da ninhada	65,5 ± 4,505	54,28 ± 5,460	0,1294
Número total de filhotes	10,27 ± 0,727	8,625 ± 0,885	0,1660
Número de machos	4,545 ± 0,561	4,25 ± 0,750	0,7513
Número de fêmeas	5,727 ± 0,675	4,375 ± 0,778	0,2080
Peso médio ao nascer	6,44 ± 0,240	6,315 ± 0,154	0,6942

Nota: DHH = Dieta hipercalórica e hiperlipídica. Foi utilizado o teste T de *student* não pareado para diferença entre os grupos.

6.1.3 Peso relativo do tecido adiposo das ratas lactantes

Após a eutanásia, as fêmeas lactantes tiveram o peso relativo dos coxins de tecido adiposo retroperitoneal e mesentérico mensurados. As fêmeas HH apresentaram aumento do peso relativo da gordura em ambos os coxins, retroperitoneal (C: $0,287 \pm ,05407$; HH: $0,890 \pm 0,0502$; $p < 0,0001$) e mesentérico (C: $0,284 \pm 0,0444$; HH: $0,512 \pm 0,0496$; $p < 0,01$) (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal e mesentérico das ratas lactantes.

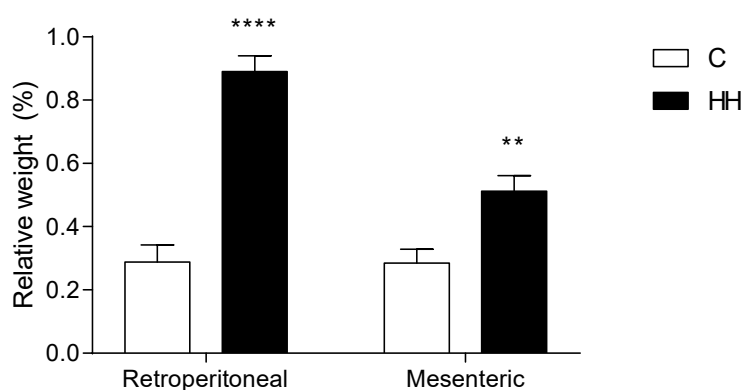


Gráfico 2 - Peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal e mesentérico das ratas lactantes.

Após o desmame dos filhotes, as mães alimentadas com dieta controle (C= 12; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH= 12; 4,6 kcal/g) período crítico foram eutanasiadas. Foram mensurados os pesos relativos dos coxins de tecido adiposo branco retroperitoneal e mesentérico. Dados expressos em Média $\pm$ EPM. Teste T de *student* não pareado, ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

6.1.4 Evolução do crescimento somático da prole

O peso corporal da prole foi mensurado ao 1°, 7°, 14°, 21°, 25° e 30° DPN. Os filhotes de mães HH apresentaram maior peso corporal apenas no 21° DPN (C: $40,73 \pm 1,175$; HH: $47,56 \pm 2,163$; $p < 0,05$) (**Gráfico 3**).

Gráfico 3 - Evolução do peso corporal da prole durante a lactação.

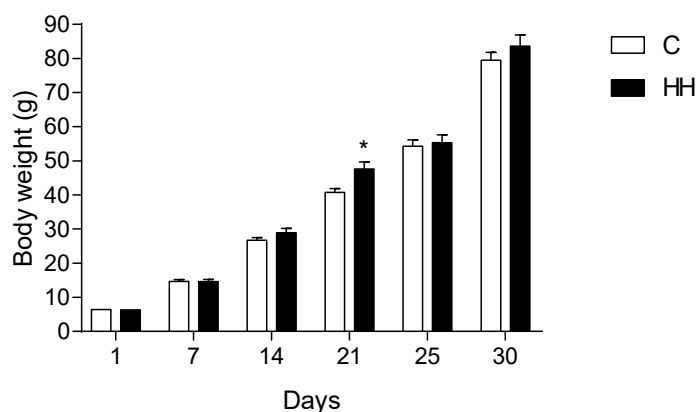


Gráfico 3 - Evolução do peso corporal da prole durante a lactação. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) durante a gestação e lactação tiveram o peso corporal aferido no 1°, 7°, 14°, 21°, 25° e 30° DPN. Controle (C, n= 16) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH, n= 13). Dados expressos em Média $\pm$ EPM. *ANOVA-two way* medidas repetidas seguido do pós-teste de *Bonferroni*, * $p < 0,05$.

O crescimento somático dos animais foi acompanhado durante a lactação e o pós-desmame através das medidas murinométricas. Os filhotes de mães HH apresentaram o eixo latero-lateral do crânio maior que os filhotes C no 14° (C: $16,47 \pm 0,222$; HH: $17,82 \pm 0,329$; $p < 0,001$), 21° (C: $18,67 \pm 0,156$; HH: $20,2 \pm 0,326$; $p < 0,0001$) e 25° DPN (C: $19,71 \pm 0,131$; HH: $20,7 \pm 0,236$; $p < 0,05$) (**Gráfico 4A**). No 21° DPN, o eixo anteroposterior do crânio também foi maior nos animais HH (C: $35,00 \pm 0,361$; HH: $36,66 \pm 0,369$; $p < 0,01$) (**Gráfico 4B**). Em relação ao eixo longitudinal, os animais HH foram maiores no 21° (C: $112,1 \pm 1,31$; HH: $123,7 \pm 1,54$; $p < 0,0001$) e 25° DPN (C: $123,9 \pm 1,78$; HH: $136,2 \pm 1,67$; $p < 0,0001$) (**Gráfico 4C**). Não foram observadas diferenças no IMC (**Gráfico 4D**). A medida da circunferência torácica foi maior apenas no 7° DPN (C: $5,19 \pm 0,061$; HH: $5,59 \pm 0,146$; $p < 0,001$) dos animais HH (**Gráfico 4E**). No 21° (C: $9,17 \pm 0,151$; HH: $9,65 \pm 0,180$; $p < 0,01$) e 30° DPN (C: $10,74 \pm 0,116$; HH: $11,25 \pm 0,178$; $p < 0,05$) os animais HH tiveram a circunferência abdominal maior que os filhotes C (**Gráfico 4F**).

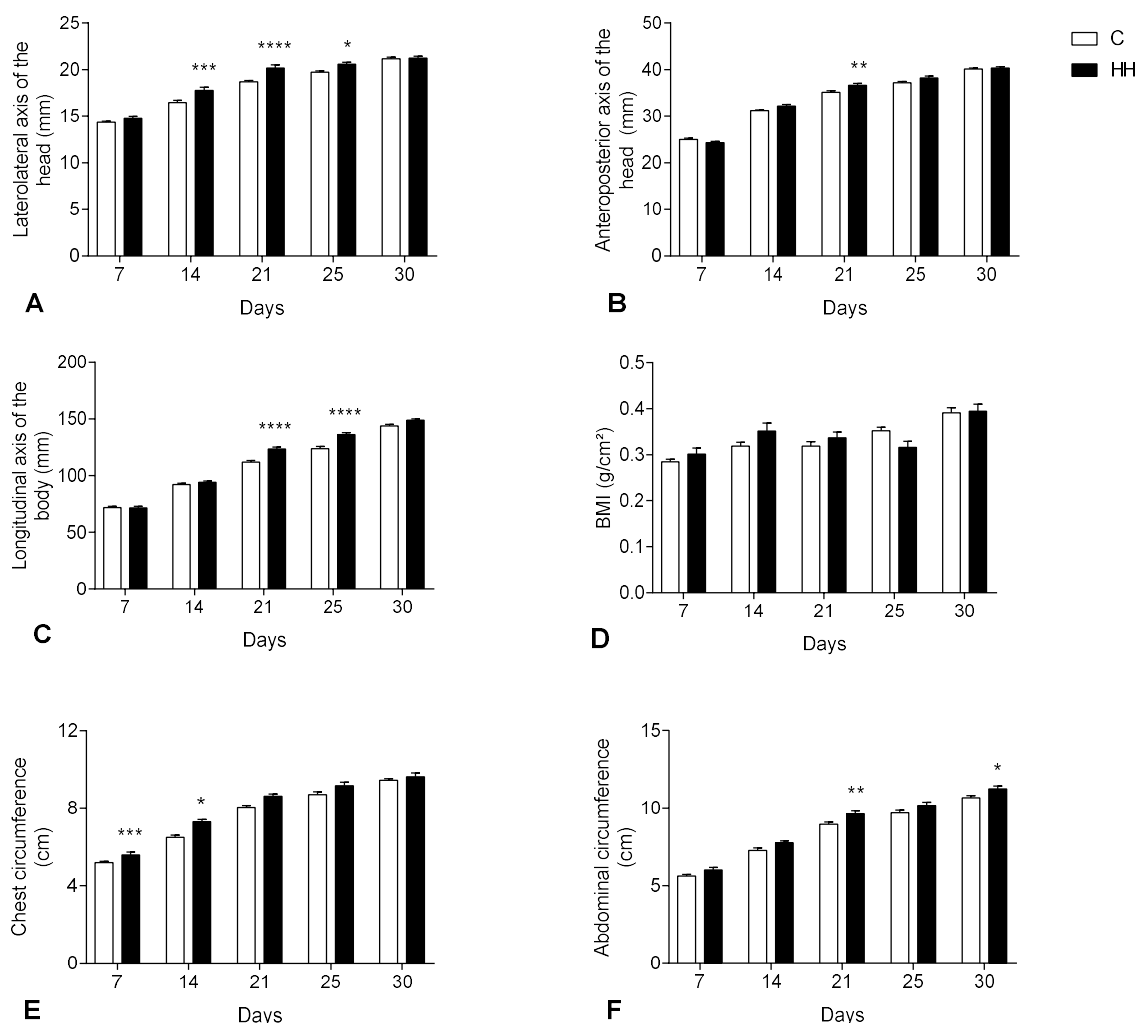
Gráfico 4 - Acompanhamento das medidas murinométricas da prole.

Gráfico 4 - Acompanhamento das medidas murinométricas da prole. Acompanhamento das medidas murinométricas da prole durante a lactação. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram os eixos laterolateral (4A), anteroposterior (4B), longitudinal (4C), IMC (4D) e circunferências torácica (4E) e abdominal (4F) coletados ao 7º, 14º, 21º, 25º e 30º DPN. Controle (C, n= 14) ou Hiperlipídica/Hiperlipídica e Ingênuo (HH, n= 12). Dados expressos em Média ± EPM. ANOVA-two way medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

6.1.5 Análises do comportamento alimentar pós-desmame

A avaliação da ingestão relativa foi representada pela média entre os dias mensurados, do 26° ao 30° DPN. Não foi observada diferença na ingestão relativa entre os grupos (**Gráfico 5**).

Gráfico 5 - Mensuração do consumo alimentar da prole pós-desmame

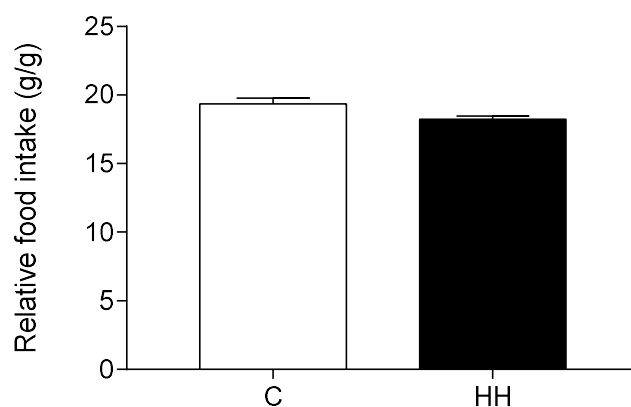


Gráfico 5 - Mensuração do consumo alimentar da prole pós-desmame. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram o consumo alimentar mensurado diariamente em dias consecutivos, do 26° ao 30° DPN. Dieta Controle (CV, n= 12) ou Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica (HHK, n= 12). Dados expressos em Média $\pm$ EPM. Teste T de *student* para comparação entre as médias.

A sequência comportamental de saciedade foi uma das análises do comportamento alimentar avaliadas nesse estudo, sendo necessária para determinar o ponto de saciedade, percentual de tempo gasto por comportamento e da microestrutura do comportamento. Em relação ao tempo gasto nas atividades, não houve diferenças entre os grupos nos comportamentos avaliados (**Gráfico 6B**).

Gráfico 6 - Tempo total gasto (%) nos comportamentos avaliados na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS).

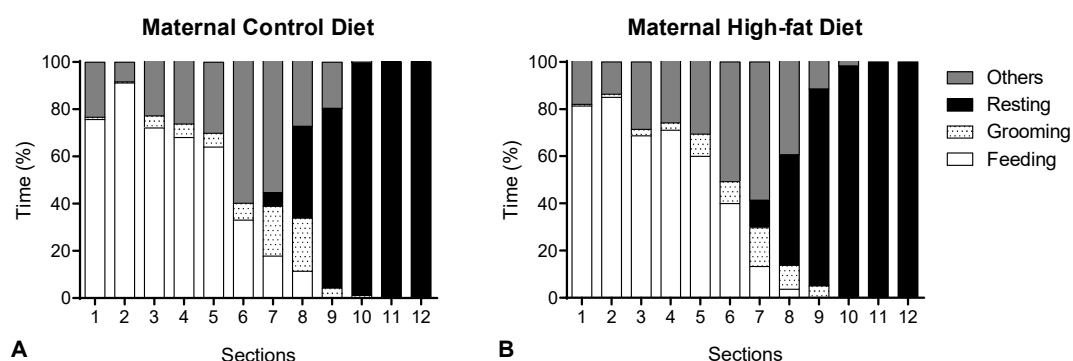


Gráfico 6 - Tempo total gasto (%) nos comportamentos avaliados na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS). Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hiperclórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a mensuração do tempo gasto durante a alimentação, limpeza, descanso e outras atividades na SCS no 30° DPN. Dieta Controle (n= 12; 6A) ou Dieta Hiperclórica/Hiperlipídica (n= 12; 6B). Dados expressos em Média $\pm$ EPM. Teste T de *student* para comparação entre as médias, considerando as seções e comportamentos individualmente.

O grupo HH não apresentou alteração no ponto de saciedade (linha vermelha) (Gráfico 7B).

Gráfico 7 - Determinação do ponto de saciedade avaliado na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS).

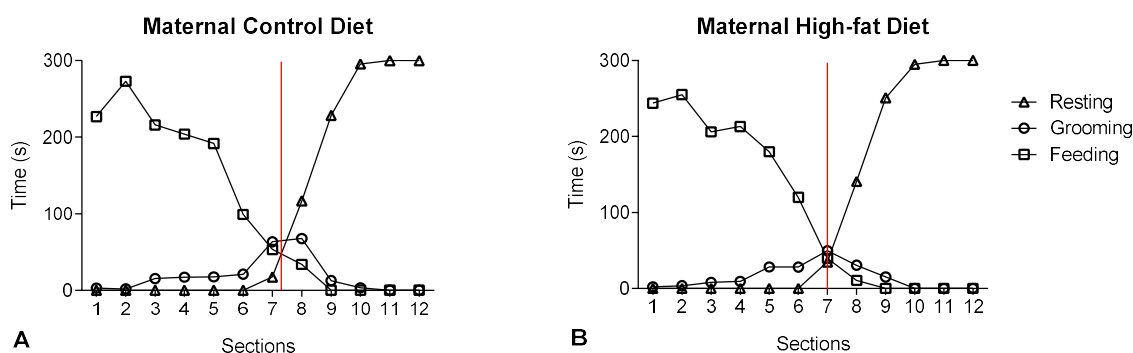


Gráfico 7 - Determinação do ponto de saciedade avaliado na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS). Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram os comportamentos de alimentação, limpeza e descanso analisados para a determinação do ponto de saciedade, interseção entre a alimentação e descanso, sendo destacado pela linha vermelha. Dieta Controle (n= 12; 7A) ou Hipercalórica e Hiperlipídica (n= 12; 7B).

A microestrutura do comportamento é resultante dos parâmetros de ingestão relativa, duração da refeição, taxa de alimentação, tempo de latência, duração da alimentação, descanso, limpeza e outras atividades. Nesse sentido, não foram observadas diferenças em nenhum dos componentes analisados (Tabela 4).

Tabela 4 - Avaliações da microestrutura do comportamento alimentar da prole.

Parâmetros/grupos	C (n= 12)	HH (n= 12)	P valor
Ingestão relativa (g/g)	3,78 ± 0,085	3,54 ± 0,156	0,188
Taxa de alimentação (g/min)	0,17 ± 0,008	0,16 ± 0,005	0,255
Tempo de latência (s)	20,33 ± 2,999	27,00 ± 4,211	0,200
Duração da alimentação (s)	1298,0 ± 45,56	1268,0 ± 38,17	0,623
Duração do descanso (s)	1258,0 ± 60,69	1322,0 ± 76,20	0,523
Duração da limpeza (s)	222,8 ± 22,76	174,8 ± 20,77	0,134
Duração de outras atividades (s)	820,9 ± 53,25	835,4 ± 58,78	0,856

Nota: C = Controle; HH = Hipercalórico/Hiperlipídico. Foi utilizado o teste t de student não pareado para diferença entre os grupos.

6.1.6 Avaliações do perfil bioquímico e peso relativo do TAB na prole

Após a eutanásia da prole aos 30 dias, o peso relativo do tecido adiposo foi mensurado nos coxins retroperitoneal, epididimal e mesentérico. Os animais HH apresentaram o aumento no peso relativo dos coxins epididimal ($p = 0,0095$) e retroperitoneal ($p = 0,0288$) (**Tabela 5**). Na mesma idade, o perfil bioquímico foi determinado pelo conjunto de análises de glicose, triglicerídeos, colesterol total, creatinina e albumina séricas. Os animais HH apresentaram concentrações similares de glicose, triglicerídeos e albumina, contudo, mostraram aumento na concentração de colesterol total ($p = 0,016$) e redução de creatinina ($p = 0,006$) (**Tabela 5**).

Tabela 5 - Peso relativo do tecido adiposo e perfil bioquímico da prole aos 30 dias.

Parâmetros/Grupos	C (n = 5-8)	HH (n= 6-8)	P valor
Epididimal (%)	0,163 ± 0,0160	0,224 ± 0,0120	0,0095
Retroperitoneal (%)	0,135 ± 0,0179	0,211 ± 0,0257	0,0288
Glicose (mg/dL)	149,60 ± 8,856	166,50 ± 12,610	0,321
Triglicerídeos (mg/dL)	120,93 ± 23,491	151,15 ± 9,555	0,234
Colesterol Total (mg/dL)	53,42 ± 3,064	76,41 ± 6,621	0,016
Creatinina (mg/dL)	0,36 ± 0,051	0,17 ± 0,026	0,006
Albumina (mg/dL)	6,66 ± 0,231	6,62 ± 0,257	0,924

Nota: C = Controle; HH = Hipercalórico/Hiperlipídico. Foi utilizado o teste T de *student* não pareado para diferença entre os grupos.

6.2 Artigo Original 2 - Kaempferol favorece o crescimento somático, inaltera o comportamento alimentar, enquanto reduz a adiposidade na prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica.

6.2.1 Crescimento somático da prole durante e pós exposição ao Kaempferol.

O peso corporal dos animais que receberam a administração de veículo(V) ou kaempferol(K) foi aferido diariamente do 7º ao 21º DPN. Os filhotes HHK apresentaram o peso corporal superior aos CK, do 15º ao 21º DPN ($p<0,05$). Enquanto, os animais do grupo HHV apresentaram maior peso corporal do que os filhotes CV do 17º ao 21º DPN ($p<0,05$) (Gráfico 8).

Gráfico 8 - Acompanhamento do peso corporal da prole durante a manipulação farmacológica.

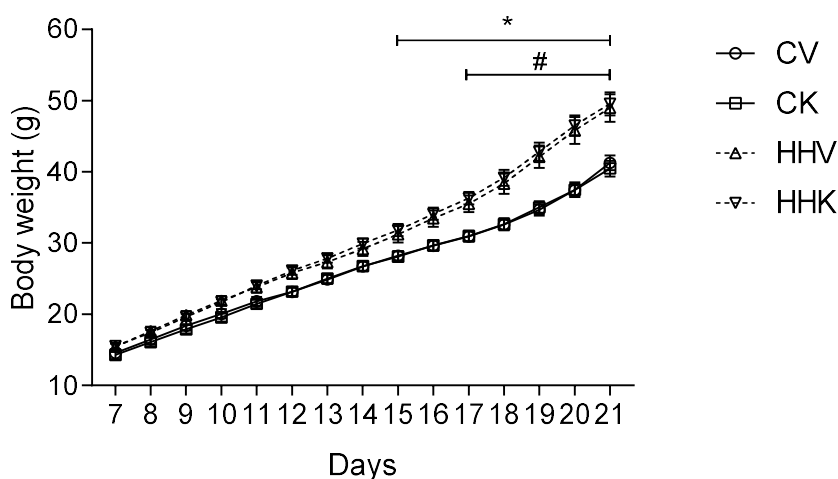


Gráfico 8 - Acompanhamento do peso corporal da prole durante a manipulação farmacológica. Prole de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10µl/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10µl/g), durante a lactação. Foi mensurado o peso corporal diário do 7º ao 21º DPN. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 14), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 20), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 12) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12). Dados expressos em Média ± EPM. ANOVA two-way medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni, * $p<0,05$ HHK vs CK; # $p<0,05$ HHV vs CV.

Após o período de adaptação à gaiola individual, foi realizado o acompanhamento diário do peso corporal do 25º ao 30º DPN. Os animais do grupo HHK apresentaram maior peso corporal que os CK, no intervalo entre o 28º ao 30º DPN ($p<0,05$) (**Gráfico 9**).

Gráfico 9 - Evolução do peso corporal da prole pós-desmame.

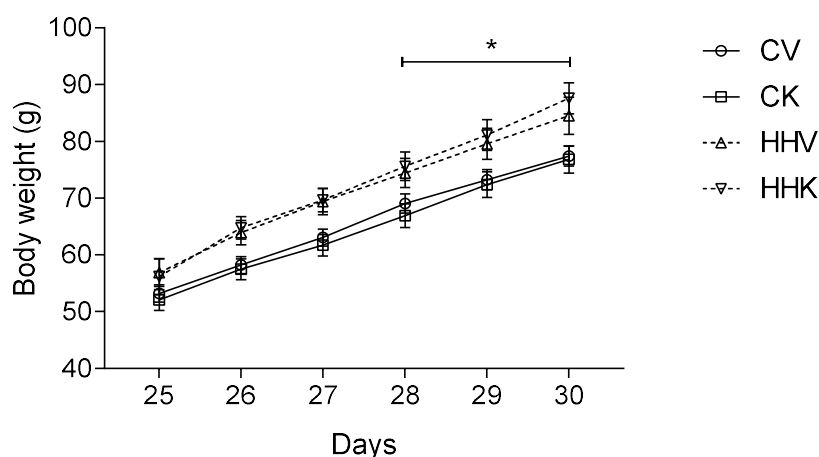


Gráfico 9 - Evolução do peso corporal da prole pós-desmame. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,1 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10µl/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10µl/g), durante a lactação. O peso corporal aferido do 25º ao 30º DPN. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 14), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 20), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 12) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12). Dados expressos em Média $\pm$ EPM. ANOVA two-way medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni, * $p<0,05$ HHK vs CK.

O crescimento somático da prole foi caracterizado através do conjunto de medidas murinométricas, dentre essas: eixos cranianos, eixo longitudinal, IMC e circunferências. O eixo latero-lateral do crânio foi maior no grupo HHK em relação ao CK ao 14º (CK: $16,86 \pm 0,128$; HHK: $17,89 \pm 0,258$; $p<0,05$) e 21º DPN (CK: $18,59 \pm 0,153$; HHK: $20,0 \pm 0,263$; $p<0,05$). Enquanto o grupo HHV comparado ao CV houve diferença apenas no 21º DPN (CV: $18,91 \pm 0,188$; HHV: $19,97 \pm 0,354$; $p<0,05$) (**Gráfico 10A**). No 21º DPN, os animais HHK em relação CK apresentaram o eixo longitudinal superior (CK: $114,4 \pm 1,27$; HHK: $122,3 \pm 1,21$; $p<0,05$) (**Gráfico 10C**). A circunferência torácica dos animais HHK e HHV foram maiores no 14º (CK: $6,5 \pm 0,03$; HHK: $7,3 \pm 0,12$; CV: $6,7 \pm 0,11$; HHV: $7,5 \pm 0,08$; $p<0,05$) e 21º DPN (CK: $8,1 \pm 0,12$; HHK: $8,7 \pm 0,12$; CV: $8,2 \pm 0,12$; HHV: $8,8 \pm 0,06$; $p<0,05$) quando comparados aos CK e CV, respectivamente, (**Gráfico**

10E). Não foram observadas diferenças entre os grupos no eixo anteroposterior do crânio, IMC e circunferência abdominal (Gráfico 10B, D e F).

Gráfico 10 - Acompanhamento das medidas murinométricas da prole durante a lactação.

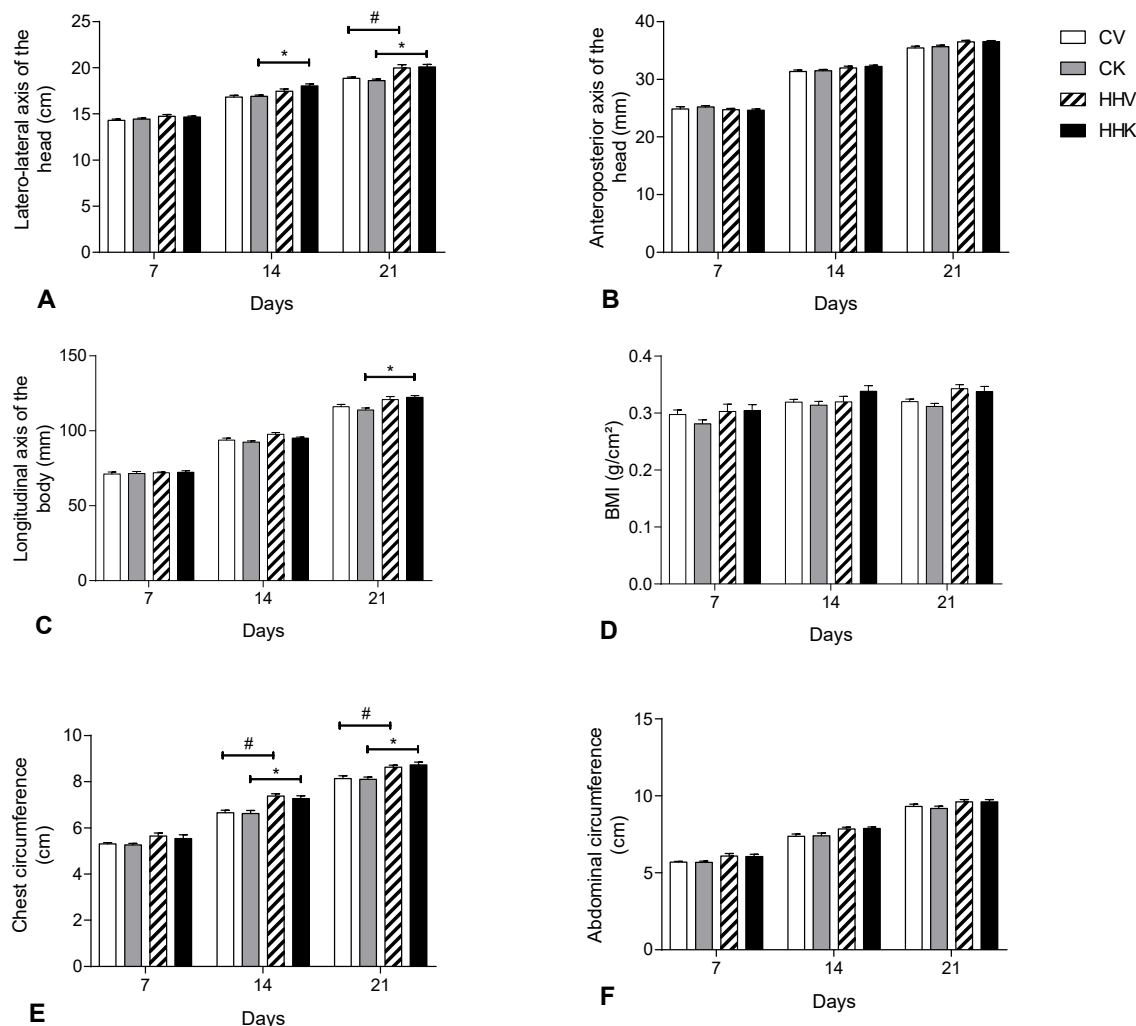


Gráfico 10 - Acompanhamento das medidas murinométricas da prole durante a lactação.

Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10µl/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10µl/g), durante a lactação. Foram coletados os eixos laterolateral (10A), anteroposterior (10B), longitudinal (10C), IMC (10D) e circunferências torácica (10E) e abdominal (10F) ao 7º, 14º e 21º DPN. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 17), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 17), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 12) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12). Dados expressos em Média ± EPM. *ANOVA two-way* medidas repetidas seguido do pós-teste de *Bonferroni*, * $p < 0,05$ HHK vs CK; # $p < 0,05$ HHV vs CV.

As medidas murinométricas da prole foram reavaliadas após o desmame no 25° e 30° DPN. O eixo latero-lateral do crânio foi maior nos animais HHK comparado ao CK em ambas as idades (CK: $19,69 \pm 0,142$; 21, 07 $\pm 0,141$; HHK: $20,91 \pm 0,16$; 21,9 $\pm 0,19$; $p < 0,05$), enquanto nos animais do grupo HHV em relação CV apenas no 25° DPN (CV: $19,9 \pm 0,155$; HHV: $20,88 \pm 0,214$; $p < 0,05$) (**Gráfico 11A**). No 25° DPN, o eixo anteroposterior foi maior em ambos os grupos (CK: $37,86 \pm 0,182$; HHK: $39,04 \pm 0,195$; CV: $37,62 \pm 0,298$; HHV: $38,55 \pm 0,174$; $p < 0,05$) (**Gráfico 11B**). Os filhotes HHK comparado ao CK apresentaram o eixo longitudinal superior em ambas as idades (CK: $125,7 \pm 1,46$; 139,3 $\pm 1,60$; HHK: $134,4 \pm 1,34$; 146,9 $\pm 1,83$; $p < 0,05$) (**Gráfico 11C**). Os parâmetros de IMC, circunferência torácica e abdominal não diferiram entre os grupos pós-desmame (**Gráficos 11D, E e F**).

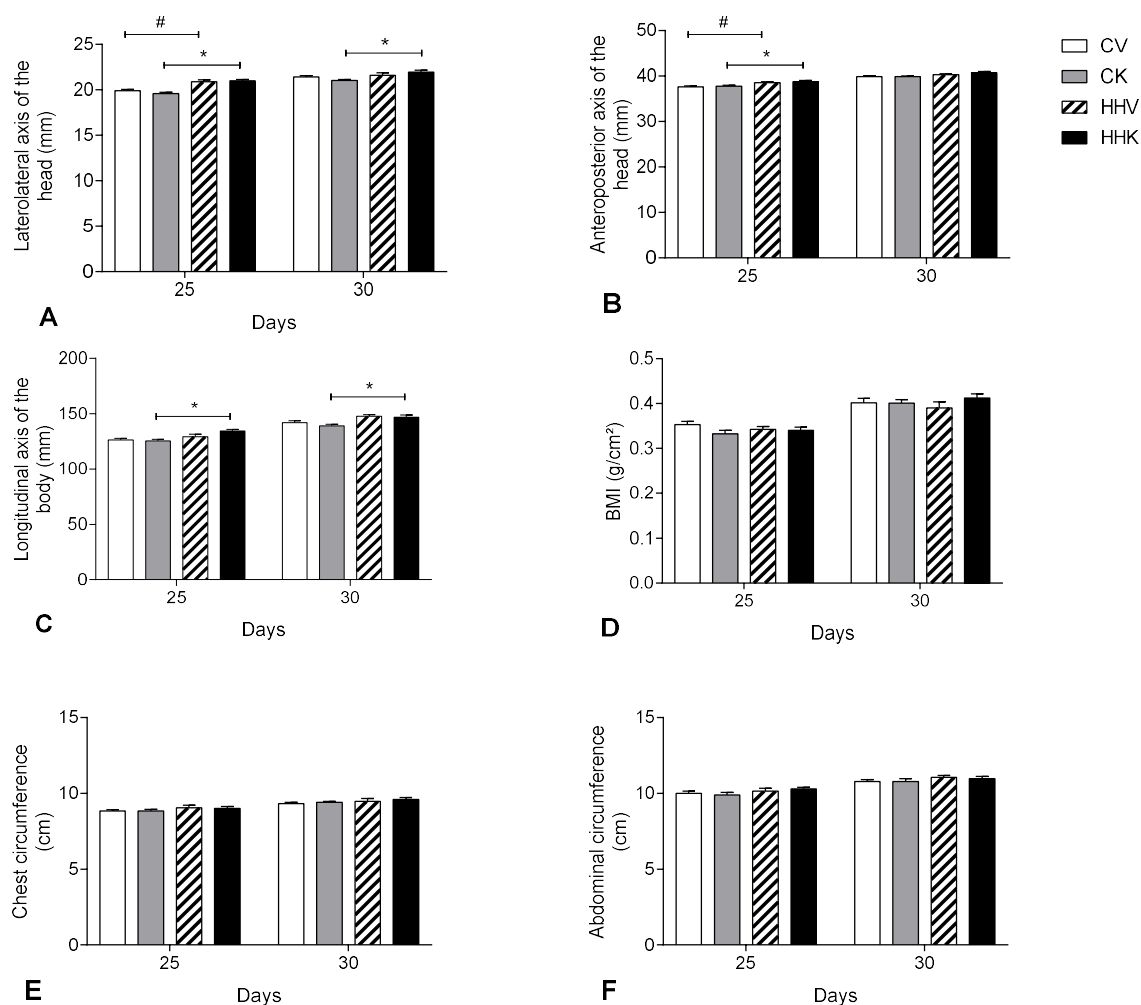
Gráfico 1 - Medidas murinométricas da prole pós-desmame.

Gráfico 11 - Medidas murinométricas da prole pós-desmame. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10 μ l/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10 μ l/g), durante a lactação. Foram coletados os eixos laterolateral (11A), anteroposterior (11B), longitudinal (11C), IMC (11D) e circunferências torácica (11E) e abdominal (11F) ao 25° e 30° DPN. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 17), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 17), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 12) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12). Dados expressos em Média $\pm$ EPM. *ANOVA two-way* medidas repetidas seguido do pós-teste de *Bonferroni*, * p <0,05 HHK vs CK; # p <0,05 HHV vs CV.

6.2.2 Análises do comportamento alimentar da prole que teve a administração do kaempferol durante a lactação.

A avaliação do consumo alimentar foi representada pela média de cinco dias consecutivos de acompanhamento, não foi observada diferença entre os grupos (**Gráfico 12**).

Gráfico 12 - Mensuração do consumo alimentar diário da prole pós-desmame cujo administração de veículo ou kaempferol ocorreu na lactação.

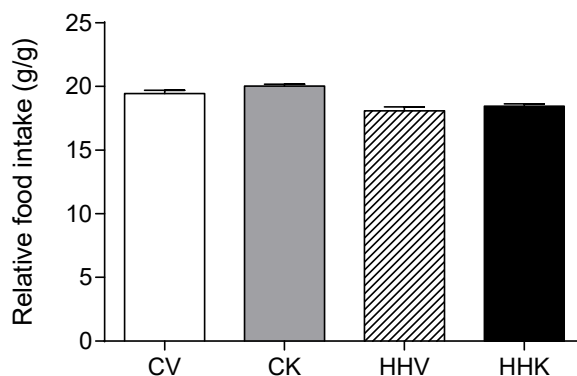


Gráfico 12 - Mensuração do consumo alimentar diário da prole pós-desmame cujo administração de veículo ou kaempferol ocorreu na lactação. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10µl/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10µl/g) durante a lactação. O consumo alimentar foi aferido diariamente em dias consecutivos, do 26° ao 30° DPN. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 11), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 11), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 11) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12). Dados expressos em Média ± EPM. *ANOVA two-way* medidas repetidas seguido do pós-teste de *Bonferroni*, * $p < 0,05$ HHK vs CK.

Na SCS, o tempo total gasto por comportamento foi quantificado. Não houve diferenças entre os grupos em nenhum dos comportamentos analisados (**Gráfico 13**).

Gráfico 13 - Tempo total gasto (%) nos comportamentos avaliados na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) da prole cujo foi administrado veículo ou kaempferol neonatal.

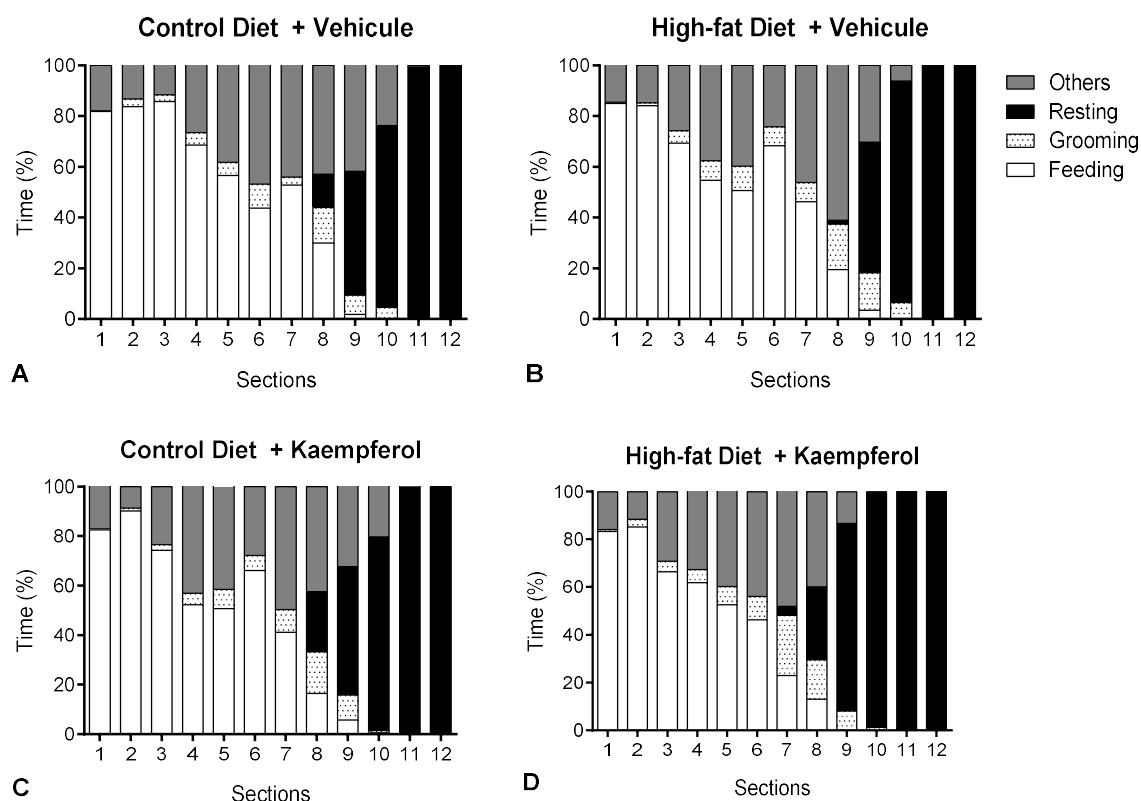


Gráfico 13 - Tempo total gasto (%) nos comportamentos avaliados na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) da prole cujo foi administrado veículo ou kaempferol neonatal. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10µl/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10µl/g) durante a lactação. Foram coletados o tempo gasto durante a alimentação, limpeza, descanso e outras atividades na SCS no 30º DPN. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 11; 13A), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 11; 13C), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 11; 13B) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12; 13D). Dados expressos em Média ± EPM. *ANOVA two-way* medidas repetidas seguido do pós-teste de *Bonferroni*.

O ponto de saciedade foi determinado aos 30 dias de vida pela sequência comportamental de saciedade, obtido pela interseção entre a alimentação e o descanso. Em relação a manipulação nutricional, não houve diferença no ponto de saciedade entre os grupos HH comparado ao C (**Gráfico 14A e B**). Similarmente, a administração de kaempferol não promoveu o deslocamento do ponto de saciedade nos diferentes grupos (**Gráfico 14 C e D**).

Gráfico 14 - Determinação do ponto de saciedade avaliado na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) da prole cujo foi administrado veículo ou kaempferol neonatal.

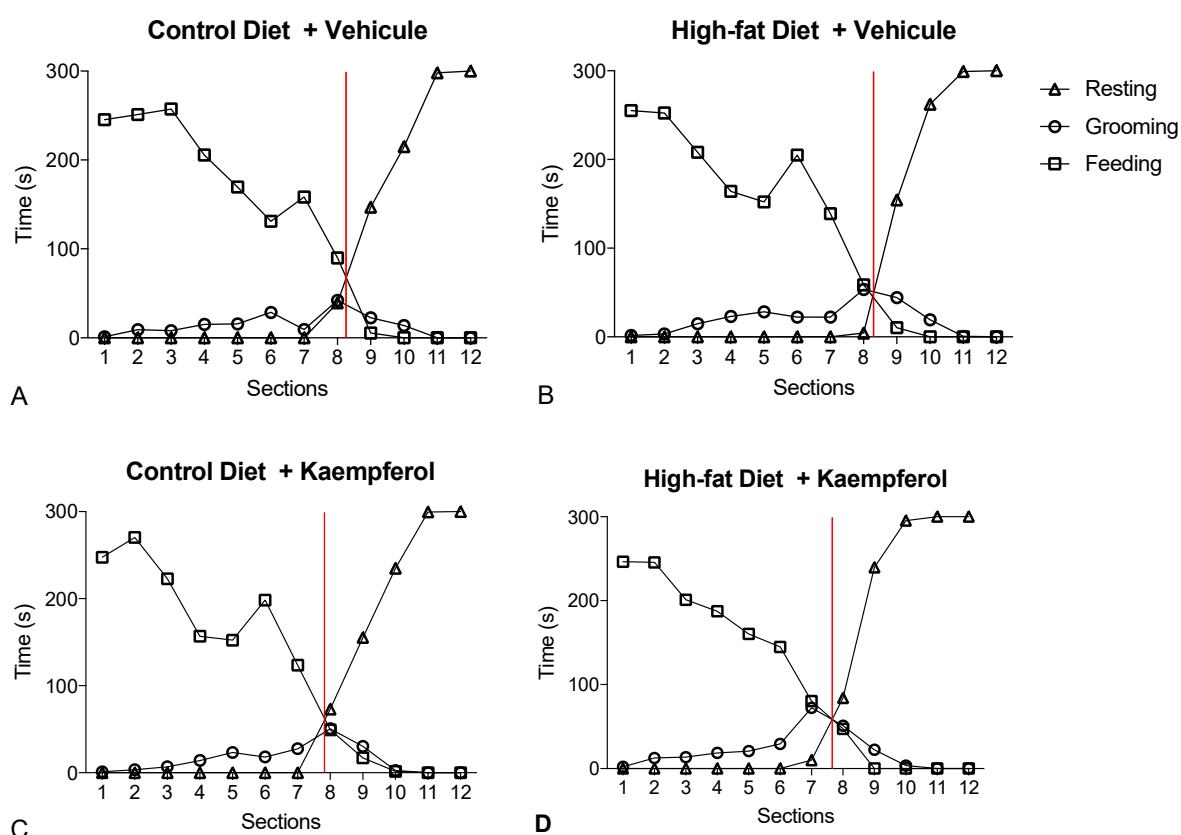


Gráfico 14 - Determinação do ponto de saciedade avaliado na Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) da prole cujo foi administrado veículo ou kaempferol neonatal. Filhotes de mães alimentadas com dieta Controle (C; 3,4 kcal/g) ou Hipercalórica/Hiperlipídica (HH; 4,6 kcal/g) tiveram a administração de Veículo (V, DMSO 1%, 10µl/g) ou kaempferol (K, 1 mg/kg; 10µl/g) durante a lactação. Os comportamentos de alimentação, limpeza e descanso foram analisados, sendo o ponto de saciedade a interseção entre a alimentação e descanso, sendo destacado pela linha vertical. Dieta Controle e Veículo (CV, n= 11, 14A), Dieta Controle e Kaempferol (CK, n= 11, 14C), Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Veículo (HHV, n= 11, 14B) e Dieta Hipercalórica/Hiperlipídica e Kaempferol (HHK, n= 12, 14D).

A microestrutura do comportamento alimentar representa um conjunto de parâmetros, sendo eles: ingestão relativa, taxa de alimentação, tempo de latência, duração de alimentação, descanso, limpeza e outras atividades. Nesse sentido, não foram observadas diferenças significativas em nenhum dos parâmetros avaliados (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Avaliações da microestrutura do comportamento de alimentação da prole.

Parâmetros/grupos	CV	CK	HHV	HHK	P valor
Ingestão relativa (g/g)	4,4 ± 0,24	4,1 ± 0,41	3,8 ± 0,27	3,3 ± 0,17	ns
Taxa de alimentação (g/min)	0,16 ± 0,009	0,17 ± 0,011	0,17 ± 0,004	0,16 ± 0,005	ns
Tempo de latência (s)	18,0 ± 2,78	18,9 ± 3,89	16,4 ± 4,21	9,4 ± 2,08	ns
Duração da alimentação (s)	1514,0 ± 180,20	1440,0 ± 320,10	1445,0 ± 237,30	1313 ± 209,70	ns
Duração do descanso (s)	995,5 ± 275,00	1063,0 ± 268,30	1020 ± 158,20	1229 ± 182,90	ns
Duração da limpeza (s)	165,7 ± 54,64	178,3 ± 56,06	233,9 ± 65,97	246,7 ± 56,71	ns
Duração de outras atividades (s)	921,3 ± 270,00	918,3 ± 290,60	901,7 ± 182,50	810,9 ± 132,30	ns

Nota: CV = Controle Veículo, CK = Controle Kaempferol, HHV = Hipercalórico /Hiperlipídico Veículo, HHK = Hipercalórico /Hiperlipídico Kaempferol. Dados expressos em Média ± EPM, ANOVA two-way seguido pelo pós-teste de Bonferroni

6.2.3 Análises bioquímicas e peso relativo do TAB ao 30° DPN da prole cuja administração de kaempferol ocorreu durante a lactação.

O peso relativo do tecido adiposo dos coxins retroperitoneal, mesentérico e epididímal foram mensurados aos 30 DPN da prole. O coxim retroperitoneal não diferiu entre os grupos. Todavia, o coxim epididímal da prole HHV foi mais pesado do que CV ($p < 0,05$), enquanto o HHK foi mais leve que o HHV ($p < 0,05$) (**Tabela 7**). O perfil bioquímico é resultante do conjunto de análises séricas da glicose, colesterol, triglicerídeos, albumina e creatinina. Esse último foi o único parâmetro bioquímico que apresentou significativamente inferior no grupo HHK comparado ao HHV e CK ($p < 0,05$) (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Peso relativo do tecido adiposo e perfil bioquímico da prole aos 30 dias.

Parâmetro / Grupos	CV (n= 5-7)	CK (n= 6-7)	HHV (n= 6-7)	HHK (n= 6-7)	P valor
Epidídimal (%)	0,186 ± 0,0124	0,158 ± 0,0173	0,299 ± 0,0130 [#]	0,204 ± 0,0154 [‡]	$p < 0,05$
Retroperitoneal (%)	0,144 ± 0,0262	0,140 ± 0,0062	0,162 ± 0,0128	0,135 ± 0,0146	ns
Glicose (mg/dL)	155,73 ± 9,370	150,55 ± 6,999	154,77 ± 6,634	167,61 ± 5,206	ns
Triglicerídeos (mg/dL)	95,44 ± 19,764	100,86 ± 14,510	134,96 ± 19,215	113,02 ± 13,902	ns
Colesterol Total (mg/dL)	62,46 ± 4,784	64,38 ± 3,802	76,65 ± 6,422	76,96 ± 7,979	ns
Creatinina (mg/dL)	0,27 ± 0,016	0,26 ± 0,021	0,29 ± 0,021	0,16 ± 0,021 ^{*‡}	$p < 0,01$
Albumina (mg/dL)	6,56 ± 0,275	6,85 ± 0,285	6,20 ± 0,233	6,89 ± 0,337	ns

Nota: CV = Controle Veículo, CK = Controle Kaempferol, HHV = Hipercalórico /Hiperlipídico Veículo, HHK = Hipercalórico /Hiperlipídico Kaempferol. Dados expressos em Média ± EPM, *ANOVA two-way* seguido pelo pós-teste de *Bonferroni*. *HHK vs CK; [#]HHV vs CV; [‡]HHK vs HHV; ns = Não há diferença significativa.

7 DISCUSSÃO

7.1 Artigo Original 1 - Dieta hiperlipídica materna altera o crescimento, adiposidade e bioquímica na prole jovem em ratos.

Na presente dissertação foi possível compreender a influência da exposição materna à dieta hiperlipídica e hipercalórica nas fases de gestação e lactação sobre parâmetros de crescimento somático, comportamento alimentar e aspectos bioquímicos de sua prole. Os principais resultados revelam que a exposição materna crítico à dieta hipercalórica e hiperlipídica não influenciou a sua ingestão calórica, peso corporal e características da ninhada. Contudo, aumentou o peso relativo de tecido adiposo materno, ao final da lactação. Em relação à prole, foi observado aumento pontual do peso corporal, assim como, das medidas murinométricas em diferentes momentos da lactação. No comportamento alimentar houve uma antecipação discreta no ponto de saciedade da prole HH. Apesar disso, os animais deste grupo apresentaram maior peso relativo do tecido adiposo branco nos coxins epididimal e retroperitoneal. Por fim, foi constatado que no 30° DPN, o grupo HH mostrou aumento de colesterol total e redução na creatinina séricos.

O peso corporal, ingestão calórica e a caracterização da ninhada não sofreram alterações pela exposição materna à dieta hipercalórica e hiperlipídica. Corroborando, outros autores também não encontraram modificações no peso corporal materno durante a manipulação com dietas hiperlipídicas (43% kcal/lipídios; 51% kcal/lipídios) na fase crítica (BARRAND et al., 2017; CADENA-BURBANO et al., 2019). Por outro lado, alguns autores relatam que a dieta hiperlipídica (60% kcal/lipídios) promove o aumento do peso corporal materno e a ingestão calórica média ao longo de toda manipulação (WINTHER et al., 2018). Estudos como o de Cadena-Burbano *et al.* (2017) revelam que manipulação materna com dieta similar também não altera as características da ninhada. Quanto à ingestão calórica materna, Cadena-Burbano *et al.* (2017) e Fante *et al.* (2016) (46% kcal/lipídios) não observaram diferenças durante a gestação e lactação. Contudo, o aumento no peso do TAB materno provocado pela exposição à dieta hiperlipídica (46% kcal/lipídios) é uma das alterações na composição corporal anteriormente descritas na literatura (DE FANTE et al., 2016; FRANCO et al., 2012; LEMES et al., 2018).

A exposição das ratas ao ambiente altamente calórico pode desencadear mecanismos adaptativos na ingestão, como a redução no consumo bruto, com o intuito de manter o equilíbrio da ingestão energética (CADENA-BURBANO et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2018). Essa resposta adaptativa representa o chamado “*set-point*” de peso corporal, sendo gerido através do hipotálamo, principal responsável por regular o balanço energético (KEESEY, R.E. &

HIRVONEN, 1997). Apesar do *set-point* favorecer o ganho de peso total similar entre os grupos, a composição corporal pode ser comprometida pela maior contribuição calórica dos lipídios na ingestão (MELHORN et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2018). Esse excesso de lipídios compromete vias de sinalização do balanço energético, dentre elas, a insulina, e consequentemente favorecer a estocagem da energia em gordura (BENOIT et al., 2013; CHOI et al., 2015). Com isso, as adipócitos tendem a aumentar de tamanho e quantidade em diferentes coxins, até mesmo em roedores resistentes à obesidade (CHOI et al., 2015; PORET et al., 2018).

O peso corporal da prole de mães hiperlipídicas foi pontualmente superior ao controle durante a lactação, apesar disso do maior crescimento somático em diferentes pontos da lactação e pós-desmame. Giriko *et al.* (2013) descreveram menores peso e comprimento corporais durante a lactação em filhotes de mães hiperlipídicas (52% kcal/lipídios). Outros pesquisadores não encontraram alterações nas medidas murinométricas pós-desmame entre os grupos (31% kcal/lipídios) (PINHEIRO et al., 2019). Nossos resultados de peso corporal pós-desmame diferem de Fante *et al.*, (2016) e Melo *et al.* (2014), onde a prole de mães hiperlipídicas (47% kcal/lipídios) foram mais pesadas. No entanto, Whinter *et al.* (2018), Franco *et al.* (2012) e Oliveira *et al.* (2018) também observaram aumento pontual do peso corporal da prole de mães hiperlipídica. Outros estudos evidenciaram a dieta hiperlipídica materna na gestação e/ou lactação promove maior crescimento murinométrico na prole através dos eixos cranianos, longitudinal e peso corporal (CADENA-BURBANO et al., 2019; MENDES-DA-SILVA et al., 2014). Oliveira *et al.* (2018) relataram que a prole de mães HH tinham maiores eixo longitudinal e comprimento da cauda que o controle no 21º DPN.

Nesse sentido, o crescimento somático da prole durante a fase de lactação é acentuado, mas alterações no aporte nutricional materno podem modificar o padrão de crescimento de sua prole (KOJIMA; CATAVERO; RINAMAN, 2016). Alguns estudos indicam que a exposição materna à dieta hiperlipídica é capaz de intensificar a taxa de ganho de peso da prole durante a lactação, mas que normaliza no pós-desmame (CARDENAS-PEREZ et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018). A elevação do ganho de peso destes filhotes pode ter relação com a maior densidade nutricional encontrada no leite materno, rico em triglicerídeos, colesterol e proteínas (FRANCO et al., 2012). Outros aspectos também influenciam o crescimento elevado, como a hiperleptinemia e a independência alimentar da prole, também em animais expostos à dietas hiperlipídicas (60% kcal/lipídios) (FRANCO et al., 2012; KOJIMA; CATAVERO; RINAMAN, 2016). Nesse contexto, poderá ocorrer a resistência central à leptina, um dos sinais de saciedade em longo prazo (FRANCO et al., 2012). Além disso, a antecipação da

independência alimentar precoce, busca por alimentos sólidos durante a lactação, ocorre na prole exposta à dieta hiperlipídica materna (KOJIMA; CATAVERO; RINAMAN, 2016). Esse achado se relaciona com a antecipação do desenvolvimento de características físicas, como irrupção dentária e abertura dos olhos em filhotes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (FERRO-CAVALCANTI et al., 2013).

Na avaliação do comportamento alimentar, a prole HH não diferiu quanto à ingestão relativa e nos parâmetros mensurados na SCS, exceto a sutil antecipação do ponto de saciedade. Em relação a ingestão alimentar, Fante *et al.* (2016) e Melo *et al.* (2014) encontraram o aumento da ingestão alimentar aos 28 dias de vida, na prole de camundongos oriundos de mães hiperlipídicas. Na literatura, outros resultados apontam para ausência da diferença na ingestão alimentar entre grupos aos 28 dias de vida da prole de mães hiperlipídicas (62% kcal/lipídios) (SUN et al., 2013). Corroborando, a programação pela dieta hiperlipídica materna não promoveu a diferença na ingestão bruta ou calórica da prole do 24° ao 48° DPN (CARDENAS-PEREZ et al., 2018). Na SCS da prole, de ambos os sexos, foi observado atraso do ponto de saciedade e maiores frequência e duração de alimentação quando as mães foram alimentadas com dieta de cafeteria (WRIGHT et al., 2011). Contudo, animais adultos expostos à dieta hiperlipídica (60% kcal/lipídios) apresentaram a antecipação do ponto de saciedade e ingestão relativa após administração de um análogo ao peptídeo YY (JONES et al., 2019).

O organismo jovem parece ser parcialmente resistente às alterações em componentes do comportamento alimentar, geradas pela programação materna através da dieta hiperlipídica (SUN et al., 2013; YOKOMIZO et al., 2014). As repercussões precoces, como aumento na ingestão e modificação do padrão alimentar, parecem ser potencializadas pela idade ou através da reexposição à dieta hiperlipídica no pós-desmame (YOKOMIZO et al., 2014). Nesse contexto, o receptor MC4R representa uma das principais vias de sinalização central da saciedade sensíveis à insulina e leptina, enquanto a orexina age inversamente influenciando comportamentos relacionados à fome (GAO; HORVATH, 2016; NUZZACI et al., 2015). Apesar da programação dietética materna não alterar a expressão de MC4R em núcleos hipotalâmicos, foi capaz de reduzir a orexina e o receptor de leptina, e aumentando NPY no arqueado da prole adulta (SUN et al., 2013). Essas modificações observadas constituem um ambiente que favorece, em longo prazo, o aumento da ingestão alimentar da prole e gera um balanço energético positivo (SUN et al., 2013).

A programação materna através da dieta hiperlipídica promoveu maior adiposidade nos coxins retroperitoneal e epididimal da prole aos 30 dias. Nesse sentido, Lima *et al.* (2018)

observaram aumento no peso relativo da gordura visceral da prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (47% kcal/lipídiosx) aos 22 dias de vida. Enquanto na prole de camundongos alimentadas com HFD (47% kcal/lipídios), também foi relatado o aumento do peso relativo do TAB epididimal e retroperitoneal aos 28 dias de vida (DE FANTE et al., 2016; MELO et al., 2014). O perfil bioquímico da prole de mães hiperlipídicas apresentou-se parcialmente alterado, pelo aumento sérico de colesterol total. Reafirmando esses achados, Lima *et al.* (2018) observaram aumento do colesterol total em filhotes de mães hiperlipídicas, logo após o desmame (22° DPN). Nessa perspectiva, Huang *et al.*, (2017) também descreveram que a manipulação materna altera diversos parâmetros bioquímicos, dentre eles o aumento do colesterol total na prole.

Esses resultados revelam que a dieta materna pode influenciar a adiposidade e perfil lipídico da prole pela maior expressão de genes que favorecem a lipogênese, dentre eles *Me1* (*Cytosolic Malic Enzyme 1*) e *Scd1* (*Stearoyl-CoA Desaturase*) (HUANG et al., 2017). A *Scd1* é uma das enzimas que age catalisando a conversão de ácidos graxos saturados em frações lipídicas percursoras do colesterol e dos triglicerídeos e que serão estocados nos adipócitos (PATON; NTAMBI, 2009; RALSTON; MUTCH, 2015). Animais *knockout Scd1^{-/-}*, ou cuja enzima está inibida, apresentam menor deposição de gordura, níveis séricos de colesterol e triglicerídeos, além de favorecer a β -oxidação (SAMPATH; NTAMBI, 2011). Por sua vez, a enzima *Me1* é expressa em diversos tecidos, como os adipócitos e hepatócitos, e age convertendo o malato em precursores da síntese de ácidos graxos saturados (AL-DWAIRI et al., 2014). A depleção dessa enzima reduz a taxa de ganho de peso e adiposidade gonadal e retroperitoneal, ainda que reexposto à dieta hiperlipídica pós-desmame (AL-DWAIRI et al., 2012). Ademais, ratos *knockout Me1* apresentam menor deposição de gordura no fígado, área de adipócitos e expressão de enzimas lipogênicas, como a *FASN* (*Fatty Acid Synthase*) (AL-DWAIRI et al., 2012).

No presente estudo foi observada a redução dos níveis séricos de creatinina da prole oriunda de mães hiperlipídicas. Contudo, na prole adulta de mães hiperlipídicas foi observado o aumento sérico desse metabólito (GLASTRAS et al., 2016, 2017). A creatinina é um metabólito do sistema energético muscular fosfocreatina, pelo qual o tecido produz energia em curto prazo, com produção constante (WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000). Devido essa relação com o músculo, a creatinina tem ganhado destaque como indicador de massa muscular (BAXMANN et al., 2008; THONGPRAYOON; CHEUNGPAITPORN; KASHANI, 2016). Alguns pesquisadores têm evidenciado que a exposição à dieta hiperlipídica é capaz de reduzir

a massa muscular e a expressão de genes relacionados, como o *Bmp4*, *Adam7* e *Opn3* (CHOI et al., 2015; NILSSON et al., 2016). A dieta hiperlipídica também aumenta a deposição de gordura e sinalização pró-inflamatória nos músculos, comprometendo a manutenção da força muscular (ANDRICH et al., 2018; NILSSON et al., 2016; WU; BALLANTYNE, 2017). Estudos clínicos tem correlacionado baixos níveis deste metabólito ao estado nutricional e mortalidade (THONGPRAYOON; CHEUNGPASITPORN; KASHANI, 2016).

7.2 Artigo Original 2 - Kaempferol favorece o crescimento somático, inaltera o comportamento alimentar, enquanto reduz a adiposidade na prole de mães alimentadas com dieta hiperlipídica.

Na segunda parte da dissertação, os dados foram agrupados pela manipulação neonatal com kaempferol, do 8º ao 21º DPN, em associação a exposição materna à dieta controle ou hipercalórica e hiperlipídica durante o período crítico. Identificamos que durante a lactação a prole HHV obteve o aumento do peso corporal do 17º DPN ao desmame. Enquanto, no grupo HHK, iniciou o aumento no 15º até o 30º DPN. O crescimento das medidas murinométricas no grupo HHK ocorreu a partir do 14º até o 30º DPN. Apesar disso, a ingestão média do grupo HHK foi inferior ao grupo CK. A administração do kaempferol reduziu o percentual de tempo gasto nos comportamentos classificados como “outros” e aumentou no descanso. Dessa forma, a prole HHK e CK apresentaram uma pequena antecipação do ponto de saciedade. Em relação, ao TAB os animais o kaempferol reduziu o efeito da dieta hipercalórica/hiperlipídica no peso relativo, enquanto essa dieta reduziu a deposição do mesentérico. Por fim, os animais HHK obtiveram a redução dos níveis séricos de creatinina.

A exposição materna à dieta hiperlipídica promoveu o aumento do peso corporal da prole, sendo antecipada quando associada à administração do kaempferol. Ademais, esse padrão de crescimento foi mantido no grupo HHK através dos resultados obtidos nas medidas murinométricas. De modo similar, a prole de mães HFD, re-expostas à dieta materna e que tiveram a administração de resveratrol no pós-desmame apresentaram maior peso corporal que o grupo controle aos 120 dias de vida (TIAO et al., 2018). Corroborando, camundongos expostos à HFD (60% kcal/lipídios) e extrato de flavonoides (100 e 300 mg/kg) apresentaram maior peso corporal em comparação ao controle (HAO et al., 2019). Entretanto, a exposição à HFD (45% kcal/lipídios) adicionada de quercetina (0,8%), flavonoide similar ao kaempferol, não foi observada diferença entre grupos ao longo de 8 semanas (STEWART et al., 2008). Resultados similares no peso corporal e menor ganho foram descritos em camundongos fêmeas

adultas submetidas à dieta hiperlipídica com baixo teor de flavonoides (1-2%) durante 8 semanas (AOKI et al., 2007).

O crescimento somático exacerbado pode ter relação com o aumento da taxa de ganho de peso provocado pela exposição conjunta da dieta hiperlipídica e flavonoides (CHANG et al., 2011). Em animais adultos submetidos à doxorubicina, droga cardiotóxica, foi observado que o kaempferol em diferentes doses (2-10 mg/kg) pode aumentar a taxa de ganho de peso, amenizando seus efeitos deletérios (XIAO et al., 2012). Corroborando, Chang *et al.* (2011) observaram que animais adultos expostos à HFD e que receberam kaempferol em diferentes doses (75 e 150 mg/kg) apresentaram maior ganho de peso que o controle sem alterar sua ingestão. O gasto energético, outro aspecto que influencia diretamente o crescimento somático, parece ser manter inalterado mediante exposição crônica à HFD associada à flavonoides (STEWART et al., 2008). Nesse sentido, a administração aguda de kaempferol (7 mg/kg) parece não reverter efeitos deletérios na atividade locomotora promovidos por fatores externos (LAGOA et al., 2009). Ademais, os flavonoides parecem não alterar outros parâmetros relacionados à locomoção, como a distância total percorrida no labirinto elevado em cruz (VISSIENNON et al., 2012).

A avaliação do comportamento alimentar evidenciou que o kaempferol não promoveu a antecipação do ponto de saciedade em ambas as dietas, nem alterou a ingestão relativa e a microestrutura da SCS. Corroborando, Chang *et al.* (2011) não observou diferença na ingestão alimentar em ratos adultos submetidos à dieta hiperlipídica e diferentes doses de kaempferol (75, 150, 300 mg/kg) por 8 semanas. Stewart *et al.* (2008) também não observou diferença na ingestão semanal em animais adultos submetidos à HFD suplementada com quercetina. A dieta hiperlipídica com baixo percentual de flavonoides não promoveu alterações no consumo alimentar durante as 8 semanas de manipulação nutricional das camundongos fêmeas com 56 dias (AOKI et al., 2007). Na SCS, outros pesquisadores observaram a modificação no padrão de comportamentos, mas houve a antecipação do ponto de saciedade em ratos expostos ao estresse da separação materna durante o ciclo escuro, fase de maior atividade (DA SILVA et al., 2014). Corroborando, a administração do antipsicótico olanzapina antecipou o ponto de saciedade e inalterou o tempo de latência em ratas adultas, mas reduziu o tempo de alimentação (COOPER; GOUDIE; HALFORD, 2009).

A ingestão alimentar similar nos grupos é um possível sinal de que a programação materna nas populações neurais hipotalâmicas, responsáveis por gerir o balanço energético, são mais evidentes no animal adulto (GALI RAMAMOORTHY et al., 2018). Corroborando, os

compostos fenólicos parecem exercer pouca influência na modulação dos sistemas centrais que regulam em longo prazo do comportamento homeostático, dentre eles o serotoninérgico (OKUDA et al., 2014). Apesar do kaempferol não alterar os parâmetros da SCS da prole, alguns estudos revelam a influência dos compostos bioativos em favorecer breves sinais de saciedade, por seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (PANICKAR, 2013). A exposição aos polifenóis pode interagir com a microbiota intestinal contribuindo para expressão de peptídeos intestinais, como o peptídeo YY (PYY) e o peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) (DAO et al., 2011; VAN HUL; CANI, 2019). Esse conjunto de sinais periféricos atuam sinergicamente na regulação da ingestão alimentar em curto prazo, promovendo a saciedade através da sua integração com os núcleos hipotalâmicos (DE SILVA; BLOOM, 2012).

No grupo HHK houve a menor adiposidade em comparação ao HHV, entretanto não há diferença com o grupo controle. Em oposição, Chang *et al.* (2011) não observaram a redução da adiposidade nos coxins de animais adultos expostos à dieta HFD e diferentes doses de kaempferol comparados ao grupo HFD que recebeu veículo. Resultados similares foram observados em camundongos submetidos à dieta HFD acrescida de quercetina, não houve diferença na adiposidade em comparação ao grupo controle (STEWART et al., 2008). Entretanto, animais adultos que receberam suplementação de kaempferol (0,15%) na dieta hiperlipídica também apresentaram redução no percentual de gordura no coxim epididimal (ZANG et al., 2015). A redução no peso do coxim epididimal foi observado em roedores que receberam dieta HFD (61% kcal/lipídios) concomitante à luteonina (10 mg/kg) durante 8 semanas (GENTILE et al., 2018a). Camundongos jovens alimentados com dieta HFD (61% kcal/lipídios) e que receberam apigenina (10 mg/kg), pertencente ao grupo dos flavonoides, apresentaram à redução da adiposidade do coxim epididimal em relação ao grupo HFD (GENTILE et al., 2018b).

A redução da adiposidade em modelos experimentais pode ter relação com a capacidade que os compostos bioativos têm de interagir com vias lipogênicas (MOSETI; REGASSA; KIM, 2016). Estudos *in vitro* evidenciaram que a exposição aos flavonoides, como o kaempferol, reduzem a expressão gênica do PPAR- γ , FABP-4 e CEBP/ α no fígado e tecido adiposo branco (HAO et al., 2019; VARSHNEY et al., 2019). Esses genes atuam na regulação da adipogênese através da diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos (LEFTEROVA et al., 2014; MOSETI; REGASSA; KIM, 2016). Os compostos bioativos também amenizam o estresse oxidativo nos adipócitos de animais HFD, reduzindo a expressão de adipocinas que alteram o metabolismo lipídico (CHEN et al., 2013; JAYARATHNE et al., 2017; OJULARI; LEE; NAM,

2019). A oxidação do colesterol LDL, por exemplo, representa outro marcador da adipogênese alvo dos compostos bioativos, dentre eles o resveratrol, inibindo sua formação (CHEN et al., 2013; LIU; CHEN; LI, 2017). Ademais, animais adultos submetidos à dietas hiperlipídicas, a administração do kaempferol parece amenizar os efeitos hipertrófico e hiperplásico nos adipócitos, assim como o grau de esteatose hepática (CHANG et al., 2011).

Os animais do grupo HHK não apresentaram alterações no perfil bioquímico, exceto pela redução nos níveis séricos de creatinina. Corroborando com nossos achados, a administração de flavonoides em associação à HFD não reduziu os níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total e glicose (HAO et al., 2019). Por outro lado, divergindo dos nossos resultados, a administração de apigenina em camundongos expostos à HFD pareceu favorecer à redução dos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e glicose séricos comparados à HFD (GENTILE et al., 2018b). A redução progressiva e sérica de creatinina, ureia e ácido úrico foram relatadas em ratos *Wistar* cuja administração intragástrica de *Caralluma fimbriata* diluída em água destilada ocorreu junto à exposição de dieta HFD (60% kcal/lipídios) (GUJJALA et al., 2016). Ratos *Sprague-Dawley* também apresentaram à redução da creatinina sérica quando expostos ao extrato de gengibre, rico em compostos bioativos, e alimentados com HFD (BIN-MEFERIJ et al., 2019). Ratos expostos à HFD (60% kcal/lipídios) na vida adulta e a quercetina (5 mg/kg) durante a senescência apresentaram a redução dos níveis séricos de creatinina quando comparados ao grupo HFD que recebeu veículo (KIM et al., 2019).

A creatinina é um dos metabólitos gerados através da degradação da fosfocreatina, recurso energético em curto prazo, comumente nos músculos esqueléticos (WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000). Porém, esse sistema é preservado quando outras rotas energéticas são prioritariamente requeridas, como a β -oxidação (BAKER; MCCORMICK; ROBERGS, 2010). Nesse sentido, alguns pesquisadores tem destacado que os compostos bioativos podem otimizar a conversão do gordura em energia, modulando genes envolvidos na β -oxidação (RAINS; AGARWAL; MAKI, 2011; RUPASINGHE et al., 2016). No fígado e o tecido adiposo branco de animais expostos à dieta hiperlipídica (31,7% lipídios) adicionada de polifenóis (0,5%) houve o aumento na expressão da *acil-CoA oxidase* (FUKUCHI et al., 2008). Outros autores sugerem que os compostos também estimulam a biogênese mitocondrial e a expressão de proteínas mitocondriais, como a carnitina *palmitoiltransferase* 1 (CTP-1), proteína desacopladora 1 (UCP-1) e sirtuina 1 (Sirt-1) (MEYDANI; HASAN, 2010; ZHANG et al., 2019). Esse conjunto de modificações pode estar envolvido na redução da adiposidade dos animais submetidos à dieta HFD, mas que receberam algum polifenol (FUKUCHI et al.,

2008). Adicionalmente, a redução da creatinina pode ter relação com a capacidade dos compostos bioativos em amenizar os danos oxidativos e funcionais nos rins, provocados pela dieta hiperlipídica (GUJJALA et al., 2016).

8 CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou que a manipulação materna através da dieta hiperlipídica promoveu maior crescimento somático, adiposidade visceral, colesterol total, redução da creatinina e a sutil antecipação no ponto de saciedade. Entretanto, a exposição materna à dieta hiperlipídica associada à administração neonatal de kaempferol favoreceram o maior crescimento somático, redução da creatinina sérica, adiposidade visceral e antecipação do ponto de saciedade.

8.1 Perspectivas

O presente estudo proporcionou alguns resultados que auxiliam no esclarecimento dos efeitos da exposição materna a dieta hipercalórica/hiperlipídica sobre comportamento alimentar, bioquímicos e somáticos da prole que recebeu kaempferol. Nesse sentido, outras possibilidades de investigação surgem para endossar nossos resultados, como análises moleculares e celulares de vias relacionadas ao balanço energético, composição corporal e sistemas de neurotransmissão. Dessa forma, a imunohistoquímica para SERT e 5HT nos núcleos hipotalâmicos, encontra-se em processamento com o intuito de complementar os resultados comportamentais, bioquímicos e somáticos. Pois, ainda são escassos os estudos que investigam o papel de alguns compostos bioativos, como o kaempferol, no contexto do período neonatal e visando potenciais efeitos protetores da programação materna.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-PACHECO, L.; SERNA-SALDI, S. O. Foods Enriched With Soybean Proteins. **Food & Nutrition Research**, v. 1, p. 1–9, 2016.
- ACEVEDO-PACHECO, L.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. In vivo protein quality of selected cereal-based staple foods enriched with soybean proteins. **Food Nutr Res.**, v. 60, p. 1–9, 2016.
- AKBARIAN, S.; BEERI, M. S.; HAROUTUNIAN, V. Epigenetic determinants of healthy and diseased brain aging and cognition. **JAMA Neurology**, v. 70, n. 6, p. 711–718, 2013.
- AL-DWAIRI, A. et al. Cytosolic Malic Enzyme 1 (ME1) Mediates High Fat Diet-Induced Adiposity, Endocrine Profile, and Gastrointestinal Tract Proliferation-Associated Biomarkers in Male Mice. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. 1–13, 2012.
- AL-DWAIRI, A. et al. Enhanced gastrointestinal expression of cytosolic malic enzyme (ME1) induces intestinal and liver lipogenic gene expression and intestinal cell proliferation in mice. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. 1–22, 2014.
- ALFARADHI, M. Z.; OZANNE, S. E. Developmental programming in response to maternal overnutrition. **Frontiers in Genetics**, v. 2, n. JUNE, p. 1–13, 2011.
- ALONSO-ALONSO, M. et al. Food reward system: Current perspectives and future research needs. **Nutrition Reviews**, v. 73, n. 5, p. 296–307, 2015.
- ANDRICH, D. E. et al. Altered lipid metabolism impairs skeletal muscle force in young rats submitted to a short-term high-fat diet. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. SEP, p. 1–12, 2018.
- AOKI, F. et al. Suppression by licorice flavonoids of abdominal fat accumulation and body weight gain in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 71, n. 1, p. 206–214, 2007.
- APARICIO, V. A. et al. Dietas hiperproteicas y estado renal en ratas. **Nutricion Hospitalaria**, v. 28, n. 1, p. 232–237, 2013.
- APOVIAN, C. M. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. **Am J Manag Care**, v. 22, n. 7 Suppl, p. s176-85, 2016.
- ARAUJO, E. P. et al. **Mechanisms in endocrinology: Hypothalamic inflammation and nutrition** *European Journal of Endocrinology*, 2016.
- ASLANI, S. et al. The effect of high-fat diet on rat's mood, feeding behavior and response to stress. **Translational Psychiatry**, v. 5, n. 11, p. e684-8, 2015.
- BÁEZ-SALDAÑA, A. et al. Biotin deficiency in mice is associated with decreased serum availability of insulin-like growth factor-I. **Eur J Nutr.**, v. 48, n. 3, p. 137–144, 2009.
- BÁEZ-SALDAÑA, A. et al. Differential effect of biotin on carboxylase activity and mice skeletal muscle metabolism. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 04, n. 07, p. 43–50, 2013.

BAI, M. et al. Relationship between molecular structure characteristics of feed proteins and protein in vitro digestibility and solubility. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, n. 8, p. 1159–1165, 2016.

BAKER, J. S.; MCCORMICK, M. C.; ROBERGS, R. A. Interaction among skeletal muscle metabolic energy systems during intense exercise. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2010, p. 1–13, 2010.

BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**.2007

BARRAND, S. et al. Impact of maternal high fat diet on hypothalamic transcriptome in neonatal sprague dawley rats. **PLoS ONE**, v. 12, n. 12, p. 1–16, 2017.

BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. S181–S191, 2003.

BAXMANN, A. C. et al. Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, n. 2, p. 348–354, 2008.

BENOIT, B. et al. High-fat diet action on adiposity, inflammation, and insulin sensitivity depends on the control low-fat diet. **Nutrition Research**, v. 33, n. 11, p. 952–960, 2011.

BIN-MEFERIJ, M. M. et al. Ginger extract ameliorates renal damage in high fat diet-induced obesity in rats: Biochemical and ultrastructural study. **International Journal of Morphology**, v. 37, n. 2, p. 438–447, 2019.

BLOCK, T.; EL-OSTA, A. Epigenetic programming, early life nutrition and the risk of metabolic disease. **Atherosclerosis**, v. 266, p. 31–40, 2017.

BLUNDELL, J. E. Serotonin manipulations and the structure of feeding behaviour. **Appetite**, v. 7, p. 39–56, 1986.

BOLTON, J. L.; BILBO, S. D. Developmental programming of brain and behavior by perinatal diet: Focus on inflammatory mechanisms. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 16, n. 3, p. 307–320, 2014.

BORGERS, A. J. et al. Decreased serotonin transporter immunoreactivity in the human hypothalamic infundibular nucleus of overweight subjects. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, n. 8 MAY, p. 1–7, 2014.

BORTOLATO, M.; CHEN, K.; SHIH, J. C. The Degradation of Serotonin: Role of MAO. **Handbook of Behavioral Neuroscience**, v. 21, p. 203–218, 2010.

BOSCHERO, A. C. et al. Nutritional recovery with okara diet prevented hypercholesterolemia, hepatic steatosis and glucose intolerance. **Int J Food Sci Nutr.**, v. 65, n. 6, p. 745–753, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.02, de 07 de janeiro de

2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais ou de Saúde. **Diário Oficial República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 de janeiro de 2002. Seção 1**, v. 2002, p. 1–8, 2002.

BRASIL. Vigitel Brasil 2006: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde**. – Brasília: Ministério da Saúde, p. 92, 2007.

BRASIL. **VIGITEL Brasil 2017: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. [s.l: s.n.].

BROWN, N. M.; SETCHELL, K. D. R. Animal models impacted by phytoestrogens in commercial chow: Implications for pathways influenced by hormones. **Laboratory Investigation**, v. 81, n. 5, p. 735–747, 2001.

BRUMMELTE, S. et al. Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. **Neuroscience**, v. 342, p. 212–231, 2017.

BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, v. 15, n. 4, p. 798–808, 2007.

C. DAWS, L.; GOULD, GEORGIANNA, G. **Ontogeny and Regulation of the Serotonin Transporter: Providing Insights into Human Disorders**. [s.l: s.n.]. v. 131

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

CAMACHO, A. et al. Obesogenic diet intake during pregnancy programs aberrant synaptic plasticity and addiction-like behavior to a palatable food in offspring. **Behavioural Brain Research**, v. 330, n. March, p. 46–55, 2017.

CAO, R. et al. Protective Effects of Kaempferol on Lipopolysaccharide-Induced Mastitis in Mice. **Inflammation**, v. 37, n. 5, p. 1453–1458, 2014.

CARDENAS-PEREZ, R. E. et al. Maternal overnutrition by hypercaloric diets programs hypothalamic mitochondrial fusion and metabolic dysfunction in rat male offspring. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 1–16, 2018.

CATON, J. S. et al. Maternal nutrition and programming of offspring energy requirements. **Translational Animal Science**, v. 3, n. 3, p. 976–990, 2019.

CAVALIERE, G. et al. Long feeding high-fat diet induces hypothalamic oxidative stress and inflammation, and prolonged hypothalamic AMPK activation in rat animal model. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. JUL, p. 1–12, 2018.

CHALVON-DEMERSAY, T. et al. Animal Models for the Study of the Relationships between Diet and Obesity: A Focus on Dietary Protein and Estrogen Deficiency. **Frontiers in Nutrition**, v. 4, n. March, p. 1–13, 2017.

CHANG, C. J. et al. Kaempferol regulates the lipid-profile in high-fat diet-fed rats through an increase in hepatic PPAR levels. **Planta Medica**, v. 77, n. 17, p. 1876–1882, 2011.

CHARNAY, Y.; LÉGER, L. Brain serotonergic circuitries. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 12, n. 4, p. 471–487, 2010.

CHEN, L. et al. Phytochemical properties and antioxidant capacities of various colored berries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 2, p. 180–188, 2014.

CHEN, X. et al. Reduced serotonin reuptake transporter (SERT) function causes insulin resistance and hepatic steatosis independent of food intake. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. 1–13, 2012.

CHEN, Y. et al. Ox-LDL induces ER stress and promotes the adipokines secretion in 3T3-L1 adipocytes. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. 1–8, 2013.

CHOI, M. S. et al. High-fat diet decreases energy expenditure and expression of genes controlling lipid metabolism, mitochondrial function and skeletal system development in the adipose tissue, along with increased expression of extracellular matrix remodelling- and inflamm. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 6, p. 867–877, 2015.

CHRISTAKOS, S. et al. Vitamin D: Metabolism. **Endocrinology And Metabolism**, v. 39, n. 2, p. 243–253, 2011.

COCCURELLO, R.; MACCARRONE, M. Hedonic eating and the “delicious circle”: From lipid-derived mediators to brain dopamine and back. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, n. 3, p. 1–20, 2018.

COLE, G. M.; FRAUTSCHY, S. A. The role of insulin and neurotrophic factor signaling in brain aging and Alzheimer’s Disease. **Experimental Gerontology**, v. 42, n. 1–2, p. 10–21, 2007.

CONDE, W. L.; MONTEIRO, C. A. Nutrition transition and double burden of undernutrition and excess of weight in Brazil. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 46, p. 1617S–22S, 2014.

CORDAIN, L. et al. Origins and evolution of the Western diet : health plications for the. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 2, p. 341–354, 2005.

CRESCENZO, R. et al. Fat quality influences the obesogenic effect of high fat diets. **Nutrients**, v. 7, n. 11, p. 9475–9491, 2015.

DA-SILVA, W. S. et al. The small polyphenolic molecule kaempferol increases cellular energy expenditure and thyroid hormone activation. **Diabetes**, v. 56, n. 3, p. 767–776, 2007.

DAO, T. M. A. et al. Resveratrol increases glucose induced GLP-1 secretion in mice: A mechanism which contributes to the glycemic control. **PLoS ONE**, v. 6, n. 6, 2011.

DARBANDI, N. Kaempferol promotes memory retention and density of hippocampal CA1

neurons in intra-cerebroventricular STZ-induced experimental AD model in Wistar rats. **Biologija**, v. 62, n. 3, p. 157–168, 2016.

DAVIDENKO, O. et al. **Control of protein and energy intake - Brain mechanisms** *Eur J Clin Nutr.*, 2013.

DE FANTE, T. et al. Diet-induced maternal obesity alters insulin signalling in male mice offspring rechallenged with a high-fat diet in adulthood. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, p. 1–22, 2016.

DE FELICE, L. J. A current view of serotonin transporters. **F1000Research**, v. 5, n. 0, p. 1–7, 2016.

DE LIMA, A. M.; GAMALLO, S. M. M.; OLIVEIRA, F. L. C. **Desnutrição energético-proteica grave durante a hospitalização: Aspectos fisiopatológicos e terapêuticos** *Revista Paulista de Pediatria*, 2010.

DE SILVA, A.; BLOOM, S. R. Gut hormones and appetite control: A focus on PYY and GLP-1 as therapeutic targets in obesity. **Gut and Liver**, v. 6, n. 1, p. 10–20, 2012.

DERZI, S. H. et al. Protein quality evaluation of two rice- and milk-based weaning foods. **Electronic Physician**, v. 4, n. 1, p. 454–460, 2012.

DESAI, M.; HALES, C. N. Role of Fetal and Infant Growth in Programming Metabolism in Later Life. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 72, n. 2, p. S0006323196005026, 1997a.

DESAI, M.; HALES, C. N. Role of Fetal and Infant Growth in Programming Metabolism in Later Life. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 72, n. 2, p. 329–348, 1997b.

DIETRICH, M. O.; HORVATH, T. L. Hypothalamic control of energy balance: Insights into the role of synaptic plasticity. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 2, p. 65–73, 2013.

DIETZ, W. H. Periods of Risk in Childhood for the Development of Adult Obesity --- What Do We Need to Learn? **J. Nutr.**, v. 127, n. 9, p. 1884S-, 1997.

DINSA, G. D. et al. Obesity and socioeconomic status in developing countries: A systematic review. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 11, p. 1067–1079, 2012.

DIXON, J. M.; HINDE, S. J.; BANWELL, C. L. **Obesity, convenience and “phood”** *British Food Journal*, 2006.

DOBBING, J. Undernutrition and the Developing Brain The Relevance of Animal Models to the Human Problem. **Am J Dis Child.**, v. 120, n. 5, p. 411–415, 1970.

DONOVAN, M. H.; TECOTT, L. H. Serotonin and the regulation of mammalian energy balance. **Frontiers in neuroscience**, v. 7, n. March, p. 36, 2013.

DUDLEY, M. A. et al. Severe Protein Deficiency and Repletion Alter Body and Brain Composition and Organ Weights in Infant Pigs. **J Nutr.**, v. 126, n. 1, p. 290–302, 1996.

DZIAŁO, M. et al. The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 1–41, 2016.

EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. Carotenoids in human nutrition and health. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 652, p. 18–26, 2018.

EL-MERAHBI, R. et al. The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. **FEBS Letters**, v. 589, n. 15, p. 1728–1734, 2015.

EL GHARRAS, H. Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 12, p. 2512–2518, 2009.

ESTRUCH, R. et al. Effects of a Mediterranean-Style Diet on Cardiovascular Risk Factors. **Annals of Internal Medicine**, v. 145, n. 1, p. 1, 2006.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3117–3132, 2011.

FERRO-CAVALCANTI, TC. et al. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**, v. 48, n. 11, p. 1157–68, 2013.

FERRIERES, J. The French paradox: lessons for other countries. **Heart**, v. 90, n. 1, p. 107–111, 2004.

FOX, A.; FENG, W.; ASAL, V. What is driving global obesity trends? Globalization or “modernization”? **Globalization and Health**, v. 15, n. 1, p. 1–16, 2019.

FRANCIS, H.; STEVENSON, R. The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. **Appetite**, v. 63, p. 119–128, 2013.

FRANCO, J. G. et al. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning. **Journal of Physiology**, v. 590, n. 21, p. 5503–5518, 2012.

FREEMAN, L. R. et al. Damaging effects of a high-fat diet to the brain and cognition: A review of proposed mechanisms. **Nutritional Neuroscience**, v. 17, n. 6, p. 241–251, 2014.

FUKUCHI, Y. et al. Lemon polyphenols suppress diet-induced obesity by up-regulation of mRNA levels of the enzymes involved in β -oxidation in mouse white adipose tissue. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 43, n. 3, p. 201–209, 2008.

GAJDA, A. M. et al. Diet-Induced Metabolic Syndrome. **Methods In Pharmacology And Toxicology**, p. 1–8, 2007.

GALGANI, J.; RAVUSSIN, E. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. **International journal of obesity (2005)**, v. 32 Suppl 7, n. Suppl 7, p. S109–19, 2008.

GALI RAMAMOORTHY, T. et al. Maternal overnutrition programs epigenetic changes in the

regulatory regions of hypothalamic Pomc in the offspring of rats. **International Journal of Obesity**, v. 42, n. 8, p. 1431–1444, 2018.

GAO, X. B.; HORVATH, T. L. Feeding Behavior: Hypocretin/Orexin Neurons Act between Food Seeking and Eating. **Current Biology**, v. 26, n. 18, p. R845–R847, 2016.

GASPAR, P.; CASES, O.; MAROTEAUX, L. The developmental role of serotonin: News from mouse molecular genetics. **Nature Reviews Neuroscience**, 2003.

GENIUS, J. S. Nutritional transition: a determinant of global health. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 59, n. 8, p. 615–616, 2005.

GENTILE, D. et al. Luteolin prevents cardiometabolic alterations and vascular dysfunction in mice with HFD-induced obesity. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. SEP, p. 1–13, 2018a.

GENTILE, D. et al. The flavonoid compound apigenin prevents colonic inflammation and motor dysfunctions associated with high fat diet-induced obesity. **PLoS ONE**, v. 13, n. 4, p. 1–19, 2018b.

GERAGE, J. M.; MEIRA, A. P. G.; DA SILVA, M. V. Food and nutrition security: pesticide residues in food. **Nutrire**, v. 42, n. 1, p. 1–9, 2017.

GHORBANI, A. Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 96, n. September, p. 305–312, 2017.

GIANNACCINI, G. et al. The expression of platelet serotonin transporter (SERT) in human obesity. **BMC Neuroscience**, v. 14, n. 1, p. 1, 2013.

GIBBS, V. K.; SMITH, D. L. Nutrition and energetics in rodent longevity research. **Experimental Gerontology**, v. 86, p. 90–96, 2016.

GIRIKO, C. Á. et al. Delayed physical and neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in the rat offspring of dams fed a high-fat diet. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 31, n. 8, p. 731–739, 2013.

GLASTRAS, S. J. et al. Maternal Obesity Promotes Diabetic Nephropathy in Rodent Offspring. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–9, 2016.

GLASTRAS, S. J. et al. The renal consequences of maternal obesity in offspring are overwhelmed by postnatal high fat diet. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–17, 2017.

GRUNDY, S. M. Multifactorial causation of obesity: Implications for prevention. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 3 SUPPL., 1998.

GUJJALA, S. et al. Renoprotective effect of Caralluma fimbriata against high-fat diet-induced oxidative stress in Wistar rats. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, n. 3, p. 586–593, 2016.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **International Journal of Epidemiology**, v. 42, n. 5, p. 1215–1222,

1992.

HALFORD, J. C. G.; WANNINAYAKE, S. C. D.; BLUNDELL, J. E. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 61, n. 2, p. 159–168, 1998.

HALL, K. D. Did the Food Environment Cause the Obesity Epidemic? **Obesity**, v. 26, n. 1, p. 11–13, 2018.

HAO, Y. et al. Study on the role of flavonoids derivd extract from seed residues of hippophae rhamnoides on high-fat diet induced obese mice. **Journal of King Saud University - Science**, 2019.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, n. 2, p. 270–299, 2010.

HERNANDEZ, L. L. et al. High fat diet alters lactation outcomes: Possible involvement of inflammatory and serotonergic pathways. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. 3–10, 2012.

HEYDER, N. et al. Signal Transduction and Pathogenic Modifications at the Melanocortin-4 Receptor: A Structural Perspective. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, n. July, p. 1–18, 2019.

HOFFMAN, J. R.; FALVO, M. J. Protein - Which is best? **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 3, n. 3, p. 118–130, 2004.

HÖGLUND, E.; ØVERLI, Ø.; WINBERG, S. Tryptophan metabolic pathways and brain serotonergic activity: A comparative review. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, n. APR, p. 1–11, 2019.

HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE ' s risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, v. 14, n. 1, p. 1–9, 2014.

HOSP, DE H. Egg white injury in the rat. **Nutrition Reviews**, v. 1, n. 6, p. 190, 1942.

HRUBY, A. et al. Determinants and consequences of obesity. **American Journal of Public Health**, v. 106, n. 9, p. 1656–1662, 2016.

HUA, J. Y.; SMITH, S. J. Neural activity and the dynamics of central nervous system development **Nature Neuroscience**, 2004.

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

HYÁNKOVÁ, L. et al. The hidden function of egg white antimicrobials: egg weight-dependent effects of avidin on avian embryo survival and hatchling phenotype. **Biology Open**, v. 7, n. 4, p. bio031518, 2018.

JAYARATHNE, S. et al. Anti-Inflammatory and Anti-Obesity Properties of Food Bioactive Components: Effects on Adipose Tissue. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 22, n. 4, p. 251–262, 2017.

JEAN, C. et al. Metabolic Evidence for Adaptation to a High Protein Diet in Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 1, p. 91–98, 2001.

JIANG, D. G. et al. Serotonin regulates brain-derived neurotrophic factor expression in select brain regions during acute psychological stress. **Neural Regeneration Research**, v. 11, n. 9, p. 1471–1479, 2016.

JIMENEZ-CHILLARON, J. C. et al. Transgenerational epigenetic inheritance of diabetes risk as a consequence of early nutritional imbalances. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, n. 1, p. 78–89, 2016.

JONES, E. S. et al. Modified Peptide YY Molecule Attenuates the Activity of NPY/AgRP Neurons and Reduces Food Intake in Male Mice. **Endocrinology**, v. 160, n. 11, p. 2737–2747, 2019.

KADER, F.; GHAI, M.; MAHARAJ, L. The effects of DNA methylation on human psychology. **Behav Brain Res**, v. 346, n. November, p. 47–65, 2018.

KADIOGLU, O. et al. Kaempferol is an anti-inflammatory compound with activity towards NF- κ B pathway proteins. **Anticancer Research**, v. 35, n. 5, p. 2645–2650, 2015.

KALUŻNA-CZAPLIŃSKA, J. et al. How important is tryptophan in human health? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, n. August, p. 1–17, 2017.

KAWASHIMA, T. The role of the serotonergic system in motor control. **Neuroscience Research**, v. 129, p. 32–39, 2018.

KEARNEY, J. Food consumption trends and drivers. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 365, n. 1554, p. 2793–2807, 2010.

KEESEY, R.E. & HIRVONEN, M. D. Obesity: Common Symptom of Diverse Gene-Based Metabolic Dysregulations. **The Journal of Nutrition**, v. 127, p. 1875S–1883S, 1997.

KIM, J. B. Dynamic cross talk between metabolic organs in obesity and metabolic diseases. **Exp Mol Med.**, v. 48, n. 3, p. e214–2, 2016.

KIM, S. R. et al. Increased renal cellular senescence in murine high-fat diet: effect of the senolytic drug quercetin. **Translational Research**, v. 213, p. 112–123, 2019.

KO, S.-Y. et al. The Possible Mechanism of Advanced Glycation End Products (AGEs) for Alzheimer's Disease. **Plos One**, v. 10, n. 11, p. e0143345, 2015.

KOJIMA, S.; CATAVERO, C.; RINAMAN, L. Maternal high-fat diet increases independent feeding in pre- weanling rat pups. **Physiol Behav**, v. 157, p. 237–245, 2016.

KOLČIĆ, I. Double burden of malnutrition: A silent driver of double burden of disease in low– and middle–income countries. **Journal of Global Health**, v. 2, n. 2, 2012.

KOMLOS, J. Nutrition, population growth, and the industrial revolution in England. **Social**

Science History, v. 14, n. 1, p. 69–91, 1990.

KONG, L. et al. The anti-inflammatory effect of kaempferol on early atherosclerosis in high cholesterol fed rabbits. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 1, p. 1, 2013a.

KONG, L. et al. The anti-inflammatory effect of kaempferol on early atherosclerosis in high cholesterol fed rabbits. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 1, p. 1–12, 2013b.

KORNER, J.; WOODS, S. C.; WOODWORTH, K. A. **Regulation of energy homeostasis and health consequences in obesity**. [s.l: s.n.]. v. 122

KOWIAŃSKI, P. et al. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 38, n. 3, p. 579–593, 2018.

KOZAK, R. et al. Hypothalamic neuropeptide Y content and mRNA expression in weanling rats subjected to dietary manipulations during fetal and neonatal life. **Regulatory Peptides**, v. 75–76, p. 397–402, 1998.

KRIS-ETHERTON, P. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American journal of medicine**, v. 113 Suppl, n. 01, p. 71S-88S, 2002.

LAGOA, R. et al. Kaempferol protects against rat striatal degeneration induced by 3-nitropropionic acid. **Journal of Neurochemistry**, v. 111, n. 2, p. 473–487, 2009.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159–174, 1977.

LEFTEROVA, M. I. et al. PPAR γ and the Global Map of Adipogenesis and Beyond Martina. **Trends Endocrinol Metab**, v. 25, n. 6, p. 293–302, 2014.

LEMES, S. F. et al. Maternal Consumption of High-fat Diet in Mice Alters Hypothalamic Notch Pathway, NPY Cell Population and Food Intake in Offspring. **Neuroscience**, v. 371, p. 1–15, 2018.

LEVITT, P. et al. New evidence for neurotransmitter influences on brain development. **Trends in Neurosciences**, v. 20, n. 6, p. 269–274, 1997.

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

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

LIU, Y.; CHEN, X.; LI, J. Resveratrol protects against oxidized low-density lipoprotein-induced human umbilical vein endothelial cell apoptosis via inhibition of mitochondrial-derived oxidative stress. **Molecular Medicine Reports**, v. 15, n. 5, p. 2457–2464, 2017.

LOH, K. et al. Insulin controls food intake and energy balance via NPY neurons. **Molecular**

Metabolism, v. 6, n. 6, p. 574–584, 2017.

MANDY, M.; NYIRENDA, M. Developmental Origins of Health and Disease: The relevance to developing nations. **International Health**, v. 10, n. 2, p. 66–70, 2018.

MARCHI, J. et al. Risks associated with obesity in pregnancy, for the mother and baby: A systematic review of reviews. **Obesity Reviews**, v. 16, n. 8, p. 621–638, 2015.

MARIA AIELLO, A. et al. Prevalence of Obesity in Children and Adolescents in Brazil: A Meta-analysis of Cross-sectional Studies. **Current Pediatric Reviews**, v. 11, n. 1, p. 36–42, 2015.

MARK, P. J. et al. A maternal high-fat diet in rat pregnancy reduces growth of the fetus and the placental junctional zone, but not placental labyrinth zone growth. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 2, n. 1, p. 63–70, 2011.

MARTIN-GRONERT, M. S. et al. 5-HT 2A and 5-HT 2C receptors as hypothalamic targets of developmental programming in male rats. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 4, p. 401–412, 2016.

MARTINEZ-GONZALEZ; MARTIN-CALVO. Mediterranean diet and life expectancy; beyond olive oil, fruits, and vegetables. v. 48, n. 0, p. 923–930, 2016.

MARTÍNEZ, N. et al. Refined versus Extra Virgin Olive Oil High-Fat Diet Impact on Intestinal Microbiota of Mice and Its Relation to Different Physiological Variables. **Microorganisms**, v. 7, n. 2, p. 61, 2019.

MARTUS, W. et al. Commercial rodent diets contain more sodium than rats need. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 288, n. 2, p. F428–F431, 2005.

MATSUOKA, R. et al. Dietary egg-white protein increases body protein mass and reduces body fat mass through an acceleration of hepatic β -oxidation in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 6, p. 423–430, 2017.

MATSUOKA, R. M. et al. Mechanism for the Cholesterol-Lowering Action of Egg White Protein in Rats. **Food & Nutrition Science Regular Papers**, v. 72, n. 6, p. 1506–1512, 2008.

MELHORN, S. J. et al. Acute exposure to a high-fat diet alters meal patterns and body composition. **Physiol Behav**, v. 99, n. 1, p. 33–39, 2010.

MELI, R. et al. High Fat Diet Induces Liver Steatosis and Early Dysregulation of Iron Metabolism in Rats. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, 2013.

MELO, A. M. et al. Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 63, n. 5, p. 682–692, 2014.

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

MEYDANI, M.; HASAN, S. T. Dietary polyphenols and obesity. **Nutrients**, v. 2, n. 7, p. 737–751, 2010.

MILANSKI, M. et al. Saturated Fatty Acids Produce an Inflammatory Response Predominantly through the Activation of TLR4 Signaling in Hypothalamus: Implications for the Pathogenesis of Obesity. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 2, p. 359–370, 2009.

MILLWARD, D. J. An adaptive metabolic demand model for protein and amino acid requirements. **Br J Nutr.**, v. 90, n. 02, p. 249, 2003.

MILLWARD, D. J. Amino acid scoring patterns for protein quality assessment. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. SUPPL. 2, 2012.

MIYAMOTO, J. É. et al. Interesterified soybean oil promotes weight gain, impaired glucose tolerance and increased liver cellular stress markers. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 59, p. 153–159, 2018.

MOHAMMAD-ZADEH, L. F.; MOSES, L.; GWALTNEY-BRANT, S. M. Serotonin : a review. **J. vet. Pharmacol. Therap.** **31**, v. 31, n. 1957, p. 187–199, 2008.

MORAES, É. A. et al. In vivo protein quality of new sorghum genotypes for human consumption. **Food Chem.**, v. 134, n. 3, p. 1549–1555, 2012.

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

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

MOSETI, D.; REGASSA, A.; KIM, W. K. Molecular regulation of adipogenesis and potential anti-adipogenic bioactive molecules. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 1, p. 1–24, 2016.

NAKASHIMA, Y. Ratio of High-Fat Diet Intake of Pups Nursed by Dams Fed Combination Diet Was Lower Than That of Pups Nursed by Dams Fed High-Fat or Low-Fat Diet. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 53, n. 2, p. 117–123, 2008.

NAMKUNG, J.; KIM, H.; PARK, S. Peripheral Serotonin: a New Player in Systemic Energy Homeostasis. **Molecules and Cells**, v. 38, n. 12, p. 1023–1028, 2015.

NEUFELD, J. et al. Effect of Processing on the In Vitro and In Vivo Protein Quality of Beans (Phaseolus vulgaris and Vicia Faba). **Nutrients**, v. 10, n. 6, p. 671, 2018.

NGUYEN M. DANG, E.-S. B. H. The Epidemiology of Obesity. **Gastroenterol Clin North Am.**, v. 39, n. 1, p. 1–7, 2010.

NILSSON, J. et al. A low-carbohydrate high-fat diet decreases lean mass and impairs cardiac function in pair-fed female C57BL/6J mice. **Nutrition and Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 1–12,

2016.

NOAD, R. L. et al. Beneficial effect of a polyphenol-rich diet on cardiovascular risk: A randomised control trial. **Heart**, v. 102, n. 17, p. 1371–1379, 2016.

NORTON, L. E. et al. Meal Distribution of Dietary Protein and Leucine Influences Long-Term Muscle Mass and Body Composition in Adult Rats 1 – 3. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 2, p. 195–201, 2016.

NUZZACI, D. et al. Plasticity of the Melanocortin System: Determinants and Possible Consequences on Food Intake. **Frontiers in Endocrinology**, v. 6, n. 143, p. 1–8, 2015.

OJULARI, O. V.; LEE, S. G.; NAM, J. O. Beneficial Effects of Natural Bioactive Compounds from Hibiscus sabdariffa L. On obesity. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 1–14, 2019.

OKUDA, M. H. et al. Green tea extract improves high fat diet-induced hypothalamic inflammation, without affecting the serotonergic system. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 10, p. 1084–1089, 2014.

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

OROZCO-SÓLIS, R. et al. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. **Physiology and Behavior**, v. 96, n. 3, p. 481–492, 2009.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, 2016.

PANICKAR, K. S. Effects of dietary polyphenols on neuroregulatory factors and pathways that mediate food intake and energy regulation in obesity. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 57, n. 1, p. 34–47, 2013.

PARADIS, J. et al. Perinatal western diet consumption leads to profound plasticity and GABAergic phenotype changes within hypothalamus and reward pathway from birth to sexual maturity in rat. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, n. AUG, p. 1–15, 2017.

PATAKY, M. W. et al. High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance in Single Skeletal Muscle Fibers is Fiber Type Selective. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.

PATEL, C. A.; ACHARYA, S. R. Energy Homeostasis and Obesity: The Therapeutic Role of Anorexigenic and Orexigenic Peptide. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 0, n. 0, p. 0, 2018.

PATON, C. M.; NTAMBI, J. M. Biochemical and physiological function of stearyl-CoA desaturase. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 297, n. 1, p. 28–37, 2009.

PELEG-RAIBSTEIN, D. et al. Enhanced sensitivity to drugs of abuse and palatable foods

following maternal overnutrition. **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 10, p. e911, 2016.

PIGNATELLI, M.; BONCI, A. Role of Dopamine Neurons in Reward and Aversion: A Synaptic Plasticity Perspective. **Neuron**, v. 86, n. 5, p. 1145–1157, 2015.

PINHEIRO, R. O. et al. Maternal dyslipidaemic diet induces sex-specific alterations in intestinal function and lipid metabolism in rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 121, n. 7, p. 721–734, 2019.

POPKIN, B. M. Nutrition Transition and the Global Diabetes Epidemic. **Current Diabetes Reports**, v. 15, n. 9, p. 1–14, 2015.

POPKIN, B. M.; ADAIR, L. S.; NG, S. W. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 1, p. 3–21, 2012.

PORET, J. M. et al. High-fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. **International Journal of Obesity (London)**, v. 42, n. 3, p. 535–541, 2018.

PRINCE, M. et al. **The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis** Alzheimer's and Dementia Elsevier Ltd, , 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2012.11.007>>

QIN, C.; LI, J.; TANG, K. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: Development, function, and human diseases. **Endocrinology**, v. 159, n. 9, p. 3458–3472, 2018.

RAHMAN, T. U. et al. Hypertriglyceridemia in female rats during pregnancy induces obesity in male offspring via altering hypothalamic leptin signaling. **Oncotarget**, v. 8, n. 32, p. 53450–53464, 2017.

RAINS, T. M.; AGARWAL, S.; MAKI, K. C. Antiobesity effects of green tea catechins: A mechanistic review. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 1, p. 1–7, 2011.

RALSTON, J. C.; MUTCH, D. M. SCD1 inhibition during 3T3-L1 adipocyte differentiation remodels triacylglycerol, diacylglycerol and phospholipid fatty acid composition. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 98, p. 29–37, 2015.

RAU, A. R.; HENTGES, S. T. GABAergic Inputs to POMC Neurons Originating from the Dorsomedial Hypothalamus Are Regulated by Energy State. **The Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 33, p. 6449–6459, 2019.

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

REEVES, P. G. Committee Report AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939–1951, 1993.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the

Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1993.

REYNOLDS, C. M. et al. Conjugated Linoleic Acid Supplementation During Pregnancy and Lactation Reduces Maternal High-Fat-Diet-Induced Programming of Early-Onset Puberty and Hyperlipidemia in Female Rat Offspring. **Biology of Reproduction**, v. 92, n. 2, p. 1–10, 2015.

ROH, E.; KIM, M.-S. Brain Regulation of Energy Metabolism. **Endocrinology and Metabolism**, v. 31, n. 4, p. 519, 2016.

ROSSI, M. A.; STUBER, G. D. Overlapping Brain Circuits for Homeostatic and Hedonic Feeding. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 1, p. 42–56, 2018.

RUPASINGHE, H. P. V. et al. Phytochemicals in regulating fatty acid β -oxidation: Potential underlying mechanisms and their involvement in obesity and weight loss. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 165, p. 153–163, 2016.

SAKLAYEN, M. G. **The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome** *Current Hypertension Reports*, 2018.

SALAZAR, J. H. Overview of Urea and Creatinine. **Laboratory Medicine**, v. 45, n. 1, p. e19–e20, 2015.

SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. The role of stearoyl-CoA desaturase in obesity, insulin resistance, and inflammation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1243, n. 1, p. 47–53, 2011.

SAWAN SIDNEY, A. ET AL. Whole egg, but not egg white ingestion, induces mTOR co-localization with the lysosome after resistance exercise. **Cell Physiology**, v. 315, n. 4, p. 537–543, 2018.

SAXTON, R. A.; SABATINI, D. M. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. **Cell**, v. 168, n. 6, p. 960–976, 2017.

SEGOVIA, S. A. et al. Conjugated Linoleic Acid Supplementation Improves Maternal High Fat Diet-Induced Programming of Metabolic Dysfunction in Adult Male Rat Offspring. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.

SGHENDO, L.; MIFSUD, J. **Understanding the molecular pharmacology of the serotonergic system: Using fluoxetine as a model** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2012.

SHANNON, J.; JOLLIFFE, N.; SMITH, H. THE EXCRETION OF URINE IN THE DOG: IV. The Effect of Maintenance Diet, Feeding, etc., Upon the Quantity of Glomerular Filtrate. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 101, n. 4, p. 625–638, 1932.

SHENKIN, A. The key role of micronutrients. **Clinical Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 1–13, 2006.

SLOLEY, B. D. et al. Identification of Kaempferol as a Monoamine Oxidase Inhibitor and Potential Neuroprotectant in Extracts of *Ginkgo Biloba* Leaves. **Journal of Pharmacy and**

Pharmacology, v. 52, n. 4, p. 451–459, 2000.

SOHN, J. W. Network of hypothalamic neurons that control appetite. **BMB Reports**, v. 48, n. 4, p. 229–233, 2015.

SRIVASTAVA, T.; MISHRA, S. K. Novel Function of Polyphenols in Human Health: A Review. **Research Journal of Phytochemistry**, v. 9, n. 3, p. 116–126, 2015.

STEWART, L. K. et al. Quercetin transiently increases energy expenditure but persistently decreases circulating markers of inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 57, n. SUPPL. 1, p. 1–18, 2008.

SUN, B. et al. Early postweaning exercise improves central leptin sensitivity in offspring of rat dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 305, n. 9, p. R1076–R1084, 2013.

THONGPRAYOON, C.; CHEUNGPASITPORN, W.; KASHANI, K. Serum creatinine level, a surrogate of muscle mass, predicts mortality in critically ill patients. **Journal of Thoracic Disease**, v. 8, n. 5, p. E305–E311, 2016.

TIAO, M. M. et al. Resveratrol ameliorates maternal and post-weaning high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease via renin-angiotensin system. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2018.

TIMPER, K.; BRÜNING, J. C. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. **Disease Models & Mechanisms**, v. 10, n. 6, p. 679–689, 2017.

TREESUKOSOL, Y. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation reduces the appetitive behavioral component in female offspring tested in a brief-access taste procedure. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 306, n. 7, p. R499–R509, 2014.

TSUDUKI, T. et al. High dietary fat intake during lactation promotes the development of social stress-induced obesity in the offspring of mice. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5916–5932, 2015.

TUCUNDUVA PHILIPPI, S. et al. Pirâmide Alimentar Adaptada: Guia Para Escolha Dos Alimentos. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 12, n. 1, p. 65–80, 1999.

TURDI, S. et al. Interaction between maternal and postnatal high fat diet leads to a greater risk of myocardial dysfunction in offspring via enhanced lipotoxicity, IRS-1 serine phosphorylation and mitochondrial defects. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 55, n. 1, p. 117–129, 2013.

TURNER et al., Administration of substances to laboratory animals: Routes of administration and factors to consider. **JAALAS**. v. 50, n. 5, p.600-613, 2011.

UYEMURA, S. A. et al. A Perspective Discussion on Rising Pesticide Levels and Colon Cancer Burden in Brazil. **Frontiers in Public Health**, v. 5, n. October, p. 1–8, 2017.

VAN GESTEL, M. A. et al. Pharmacological manipulations in animal models of anorexia and binge eating in relation to humans. **British journal of pharmacology**, v. 171, n. 20, p. 4767–4784, 2014.

VAN HUL, M.; CANI, P. D. Targeting Carbohydrates and Polyphenols for a Healthy Microbiome and Healthy Weight. **Current Nutrition Reports**, v. 8, p. 307–316, 2019.

VARSHNEY, R. et al. A comparative analysis of various flavonoids in the regulation of obesity and diabetes: An in vitro and in vivo study. **Journal of Functional Foods**, v. 59, n. January, p. 194–205, 2019.

VIGGIANO, E. et al. Effects of an High-Fat Diet Enriched in Lard or in Fish Oil on the Hypothalamic Amp-Activated Protein Kinase and Inflammatory Mediators. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 10, n. June, p. 1–8, 2016.

VISSIENNON, C. et al. Route of administration determines the anxiolytic activity of the flavonols kaempferol, quercetin and myricetin - are they prodrugs? **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 7, p. 733–740, 2012.

VOIGT, J. P.; FINK, H. Serotonin controlling feeding and satiety. **Behavioural Brain Research**, v. 277, p. 14–31, 2015.

VOLPATO, A. M. et al. Maternal high-fat diet programs for metabolic disturbances in offspring despite leptin sensitivity. **Neuroendocrinology**, v. 96, n. 4, p. 272–284, 2012.

WATERSON, M. J.; HORVATH, T. L. Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 6, p. 962–970, 2015.

WELLS, J. C. K. Maternal capital and the metabolic ghetto: An evolutionary perspective on the transgenerational basis of health inequalities. **American Journal of Human Biology**, v. 22, n. 1, p. 1–17, 2010a.

WELLS, J. C. K. Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity Implications for the programming of obesity. **Evol Med Public Health**, v. 2014, n. 1, p. 109–121, 2014.

WEST-EBERHARD, M. J. Alternative adaptations , speciation , and phylogeny (A Review). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, n. 5, p. 1388–1392, 1986.

WIDEMAN, T. H.; ZAUTRA, A. J.; EDWARDS, R. R. Indicators of marginal biotin deficiency and repletion in humans: validation of 3-hydroxyisovaleric acid excretion and a leucine challenge. **Am J Clin Nutr**, v. 76, n. 5, p. 1061–1068, 2002.

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

WISS, D. A.; AVENA, N.; RADA, P. Sugar Addiction: From Evolution to Revolution. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, n. November, p. 545, 2018.

WONG, S. K. et al. Animal models of metabolic syndrome: a review. **Nutrition & Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 65, 2016.

WRIGHT, T. M. et al. Exposure to maternal consumption of cafeteria diet during the lactation period programmes feeding behaviour in the rat. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 8, p. 785–793, 2011.

WU, G. Dietary protein intake and human health. **Food and Function**, v. 7, n. 3, p. 1251–1265, 2016.

WU, H.; BALLANTYNE, C. M. Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity Find the latest version : Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 1, p. 43–54, 2017.

WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. **Creatine and creatinine metabolism** *Physiological Reviews*, 2000.

XIAO, J. et al. Kaempferol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in vivo and in vitro. **Toxicology**, v. 292, n. 1, p. 53–62, 2012.

YABUT, J. M. et al. Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule. **Endocrine Reviews**, v. 40, n. 4, p. 1092–1107, 2019.

YANAGI, S. et al. The Homeostatic Force of Ghrelin. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 4, p. 786–804, 2018.

YE, J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. **Frontiers of Medicine**, v. 7, n. 1, p. 14–24, 2013.

YOKOMIZO, H. et al. Maternal high-fat diet induces insulin resistance and deterioration of pancreatic β -cell function in adult offspring with sex differences in mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 306, n. 10, p. E1163–E1175, 2014.

YU, L. et al. Neuroprotective Effect of Kaempferol Glycosides against Brain Injury and Neuroinflammation by Inhibiting the Activation of NF- κ B and STAT3 in Transient Focal Stroke. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 2013.

ZABELA, V. et al. Pharmacokinetics of dietary kaempferol and its metabolite 4-hydroxyphenylacetic acid in rats. **Fitoterapia**, v. 115, p. 189–197, 2016.

ZANG, Y. et al. The anti-obesity and anti-diabetic effects of kaempferol glycosides from unripe soybean leaves in high-fat-diet mice. **Food and Function**, v. 6, n. 3, p. 834–841, 2015.

ZENG, W. et al. Resveratrol attenuates MPP⁺-induced mitochondrial dysfunction and cell apoptosis via AKT/GSK-3 β pathway in SN4741 cells. **Neuroscience Letters**, v. 637, p. 50–56, 2017.

ZHANG, G.; PRADHAN, S. Mammalian epigenetic mechanisms. **IUBMB Life**, v. 66, n. 4, p. 240–256, 2014.

ZHANG, X. et al. Flavonoids as inducers of white adipose tissue browning and thermogenesis: signalling pathways and molecular triggers. **Nutrition & Metabolism**, v. 16, n. 1, p. 1–15, 2019.

ZHOU, K.; LIU, D. The Flavonoid Kaempferol Ameliorates Streptozotocin-Induced Diabetes by Suppressing Hepatic Glucose Production. **Molecules**, 2018.

ZHOU, Z. et al. Pharmacokinetic evaluation of the interaction between oral kaempferol and ethanol in rats. **Acta Pharmaceutica**, v. 66, n. 4, p. 563–568, 2016.

WHO (World Health Organization). Disponível em: <<http://www.who.int/gho/child-malnutrition/en/>>. Acessado em: 07 de agosto de 2018.

WHO (World Health Organization). Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acessado em: 07 de agosto de 2018.

ANEXO A – PARECER DO CEUA PARA TESTE DA PROTEINA.



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones 2126 8840 | 2126 8351
www.ccb.ufpe.br

Recife, 04 de julho de 2018.

Ofício nº 52/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.^a Raquel da Silva Aragão**
Centro Acadêmico de Vitória
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0043/2018

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação in vivo da qualidade proteica da clara de ovo liofilizada como substituta da caseína na elaboração de uma dieta experimental baseada na AIN93.**", Registrada com o nº 0043/2018 sob a responsabilidade de **Prof.^a Raquel da Silva Aragão** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 04/07/2018.

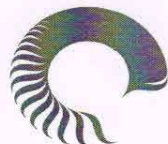
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2018 a 01/07/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	30
Peso/Idade	50-70g/ 21 dias
Sexo	Macho (30)
Origem	Departamento de Nutrição - UFPE

Atenciosamente


Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691



ANEXO B – PARECER DO CEUA PARA EXECUÇÃO DO MESTRADO.



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

Recife, 15 de abril de 2019

Ofício nº 17/19

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

Para: **Prof.^a Raquel da Silva Aragao**

Centro Acadêmico de Vitória - Cav

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 0001/2019

Certificamos que a proposta intitulada **“Exposição materna a dieta hipercalórica e hiperlipídica e tratamento neonatal com kaempferol: perfil bioquímico, comportamento alimentar e a expressão hipotalâmica do transportador de serotonina (SERT) na prole.”** registrado com o nº 0001/2019 sob a responsabilidade de **Prof.^a Raquel da Silva Aragao** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 27/03/2019.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/06/2019 a 30/10/2020
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	144
Peso/Idade	200 – 260g/ 90 a 120 dias
Sexo	Macho (112) fêmea (32)
Origem	Bioterio do Laboratorio de Nutrição/UFPE

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691