



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

JAKSSUEL SEBASTION DANTAS ALVES

**DIETA CETOGÊNICA COM ALTO TEOR DE GORDURA SATURADA NA
LACTAÇÃO: efeitos sobre crescimento somático, parâmetros bioquímicos e
microbiota intestinal na prole de ratos jovens**

Recife
2021

JAKSSUEL SEBASTION DANTAS ALVES

**DIETA CETOGENICA COM ALTO TEOR DE GORDURA SATURADA NA
LACTAÇÃO: efeitos sobre crescimento somático, parâmetros bioquímicos e
microbiota intestinal na prole de ratos jovens**

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

Área de Concentração: Bases Experimentais da Nutrição

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Gisélia de Santana Muniz

Coorientador: Prof. Dr. Raul Manhães de Castro e Prof. Dr. José Luiz de Brito Alves

Recife

2021

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Elaine Freitas, CRB4: 1790

A474d

Alves, Jakssuel Sebastian Dantas

Dieta cetogênica com alto teor de gordura saturada na lactação: efeitos sobre crescimento somático, parâmetros bioquímicos e microbiota intestinal na prole de ratos jovens/ Jakssuel Sebastian Dantas Alves. – 2021.
68 f.; il., tab.

Orientadora: Gisélia de Santana Muniz.

Coorientadores: Raul Manhães de Castro e José Luiz de Brito Alves

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2020.

Inclui referências e anexo.

1. Dieta Cetogênica. 2. Gordura Abdominal. 3. Hiperlipidemia. 4. Disbiose. 5. Ratos. I. Muniz, Gisélia de Santana (orientadora). II. Castro, Raul Manhães de (coorientador). III. Alves, José Luiz de Brito (coorientador). IV. Título.

613 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2021 - 078)

JAKSSUEL SEBASTION DANTAS ALVES

**DIETA CETOGÊNICA COM ALTO TEOR DE GORDURA SATURADA NA
LACTAÇÃO: efeitos sobre crescimento somático, parâmetros bioquímicos e
microbiota intestinal na prole de ratos jovens**

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

Aprovada em: 26 / 02 / 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Elizabeth do Nascimento
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dra. Isabeli Lins Pinheiro
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr. Diogo Antônio Alves de Vasconcelos
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha esposa Rayanne Pereira por seu amor e apoio incondicional, a meus pais Iris e Jakson por serem exemplos de trabalho e de responsabilidade, a minhas irmãs Yrisllanea e Jaylanne e as meus sobrinhos M. Alice, Marina, M. Clara e Heitor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **DEUS**, que é e sempre foi meu refúgio. Pois nos momentos mais difíceis durante esses dois anos pude contemplar a presença dele em minha vida. Como diz o **salmo 23, versículo 4**: Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás comigo. Certamente minha fé guiou-me até este dia e me protegeu de todos os percalços vividos durante dois anos.

A minha esposa **Rayanne Pereira**, a qual estive do meu lado desde o início e acreditou em mim mesmo quando duvidei de minhas capacidades. Seu apoio incondicional foi fundamental para eu conseguir chegar até aqui. Obrigado por suas orações que me acompanharam nas minhas saídas de madrugada e voltas para casa ao anoitecer, elas foram minha força.

A meu pai, Prof. Dr. **José Jakson Amâncio Alves**, por permitir que tudo isso fosse possível, e por ter me ensinado a partir de sua história de vida o valor das coisas simples e que somente através do estudo é possível vencer na vida. Saiba que isso só foi possível porque diariamente me espelhei no senhor. E a minha mãe, **Iris Dantas**, por se fazer presente durante essa trajetória e por toda sua oração de mãe, que me acompanhou durante toda minha vida.

As minhas irmãs, **Yrisllanea e Jaylanne** por suas orações e pela companhia durante o processo. E meus sobrinhos que são uma das minhas grandes alegrias: **Maria Alice, Marina, Maria Clara e Heitor**.

A minha orientadora Professora Dra. **Gisélia Santana** por ter me orientado durante toda essa trajetória e me instruído tão eficazmente para que essa etapa pudesse ser finalizada.

Ao meu co-orientador, Professor Dr. **Raul Manhães de Castro**, por ter me dado à oportunidade de fazer parte de um grupo de pesquisa, de fazer parte de uma instituição federal, mesmo sem nunca ter me visto ou ouvido falar de mim. Saiba que todas as palavras e ensinamentos serão levados para o resto de minha vida.

A meu co-orientador, Prof. Dr. **José Luiz de Brito Alves**, por todo ensinamento e presteza durante o mestrado. E a **Yohana de Oliveira**, por todo auxílio nas análises de microbiota intestinal.

A todos os professores do grupo de pesquisa: **Ana Toscano, Diogo Vasconcelos, Kelli Ferraz, Lígia Galindo, Isabeli Lins e Raquel Aragão**, pelos ensinamentos durante o processo.

Aos meus companheiros de mestrado em Bases Experimentais da Nutrição, **Flaydson, Guilherme e Luana**, foi um prazer dividir essa etapa com vocês.

A **Henrique José e Bárbara Santana**, por toda contribuição científica durante esse período. Certamente vocês foram muito importantes para minha formação, mas agradeço principalmente a amizade de vocês, que levarei para minha vida toda.

A todos os outros amigos do grupo de pesquisa, em especial **Diego Visco e Wenícios Chaves** por todo ensinamento e contribuição para minha formação. E a **Erika Cadena, Carolina Cadete, Diego Lacerda, Renata Emmanuele, Thaynan Oliveira, Regina e Luana Olegário e Sabrina Pereira** pelo companheirismo e pelas ajudas durante o processo.

Aos professores da Pós-graduação em Nutrição pelos ensinamentos que foram importantes para minha formação acadêmica.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética (LNED), em especial à Prof. Dra. **Débora Pessoa**, Prof. Dra. **Fabiana Pastich**, a **Paloma Antonino e Luís Moraes** por todo companheirismo.

As professoras **Elizabeth do Nascimento, Isabeli Lins Pinheiro** e ao Professor **Diego Lacerda** pelas contribuições durante o exame de qualificação.

A coordenação da Pós-graduação em Nutrição, em especial a **Cecília Arruda** e **Andréa Nascimento**, sempre dispostas a ajudar e resolver os problemas.

Aos responsáveis pelo Biotério de criação do Departamento de Nutrição **Dr. Edeones França e Bruno**.

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

RESUMO

As alterações dietéticas, com aumento do teor de gordura, no período lactacional atuam modificando o desenvolvimento dos sistemas fisiológicos propiciando o surgimento das doenças de foro metabólico na vida adulta. A dieta cetogênica é uma destas modificações dietéticas, que pode estar relacionadas com mudanças no padrão de crescimento, alterações metabólicas e da microbiota intestinal. Avaliar os efeitos da dieta cetogênica, rica em gordura saturada na lactação sobre o crescimento somático, parâmetros bioquímicos e microbiota intestinal na prole de ratos jovens. Foram utilizadas 12 ratas *Wistar*, nulíparas, adultas e 48 filhotes machos provenientes das ratas. Após o parto, as ratas foram designadas para os grupos experimentais: Grupo Controle (dieta controle, GC, n=6) e Grupo Cetogênico (dieta cetogênica, GK, n=5). Os filhotes de ambos os grupos foram designados: Filhotes Grupo Controle (FGC, n=24) e filhotes Grupo Cetogênico (FGK, n=24). Durante a lactação, o GC utilizou a dieta AIN-93G (3,6cal/g, 18% proteínas, 63% carboidratos e 19% de lipídios), e o GK utilizou a dieta cetogênica, rica em gordura saturada, baseada na dieta AIN93G (5,4cal/g; 19% proteínas, 10% carboidratos e 71% de lipídios). Após o desmame, as proles de ambos os grupos receberam dieta comercial até os 60 dias de vida. Nas ratas lactantes, e na prole durante a lactação e aos 60 dias de vida, foram avaliados: o peso corporal, as medidas murinométricas, o consumo alimentar, o perfil bioquímico, peso de órgãos (fígado, gordura visceral e retroperitoneal), e a análise quantitativa da microbiota intestinal fecal. Foram utilizados teste "T" de Student's, o teste ANOVA *two-way* por medidas repetidas e o teste "T" de Student's Pared. O nível de significância foi $p < 0,05$. As ratas GK ao desmame apresentaram menor peso corporal, maior peso do fígado e da gordura retroperitoneal e visceral em comparação ao GC. O consumo alimentar foi menor para as mães do GK, mas apresentaram maior consumo calórico em relação ao GC. As ratas GK apresentaram menores quantidades de *Lactobacillus spp* e *Bifidobacterium spp* e concentração mais elevada de *Enterobacterium spp* e *Bacteroidetes spp*. FGK apresentou maior peso corporal ao desmame, mas aos 60 dias apresentou menor massa corporal e menor percentual de ganho de peso. Maior quantidade de gordura visceral e retroperitoneal foram encontradas no FGK, nas idades de 25 e 60 dias. E maiores concentrações de glicose, colesterol total, triglicerídeos, VLDL-col e LDL-col aos 25 e 60 dias de vida no FGK. Aos 25 e 60 dias, o FGK apresentou as mesmas

alterações na microbiota fecal das mães GK. O consumo de DC rica em gordura saturada durante o período de lactação altera a glicemia e desencadeia hiperlipidemia, favorece o aumento de gordura abdominal e altera a microbiota intestinal da prole de ratos jovens, mas não prejudica o crescimento somático no desmame. Isso demonstra a importância do equilíbrio nutricional para a saúde da microbiota intestinal.

Palavras-chave: Dieta Cetogênica. Gordura Abdominal. Hiperlipidemia. Disbiose. Ratos

ABSTRACT

The availability of nutrients or the type of nutrient, when offered in the perinatal period, seems to act by modifying the development of physiological systems providing the appearance of metabolic diseases in adulthood. The ketogenic diet is one of the dietary changes that may be related to these metabolic and intestinal microbiota changes. To evaluate the effects of the ketogenic diet, rich in saturated fat, on lactation on somatic growth, biochemical patterns and on the intestinal microbiota in the offspring of young rats. 12 Wistar, nulliparous, adult rats and 48 male offspring from the rats were used. After the birth of the pups, day 0 of lactation, the rats were assigned to the experimental group: Control Group (control diet, GC, n = 6) and Ketogenic Group (ketogenic diet, GK, n = 6). The offspring of both groups were designated: Offspring Control Group (CG, n = 24) and offspring Ketogenic Group (KG, n = 24). The control diet during lactation was the AIN-93G diet (3.6cal / g, 18% proteins, 63% carbohydrates and 19% lipids) and the ketogenic diet was based on the AIN93G diet (5.4cal / g; 19% proteins, 10% carbohydrates and 71% lipids). The diet for each group was administered throughout the lactation period (25 days postpartum). After weaning the offspring of both groups received a standard / commercial diet until 60 days of life. In dams rats, and in offspring during lactation, weaning at 25 days, and at 60 days of life, the following were evaluated: Body weight, murinometric measurements, food consumption, biochemical standards, organ weight (liver, fat visceral and retroperitoneal), and quantitative analysis of the fecal intestinal microbiota. Student's "T" test, two-way ANOVA test for repeated measures and Student's Pared "T" test were used. The significance level was maintained at $p < 0.05$. GK rats had lower body weight, greater liver weight, retroperitoneal and visceral fat at weaning compared to the CG. Food consumption was lower for GK dams, but showed higher caloric consumption in relation to the CG. The GK rats showed lower amounts of *Lactobacillus spp* and *Bifidobacterium spp* and higher concentration of *Enterobacterium spp* and *Bacteroidetes spp*. GK offspring had higher body weight at weaning, but at 60 days they had lower body mass and a lower percentage of weight gain. Greater amount of body fat was found in FGK, at the ages of 25 and 60 days. And higher concentration of glucose, thoral cholesterol, triglycerides, VLDL-col and LDL-col at 25 and 60 days of life. At 25 and 60 days, the GK showed the same changes in the fecal microbiota of the GK. The consumption of DC rich in saturated fat during the lactation period alters

glycemia and triggers hyperlipidemia, favors the increase of abdominal fat and intestinal dysbiosis in the offspring of young rats, but does not impair somatic growth at weaning. This demonstrates the importance of nutritional balance for the health of the intestinal microbiota.

Keywords: Ketogenic diet. Lactation. Abdominal fat. Hyperlipidemia. Dysbiosis. Rats

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Corpos Cetônicos produzidos hepaticamente: β -hidroxibutirato, acetoacetato e acetona.....26
- Figura 2 - Produção de Corpos Cetônicos: Acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona. Elaborado pelo autor a partir de conhecimento obtido: (DANIAL et al., 2013; FUKAO; LOPASCHUK; MITCHELL, 2004; GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a).28
- Figura 3 - Desenho dos grupos experimentais expostos à dieta controle e dieta cetogênica durante a Lactação e Pós Desmame. GC= grupo controle, GK= grupo cetogênico, FGC: Filhotes do Grupo Controle. FGK: Filhotes do Grupo Cetogênico.; D= dia, N= quantidade de animais.38
- Figura 4 - Detalhamento do Desenho Experimental. GC: Grupo Controle. GK: Grupo Cetogênico. FGC: Filhotes do Grupo Controle. FGK: Filhotes do Grupo Cetogênico.; **D= dia.....39
- Figura 5 - Peso corporal das ratas durante a lactação submetidas a dieta cetogênica. GC- Grupo controle (n=6), GK= Grupo Cetogênico (n=5). Valores representam média \pm desvio padrão. Peso corporal durante a lactação, ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, *p<0,05.43
- Figura 6 - Consumo alimentar e energético total durante a lactação de ratas submetidas a dieta cetogênica. Consumo alimentar (A), Ingestão energética (B). GC- Grupo controle (n=6), GK= Grupo Cetogênico (n=5). A e B: Teste estatístico “t” de Student, *p<0,05.....43
- Figura 7 - Contagem de *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterobacteriaceae* e *Bacteroides* spp nas fezes de mães alimentadas com Dieta Cetogênica ou Controle. GC= Mães grupo controle. GK= Mães grupo cetogênico. Valores representam média \pm desvio padrão. Teste estatístico “t” de Student, *p<0,05.....45
- Figura 8 - Medidas muniométricas analisadas no período de lactação. FGC- Filhotes Grupo controle (n=12), FGK= Filhotes Grupo Cetogênico (n=12). A) ELLC; B) EAPC; C) EL. Valores representam média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, *p<0,05.46

- Figura 9 - Peso corporal dos filhotes e percentual de ganho de peso durante a lactação e pós-desmame. FGC- Filhotes Grupo controle (n=12), FGK= Filhotes Grupo Cetogênico (n=12) para lactação e pós desmame. Valores foram expressões em média \pm desvio padrão. A) Peso corporal durante a lactação. B) Peso corporal pós desmame. C) Percentual de ganho de peso durante a lactação e pós desmame. A, B e C: ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, * $p < 0,05$46
- Figura 10 - Efeito da ingestão de dieta cetogênica nas mães e repercussão na microbiota da prole durante o período de lactação e pós lactação. A) Contagem de *Lactobacillus* spp., B) *Bifidobacterium* spp., C) *Enterobacteriaceae.*, D) *Bacteroides* spp. FGC= Filhotes grupo controle; FGK= Filhotes do grupo cetogênico. Valores representam média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, * $p < 0,05$48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição de Macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) das dietas AIN-93G, Cetogênica e Presence.....	37
Tabela 2 -	Distribuição de nutrientes na Dieta Cetogênica desenvolvida a partir da AIN-93g. *g= gramas. das calorias vindas de gordura por 100g de dieta. Gordura saturada representa 33,9% das calorias de gordura por 100g de dieta.	37
Tabela 3 -	Peso dos órgãos e perfil bioquímico das mães submetidas a dieta cetogênica durante a lactação.	44
Tabela 4 -	Peso dos órgãos da prole aos 25 e 60 dias de vida submetidos a dieta cetogênica durante a lactação.	47
Tabela 5 -	Perfil bioquímico da prole aos 25 e 60 dias de vida submetidos a dieta cetogênica durante a lactação.	47

LISTA DE ABREVIações

GC	Grupo controle
GK	Grupo Cetogênico
FGK	Filhote do Grupo Cetogênico
FGC	Filhote do Grupo Controle
DCV	Doenças Cardiovasculares
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
LC	Dieta de Baixo Carboidrato (Low Carb)
DC	Dieta Cetogênica
HFD	Dieta de baixo carboidrato e muito alta gordura
TGI	Trato gastrointestinal
MI	Microbiota Intestinal
LPS	Lipopolissacarídeos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	PLASTICIDADE FENOTÍPICA (PF)	21
2.2	DIETA HIPERLIPÍDICA MATERNA, TIPO DE GORDURA E CONSEQUÊNCIAS NA PROLE.....	23
2.3	DIETA CETOGÊNICA	26
2.4	DIETA RICAS EM GORDURA E MICROBIOTA INTESTINAL.....	30
3	HIPÓTESE.....	34
4	OBJETIVOS.....	35
4.1	OBJETIVO GERAL.....	35
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
5.1	ANIMAIS.....	36
5.2	MANIPULAÇÃO DIETÉTICA E GRUPOS EXPERIMENTAIS	36
5.3	PROCEDIMENTOS.....	38
5.3.1	<i>Avaliação das ratas durante a lactação.....</i>	39
5.3.1.1	Peso Corporal.....	40
5.3.1.2	Consumo alimentar e energético.....	40
5.3.1.3	Análise do perfil bioquímico e microbiota fecal	40
5.3.2	<i>Avaliações da prole nas idades de 25 e 60 dias</i>	41
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
6	RESULTADOS.....	43
7	DISCUSSÃO.....	49
8	CONCLUSÃO.....	57
8.1	PERSPECTIVAS.....	57
	REFERÊNCIAS.....	57

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	68
--	-----------

1 INTRODUÇÃO

O conceito de período crítico do desenvolvimento, formulado por Dobbing (1965), faz referência à períodos em que os tecidos e os órgãos são susceptíveis a danos (DOBBING, 1965). Este período está relacionado a uma maior vulnerabilidade fisiológica, bioquímica, morfológica e comportamental quando associados aos insultos ambientais. De acordo com Pigliucci (2006), a Plasticidade Fenotípica pode ser definida como “a capacidade de genótipos individuais produzirem diferentes fenótipos quando expostos a diferentes condições ambientais” (PIGLIUCCI, 2006). E o processo de adaptação é compreendido pelas alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais do indivíduo (GRENIER; BARRE; LITRICO, 2016). Assim, a plasticidade no período crítico permite que o organismo modifique sua trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos, podendo ser alterado sua forma, estado, movimento ou padrão de atividade (WEST-EBERHARD, 1989).

A nutrição é um dos fatores que estão envolvidos na plasticidade fenotípica. Alterações na disponibilidade de nutrientes e/ou do tipo de nutriente durante o período crítico atuam modificando o desenvolvimento de sistemas fisiológicos (WEST-EBERHARD, 1989). Foi demonstrado que o aumento no consumo de lipídios e alta ingestão calórica na gestação e lactação estão relacionados às alterações epigenéticas, assim, os filhotes de mães que receberam dieta rica em lipídios, nesta fase, tem maior susceptibilidade em desenvolver doenças crônicas relacionadas às mudanças no metabolismo energético e nas funções fisiológicas, a exemplo do excesso de peso (VIDAL-SANTOS et al., 2017).

Em modelo experimental, dietas ricas em gorduras (*High fat diet*- HFD) são capazes de influenciar o crescimento fetal e pós-natal. Estas dietas ofertadas durante a gestação e lactação promoveram maior peso corporal e crescimento somático, e melhor desenvolvimento do sistema nervoso, em relação ao adiantamento na ontogênese de reflexos na prole (CADENA-BURBANO et al., 2019; FERRO CAVALCANTE et al., 2013). Esses resultados estão relacionados ao tempo e período de exposição à dieta, e também ao tipo de lipídio utilizado (CHRISTIANS et al., 2019). A ingestão de HFD durante a gestação propicia à prole transferência de ácidos graxos através da placenta, e durante a lactação esse processo ocorre através do leite

materno (KABARAN; BESLER, 2015). Quanto aos tipos de gorduras em HFD para roedores, a saturada promove aumento sérico do colesterol total e da lipoproteína de baixa densidade (LDL), em comparação com dieta hiperlipídicas, rica em gordura poli-insaturada (KANTA CHECHI; SUKHINDER KAUR CHEEMA, 2006).

A Dieta Cetogênica (DC) é um tipo de HFD, e diferencia dos outros protocolos por apresentar baixo teor de carboidratos e percentual elevado de lipídios (<10% em carboidratos e 60 a 80% de lipídios com relação valor calórico). E devido a esta disponibilidade de nutrientes, a DC induz alterações no metabolismo dos macronutrientes, favorecendo o aumento das concentrações circulantes dos corpos cetônicos, que podem ser mensuráveis (VEECH, 2004). As cetonas são produzidas hepaticamente, sendo a primeira delas o acetoacetato, e a cetona primariamente circulante é o β -hidroxibutirato. Em condições normais, os níveis de cetonas são baixos (<3mmol/l), sob circunstância da dieta cetogênica, essa quantidade pode aumentar de ~0,5-3mmol/l, para níveis fisiológicos máximos de 7-8mmol/l (GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a)

A dieta cetogênica foi utilizada inicialmente para tratamento da epilepsia em crianças que não respondiam aos fármacos existentes na época. E mesmo sendo uma conduta antiga, ainda continua sendo associada ao tratamento desta condição (D'ANDREA MEIRA et al., 2019; SADEGHIFAR; PENRY, 2019). A literatura relata poucos efeitos negativos sobre a utilização da DC. Estudo em humanos, os principais efeitos adversos encontrados estão relacionados às câibras musculares, dores de cabeça, halitose, constipação, fraqueza geral e erupção cutânea (YANCY et al., 2004). Em crianças, os efeitos adversos encontrados pela utilização da DC foram desidratação, hipertrigliceridemia, hepatite, pancreatite, cálculos renais e deficiência de micronutrientes (HC et al., 2004). Já em modelos experimentais, a DC promoveu diminuição da tolerância à glicose e resistência hepática à insulina (GARROW et al., 2011; GRANDL et al., 2018).

Existe uma estreita relação da alimentação com o desenvolvimento do microambiente intestinal. A microbiota intestinal das mães pode influenciar a pode ser transmitida para o filho, sendo a alimentação durante a gestação e lactação um fator importante na microbiota intestinal dos descendentes (FRESE; MILLS, 2015; MEROPOL; EDWARDS, 2015).

Os micro-organismos intestinais são importantes para saúde do hospedeiro porque exercem papel tanto em nível metabólico como imunológico (ROTHSCHILD et al., 2018; ZHANG et al., 2015). E isso é possível a partir de modelos animais (DE PALMA et al., 2017) e também em seres humanos (SONNENBURG; SONNENBURG, 2014). Em relação à MI dos mamíferos, o consumo de gordura saturada em protocolos HFD foi capaz de aumentar a proporção de *Firmicutes* para *Bacteroidetes* (CÂNDIDO et al., 2018), assim como diminuir *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no intestino (BELL, 2015; STATOVCI et al., 2017).

Dentro dessa perspectiva, a microbiota intestinal é importante para o entendimento de condições patológicas, sobretudo a obesidade. A associação entre obesidade e microbiota intestinal foi demonstrada em estudo com camundongos criados de forma convencional, e estes apresentaram 40% a mais de gordura corporal, e 47% a mais de coxins de gordura gonadal do que os camundongos *germ free* (BÄCKHED et al., 2004). Ding et al. (2010) demonstraram que ratos alimentados com dieta rica em gordura tinham aumento de mediadores inflamatórios no íleo e cólon, que precedeu ao ganho de peso, obesidade e resistência insulínica e que estes fatores estavam relacionados a baixa diversidade bacteriana intestinal (DING et al., 2010), sobretudo, quando a dieta era rica em gordura saturada e trans (ZHANG; YANG, 2016). Em humanos também há evidências que indivíduos com sobrepeso/obesidade e que têm alteração na diversidade bacteriana estão propensos a desenvolver doenças metabólicas, sobretudo por conta da inflamação de baixo grau (MARCHESI et al., 2016).

Apesar dos estudos utilizando dietas ricas em gordura e dietas ocidentalizadas durante o período perinatal de roedores (BAYOL; FARRINGTON; STICKLAND, 2007; KRUSE et al., 2016; PANTALEÃO et al., 2013), ainda não foram esclarecidas as repercussões de uma dieta muito rica em lipídios e com baixo teor de carboidratos, a exemplo da dieta cetogênica durante a lactação. A dieta cetogênica está em evidência populacional nos tempos atuais, mesmo sendo uma prática dietética antiga. A observação populacional do uso da dieta cetogênica é baseada, sobretudo, no consumo de gordura saturada. Sabe-se que a diminuição do consumo de carboidratos é acompanhada também da diminuição do consumo de fibras, que pode ser prejudicial a qualidade da microbiota intestinal, podendo refletir na saúde do hospedeiro. Assim, fez-se necessário associar a dieta cetogênica com teores elevados de gordura

saturada ao período crítico do desenvolvimento (lactação), visto o interesse em entender os mecanismos da plasticidade fenotípica nas alterações metabólicas e na microbiota intestinal.

Desta forma, este trabalho buscou responder o seguinte questionamento: Poderia a dieta cetogênica, rica em gordura saturada, durante a lactação alterar o crescimento somático, modificar a microbiota intestinal fecal e os padrões lipídicos e glicídicos de ratos jovens?

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.2 PLASTICIDADE FENOTÍPICA (PF)

O conceito de período crítico do desenvolvimento, formulado por Dobbing (1964), faz referência às janelas de períodos onde os tecidos e os órgãos são susceptíveis a danos, este período corresponde à gestação, lactação e primeira infância (MORGANE et al., 2002). Inicialmente esta fase foi relacionada ao desenvolvimento do sistema nervoso central, mas todos os sistemas apresentam períodos onde a proliferação e diferenciação celular ocorrem rapidamente e portanto, estão mais vulneráveis a insultos ambientais (DOBBING, 1964). Em roedores, o desenvolvimento do sistema nervoso central apresenta a mesma descrição, sendo durante a lactação o período de maior modificação (MORGANE; MOKLER; GALLER, 2002), e onde os órgãos e os sistemas corporais apresentam altas plasticidades, e estas alterações estão relacionadas a adaptação do organismo garantindo a sobrevivência (BARKER, 2013).

O processo de adaptações do ser vivo compreende as alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais, permitindo à persistência a vida da população e das espécies. Essas alterações emergem como resultado de dois mecanismos: seleção genética e plasticidade fenotípica. Quanto ao primeiro, a frequência de alelos favoráveis aumenta ao longo das gerações à medida que os desfavoráveis tendem a diminuir (GRENIER; BARRE; LITRICO, 2016). Assim, a plasticidade no período crítico permite que o organismo modifique sua trajetória de crescimento e desenvolvimento através de processos adaptativos, podendo ser alterado sua forma, estado, movimento ou padrão de atividade (WEST-EBERHARD, 1989).

A Plasticidade Fenotípica é definida como a capacidade de genótipos individuais produzirem diferentes fenótipos quando expostos a diferentes condições ambientais (WEST-EBERHARD, 2005). Logo, a partir de processos adaptativos, a plasticidade permite ao organismo modificar sua trajetória de crescimento e desenvolvimento (PETER D GLUCKMAN; HANSON; PINAL, 2005).

O ambiente exerce papel importante em relação à adaptação dos mamíferos. Dessa forma, o organismo é visto como um “objeto passivo das forças evolutivas”, isto é, um ambiente que gera problemas aleatórios à medida que um mecanismo genético

interno do organismo realiza soluções que foram impostas pelo ambiente (LEWONTIN, 2002). O próprio período perinatal é um exemplo, sendo preditor de repercussões em médio e longo prazo, onde, insultos ambientais podem induzir alterações fenotípicas e isso repercutir no decorrer da vida (HANSON; GLUCKMAN, 2014). As características plásticas dos indivíduos, podem ser alteradas sem precisar modificar a diversidade genética, podendo a plasticidade fenotípica, então, influenciar a aptidão dos indivíduos (KOPP; TOLLRIAN, 2003) e ser o alvo da seleção (ROBINSON; WILSON, 1996).

Garland (2006) demonstrou que isso é possível dada à possibilidade em modificar trajetórias de desenvolvimentos em resposta aos possíveis estímulos ambientais e pela capacidade em que um organismo tem de alterar seu estado ou sua atividade fenotípica (exemplo: metabolismo) em resposta as variações impostas pelas condições ambientais (GARLAND, 2006). Nesse sentido, sabe-se que a falta ou a deficiência e até mesmo o excesso de nutrientes durante o período fetal, lactação e infância, predispõe o indivíduo, quando na fase adulta, à condições como doenças cardiovasculares e diabetes tipo II, bem como fatores que estão associados à essas condições como hipertensão, intolerância à glicose e alterações lipídicas, como a hiperlipidemia (ARMITAGE et al., 2004; ARMITAGE; TAYLOR; POSTON, 2005; BARKER, 2007; TAYLOR; POSTON, 2007).

O organismo ainda em desenvolvimento tem a capacidade em adaptar-se à condições de baixo consumo nutricional, capacitando o metabolismo a ser mais eficiente no aproveitamento energético e isso foi alcinhado pela Hipótese do Fenótipo Pougador (HALES; BARKER, 1992). Outro modelo que explica a associação do ambiente perinatal, o desenvolvimento humano e o surgimento de condições patológicas na vida adulta é o modelo proposto por WELLS (2010). Este modelo demonstrou que a “capacidade metabólica” é determinada pelo peso corporal ao nascer e “carga metabólica” pode ser caracterizada pelo ganho de peso, altura, massa gordurosa ou massa livre de gordura. Evidenciando que a surgimento da síndrome metabólica e da doença cardiovascular podem ser referidos entre razão de carga metabólica para capacidade metabólica (WELLS, 2010). Estas hipóteses estão inclusas no termo, mais amplo, da “Plasticidade Fenotípica”.

Sabe-se, então, que alterações dos processos biológicos ocorridos no ambiente pré-natal tem efeito duradouro na saúde no decorrer da vida (HOFFMAN; REYNOLDS; HARDY, 2017). As primeiras observações demonstraram associações entre o peso ao nascer e o risco para doença cardiovascular e diabetes (BARKER et al., 1990, 2009; HALES; BARKER, 1992). Outros estudos demonstraram desfechos negativos do baixo e do excesso de peso ao nascer à saúde quando adulto com o risco de doença de foro metabólico (GRISSOM; REYES, 2013; HANSON; GLUCKMAN, 2014; SEN et al., 2012)

O desequilíbrio nutricional é um dos principais fatores ambientais que desencadeiam alterações no organismo, e pode ser esclarecido pela plasticidade fenotípica (PETER D GLUCKMAN; HANSON; PINAL, 2005). A superalimentação materna, sobretudo por alimentos palatáveis, ricos em açúcares e gorduras, está relacionada a modificações nas vias neuronais que regulam o apetite desencadeando na prole preferência por alimentos mais palatáveis (BAYOL; FARRINGTON; STICKLAND, 2007; MENNELLA; BEAUCHAMP, 2002; PLAGEMANN et al., 1999). Além disso, as dietas com alto teor de lipídios quando ofertadas durante a gestação e/ou lactação, favorecem o crescimento somático e altera a maturação do desenvolvimento do sistema nervoso da prole (FERRO CAVALCANTE et al., 2013).

2.3 DIETA HIPERLIPÍDICA MATERNA, TIPO DE GORDURA E CONSEQUÊNCIAS NA PROLE

A nutrição é um dos fatores mais importantes durante o período de gestação e lactação dada sua relação com o desenvolvimento da prole, afetando a plasticidade do desenvolvimento dos órgãos destes mamíferos (OLIVEIRA, 2014). O desenvolvimento do feto/prole está diretamente relacionado à disponibilidade de nutriente na circulação materna, na capacidade de transporte destes nutrientes pela placenta e na oferta do leite materno. As alterações nestes processos indicam o desencadeamento de respostas ao feto/prole restrita ou excessiva, com mudanças na taxa de crescimento e no metabolismo (BRETT et al., 2014).

O valor energético, os macronutrientes e os micronutrientes estão relacionados com os aspectos da programação metabólica do feto/prole em roedores (OLIVEIRA, 2014). Aminoácidos, glicose, ácidos graxos e colesterol podem ser transportados para o feto através da placenta por conta de transportadores específicos (BRETT et al.,

2014). A composição dos lipídios do leite materno também é influenciada pela dieta hiperlipídica consumida pelas genitoras (ALBUQUERQUE et al., 2006). E os corpos cetônicos podem ser transferidos ao feto, podendo atingir o mesmo nível plasmático da circulação materna, e também serem utilizados como fonte de energia e como substrato de lipídios para o desenvolvimento do cérebro (HERRERA, 2002).

Dietas ricas em gorduras influenciam o crescimento fetal e pós-natal em roedores, e este fato está diretamente relacionado ao tempo, ao tipo e ao percentual (45 à 60%) de gordura na dieta (CHRISTIANS et al., 2019). Onde uma alimentação com HFD por 4-9 semanas antes do período gestacional favorece o crescimento fetal, bem como uma alimentação com 45% de lipídios reduz o peso do feto ao nascimento (CHRISTIANS et al., 2019). Alterações no metabolismo das ratas durante o período de lactação advindas de HFD estão relacionados com alterações danosas para a saúde em longo prazo, como no comprometimento da glicose ou predispondo a prole à obesidade (VOGT et al., 2014). Vogt (2014) demonstrou que a prole tinha hiperinsulinemia resultado de uma ativação anormal da sinalização da insulina, mostrando que a exposição da mãe à HFD é suficiente para predispor na prole às alterações metabólicas relacionadas à glicose, e que essas mudanças são em parte pelo comprometimento da inervação neuronal de áreas alvo intra-hipotalâmicas (VOGT et al., 2014).

As dietas hiperlipídicas ofertadas em roedores também estão relacionadas a maiores padrões de crescimento e desenvolvimento da prole (MENDE-DA-SILVA et al., 2013). A HFD (51% de lipídios) durante a gestação e lactação favoreceu o aumento do peso corporal, do eixo latero-lateral e ântero-posterior do crânio e maior crescimento do corpo nos filhotes (CADENA-BURBANO et al., 2019). Demonstrando que a prole é altamente sensível aos efeitos advindos de dietas maternas.

O tipo de gordura na dieta materna exerce um papel importante para o crescimento do feto e da prole no pós-parto, como também, na adipogênese e no desenvolvimento cerebral (MENDES-DA-SILVA et al., 2013). A quantidade e os tipos de ácidos graxos ingeridos interferem na resposta metabólica, na mudança da composição dos ácidos graxos dos fosfolipídios das membranas plasmáticas, causando danos estruturais e funcionais na célula, e acarretando alterações

permanentes no controle do apetite, no metabolismo energético e na função neuroendócrina na prole (KABARAN; BESLER, 2015).

As dietas ricas em ácidos graxos de cadeia longa (poli-insaturados) são transportadas de forma facilitada para o feto através da placenta durante a gestação, e transferidos a prole pelo leite materno durante a lactação (BRETT et al., 2014; ELIAS; INNIS, 2001). Os ácidos graxos essenciais (ômega 6 e 3) são fundamentais no desenvolvimento e na função do sistema nervoso central. E a desproporção no consumo de ômega 6 e 3 é um fator de risco para a programação metabólica, podendo predispor a prole ao baixo peso ao nascer ou aumentar o risco em desenvolver doenças na vida adulta, como obesidade (KABARAN; BESLER, 2015). Logo, o tipo de ácido graxo da dieta durante o período crítico é considerado fator preponderante para ter um desenvolvimento fetal e pós-natal adequado (MENNITTI et al., 2015), sobretudo o consumo de ácidos graxos poli-insaturados por seu fácil transporte através da placenta durante a gestação e pelo aleitamento durante a lactação (BRETT et al., 2014; ELIAS; INNIS, 2001).

Já as dietas ricas em gordura saturada no período perinatal aumentam a probabilidade na prole quando na vida adulta em desencadear alterações na função hepática, hiperglicemia, resistência insulínica, obesidade, hipertensão arterial e diabetes (LIANG; OEST; PRATER, 2009), bem como uma maior proporção de ácido graxo saturado durante o desenvolvimento fetal afeta a memória e os processos de aprendizagem (PAGE; JONES; ANDAY, 2014) e a locomoção (CADENA-BURBANO et al., 2017). O maior consumo de gordura saturada em HFD também está relacionado com a resposta na concentração plasmática de lipídios. Em roedores que consumiram HFD rica em ácidos graxos saturados por duas semanas antes do acasalamento, durante a gestação e lactação promoveram na prole maior concentração de colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade (LDL) em comparação ao grupo controle e ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica rica em gorduras poli-insaturadas (KANTA CHECHI; SUKHINDER KAUR CHEEMA, 2006).

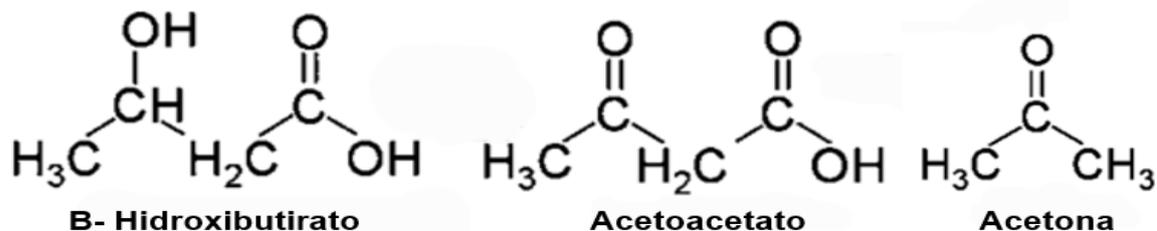
Estudo do nosso grupo de pesquisa demonstrou que genitoras alimentadas com dietas ricas em gordura (HFD, 51% de calorias), e os filhotes submetidos à administração de Kaempferol (flavonoide) apresentaram menores níveis de adiposidade mas sem alteração no comportamento alimentar (CHAVES et al., 2020a).

Todavia uma recente revisão sistemática, também do nosso grupo de pesquisa, concluiu que dietas ricas em gordura favorece o comprometimento de parâmetros do comportamento alimentar e da composição corporal, prejudicando a saúde desde o nascimento até sua fase adulta. Uma outra característica observada nesse estudo foi que filhotes de mães alimentadas com dietas HF apresentaram baixo peso ao nascer da prole e tendência a peso corporal elevado quando adulto (CHAVES et al., 2020b). Dentre os diversos modelos de dietas caracterizadas pelo alto teor de gordura, encontra-se a Dieta Cetogênica.

2.4 DIETA CETOGÊNICA

A Dieta Cetogênica é um tipo de dieta que contém baixo teor de carboidratos e alta concentração de lipídios, podendo apresentar cerca de 10% em carboidratos, 20% de proteínas e 60 a 80% de lipídios (VARGAS et al., 2018; VEECH, 2004). Alguns modelos experimentais com dieta cetogênica podem apresentar até 90% de lipídios em sua composição (GRANDL et al., 2018). Estas mudanças nas proporções dos macronutrientes que ocorrem na DC induzem numerosas alterações no metabolismo humano. Mesmo sem limitar calorias da dieta, a DC é capaz de induzir ao corpo uma condição metabólica conhecida por Cetose Fisiológica. Essa condição envolve altos níveis de corpos cetônicos circulantes no sangue. Quando esses corpos cetônicos estão na circulação em quantidades acima do fisiológico, eles se tornam mensuráveis (VEECH, 2004). A cetose fisiológica ou nutricional é diferente da cetose ocorrida em decorrência à algumas condições, como cetoacidose diabética desencadeada pela Diabetes Mellitus tipo 1 (NEWTON; RASKIN, 2004).

Figura 1. *Corpos Cetônicos produzidos hepaticamente: β-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona.*



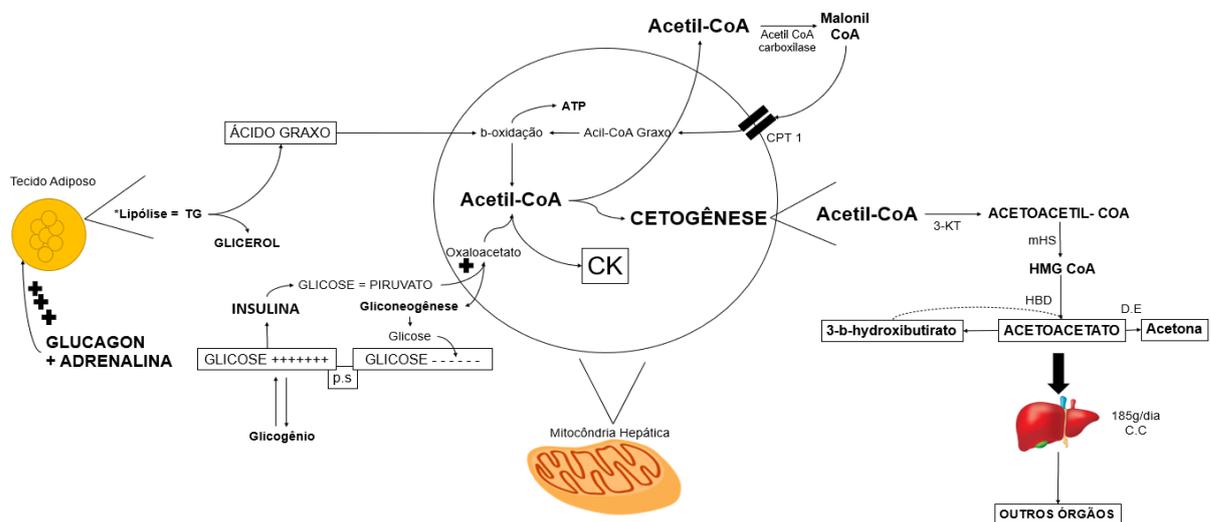
Elaborado pelo autor a partir de conhecimento obtido: (DANIAL et al., 2013; FUKAO; LOPASCHUK; MITCHELL, 2004; GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a).

Na cetose fisiológica, há síntese de três corpos cetônicos. E estes possuem um grupo funcional cetona: β-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona (Figura 1). Os

corpos cetônicos são produzidos hepaticamente, sendo o primeiro deles o acetoacetato, depois a acetona e o β -hidroxibutirato, sendo este o primariamente circulante no sangue. Em condições normais, os níveis de cetonas são baixos (<3mmol/l), sob circunstância da dieta cetogênica, essa quantidade pode aumentar de ~0,5-3 mmol/l para níveis fisiológicos máximos de 7-8mmol/l (GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a).

A produção dos corpos cetônicos depende da glicose sanguínea e da disponibilidade de glicogênio hepático para distribuição celular. Quando estes níveis estão abaixo do necessário para as células, após ocorrer depleção do conteúdo de glicogênio e diminuição da concentração da glicose sanguínea, há formação dos corpos cetônicos para continuidade das funções fisiológicas de quase todas as células do corpo. Esse processo ocorre, sobretudo, em períodos de jejum, dietas restritivas de carboidratos (como a DC), em indivíduos que estão sob treinamento intenso ou pela falta de insulina circulante, como na Diabetes Mellitus tipo I quando não tratada (DANIAL et al., 2013; GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018b).

Figura 2. Produção de Corpos Cetônicos: Acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona.



Elaborado pelo autor a partir de conhecimento obtido: (DANIAL et al., 2013; FUKAO; LOPASCHUK; MITCHELL, 2004; GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a).

O processo de cetogênese ocorre na matriz mitocondrial dos hepatócitos por conta do excesso de Acetil-CoA disponível e do desvio metabólico do oxaloacetato para gliconeogênese. Isso ocorre devido à ativação excessiva da lipólise (degradação

de triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol), seguida por beta-oxidação nas mitocôndrias hepáticas para produção de duas moléculas de acetil-CoA.

O organismo, então, desvia metabolicamente o acetil-CoA para produzir Acetoacetil-CoA por ação de uma enzima tiolase, que é posteriormente convertido em HMG-CoA pela ação da HMG-CoA sintase, seguida da HMG-Coa liase que converte HMG-CoA em acetoacetato (DANIAL et al., 2013; FUKAO; LOPASCHUK; MITCHELL, 2004; GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a). O acetoacetato pode ser convertido em acetona por descarboxilação não enzimática ou em β -hidroxibutirato por meio da enzima beta-hidroxibutirato desidrogenase. O acetoacetato e o β -hidroxibutirato podem, então, ir para outros tecidos serem utilizados para obtenção de energia (Figura 2) (DANIAL et al., 2013; FUKAO; LOPASCHUK; MITCHELL, 2004; GERSHUNI; YAN; MEDICI, 2018a).

A dieta cetogênica foi relatada primariamente para o tratamento da epilepsia refrataria em crianças, e prosperou seu uso na clínica durante bom tempo até que os fármacos antiepilépticos foram introduzidos na terapia. Mesmo sendo a DC relatada há anos para essa situação, atualmente continua sendo associada ao tratamento da epilepsia (D'ANDREA MEIRA et al., 2019; SADEGHIFAR; PENRY, 2019).

Essa relação foi a primeira encontrada na literatura demonstrando a DC com alguma condição clínica. Pacientes que demonstram não responder ativamente ao tratamento farmacológico tradicional (drogas antiepilépticas) para epilepsia refratária têm na DC uma alternativa para melhora dos efeitos negativos desta condição. Para D' ANDREA MEIRA et al., (2019), DC é considerada um alvo terapêutico de último recurso, ou seja, utilizado somente quando a criança, jovem ou adulto não respondem aos tratamentos convencionais farmacológicos (D'ANDREA MEIRA et al., 2019). Uma das possibilidades de ação da DC em pacientes epilépticos refere-se a baixa disponibilidade de glicose, essa, que é facilmente transportada via barreira hematoencefálica, onde em condições normais, é necessária para atividade convulsiva. Então, na baixa disponibilidade de glicose e aumento da disponibilidade de β -hidroxibutirato (produto da cetose), ocorre diminuição do metabolismo anaeróbico, diminuindo as convulsões nesses pacientes (D'ANDREA MEIRA et al., 2019).

A DC também tem sido utilizada na terapêutica em outras condições. Em pacientes portadores Parkinson e Alzheimer, a DC parece ser capaz de regular as proteínas que possuem propriedades neuroprotetora, buscando restaurar a homeostase celular (RAMAMURTHY; RONNETT, 2006). A literatura também evidencia associação positiva da DC em pacientes com doenças cardiovasculares. O seu efeito benéfico está associado ao LDL-colesterol, pois DC modula o tamanho das partículas de LDL-colesterol deixando-as mais flutuantes no plasma, o que diminui seu risco aterogênico (VOLEK; SHARMAN; FORSYTHE, 2005). A mudança do padrão dietético normal para uma dieta cetogênica seria capaz de melhorar os triglicerídeos séricos em jejum em -33%, a lipemia após uma refeição rica em gordura em -29% e a concentração sérica de insulina em jejum em -34% independente da perda de peso (SHARMAN et al., 2002).

Nos últimos anos cresceu a associação da DC com outras patologias, como diabetes tipo II, síndrome do ovário policístico, câncer e doenças neurodegenerativas (PAOLI et al., 2013). Na Diabetes tipo II, por exemplo, o uso da DC está relacionado com a melhora nos biomarcadores, sobretudo beneficiando a sensibilidade sistêmica à insulina (PAOLI et al., 2013)

A DC também é relatada para perda de peso corporal em humanos (MCKENZIE et al., 2017). Indivíduos que aderem a DC como padrão de dieta, com um consumo máximo de 50g de carboidratos por dia, tiveram maior perda de peso corporal (como desfecho primário) e também efeitos nos parâmetros de risco cardiovascular (como desfecho secundário) e menores níveis de triglicerídeos plasmáticos em comparação com uma dieta baixa em gordura (low-fat diet) (BUENO et al., 2013). Em humano os protocolos de dietas cetogênicas são considerados hipocalóricos, e esta condição pode ser preponderante na perda de peso (GARDNER et al., 2018). Além disso, boa parte dos indivíduos que utilizam a DC para este fim associa ao exercício físico, e alguns encontram-se em acompanhamento psicológicos (OHSIEK; WILLIAMS; DEAN, 2011; SWIFT et al., 2018).

Para além dos efeitos benéficos encontrados sobre a DC, há poucos dados demonstrando efeitos negativos, principalmente quando seguida por curtos períodos. Parte dos efeitos negativos encontrados na literatura quando há adesão para DC em humanos são referentes ao surgimento câibras musculares, dor de cabeça, halitose,

constipação, diarreia, fraqueza geral e erupção cutânea (YANCY et al., 2004). Em crianças dados demonstram que existem complicações quando ocorre a utilização precoce da DC na epilepsia, como: desidratação, náusea, vômitos, diarreia e constipação. Alterações observadas após um maior período de utilização da DC foram associadas a hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hepatite, pancreatite e acidose metabólica persistentes (HC et al., 2004). Também foi observado carência de micronutrientes, a cálculo renal e em casos graves morte por sepse, cardiomiopatia e pneumonia lipóide (HC et al., 2004).

Em modelos animais alimentados com uma dieta cetogênica por 12 semanas apresentaram tolerância diminuída à glicose, estresse no retículo endoplasmático hepático, esteatose por aumento no conteúdo de triglicerídeos hepáticos, lesão celular e acúmulo de macrófagos. GRANDL e colaboradores (2018) demonstram que animais alimentados com uma DC apresentavam tolerância à glicose diminuída, associado ao quadro de resistência à insulina hepática (GRANDL et al., 2018). Estes efeitos demonstram que o consumo da dieta cetogênica em longo prazo parece estar associado a efeitos nocivos à saúde (GARBOW et al., 2011). Em estudo com DC por curto período (21 dias) não demonstrou alteração no estado nutricional, perfil hepático, renal e lipídico (COLICA et al., 2017). Todavia, há dados que demonstram segurança no uso da DC por até dois anos (BROOM; SHAW; RUCKLIDGE, 2018; MA, 2019), mesmo não encontrando maiores vantagens em seu uso após um ano (BATCH et al., 2020).

Na literatura há discussão sobre a relação da alimentação com o desenvolvimento do microambiente intestinal. E que a alimentação durante a gestação e/ou lactação das ratas parece influenciar o microbioma intestinal (FRESE; MILLS, 2015; MEROPOL; EDWARDS, 2015). Assim, os protocolos dietéticos ricos em gorduras podem influenciar na microbiota intestinal (HE et al., 2018).

2.5 DIETA RICAS EM GORDURA E MICROBIOTA INTESTINAL

O Trato Gastrointestinal (TGI) é considerado uma das maiores interfaces entre o indivíduo, os fatores ambientais e os antígenos. Relata-se que em média 60 toneladas de alimentos passem por todo o TGI humano durante sua vida, além disso, uma demasia de microrganismos, que podem impor ameaça à integridade intestinal do hospedeiro (BENGMARK, 1998). A terminologia microbiota faz referência à

microbiota intestinal (MI), a qual é representada por microrganismos simbióticos, comensais e patogênicos. Neste ambiente é possível encontrar bactérias, vírus e fungos, sendo o microbioma à representatividade coletiva de todos esses microrganismos. Sabe-se ainda que as bactérias que habitam o TGI humano e de animais, na sua grande maioria pertencem à: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobactéria* e *Proteobacteria* (TAGLIABUE; ELLI, 2013). Essas populações microbianas são constituídas predominantemente de bactérias, como as dos filos *Bacteroidetes* e *Proteobacteria* (gram-negativas), e *Firmicutes* e *Actinobactéria* (gram-positivas) (AL-ASSAL et al., 2018).

O microbioma de um indivíduo, normalmente, é estável e resiliente ao longo do tempo, mas alguns fatores podem modificar a composição deste, como a dieta, probióticos, prebióticos, vírus, e drogas, sobretudo antibióticos (THURSBY; JUGE, 2017). Através das funções que a MI exerce ela é capaz de oferecer diversos benefícios para a saúde humana, como o fortalecimento da integridade intestinal, proteção contra invasores patogênicos e a própria regulação da imunidade (BAÜMLER; SPERANDIO, 2016; GENSOLLEN et al., 2016; NATIVIDAD; VERDU, 2013).

A microbiota intestinal pode ser passada de mãe para filho, mas sabe-se que fatores ambientais, bem como os relacionados a alimentação, o uso de medicamentos e outros fatores também são determinantes para a composição da microbiota intestinal. A forma de nascimento do indivíduo, por exemplo, pode ser uma forma de alteração da microbiota. Após nascimento de parto normal/natural ocorre um aumento da quantidade de lactobacilos durante os primeiros dias de vida; ao contrário do que acontece com bebês nascidos de cesariana, apresentando uma colonização prejudicada em *Bacteroides* (AVERSHINA et al., 2014; JAKOBSSON et al., 2014; ROTHSCHILD et al., 2018).

O microambiente intestinal é importante para saúde do hospedeiro porque exerce papel tanto em nível metabólico como imunológico (ROTHSCHILD et al., 2018; ZHANG et al., 2015). E isso é possível a partir de modelos animais e também com seres humanos (DE PALMA et al., 2017; SONNENBURG; SONNENBURG, 2014). Nesse sentido, eventos que acontecem no início da vida podem ter consequências duradouras e representar para o indivíduo um estado saudável ou de desenvolvimento

de doenças, como doença inflamatória intestinal, alergia e asma (GENSOLLEN et al., 2016).

Os micro-organismos intestinais são fundamentais para fermentação dos substratos que não são digeríveis no TGI, possibilitando com que as fibras desses alimentos possam ser metabolizadas à Ácidos Graxos de Cadeia Curta (SCFA), conhecidos por Acetato, Propionato e Butirato (TURNBAUGH et al., 2006). O butirato é considerado uma fonte de energia primária para as células do cólon do hospedeiro, tendo ainda efeitos sob a homeostase energética. Após transferência para o fígado, o propionato regula a gliconeogênese e à saciedade (DE VADDER et al., 2014). Já o acetato, é o SCFA em maior quantidade, considerado importante por exercer efeitos sobre a lipogênese e no metabolismo do colesterol, como também na regulação central do apetite (FROST et al., 2014).

Dados associam o papel que a dieta exerce sob a microbiota intestinal. A partir de estudos transcriptômicos foi possível constatar que a microbiota do íleo é elevada, pela capacidade que microrganismos têm em metabolizar açúcares simples, mostrando que a microbiota é capaz de se adaptar a disponibilidade de nutrientes no intestino delgado (ZOETENDAL et al., 2012). Já os MACs – Carboidratos acessíveis à microbiota, que são encontrados em alimentos fibrosos, podem influenciar a composição da MI, a partir de dietas que restringem determinadas classes de nutrientes, como dietas veganas ou sobretudo onívoras. Quando dietas onívoras são preferencialmente utilizadas há alterações de microrganismos tolerantes aos ácidos biliares, como *Alistipes*, *Bilophila* e *Bacteroides*. E o aumento de *Bilophila* relaciona-se ao tipo de gordura da dieta e aos ácidos biliares, favorecendo o surgimento das doenças inflamatórias intestinais (ZOETENDAL et al., 2012). Há também relação da MI com do tipo de dieta e de gordura.

As dietas ricas em gordura saturada estão associadas com efeitos nocivos para a MI e a um estado metabólico prejudicial (WOLTERS et al., 2019). Esse tipo de dieta é relatado por modular a composição da MI e também a inflamação sistêmica de baixo grau, desequilibrando as colônias na MI, aumentando a proporção de *Firmicutes* para *Bacteroidetes* e outras mudanças nos níveis de família, gênero e espécie dos micro-organismos (CÂNDIDO et al., 2018). A dieta ocidental, rica em gordura saturada, apresenta alto teor de grãos refinados, sal, xarope de milho, açúcares simples e

baixíssima fontes de fontes de fibras alimentares. Dados tem demonstrado que a dieta ocidental é capaz de modificar o perfil da MI e promover um ambiente inflamatório, assim como diminuir a carga total de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no intestino (BELL, 2015; STATOVCI et al., 2017).

Como já descrito, a DC também é um tipo de dieta que apresenta uma quantidade elevada de gordura na proporção dos macronutrientes. Newell (2016) demonstrou a associação da DC com a MI em modelo de espectro do autismo. Nesse estudo evidenciou que animais alimentados com dieta cetogênica tinha a composição da microbiota intestinal alterada, diminuindo significativamente a abundância bacteriana total, em amostras do cécum e das fezes (NEWELL et al., 2016). Além disso, a MI está sendo relacionada com diversas doenças neurológicas, como a epilepsia, sendo à DC também relatada para essa condição. Um estudo que utilizou doze pacientes epiléticos que estavam sob o regime da DC e tiveram as amostras fecais coletadas antes e após o início da intervenção não tiveram a diversidade alfa alterada (diversidade de espécies dentro de uma única amostra), mais obtiveram mudanças significativas na composição taxonômica e funcional da microbiota (LINDEFELDT et al., 2019).

Em recente publicação, foi demonstrado que a DC seria capaz de alterar a microbiota intestinal de forma diferente de outros modelos de dieta high-fat e que essas mudanças estão relacionadas com produção de corpos cetônicos. Além disso, foi observado que o β -hidroxibutirato inibe o crescimento de bifidobactérias, bem como favoreceu a redução dos níveis de célula Th17 intestinais, sendo estas associadas com as células do sistema imune (ANG et al., 2020a).

Dessa forma, compreende-se que a diversidade, a composição bem como a própria atividade metabólica da microbiota intestinal está associada à dieta e a proporção dos nutrientes específicos como proteínas, carboidratos e lipídios, como também ao tipo e quantidade de fibras ingeridas a partir da alimentação do indivíduo. Portanto, o intuito deste trabalho foi investigar a associação da dieta cetogênica ofertada às mães sobre a microbiota intestinal a partir da contagem de microrganismos advindos da microbiota intestinal fecal, bem como os efeitos metabólicos da utilização da DC durante a lactação sobre as repercussões de crescimento na prole.

3 HIPÓTESE

A dieta cetogênica, rica em gordura saturada, ofertada durante a lactação, promove maior crescimento corporal, excesso de gordura visceral e retroperitoneal, hipoglicemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e desequilíbrio na microbiota intestinal fecal em ratos jovens.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da dieta cetogênica, rica em gordura saturada, na lactação sobre o crescimento somático, os parâmetros bioquímicos e a microbiota intestinal na prole de ratos jovens.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nas ratas durante a lactação:

- Quantificar o peso corporal e o consumo alimentar;
- Analisar o perfil bioquímico sanguíneo;
- Avaliar a microbiota intestinal fecal;

Na Prole:

- Mensurar crescimento somático;
- Analisar o perfil bioquímico sanguíneo;
- Analisar a Microbiota Intestinal Fecal.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Foram utilizadas 12 ratas *Wistar* nulíparas obtidas na colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos em ambiente com ciclo invertido de luz (20:00 às 8:00h) e escuridão (08:00 às 20:00h), temperatura $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e com livre acesso à água e ração, mantidos em gaiolas de polipropileno (46cmx34cmx20cm) coberta com maravalha estéril. O projeto seguiu as normas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), de acordo com a lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, e as normas internacionais estabelecidas pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. O projeto foi aprovado sob nº111/2019 pela Comissão de Ética em Uso animal (CEUA) da UFPE (ANEXO A).

Para obtenção de neonatos, foram acasalados animais machos e fêmeas nulíparas (proporção 1:2), não consanguíneos, com idade entre 90 a 120 dias. O diagnóstico de possível fertilização foi realizado através do teste de esfregaço vaginal com visualização do espermatozoide. A gestação foi confirmada por acompanhamento da evolução ponderal. Com a confirmação da gestação, as ratas foram separadas dos machos e alojadas individualmente em gaiolas, e passaram a ter livre acesso à água e ração comercial Presence. Após o nascimento da prole as ratas (lactação) foram divididas em grupos de acordo com a dieta administrada *ad libitum*.

Após o nascimento, as ninhadas foram compostas por 8 filhotes (machos:fêmeas na proporção de 4:4 ou 5:3). O desmame ocorreu aos 25 dias de nascidos e a finalização do experimento foi aos 60 dias de vida.

5.2 MANIPULAÇÃO DIETÉTICA E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os grupos experimentais (Figura 3) foram formados de acordo com a dieta ofertada após o parto até o final da lactação (25 dias) das ratas (HAHN; KIRBY, 1973). As dietas experimentais/grupos foram: Dieta AIN-93G para o grupo Controle (GC, n=12 lactação; 3,6cal/g, 18% proteínas, 63% carboidratos e 19% de lipídios) (REEVES, 1997), e a dieta com baixo teor de carboidratos e alto em lipídios (Dieta

Cetogênica) para o Grupo Cetogênico (GK, n=12 lactação; 5,4cal/g; 19% proteínas, 10% carboidratos e 71% de lipídios) – Tabela 1.

Tabela 1. Composição de Macronutrientes segundo o Valor energético total (VET) das dietas AIN-93G, Cetogênica e Presence.

DIETAS*	Proteínas (% kcal VET)	Carboidratos (% kcal VET)	Lipídios (% kcal VET)	VET (kcal/g)
AIN-93G	18	63	19	3,6
Cetogênica	19	10	71	5,4
PRESENCE® **	26	63	11	3,6

*Os cálculos da composição centesimal foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). ** Determinado pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985.

A dieta cetogênica foi desenvolvida com base na dieta AIN-93G com alteração quantitativa dos ingredientes e da proporção dos macronutrientes, com acréscimo de fontes lipídicas, ricas em ácidos graxos saturados (Tabela 2). A DC tem 33,9% de gordura saturada na sua composição.

Tabela 2. Distribuição de nutrientes na Dieta Cetogênica desenvolvida a partir da AIN-93g. *g= gramas. das calorias vindas de gordura por 100g de dieta. Gordura saturada representa 33,9% das calorias de gordura por 100g de dieta.

INGREDIENTES	g/100g dieta
Amido de milho (87%)	9,63
Caseína (80%)	29,00
Sacarose	5,00
Manteiga sem sal	1,00
Banha de Porco	21,61
Óleo de soja (0,92g)	7,00
Fibra Dietética	5,00
Mix Mineral	3,50
Mix Vitamínico	1,00
Metionina	0,61
Bitartarato de colina	0,64
TBHQ	0,01
TOTAL	100,00

Após o desmame (25^o dia de vida) as genitoras e metade dos filhotes machos foram eutanasiados (12 animais por grupo). Os demais animais de ambos os grupos seguiram com dieta comercial Presence (Purina do Brasil) até o 60^o dia de vida, onde foram repetidas todas as análises do estudo. Sendo assim, os filhotes deste estudo foram distribuídos em dois grupos, segundo a dieta das lactantes: Grupo Controle Filhotes (FGC, n=24) e Grupo Cetogênico Filhotes (FGK, n=24) - Figura 3.

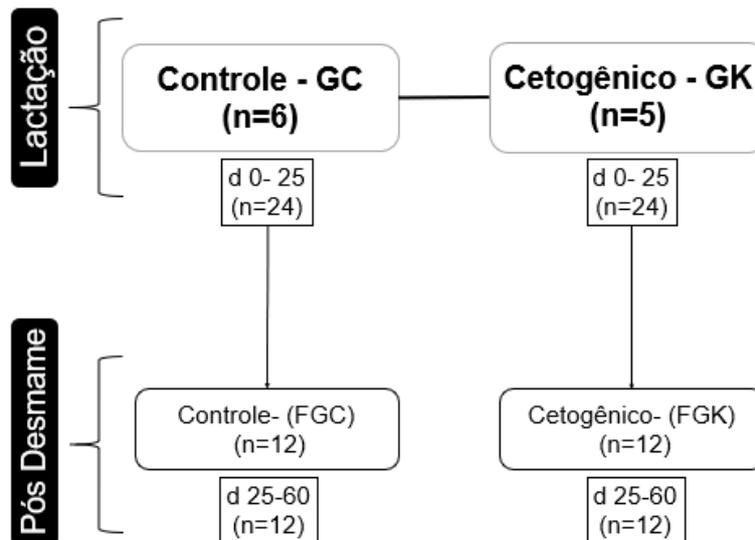


Figura 3. Desenho dos grupos experimentais expostos à dieta controle e dieta cetogênica durante a Lactação e Pós Desmame. GC= grupo controle, GK= grupo cetogênico, FGC: Filhotes do Grupo Controle. FGK: Filhotes do Grupo Cetogênico.; D= dia, N= quantidade de animais.

5.3 PROCEDIMENTOS

5.3.1 Avaliação das ratas durante a lactação

5.3.1.1 Peso corporal

Foi realizada *in vivo* nas ratas lactantes a quantificação do peso corporal nos dias: 1^o, 5^o, 11^o, 17^o, 21^o, 25^o. Para quantificação do peso corporal foi utilizada uma balança eletrônica semianalítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte).

5.3.1.2 Consumo alimentar e energético

As rações AIN-93G e cetogênica foram ofertadas diariamente, e a ingestão alimentar das lactantes foi quantificada, através da diferença entre a cota ofertada e o rejeito mensurado após 24h. Para avaliação do consumo alimentar foi considerado o

total consumido durante a fase de lactação. O consumo energético foi calculado multiplicando a quantidade de ração consumida pelo valor calórico de cada dieta (Tabela 1).

5.3.1.3 Análise do Perfil Bioquímico e Microbiota fecal

Ao final do período da lactação houve a eutanásia das ratas por decapitação, após jejum de 10/ 12 horas. Foram coletadas amostras de sangue para análise do perfil bioquímico (descritos no tópico 5.4.2). Também foram coletadas amostras fecais direto da porção final do intestino grosso para análise da microbiota intestinal fecal (descrição no tópico 5.4.3).

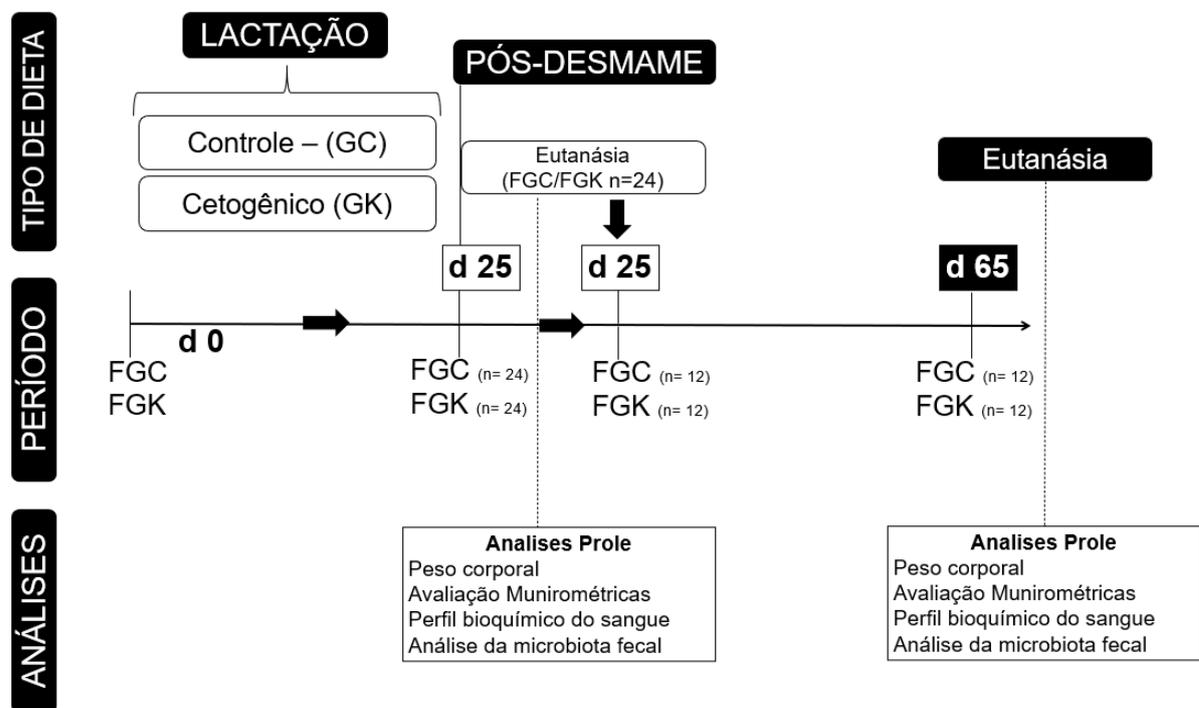


Figura 4. Detalhamento do Desenho Experimental. GC: Grupo Controle. GK: Grupo Cetogênico. FGC: Filhotes do Grupo Controle. FGK: Filhotes do Grupo Cetogênico.; **D= dia.

5.3.2 Avaliação da prole nas idades de 25 e 60 dias.

5.3.2.1 Avaliação do peso corporal na prole durante a lactação e pós-desmame

O peso corporal das proles de ambos os grupos foi obtido no 1º, 5º, 11º, 17º, 21º, 25º dias (período da lactação), 30º e 60º dias (pós desmame). Para quantificação do peso corporal foi utilizada uma balança eletrônica semi-analítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte).

5.3.2.2 Mensuração das medidas muniométricas da prole durante a lactação

As medidas murinométricas foram mensuradas em cada filhote aos 1º, 5º, 11º, 17º, 21º, 25º, 30º e 60º dias de vida. Foram consideradas como medidas murinométricas: eixos latero-lateral (ELLC) e ântero-posterior (EAPC) do crânio, e o eixo longitudinal (EL) do corpo. Para fins da mensuração, o ELLC representa a linha perpendicular ao eixo longitudinal, dividindo ao meio os pavilhões auditivos. Já para o EAPC considerou a linha média entre o focinho e a região externa da crista occipital. O eixo longitudinal (EL) considerou a distância entre o focinho e o ânus do animal. Para estas avaliações foi utilizado o paquímetro digital com precisão de 0,01mm. Todas as medidas foram avaliadas no horário compreendido entre 09:00 às 10:00 horas e por um único pesquisador durante todo o experimento.

5.3.2.3 Eutanásia e testes post mortem

A eutanásia dos FGC e FGK foi aos 25 e 60 dias de vida por decapitação. Ao completar as idades pontuadas no estudo, metade dos animais de cada grupo foi mantido em jejum de 10 a 12 horas e decapitados por guilhotina (resolução normativa CONCEA nº 37, de 15.02.2018). Foram coletadas amostras sanguíneas e fezes na porção do intestino grosso, também foi coletado para pesagem o fígado, a gordura retroperitoneal e visceral.

5.3.2.4 Coleta e homogeneização de sangue e tecidos

O sangue foi coletado com auxílio de um funil, sendo acondicionado num tubo tipo *falcon* estéril e identificado. As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 250rpm durante 20 minutos. Posteriormente, o soro obtido foi congelado em freezer -80°C para análises bioquímicas. O fígado, gordura visceral e retroperitoneal foram pesados em balança semianalítica com precisão de 0,01g (modelo BL3200H, Marte). Para os resultados foram considerados o peso úmido e relativo dos órgãos.

5.3.2.5 Análise do perfil bioquímico

O perfil bioquímico foi dosado nos animais com 25 e 60 dias de vida. Foi considerado o perfil bioquímico do animal o conjunto de resultados das avaliações dos níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL, Alanina aminotransferase e Aspartato aminotransferase. Os níveis de LDL e VLDL foram

calculados de acordo com Friedewald et al. (1972). Todas as análises foram realizadas em triplicata e através de ensaio colorimétrico de ponto final, seguindo as recomendações do fabricante. A mensuração da absorvância foi realizada em espectrofotômetro. Posteriormente, foi obtida uma média entre as absorvâncias de cada amostra, quando foram convertidos em mg/dL, conforme indicado pelo fabricante. Para esses procedimentos, foram utilizados kits comerciais da marca Bioclin.

5.3.2.6 Microbiota Intestinal (MI)

Amostras de fezes das mães e da prole aos 25 e 60 dias de vida foram coletadas para contagem do número de microrganismos viáveis. As amostras foram homogeneizadas em água peptonada (1mg peptona por mL) e em seguida foram diluídas em série no mesmo diluente (seis diluições). Alíquotas de 10 µL das respectivas diluições foram inoculadas usando a técnica de microgotas²¹ em placas Petri estéreis contendo Man, Rogosa e Sharpe (MRS) ágar (HiMedia, Índia) para contagem de *Lactobacillus* spp; MRS + cisteína (0,05g por 100mL, Sigmam-Aldrich, Milão, Itália) (cMRS) para contagem de *Bifidobacterium* spp; MacConkey ágar (HiMedia, Índia) para contagem de *Enterobacteriaceae* e Bacteroides Bile Esculina (BBE) ágar (Acumedia, EUA) para contagem de *Bacteroides* spp. O processo de incubação foi realizado em condições de anaerobiose (Anaerobic System Anaerogen, Okoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) para contagem de *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. e *Bacteroides* spp. e em condições aeróbias para a contagem de *Enterobacteriaceae*. Após um período de incubação de 24-48 horas, o número de colônias visíveis em cada meio seletivo foi contado e os resultados foram expressos como log UFC/g. O limite para detecção do teste foi de 2 log UFC/ g (DA SILVA et al., 2013; DE OLIVEIRA et al., 2020).

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística e construção dos gráficos foi utilizado o *software Graphpad Prism*® 5.0. Os resultados obtidos foram expressos em média ± desvio padrão. A normalidade dos dados foi verificada a partir do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para análises do grupo controle com o grupo cetogênico foi utilizado o teste “T” de Student’s não pareado. Para análise estatística dos grupos experimentais em idades diferentes foi realizado o teste ANOVA *two-way* por medidas repetidas

conforme as variáveis avaliadas e normalidade, seguido pelo pós-teste de Bonferroni se determinada diferença entre os grupos. O nível de significância foi mantido em 5% ($P < 0,05$).

6 RESULTADOS

6.1 AVALIAÇÃO NAS RATAS

O peso corporal do GK foi menor nos dias 11^o, 13^o, 21^o e 25^o de lactação (*<0,05) – Figura 5.

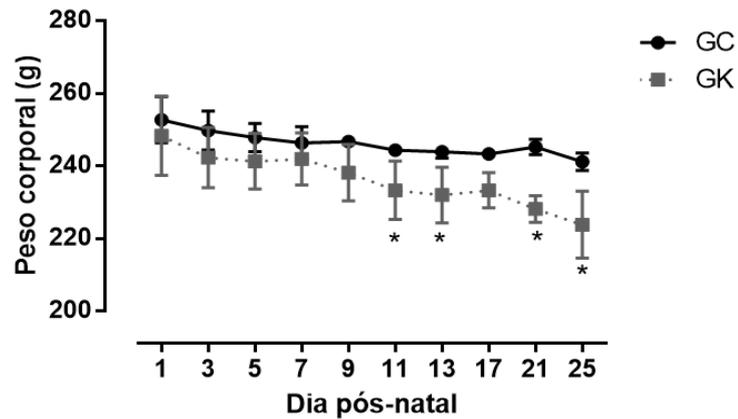


Figura 5. Peso corporal das ratas durante a lactação submetidas a dieta cetogênica. GC- Grupo controle (n=6), GK= Grupo Cetogênico (n=5). Valores representam média \pm desvio padrão. Peso corporal durante a lactação, ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, * $p<0,05$.

Em relação ao consumo alimentar total das mães durante a lactação, o GK consumiu menor quantidade de alimento em relação ao GC (Figura 6A). Entretanto, ao analisar a ingestão energética, o GK ingeriu maior quantidade de calorias ($p<0,05$) – Figura 6B.

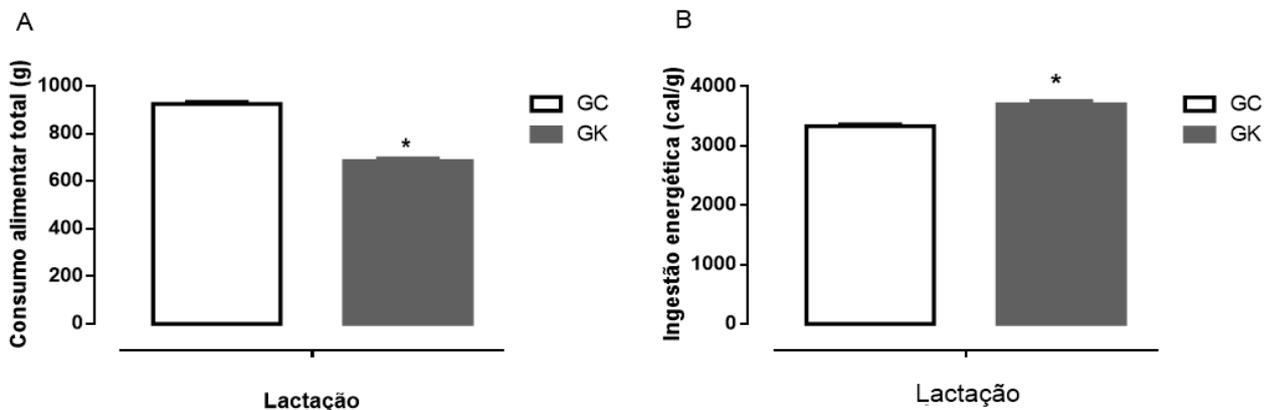


Figura 6. Consumo alimentar e energético total durante a lactação de ratas submetidas a dieta cetogênica. Consumo alimentar (A), Ingestão energética (B). GC- Grupo controle (n=6), GK= Grupo Cetogênico (n=5). A e B: Teste estatístico "t" de Student, * $p<0,05$.

A tabela 3 demonstra o peso dos órgãos e os parâmetros bioquímicos das ratas ao final do período de lactação. As ratas alimentadas com dieta cetogênica apresentaram maior quantidade de gordura visceral e de gordura retroperitoneal em comparação com os animais pertencentes ao GC. O peso relativo do fígado, gordura visceral e gordura retroperitoneal foram maiores no GK quando comparado ao controle.

As mães alimentadas com dieta cetogênica ou dieta controle não apresentaram nenhuma diferença nos parâmetros bioquímicos do sangue coletados, seja para glicose, colesterol total, triglicérides, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e para lipoproteína de alta densidade (HDL) ($p > 0,05$).

Tabela 3. Peso dos órgãos e perfil bioquímico das mães submetidas a dieta cetogênica durante a lactação.

Órgãos	CG	GK	P
Peso Úmido (g)			
Fígado	13,71±1,20	14,14±0,70	0,467
Gordura visceral	1,79±0,62	3,00±0,89*	0,021
Gordura retroperitoneal	2,09±0,72	3,27±0,89*	0,030
Peso Relativo (g/100g)			
Fígado	5,59±0,41	6,32±0,16*	0,002
Gordura visceral	0,73±0,25	1,33±0,37*	0,008
Gordura retroperitoneal	0,85±0,28	1,46±0,40*	0,000
Perfil Bioquímicos			
Glicose (mg/dL)	116,80±7,75	110,20±9,76	0,605
Colesterol total (mg/dL)	74,92±6,89	72,10±7,46	0,787
Triglicérides (mg/dL)	57,74±3,33	48,93±5,64	0,208
VLDL (mg/dL)	11,55±0,66	9,78±1,12	0,208
HDL (mg/dL)	62,86±2,95	60,36±1,65	0,477

Grupo Controle (GC, n=6) e Grupo cetogênico (GK, n=5). Foram utilizados os Teste T de Student's para comparação intergrupo. *GC versus GK na mesma idade. Foi considerado $p < 0,05$.

Na figura 7 foram quantificadas as bactérias fecais das ratas ao final do período da lactação (25 dias de vida). A dieta cetogênica diminuiu as quantidades de bactérias probióticas (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*) e aumentou as quantidades de bactérias nocivas à saúde do hospedeiro (*Bacteroides spp.*, *Enterobacteriaceae spp.*) quando comparado ao grupo controle.

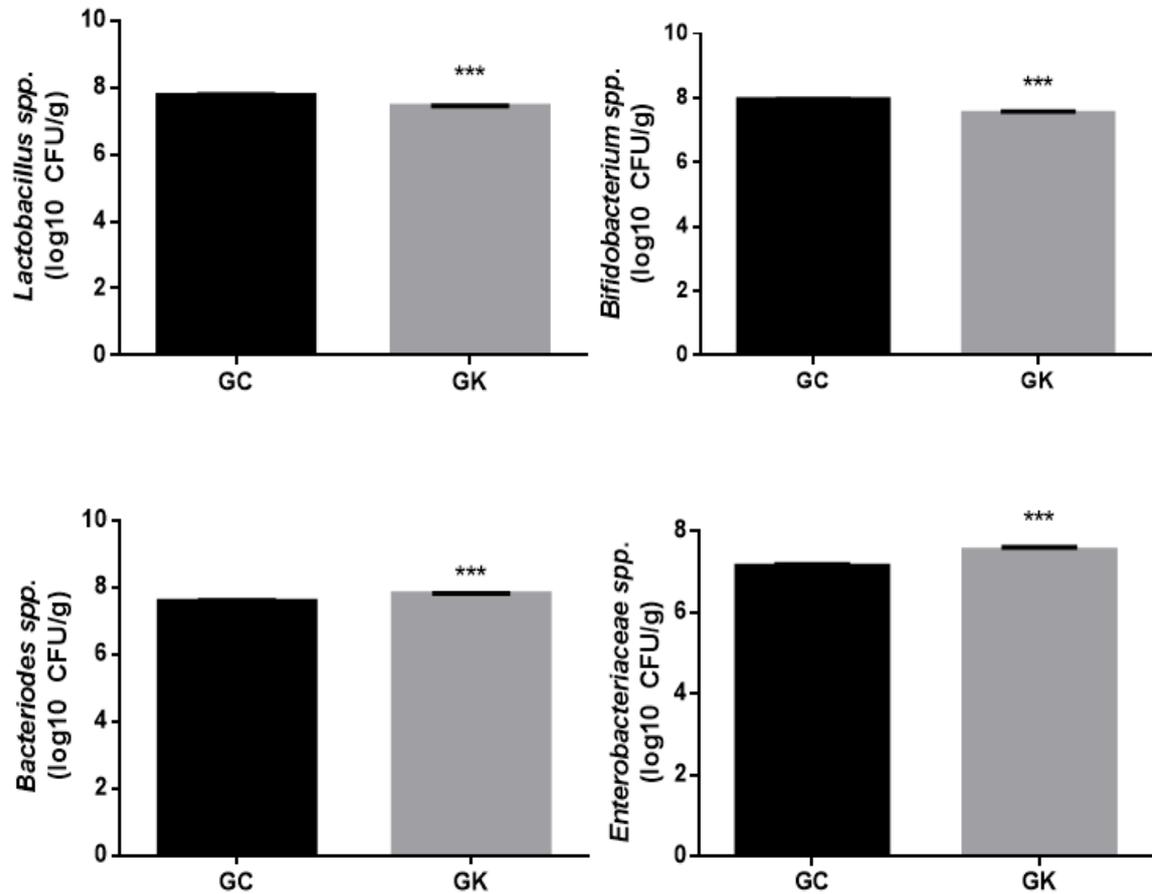


Figura 7. Contagem de *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Enterobacteriaceae* e *Bacteroides spp* nas fezes de mães alimentadas com Dieta Cetogênica ou Controle. GC= Mães grupo controle. GK= Mães grupo cetogênico. Valores representam média \pm desvio padrão. Teste estatístico “t” de Student, * $p < 0,05$.

6.2 AVALIAÇÃO NA PROLE DURANTE E APÓS A LACTAÇÃO

Em relação ao peso corporal os filhotes do grupo cetogênico (FGK) apresentaram maior peso corporal nos dias 17^o e 25^o (Figura 8A). Aos 60 dias de vida, os animais do FGK apresentaram peso corporal inferior ao FGC (Figura 8B). O percentual de ganho de peso durante a lactação não teve diferença, mas foi menor no FGK em comparação ao GC no período de 30-60 dias de vida (Figura 8C). Quanto as medidas muniométricas o FGK apresentou menor ELLC e EL 5^o e 11^o dias de lactação (Figura 9A e 9C) e EAPC inferior apenas no 5^o dia em comparação ao FGC (Figura 9B). Ao desmame os grupos não apresentaram diferenças nestes parâmetros (Figura 9).

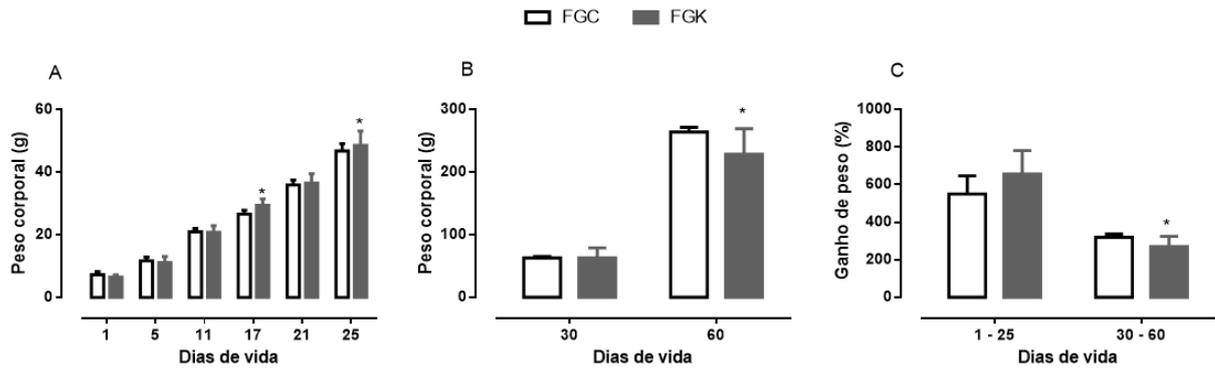


Figura 9. Peso corporal dos filhotes e percentual de ganho de peso durante a lactação e pós-desmame. FGC- Filhotes Grupo controle (n=12), FGK= Filhotes Grupo Cetogênico (n=12) para lactação e pós desmame. Valores foram expressões em média \pm desvio padrão. A) Peso corporal durante a lactação. B) Peso corporal pós desmame. C) Percentual de ganho de peso durante a lactação e pós desmame. A, B e C: ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, * $p < 0,05$.

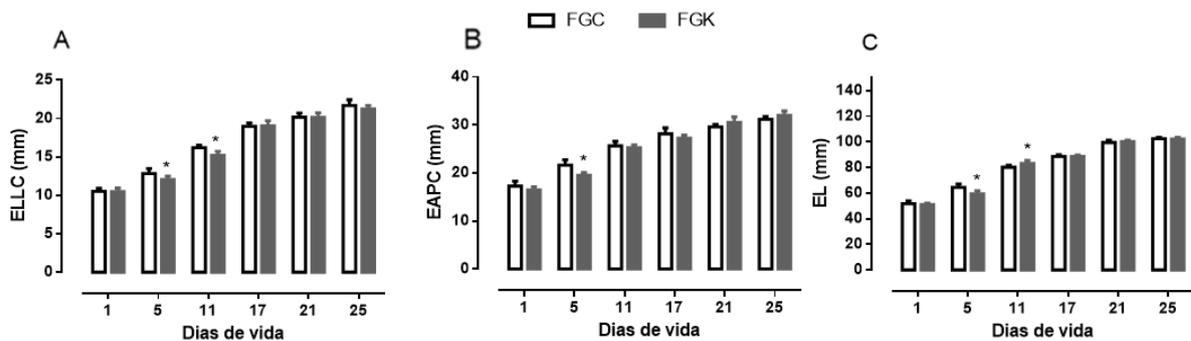


Figura 8. Medidas muniométricas analisadas no período de lactação. FGC- Filhotes Grupo controle (n=12), FGK= Filhotes Grupo Cetogênico (n=12). **A)** ELLC; **B)** EAPC; **C)** EL. Valores representam média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, * $p < 0,05$.

Na tabela 4 foram descritos o peso úmido e relativo dos órgãos da prole aos 25^a e 60^a dias de vida. No 25^o dia a gordura retroperitoneal (peso úmido e relativo) foi maior no GK do que no GC. Aos 60 dias de vida, o gordura visceral e retroperitoneal (peso úmido e relativo) do GK foi maior que o GC. Os animais não diferiram no peso do fígado nas idades avaliadas.

Em relação aos parâmetros bioquímicos, aos 25 dias de vida o GK apresentou maior concentração de glicose, colesterol total, LDL, triglicerídeos e VLDL em comparação ao GC. Aos 60 dias de vida o GK continuou apresentando maior teor de triglicerídeos, colesterol total, LDL e VLDL, entretanto, a glicose apresentou menor valor em comparação ao GC (Tabela 5).

Tabela 4. Peso dos órgãos da prole aos 25 e 60 dias de vida submetidos a dieta cetogênica durante a lactação.

Peso Úmido dos órgãos	FCG	FGK	P
25 dias			
Fígado (g)	2,85±0,52	2,40±0,62	0,073
Gordura Visceral (g)	0,49±0,18	0,47±0,12	0,742
Gordura retroperitoneal	0,18±0,07	0,34±0,10*	0,000
Peso Relativo dos órgãos			
Fígado (g/100g)	6,01±1,21	5,14±1,43	0,093
Gordura Visceral (g/100g)	1,04±0,41	0,81±0,44	0,261
Gordura retroperitoneal (g/100g)	0,39±0,16	0,72±0,24*	0,000
60 dias			
Fígado (g)	10,30±0,87	9,93±1,49	0,490
Gordura Visceral (g)	2,83±0,49	3,63±0,90*	0,025
Gordura retroperitoneal (g)	2,79±0,85	3,86±0,93*	0,015
Peso Relativo dos órgãos			
Fígado (g/100g)	3,90±0,37	4,51±1,00	0,236
Gordura Visceral (g/100g)	1,07±0,18	1,50±0,38*	0,005
Gordura retroperitoneal (g/100g)	1,07±0,33	1,59±0,34*	0,002

FCG- Filhote Grupo controle 25º dias (n=12), FGK= Filhote Grupo Cetogênico 25º dias (n=5). FGC- Filhote Grupo controle 60º dias (n=12), FGK= Filhote Grupo Cetogênico 60º dias (n=12). *GC versus GK na mesma idade; Teste estatístico "t" de Student ***p<0,05**.

Tabela 5. Perfil bioquímico da prole aos 25 e 60 dias de vida submetidos a dieta cetogênica durante a lactação.

Perfil Bioquímico	FCG	FKG	P
25 dias			
Glicose (mg/dL)	126,6±4,55	144,8±3,42*	0,003
Colesterol total (mg/dL)	107,5±4,93	127,7±4,74*	0,006
Triglicerídeos (mg/dL)	63,10±6,45	102,1±14,49*	0,020
VLDL (mg/dL)	12,62±1,29	20,43±2,89*	0,020
HDL (mg/dL)	55,96±1,92	55,02±1,08	0,674
LDL (mg/dL)	38,72±4,05	54,82±3,48*	0,006
ALT UI/L	25,23±2,18	20,42±1,32	0,073
AST UI/L	110,30±10,63	107,30±9,99	0,847
60 dias			
Glicose (mg/dL)	138,5±2,06	125,9±5,14*	0,028
Colesterol total (mg/dL)	70,25±2,90	84,21±6,16*	0,048
Triglicerídeos (mg/dL)	50,23±4,77	65,27±5,28*	0,046
VLDL (mg/dL)	10,04±0,95	13,05±1,05*	0,046
HDL (mg/dL)	64,11±1,28	61,29±1,67	0,190
LDL (mg/dL)	4,09±1,03	25,21±6,02*	0,009
ALT UI/L	32,24±2,25	37,51±3,33	0,213
AST UI/L	71,32±8,77	86,91±9,68	0,249

FCG- Filhote Grupo controle 25º dias (n=12), FGK= Filhote Grupo Cetogênico 25º dias (n=12). FGC- Filhote Grupo controle 60º dias (n=12), FGK= Filhote Grupo Cetogênico 60º dias (n=12). *GC versus GK na mesma idade; Teste estatístico "t" de Student ***p<0,05**.

O GK, aos 25 dias e 60 dias de vida, apresentou diminuição na quantidade de *Lactobacillus spp* e *Bifidobacterium spp* em comparação ao GC. Entretanto, nestas mesmas idades, o GK apresentou aumento de *Enterobacteriaceae spp* e *Bacteroidetes spp*. na comparação ao GC (Figura 10).

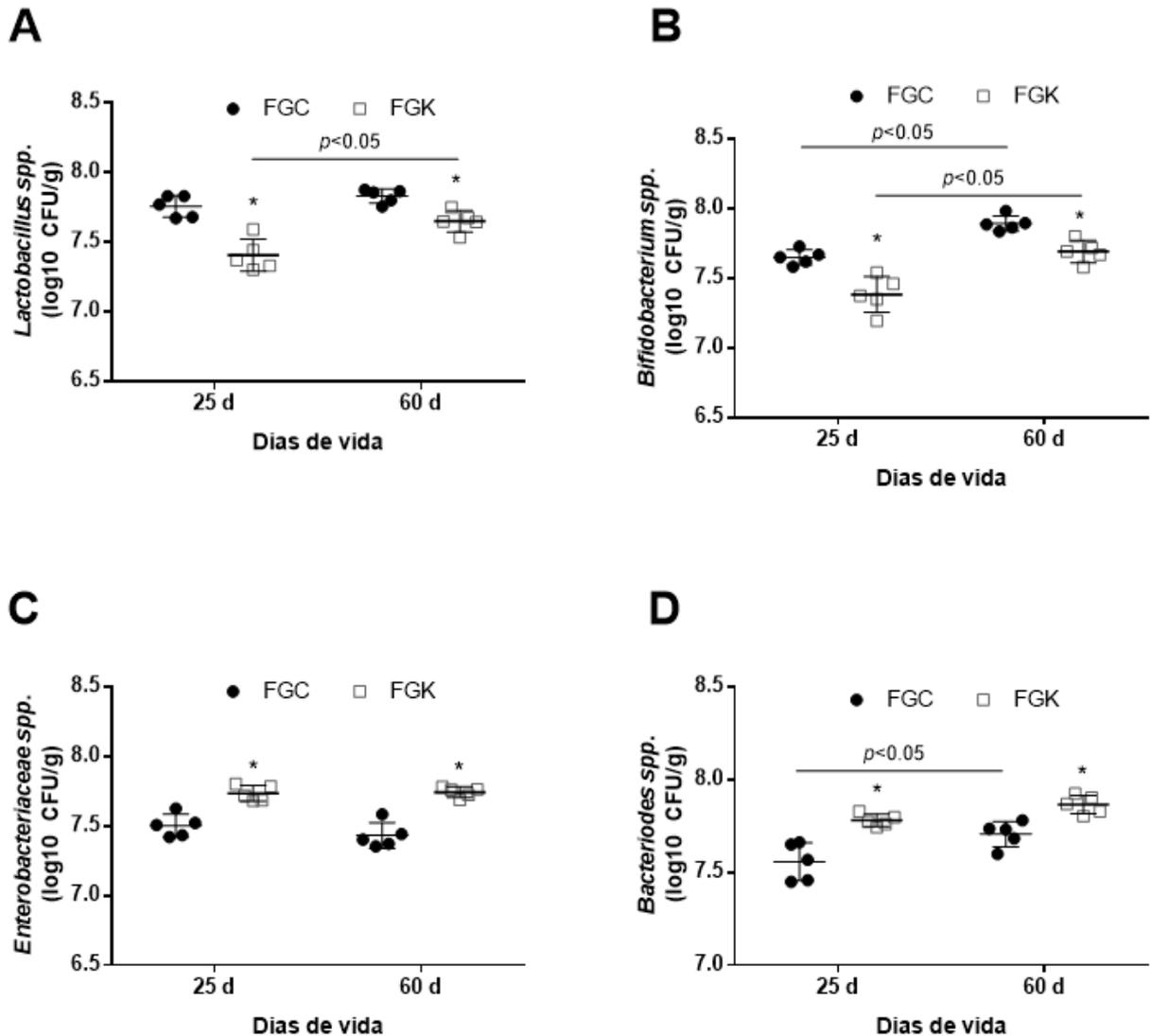


Figura 10 - Efeito da ingestão de dieta cetogênica nas mães e repercussão na microbiota da prole durante o período de lactação e pós lactação. A) Contagem de *Lactobacillus spp.*, **B)** *Bifidobacterium spp.*, **C)** *Enterobacteriaceae.*, **D)** *Bacteroides spp.* FGC= Filhotes grupo controle; FGK= Filhotes do grupo cetogênico. Valores representam média \pm desvio padrão. ANOVA-two way medidas repetidas seguidas do pós-teste de Bonferroni, * $p < 0,05$.

7 DISCUSSÃO

Este trabalho utilizou um modelo experimental de dieta cetogênica caracterizada por um aumento substancial nas quantidades de gordura saturada com duração de quatro semanas (período da lactação) e ingestão *ad libitum*. As mães que foram alimentadas com dieta cetogênica consumiram uma menor quantidade de dieta em relação ao GC e tinham um consumo calórico maior do que o GC. As ratas GK também apresentaram menor peso corporal no final da lactação, e principalmente maiores coxins de gordura visceral e retroperitoneal; alteração na microbiota intestinal fecal, mas não promoveu mudanças nos parâmetros bioquímicos. O FGK apresentou maior peso corporal no desmame e uma menor massa corporal aos 60 dias. O FGK não apresentou alterações nas medidas murinométricas, evidenciando que a DC não influenciou crescimento somático dos animais. Entretanto, houve alterações nas quantidades de gordura visceral e retroperitoneal, hiperlipidemia, bem como maior colonização de bactérias malélicas ao organismo.

Em relação ao maior consumo energético encontrado nas mães, é possível que isso esteja relacionado ao fato de que a dieta cetogênica apresentara maior valor energético quando comparado com a dieta controle, devido a maior quantidade de gordura ofertada neste protocolo dietético. Boa parte das dietas ricas em lipídios apresentam-se como dietas hipercalóricas, e nossos resultados são congruentes a literatura por apresentar diminuição do consumo alimentar, mas alta ingestão energética. Por ser uma dieta com alto teor de lipídios, a cetogênica tem capacidade de supressão do apetite por promover o estado de plenitude (PAOLI et al., 2015). Alguns autores discutem sobre o que leva ao aumento da saciedade em protocolos dietéticos como DC (PAOLI et al., 2015; (WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2009). Há possibilidades da redução do apetite devido a quantidades de proteína na dieta (hiperproteica), e seu efeito direto sobre a saciedade, o que é relatado por um aumento na oxidação de aminoácidos pelo excedente consumido (WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2009). Em nosso estudo, o percentual calórico advindo de proteínas foi de 19% (dieta normoproteica), possivelmente sem excedentes proteicos para que o efeito sociogênico tenha advindo desse mecanismo.

Outro mecanismo relacionado à saciedade é de que a DC promove maior síntese dos corpos cetônicos, que em altas concentrações na corrente sanguínea

suprimem o apetite. Este via foi descrita em protocolos que administraram 3- β -hidroxibutirato, demonstrando exercer papel na saciedade em roedores por sua alta concentração plasmática (ARASE et al., 1988). Os corpos cetônicos, não somente o 3- β -hidroxibutirato, podem atuar sobre os sinais anorexigênicos e orexigênicos, resultando em uma diminuição geral da percepção da fome e da ingestão de alimentos. A via anorexigênica é ativada após uma refeição para aumentar os níveis de ácidos graxos livres (FFA) circulante, diminuindo assim os níveis de Neuropeptídeo Y (NPY) cerebral, o que mantém a resposta da Colecistocinina (CCK) à refeição, diminuindo a grelina circulante (PAOLI et al., 2015). Mesmo nosso estudo utilizando a dieta cetogênica em curto prazo, o efeito da DC na fome parece acontecer da mesma forma quando é utilizada em estudo com longa duração, onde dietas com baixo teor de carboidrato são consideradas cetogênicas por promoverem a saciedade e diminuir a ingestão de alimentos quando comparado com dietas não cetogênicas (JOHNSTONE et al., 2008).

No presente estudo a maior proporção de ácido graxo saturado na dieta cetogênica foi proposital e com base em observações práticas em humanos, devido à ideia de que pessoas que seguem esse tipo de protocolo têm uma ingestão maior de fontes alimentares ricas em gordura saturada. A dieta cetogênica rica em gordura saturada, nas ratas durante o período de lactação, não influenciou os parâmetros bioquímicos, mas alterou a quantidade de gordura visceral e retroperitoneal, além do peso relativo das gorduras e do fígado. Um estudo utilizando a DC com maiores quantidades de banha de porco (rica em ácido graxo saturado) por seis semanas mostrou que os animais alimentados com DC apresentaram maior quantidade de gordura visceral do que ratos alimentados com dieta controle. E esta gordura visceral aumentada foi relacionada a uma maior atividade da fosfoenolpiruvato carboxicinase, fornecendo glicerol 3-fosfato para síntese de triglicérides, aumentando o acúmulo de gordura pela lipogênese bem como intolerância à glicose (RIBEIRO et al., 2008).

Por outro lado, mesmo com maior quantidade de gordura corporal, as ratas apresentaram, no presente estudo, menor peso corporal. Sabe-se que durante o período perinatal o metabolismo materno é alterado para maximizar a eficiência no armazenamento dos nutrientes e a utilização destes na produção do leite, garantindo a sobrevivência da prole (HERRERA et al., 2006; HERRERA and ARMUSQUIVAR, 2000). Esta maior demanda metabólica na produção do leite materno pode ter

favorecido a perda de peso das ratas, garantindo o maior peso corporal do FGK ao desmame. Assim, Butruille (2019) mostrou que o consumo de gordura é principal fator da programação metabólica no período pós-natal relacionado por mudanças drásticas na composição do ácido graxo no leite materno, ocasionando mudança no peso corporal da prole e aumento nos depósitos de gordura, mesmo não alterando o peso corporal das ratas alimentadas com alto teor de gordura (BUTRUILLE et al., 2019).

A DC durante a lactação não alterou os parâmetros de crescimento corporal e do crânio no desmame, mas influenciou a massa corporal dos animais durante a fase de aleitamento e de adultos jovens. Ao desmame, os filhotes GK apresentaram maior peso corporal, maior percentual de ganho de peso e alteração nas medidas muniométricas no início da lactação. De forma semelhante, Cadena-Burbano et al (2019) demonstraram que a dieta materna HFD promoveram maior peso corporal na prole ao final da lactação, e maior porcentagem de ganho de peso (CADENA-BURBANO et al., 2019). Este autor ainda relatou que a prole apresentou maior crescimento corporal e do crânio ao desmame, o que difere do nosso estudo.

Ainda sobre o crescimento somático, o consumo no período perinatal de dieta ocidentalizada (rica em açúcar e gorduras) utilizando como fonte de ácidos graxos saturados a banha de porco, observaram maiores padrões de crescimento somático (peso corporal, ELLC e EL) da prole ao desmame (FERRO CAVALCANTE et al., 2013). Soares et al (2009) utilizaram DC durante a gestação e lactação e observaram menor crescimento somático (peso corporal, ELLC e EL nos dias 7^o, 14^o e 21^o) na prole durante a maior parte do período de lactação, evidenciando que a DC afeta a maturação do cérebro mas que essa alteração era mais evidente quando a DC era acompanhada de baixos níveis de proteína na dieta (SOARES et al., 2009). Esses dados contrastam aos nossos, pois o FGK apresentou maior peso corporal ao desmame, mas não encontramos alterações nos parâmetros de crescimento corporal e do crânio no desmame, apesar de ter havido alteração nos eixos ELLC (5^o e 11^od), EAPC (5^od) e EL (5^o e 11^od) o que demonstra uma possível sensibilidade da prole à DC nesses dias específicos. Isto demonstra que a dieta cetogênica na lactação não foi capaz de alterar o desenvolvimento do sistema nervoso, pois as medidas de ELLC e EAPC são fundamentais para avaliar o crescimento do crânio, sendo estas representadas por neurocrânio e viscerocrânio (MILLER; GERMAN, 1999).

Ao desmame os animais FGK além de apresentar maior massa corporal tinham aumento de gordura retroperitoneal. Entretanto, aos 60 dias este grupo apresentou menor peso, mas elevação das quantidades de gorduras abdominais. Estudos realizados em animais mostraram que o consumo de dieta rica em gordura (HFD) materna leva a anormalidades metabólicas na prole como aumento do peso corporal e massa gorda (BUCKLEY et al., 2005; ZAMBRANO et al., 2016). Outros estudos destacaram que as dietas ricas em gordura e cetogênica levaram a um aumento da gordura abdominal que foi ou não acompanhado por um aumento no peso corporal (LONDRINA, 2012; NOVELLI et al., 2007; SWITSKAYA et al., 2007).

As células dos depósitos corporais de gordura visceral apresentam uma rápida capacidade de multiplicação em decorrência da sobrecarga de nutrientes (TCHKONIA et al., 2013). A maior deposição desta gordura visceral no corpo correlaciona ao aumento na circulação de ácidos graxos livres, desencadeando maior oxidação, lipotoxicidade e inflamação (FERRARA et al., 2019; TCHKONIA et al., 2013). Além disso, o acúmulo intracelular de ácidos graxos não esterificados e triglicerídeos promove estresse no retículo endoplasmático, desacoplamento mitocondrial, estresse oxidativo e alteração da composição/função da membrana, promovendo resposta inflamatória e morte celular (TCHKONIA et al., 2013).

Diferentes tipos de gorduras dietéticas podem influenciar de forma diferente na resposta metabólica do indivíduo, de forma que o consumo em excesso de gordura saturada está relacionado, por exemplo, com o surgimento de resistência à insulina independente do peso corporal apresentado (MARSHALL; BESSESEN; HAMMAN, 1997; RICCARDI; GIACCO; RIVELLESE, 2004). Um parâmetro fisiológico utilizado em nosso estudo para analisar a resposta à sensibilidade das células dos animais foi a glicose plasmática. Aos 25^o dias de vida o FGK apresentou maior glicemia e aos 60^o dias menor concentração de glicose, o que evidencia respostas distintas da DC à glicose na prole, e isso pode ter ocorrido pela troca de dieta após os desmame ocorrido nos grupos FGC e FGK, onde passaram a consumir dieta comercial até o dia 60^o.

O FGK também apresentou maior concentração dos marcadores lipídicos (TG, Colesterol total, VLDL e LDL) quando comparado ao GC no soro sanguíneo. Estudo que utilizou HFD *ad libitum* durante a gestação e/ou lactação mostrou que esse tipo

de dieta altera o fenótipo metabólico na prole de forma permanente, mostrando um aumento de lipídeos hepáticos e níveis séricos de colesterol e triglicerídeos (DE PAULA SIMINO et al., 2017). Estas alterações correlacionam a uma regulação negativa em genes que estão relacionados à β -oxidação hepática, estando associados pela modulação de miR-122 e miR-370. Essa modulação negativa leva a desfechos metabólicos que favorecem ao aumento de lipídios no fígado, maior massa adiposa, intolerância à glicose e insulina e níveis aumentados de colesterol, triglicerídeos e ácidos graxos livres no soro (BENATTI et al., 2014; DE PAULA SIMINO et al., 2017).

Utilizando HFD com 45% de gordura, Huang et al (2017) mostraram que a super alimentação materna ocasionou na prole alterações como tolerância à glicose reduzida, colesterol sérico elevado e esteatose hepática ao desmame (HUANG et al., 2017). Ademais, roedores alimentados com dietas que continham mais calorias (43,2% de lipídios-HFD) e maior concentração de gordura saturada apresentavam alterações nos triglicerídeos, colesterol total, além de maior deposição de gordura retroperitoneal (HOEFEL et al., 2011).

Na literatura os dados que analisaram parâmetros metabólicos e o uso da dieta cetogênica normalmente favoreceram à desfechos positivos, melhorando a glicemia e marcadores lipídicos em humanos (CHOI; JEON; SHIN, 2020). Todavia, acreditamos que os resultados encontrados em nosso estudo estão também em associação aos efeitos da plasticidade fenotípica, pelos insultos nutricionais durante o período crítico do desenvolvimento (PETER D GLUCKMAN; HANSON; PINAL, 2005) pela dieta cetogênica, primordialmente pelo aumento do teor de gordura saturada, predispondo a prole a alterações no metabolismo lipídico, glicídico e aumento do conteúdo de gordura abdominal no desmame e quando adultos jovens.

Além disso, associamos a DC durante a lactação e seu efeito na microbiota intestinal fecal materna e da prole. Foi constatado que as características da microbiota intestinal das mães são transmitidas para a prole. A dieta cetogênica promoveu maior colonização de Enterobacteriaceae spp e Bacteroidetes spp, e menor concentração de Lactobacillus spp e Bifidobacterium spp. Sabe-se que o aumento de Enterobacteriaceae e Bacteroides spp estão associados a eventos deletérios a saúde como a disbiose intestinal e inflamação (ZENG; INOHARA; NUÑEZ, 2017). E que em

níveis normais, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* spp exercem papel probiótico (AZAD et al., 2018), logo, alterações na concentração dessas bactérias estão ligadas a desfechos negativos para a saúde. Dessa forma, pouco se sabe sobre o efeito da DC sobre a MI, mas um estudo recente mostrou que a DC ao elevar os níveis séricos β -hidroxibutirato foi capaz de inibir seletivamente o crescimento bifidobacteriano por ocasionar uma diminuição de células do tipo Th17 intestinal, sendo essas células participantes na patogênese de doenças como a doença de Crohn, Colite e Esclerose, evidenciado a partir de experimentos *in vitro* e *in vivo* (roedor), por análises metagenômica e metabolômica o papel que a DC desempenha sobre a MI é diferente das HFD tradicionais (ANG et al., 2020b).

Mesmo a DC apresentando mecanismos distintos das dietas ricas em gorduras sobre a MI, os efeitos na disbiose relacionados à inflamação e excesso de gordura corroboram-se, assim como o excesso de gordura abdominal e alterações da MI deste trabalho. Em camundongos, estudo utilizando HFD (60% de gordura) por oito semanas apresentaram infiltração de macrófagos e inflamação no tecido adiposo, associado ao aumento de citocinas pró-inflamatórias circulantes, além disso, a dieta promoveu aumento de Enterobacteriaceae na MI. Estes fatores foram associados à inflamação por translocação de produtos microbianos do intestino para a corrente sanguínea (Lipopolissacarídeos – LPS) (CANI et al., 2007) e devido ao aumento de Enterobacteriaceae na microbiota intestinal fecal (KIM et al., 2012). Esse aumento de LPS está associado à síndrome metabólica por aumentar de forma crônica os níveis de insulina em jejum, aumento de triglicerídeos hepáticos e de tecido adiposo visceral, além de outros marcadores como Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), Interleucina-1, Interleucina-6 (CANI et al., 2007).

A ligação entre LPS e HFD explica os efeitos negativos que esse tipo de protocolo promove ao ativar de forma crônica vias de sinalização inflamatória e favorecerem alterações metabólicas semelhantes aos desfechos que nossos dados apresentaram. HFD aumenta a permeabilidade intestinal porque modula a expressão de proteínas ligadas à *tight junction* (Claudina-1 e Occludina), prejudicando a integridade da barreira intestinal em ratos (DE LA SERRE et al., 2010). Nesse sentido, o aumento do LPS pela oferta de HFD pode desencadear a inflamação como demonstrado por Brun et al (2007). Neste estudo, os níveis de citocinas inflamatórias liberadas pelo excesso de tecido adiposo cronicamente diminuíram a resistência

intestinal por alterar as proteínas tight junction (BRUN et al., 2007). Essa discussão evidencia que a proporção de gordura na dieta, o tipo de ácido graxo e a fonte de gordura (banha de porco) em HFD influenciam a MI, alterando a proporção de bactérias benéficas/maléficas intestinais, desencadeando inflamação (HUANG et al., 2013). Não foi possível em nosso estudo analisar os níveis de LPS, para analisar se as alterações nos parâmetros bioquímicos, o excesso de gordura visceral e retroperitoneal e a disbiose intestinal tinham relação.

Dietz et al., (2019) observaram que a prole de mães alimentadas com HFD apresentaram maior quantidade de gordura visceral, menor concentração de *Lactobacillus* spp e maior concentração de *Bacteroides* spp, além disso, tanto a mãe como a prole apresentaram danos nas vilosidades intestinais, aumentando a permeabilidade intestinal, e alteração no metabolismo lipídico, mostrando que HFD é associada a complicações na saúde da prole (DIETZ et al., 2019). De forma semelhante a nossos dados, estudos que utilizam HFD com gordura saturada ofertada durante os períodos iniciais da vida estão ligados às mudanças nos perfis da microbiota intestinal, aumentando a proporção de Firmicutes para Bacteroidetes, sendo este um efeito adverso em comparação aos resultados com as dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados (RODRÍGUEZ et al., 2015).

Nota-se que esse aumento de *Bacteroides* spp atrelado a uma DC com 78% de lipídios na dieta também estão associados a um prejuízo na capacidade de oxidação de gordura (MURTAZA et al., 2019). Em estudo com DC (75% de gordura) utilizando roedores, também se observou uma diminuição total de bactérias intestinais seguidos de um aumento na concentração de Enterobacteriaceae na análise da microbiota intestinal fecal (NEWELL et al., 2016). Este resultado se assemelha ao ocorrido em nossos achados quando analisamos a microbiota intestinal fecal da mãe e da prole. Em nosso estudo, a DC rica em gordura saturada ofertada a mãe prejudicou a microbiota intestinal fecal desses animais e isso foi visto também na prole, permanecendo alterado mesmo após a suspensão da dieta. Nós acreditamos que os desfechos vistos em nossos dados estão demonstrados além dos efeitos que uma DC tradicional (equilibrada no tipo de gordura) poderia causar para MI, e que esses desfechos estão mais precisamente ligados ao alto teor de gordura saturada que ofertamos durante a lactação para as mães do GK, sobressaindo-se então, aos

possíveis efeitos benéficos que uma DC equilibrada no tipo de gordura poderia vir a ter.

Conforme demonstrado por autores que utilizaram HFD ou DC com alto teor de gordura saturada, esse consumo está associado à disbiose, inflamação e aumento dos depósitos de gordura bem como a ineficiência em oxidação de gordura. Logo, é viável interligar as alterações na microbiota intestinal fecal vistas em nossos dados com as alterações encontradas nos parâmetros bioquímicos e no aumento dos depósitos de gordura nos animais, apesar de não ter sido possível analisar respostas inflamatórias. Por fim, é importante realizar pesquisas de longo prazo para estabelecer a associação da DC com a MI, sobretudo porque esse protocolo ofertou alto teor de gordura e ácido graxo saturado. Assim, destacamos que o equilíbrio nutricional, e a adequada oferta de fibras, proteínas, carboidratos e lipídios são importantes para a microbiota e a saúde como em um todo.

8 CONCLUSÃO

A exposição materna a dieta cetogênica rica em gordura saturada durante a lactação levou a disbiose intestinal materna e na prole, estando isto associado à hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, e comprometimento da glicemia na prole, bem como, ao aumento dos depósitos de gorduras abdominais na mãe e filhotes. Entretanto, a DC não prejudicou o crescimento somático da prole no desmame. Esses dados demonstram a importância da adequação nutricional no início da vida para a saúde da microbiota intestinal e equilíbrio dos parâmetros corporais e metabólicos, sendo estes fundamentais na prevenção de alterações danosas para a saúde no longo prazo.

8.1 PERSPECTIVAS

Propõe-se como perspectiva:

- Quantificar a concentração de corpos cetônicos e LPS na circulação;
- Analisar a microbiota intestinal por sequenciamento de gene (mRNA – análise genética);
- Analisar a diferença sobre os parâmetros no nosso estudo entre uma dieta cetogênica convencional e a utilizada em nosso estudo, rica em gordura saturada;
- Analisar diariamente os eixos Muniométricos;
- Analisar a Massa Magra para compreender melhor o menor peso corporal encontrado nos 60º dias de vida da prole.
- Analisar as células hepáticas, dada plausibilidade em associa-las com os resultados encontrados no nosso estudo;
- Analisar o perfil de ácido graxo no leite materno;
- Analisar e quantificar a resposta inflamatória com base em citocinas secretadas pelo tecido adiposo e sua associação com alterações intestinais como discutido.
- Quantificar outras bactérias da microbiota que poderiam estar associadas ao excesso de peso.

REFERÊNCIAS

- AL-ASSAL, K. et al. Gut microbiota and obesity. **Clinical Nutrition Experimental**, v. 20, p. 60–64, 2018.
- ALBUQUERQUE, K. T. et al. Intake of trans fatty acid-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, v. 22, n. 7–8, p. 820–829, 2006.
- ANG, Q. Y. et al. Ketogenic Diets Alter the Gut Microbiome Resulting in Decreased Intestinal Th17 Cells. **Cell**, v. 181, n. 6, p. 1263–1275.e16, 2020a.
- ANG, Q. Y. et al. Ketogenic Diets Alter the Gut Microbiome Resulting in Decreased Intestinal Th17 Cells. **Cell**, 2020b.
- ARASE, K. et al. Intracerebroventricular infusions of 3-OHB and insulin in a rat model of dietary obesity. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 255, n. 6, 1988.
- ARMITAGE, J. A. et al. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: How strong is the evidence from experimental models in mammals? **Journal of Physiology**, v. 561, n. 2, p. 355–377, 2004.
- ARMITAGE, J. A.; TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Experimental models of developmental programming: Consequences of exposure to an energy rich diet during development. **Journal of Physiology**, v. 565, n. 1, p. 3–8, 2005.
- AVERSHINA, E. et al. Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 87, n. 1, p. 280–290, jan. 2014.
- AZAD, M. A. K. et al. Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.
- BÄCKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718–15723, 2004.
- BARKER, D. J. P. et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **British Medical Journal**, v. 301, n. 6746, p. 259–262, 1990.
- BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. **Journal of Internal Medicine**, v. 261, n. 5, p. 412–417, 2007.
- BARKER, D. J. P. et al. Growth and chronic disease: Findings in the Helsinki Birth Cohort. **Annals of Human Biology**, v. 36, n. 5, p. 444–458, 2009.
- BATCH, J. T. et al. Advantages and Disadvantages of the Ketogenic Diet : A Review Article. v. 12, n. 8, p. 8–15, 2020.
- BAÜMLER, A. J.; SPERANDIO, V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. **Nature**, v. 535, n. 7610, p. 85–93, 2016.

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

BELL, D. S. H. Changes seen in gut bacteria content and distribution with obesity: Causation or association? **Postgraduate Medicine**, v. 127, n. 8, p. 863–868, 2015.

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

BENGMARK, S. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. **Gut**, v. 42, n. 1, p. 2–7, 1998.

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

BROOM, G. M.; SHAW, I. C.; RUCKLIDGE, J. J. PT US CR. **Nutrition**, 2018.

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

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

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

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

CÂNDIDO, F. G. et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 125–143, 2018.

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

CHAVES, W. F. et al. Neonatal administration of kaempferol does not alter satiety but increases somatic growth and reduces adiposity in offspring of high-fat diet dams. **Life Sciences**, v. 259, n. August, p. 118224, 2020a.

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

Developmental Origins of Health and Disease, 2020b.

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

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

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

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

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

DE PALMA, G. et al. Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice. **Science Translational Medicine**, v. 9, n. 379, p. 1–15, 2017.

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

DE VADDER, F. et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. **Cell**, v. 156, n. 1–2, p. 84–96, 2014.

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

DING, S. et al. High-fat diet: Bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. **PLoS ONE**, v. 5, n. 8, 2010.

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

DOBBING, J. The effect of undernutrition on myelination in the central nervous system. **Biol Trace Elem Res**, v. 67, n. 2, p. 139–150, 1965.

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

FERRARA, D. et al. Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and

metabolic diseases. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 12, p. 21630–21641, 2019.

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

FRESE, S. A.; MILLS, D. A. Birth of the infant gut microbiome: Moms deliver twice! **Cell Host and Microbe**, v. 17, n. 5, p. 543–544, 2015.

FROST, G. et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. **Nature Communications**, v. 5, p. 1–11, 2014.

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

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

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

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

GENSOLLEN, T. et al. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. **Science**, v. 352, n. 6285, p. 539–544, 2016.

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

GERSHUNI, V. M.; YAN, S. L.; MEDICI, V. Nutritional Ketosis for Weight Management and Reversal of Metabolic Syndrome. **Current Nutrition Reports**, v. 7, n. 3, p. 97–106, 20 set. 2018b.

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

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

GRISSOM, N. M.; REYES, T. M. Gestational overgrowth and undergrowth affect neurodevelopment: Similarities and differences from behavior to epigenetics. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 31, n. 6, p. 406–414, 2013.

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

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, n. 7, p. 595–601, jul. 1992.

HANSON, M. A.; GLUCKMAN, P. D. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? **Physiological reviews**, v. 94, n. 4, p. 1027–1076, 2014.

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

HE, C. et al. High-fat diet induces dysbiosis of gastric microbiota prior to gut microbiota in association with metabolic disorders in mice. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. APR, p. 1–9, 2018.

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

HOEFEL, A. L. et al. The effects of hypercaloric diets on glucose homeostasis in the rat: Influence of saturated and monounsaturated dietary lipids. **Cell Biochemistry and Function**, v. 29, n. 7, p. 569–576, 2011.

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

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.

JAKOBSSON, H. E. et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. **Gut**, v. 63, n. 4, p. 559–566, 2014.

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

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

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

KIM, K. A. et al. High Fat Diet-Induced Gut Microbiota Exacerbates Inflammation and Obesity in Mice via the TLR4 Signaling Pathway. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.

KOPP, M.; TOLLRIAN, R. Reciprocal phenotypic plasticity in a predator-prey

system: Inducible offences against inducible defences? **Ecology Letters**, v. 6, n. 8, p. 742–748, 2003.

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

LEWONTIN, R. **The Triple Helix**. Cambridge: Harvard University Press (February 15, 2002), 2002.

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

LINDEFELDT, M. et al. The ketogenic diet influences taxonomic and functional composition of the gut microbiota in children with severe epilepsy. **npj Biofilms and Microbiomes**, v. 5, n. 1, 2019.

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

MA, S. Keto-Adaptation and Endurance Exercise Capacity, Fatigue Recovery, and Exercise-Induced Muscle and Organ Damage Prevention: A Narrative Review. 2019.

MARCHESI, J. R. et al. The gut microbiota and host health: A new clinical frontier. **Gut**, v. 65, n. 2, p. 330–339, 2016.

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

MATOS, R. J. B. DE et al. Nutrição e Cronobiologia. In: SAWAYA, A. L.; LEANDRO, C. G.; WAITZBERG, D. L. (Eds.). . **FISIOLOGIA DA NUTRIÇÃO na Saúde e na Doença - da Biologia molecular ao Tratamento**. 2. ed. São Paulo: EDITORA ATHENEU, 2018. v. 2p. 3–30.

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

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

MENNELLA, J. A.; BEAUCHAMP, G. K. Flavor experiences during formula feeding are related to preferences during childhood. **Early Human Development**, v. 68, n. 2, p. 71–82, 2002.

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

MEROPOL, S. B.; EDWARDS, A. Development of the infant intestinal microbiome: A bird's eye view of a complex process. **Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews**, v. 105, n. 4, p. 228–239, 2015.

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

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

MURTAZA, N. et al. Analysis of the effects of dietary pattern on the oral microbiome of elite endurance athletes. **Nutrients**, v. 11, n. 3, 2019.

NATIVIDAD, J. M. M.; VERDU, E. F. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: Pathological and therapeutic implications. **Pharmacological Research**, v. 69, n. 1, p. 42–51, 2013.

NEWELL, C. et al. Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder. **Molecular Autism**, v. 7, n. 1, 2016.

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

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

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

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

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

PANTALEÃO, L. C. et al. Maternal postnatal high-fat diet, rather than gestational diet, affects morphology and mTOR pathway in skeletal muscle of weaning rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1340–1348, 2013.

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

PAOLI, A. et al. Ketosis, ketogenic diet and food intake control: a complex

relationship. **FRONTIERS IN PSYCHOLOGY**, v. 6, 2015.

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

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

PLAGEMANN, A. et al. Observations on the orexigenic hypothalamic neuropeptide Y-system in neonatally overfed weanling rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 11, n. 7, p. 541–546, 1999.

RAMAMURTHY, S.; RONNETT, G. V. Developing a head for energy sensing: AMP-activated protein kinase as a multifunctional metabolic sensor in the brain. **Journal of Physiology**, v. 574, n. 1, p. 85–93, 2006.

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

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

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

RODRÍGUEZ, J. M. et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 26, n. 0, p. 1–17, 2015.

ROTHSCHILD, D. et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. **Nature**, v. 555, n. 7695, p. 210–215, 2018.

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

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

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

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

SONNENBURG, E. D.; SONNENBURG, J. L. Starving our microbial self: The deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates.

Cell Metabolism, v. 20, n. 5, p. 779–786, 2014.

STATOVCI, D. et al. The impact of western diet and nutrients on the microbiota and immune response at mucosal interfaces. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. JUL, 2017.

SWIFT, D. L. et al. PT US CR. **Progress in Cardiovascular Diseases**, p. #pagerange#, 2018.

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

TAGLIABUE, A.; ELLI, M. The role of gut microbiota in human obesity: Recent findings and future perspectives. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 23, n. 3, p. 160–168, 2013.

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

TCHKONIA, T. et al. Mechanisms and Metabolic Implications of Regional Differences among Fat Depots. **Cell Metabolism**, v. 17, n. 5, p. 644–656, maio 2013.

THURSBY, E.; JUGE, N. Introduction to the human gut microbiota. v. 0, p. 1823–1836, 2017.

TURNBAUGH, P. J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1027–1031, 2006.

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

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

VIDAL-SANTOS, R. et al. Western diet in the perinatal period promotes dysautonomia in the offspring of adult rats. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 2, p. 216–225, 2017.

VOGT, M. C. et al. Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding. **Cell**, v. 156, n. 3, p. 495–509, 2014.

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

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, 2010.

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

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

WOLTERS, M. et al. Dietary fat, the gut microbiota, and metabolic health – A systematic review conducted within the MyNewGut project. **Clinical Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 2504–2520, 2019.

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

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

ZENG, M. Y.; INOHARA, N.; NUÑEZ, G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. **Mucosal Immunology**, v. 10, n. 1, p. 18–26, 24 jan. 2017.

ZHANG, H. et al. Host adaptive immunity alters gut microbiota. **ISME Journal**, v. 9, n. 3, p. 770–781, 2015.

ZHANG, M.; YANG, X. J. Effects of a high fat diet on intestinal microbiota and gastrointestinal diseases. **World Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 40, p. 8905–8909, 2016.

ZOETENDAL, E. G. et al. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. **ISME Journal**, v. 6, n. 7, p. 1415–1426, 2012.

ANEXO A – PARECER Nº 111/2019 CEUA – UFPE



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

Recife, 12 de dezembro de 2019

Ofício nº 113/19

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

Para: **Prof. Giselia de Santana Muriz**

Centro de Ciências da Saúde

Departamento de Nutrição/ UFPE

processo nº 111/2019

Certificamos que a proposta intitulada " **Dieta cetogênica com alto teor de gordura saturada na lactação: efeito sobre a composição corporal, bioquímica e da microbiota intestinal na prole de ratos jovens.**", registrado com o **111/2019** sob a sponsabilidade de **Prof. Giselia de Santana Muriz** o 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 03/12/2019

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	03/12/2019 A 03/12/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	190
Peso/Idade	90 a 120 dias e filhotes das ratas/225-275g
Sexo	Macho (160) e (30) Fêmeas
Origem: Biotério de Criação	Biotério de criação do Departamento de Nutrição da UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de criação do Departamento de Nutrição da UFPE

Atenciosamente

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