

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

ANIELLE MYLENA DE MEDEIROS BARBOSA

**EFEITOS DA DIETA HIPOPROTEICA MATERNA SOBRE A CAPACIDADE
HIPERTRÓFICA E A VIA Akt-mTOR NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS
ADULTOS**

Vitória de Santo Antão

2024

ANIELLE MYLENA DE MEDEIROS BARBOSA

**EFEITOS DA DIETA HIPOPROTEICA MATERNA SOBRE A CAPACIDADE
HIPERTRÓFICA E A VIA Akt-mTOR NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS
ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico da Vitória, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Ciências Fisiológicas, área de concentração: Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos

Coorientadora: Profa. Dra. Tássia Karin Ferreira Borba

Vitória de Santo Antão

2024

B238e Barbosa, Anielle Mylena de Medeiros.
Efeitos da dieta hipoproteica materna sobre a capacidade hipertrófica e a via Akt-mTOR no músculo esquelético de ratos adultos/ Anielle Mylena de Medeiros Barbosa. - Vitória de Santo Antão, 2024.
79f.; il.

Orientador: Diogo Antonio Alves de Vasconcelos.
Coorientadora: Tássia Karin Ferreira Borba
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Mestrado Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, 2024.
Inclui referências e anexo.

1. Dieta hipoproteica. 2. Hipertrofia. 3. Músculo esquelético. I. Vasconcelos, Diogo Antonio Alves de (Orientador). II. Borba, Tássia Karin Ferreira (Coorientadora). III. Título.

612.3 CDD (23. ed.) BIBCAV/UFPE -21/2024

ANIELLE MYLENA DE MEDEIROS BARBOSA

**EFEITOS DA DIETA HIPOPROTEICA MATERNA SOBRE A CAPACIDADE
HIPERTRÓFICA E A VIA Akt-mTOR NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS
ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico da Vitória, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Ciências Fisiológicas, área de concentração: Fisiologia.

Aprovada em: 27/02/2024.

Banca examinadora

Prof. Dr. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos (orientador)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Profa. Dra. Carol Virgínia Góis Leandro (examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. José Donato Júnior (examinador externo)
Universidade Federal de São Paulo – USP-SP

Prof. Dr. Diego Ribeiro de Souza (examinador externo)
Universidade Cruzeiro do Sul – UNICSUL-SP

“Os sonhos são como uma bússola, indicando os caminhos que seguiremos e as metas que queremos alcançar. São eles que nos impulsionam, nos fortalecem e nos permitem crescer.”

Augusto Cury

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a Deus, fonte de toda sabedoria e inspiração, à minha amada família e aos meus verdadeiros amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela sua bondade, generosidade e pela força e coragem, que me fizeram enfrentar todos os desafios ao decorrer da minha existência.

À toda minha família, em especial a minha mãe **Josefa Tenório**, por todo amor, dedicação e incentivo ao longo da minha vida, com certeza eu não teria chegado até aqui sem você, que foi o suporte mais importante nessa caminhada. Ao meu irmão **Ítalo**, por todo apoio e companheirismo.

À **Aylla Marcela** por todo amor, dedicação e paciência durante esses e tantos outros anos.

Ao meu querido orientador **Diogo Vasconcelos**, por todos os ensinamentos, que contribuíram para minha formação acadêmica, deixo aqui registrada minha profunda gratidão.

À minha coorientadora **Tássia Karin**, por toda colaboração, disponibilidade e pelo conhecimento compartilhado, seus conselhos foram de extrema importância para meu crescimento pessoal e profissional.

À **Fernando Wesley**, técnico no Departamento de Nutrição, por toda disponibilidade e gentileza ao compartilhar sugestões que foram essenciais no desenvolvimento deste trabalho, bem como à **Thaynan Oliveira**, por todo ensinamento e colaboração.

A todos que fazem parte do Laboratório de Fisiologia Metabolismo e Epigenética da Nutrição (LAFMEN), em especial a **Carolina Ramos, Catherine Neves, Gabriel Vinícius, Raíssa Andrade e Vitor Carlos**.

A todos os professores que compartilharam seus conhecimentos e inspiraram meu crescimento acadêmico e pessoal, em especial a **Alice Valença, Carol Leandro e Michele Galindo**, que desde a graduação são o modelo de profissional que desejo ser, meu sincero obrigado.

À minha amiga **Mirelly**, que está nessa caminhada comigo desde a graduação, que os nossos laços de amizade se fortaleçam cada vez mais.

Aos meus amigos e sobreviventes da pós **Filipe, Jivaldo, Mirelly e Sidiane**, por todo apoio, partilha, generosidade, por estarem sempre disponíveis a me ajudar quando precisei e por vibrarem junto a mim cada etapa vencida. Minha eterna gratidão por terem tornado mais leve essa caminhada.

As minhas amigas e irmãs da vida **Angélica, Camila, Letícia, Luana e Vivian**, que mesmo de longe se fizeram presentes. Agradeço por estarem ao meu lado e por celebrarem comigo cada pequena vitória ao longo deste caminho.

Aos meus irmãos que conheci recentemente, mas que já ganharam espaço no meu coração, **Deisiane, Osmar e Thyago**, por cada conversa, cada café compartilhado e por todos os momentos de alegria, que nossa amizade continue a florescer nessa jornada da vida.

A todos aqueles que não consegui enumerar, pois reconheço que todas as pessoas que passam por nossa vida, contribuem de alguma forma, para nosso crescimento pessoal e profissional.

À banca examinadora, agradeço o tempo dedicado à leitura e avaliação deste trabalho.

À **CAPES** pela concessão da bolsa que me permitiu concluir e me dedicar a esta pesquisa.

Por fim, expresso minha sincera gratidão a todos os que contribuíram para realização deste trabalho, que eu possa continuar a trilhar meu caminho nessa jornada acadêmica com compaixão, generosidade e sabedoria.

Muito Obrigada,
Anielle Mylena de Medeiros Barbosa

RESUMO

Diversos estudos têm demonstrado que a dieta baixa em proteínas durante a gestação e lactação é um fator crítico capaz de modular a ação da insulina e a manutenção da massa muscular à longo prazo. A nossa hipótese é que a resposta hipertrófica do músculo esquelético é prejudicada devido à modulação da via Akt-mTOR em ratos adultos, causada pela dieta hipoproteica durante a gestação e lactação. O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da dieta hipoproteica nas fases da gestação e lactação sobre a via Akt-mTOR no músculo esquelético em prole adulta de ratos submetidos ao protocolo de hipertrofia compensatória. Foram utilizadas ratas que receberam dieta controle (18% de proteínas) ou dieta hipoproteica (8% proteína). A prole desses animais, foi dividida em gaiolas com até 4 animais e recebeu dieta padrão de biotério até os 90 dias de idade. Aos 83 dias de vida, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de ablação do músculo sinergista ao EDL, o tibial anterior, da pata traseira esquerda, e a pata contralateral recebeu uma simulação do procedimento cirúrgico (*Sham*) e utilizado como controle. Assim, cada grupo com as respectivas dietas foram subdividido em 2 grupos: Pata contralateral (PC) e induzido à hipertrofia (PH) formando 4 grupos experimentais: dieta controle pata contralateral (DC_{Mat}-PC); dieta controle pata induzida à hipertrofia (DC_{Mat}-PH); dieta hipoproteica pata contralateral (DH_{Mat}-PC); pata induzida a hipertrofia (DH_{Mat}-PH). Aos 90 dias, os animais foram eutanasiados e foram analisadas a massa seca do músculo EDL; área de secção transversa das fibras musculares; e ativação e expressão de proteínas da via Akt-mTOR do músculo EDL. A dieta hipoproteica materna, prejudicou o crescimento e desenvolvimento da prole, no período de lactação e pós desmame, porém não causou alterações na massa do tecido adiposo branco. Os animais de dieta materna hipoproteica também apresentaram menor massa úmida e seca do músculo EDL, mesmo após o estímulo da hipertrofia compensatória. A análise da histologia do EDL, demonstrou que esses animais apresentam fibras musculares de menor área em relação aos animais de dieta controle, tanto na pata contralateral, quanto na pata submetida a hipertrofia. Dessa forma, a dieta hipoproteica materna, prejudicou o crescimento e desenvolvimento da prole até 90 dias de idade, bem como a massa úmida e seca do músculo EDL. Além disso, diminuiu a capacidade hipertrófica do músculo, bem como as fibras musculares desses animais apresentaram menor área de secção. No músculo EDL ainda, a dieta hipoproteica materna não provocou alterações no conteúdo de Akt total, porém quando houve aumento no conteúdo de Akt quando o músculo foi submetido a sobrecarga funcional, o conteúdo de Akt fosforilada e rpS6 total se mantiveram semelhantes em ambos os grupos. Sendo assim, a dieta hipoproteica materna modulou resposta a plasticidade do desenvolvimento no músculo esquelético da prole, ao prejudicar a capacidade hipertrófica do músculo após estímulo de sobrecarga compensatória.

Palavras-chave: dieta hipoproteica; hipertrofia; músculo esquelético; plasticidade do desenvolvimento; ratos.

ABSTRACT

Several studies have demonstrated that a low-protein diet during pregnancy and lactation is a critical factor capable of modulating insulin action and the maintenance of muscle mass in the long term. Our hypothesis is that the hypertrophic response of skeletal muscle is impaired due to modulation of the Akt-mTOR pathway in adult rats, caused by a low-protein diet during pregnancy and lactation. The objective of this work was to verify the effects of a low-protein diet during pregnancy and lactation on the Akt-mTOR pathway in skeletal muscle in adult offspring of rats submitted to the compensatory hypertrophy protocol. Rats that received a control diet (18% protein) or a low-protein diet (8% protein) were used. The offspring of these animals were divided into cages with up to 4 animals and received a standard vivarium diet until 90 days of age. At 83 days of life, the animals underwent the surgical procedure of ablation of the synergist muscle to the EDL, the tibialis anterior, of the left hind paw, and the contralateral paw received a simulation of the surgical procedure (Sham) and used as a control. Thus, each group with the respective diets were subdivided into 2 groups: Contralateral paw (PC) and hypertrophy-induced (PH) forming 4 experimental groups: control diet contralateral paw (DC_{Mat}-PC); control diet, hypertrophy-induced paw (DC_{Mat}-PH); hypoprotein diet contralateral paw (DH_{Mat}-PC); hypertrophy-induced paw (DH_{Mat}-PH). At 90 days the animals were euthanized and the dry mass of the EDL muscle; cross-sectional area of the muscle fibers; and activation and expression of proteins of the Akt-mTOR pathway of the EDL muscle. The maternal hypoprotein diet impaired the growth and development of the offspring, in the lactation and post-weaning period, but did not cause changes in the mass of white adipose tissue. low-protein maternal diet also showed lower wet and dry mass of the EDL muscle, even after stimulating compensatory hypertrophy. The analysis of the EDL histology demonstrated that these animals have muscle fibers of smaller area in relation to animals on a control diet, both in the paw contralateral, as well as in the paw subjected to hypertrophy. Thus, the maternal low-protein diet harmed the growth and development of the offspring up to 90 days of age, as well as the wet and dry mass of the EDL muscle. Furthermore, the hypertrophic capacity of the muscle decreased, as well as the muscle fibers of these animals had a smaller cross-sectional area. In the EDL muscle, the maternal hypoprotein diet did not cause changes in the total Akt content, however, when there was an increase in the Akt content when the muscle was subjected to functional overload, the phosphorylated Akt and total rpS6 levels remained similar in both groups. Therefore, the maternal low-protein diet modulated the response to developmental plasticity in the offspring's skeletal muscle, by impairing the hypertrophic capacity of the muscle after a compensatory overload stimulus.

Keywords: low-protein diet; hypertrophy; skeletal muscle; developmental plasticity; rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Via de sinalização intracelular da PI3-K-Akt-mTOR em músculo esquelético.....	25
Figura 2 – Desenho experimental do estudo	32
Figura 3 – Etapas da cirurgia de ablação	33
Figura 4 – Massa corporal média semanal das ratas do grupo materno durante a gestação e a lactação	38
Figura 5 – Glicemia de jejum aos 14 dias nos grupos DC _{Mat} e DH _{Mat}	40
Figura 6 – Consumo alimentar semanal relativo durante a gestação e lactação.....	42
Figura 7 – Ingestões relativas energética, de carboidratos, proteica e lipídica no período de gestação.....	43
Figura 8 – Ingestões relativas energética, de carboidratos, proteica e lipídica no período de lactação	44
Figura 9 – Conversão alimentar materna durante a gestação e a lactação	45
Figura 10 – Eficiência energética materna durante a gestação e a lactação	46
Figura 11 – Massa corporal média da prole dos sete aos 21 e dos 28 aos 90 dias de vida.....	49
Figura 12 – Circunferências torácica e abdominal da prole dos sete aos 90 dias de vida.....	50
Figura 13 – Eixo longitudinal e comprimento da cauda da prole dos sete aos 90 dias de vida.....	51
Figura 14 – Massas relativas das gorduras retroperitoneal e epididimal da prole aos 90 dias de vida	52
Figura 15 – Massa úmida do músculo EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade	53
Figura 16 – Massa seca do músculo EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade	54
Figura 17 – Microfotografia das áreas de secção transversa dos músculos EDL, área de secção transversa muscular e distribuição da área das fibras musculares das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade	56
Figura 18 – Conteúdos relativos da Akt total e fosforilada nos músculos EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade	59
Figura 19 – Conteúdos relativos da rpS6 total nos músculos EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição de macronutrientes e do valor energético das dietas maternas.	30
Tabela 2 – Composição centesimal das dietas maternas.	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4E-BP1	proteína 1 de ligação ao fator de iniciação da tradução eucariótica 4E
Akt/PKB	proteína cinase B
Akt1	proteína serina/treonina cinase codificada pelo gene AKT1
Akt2	proteína serina/treonina cinase codificada pelo gene AKT2
Akt3	proteína serina/treonina cinase codificada pelo gene AKT3
CA	conversão alimentar
DC_{Mat}	dieta controle materna
DC_{Mat}-PC	dieta controle materna pata contralateral
DC_{Mat}-PH	dieta controle materna pata hipertrofia
DH_{Mat}	dieta hipoproteica materna
DH_{Mat}-PC	dieta hipoproteica materna pata contralateral
DH_{Mat}-PH	dieta hipoproteica materna pata hipertrofia
DNA	ácido desoxirribonucleico
DPN	dia pós nascimento
DTT	ditiotreitól
EDL	músculo extensor longo dos dedos
EE	eficiência energética
eIF2B	fator de iniciação de tradução eucariótica 2B
eIF4E	fator de iniciação de tradução eucariótica 4E
e.p.m.	erro padrão da média
E_{max}	efeito máximo
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
GSK-3β	glicogênio sintase cinase 3 beta
HE	hematoxilina/eosina
IGF-1	fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IRS-1	substrato do receptor de insulina tipo 1
mLST8/GβL	mamífero letal com proteína SEC13 8/semelhante à subunidade beta da proteína G
mTOR	alvo mecanístico da rapamicina
mTOR1	alvo mecanístico do complexo de rapamicina 1

mTOR2	alvo mecanístico do complexo de rapamicina 2
OMS	Organização Mundial da Saúde
p70S6K	proteína ribossômica S6 cinase
PDK1	proteína cinase 1 dependente de fosfoinositídeo-3
PI3-K	proteína cinase-3 de fosfatidilinositol
PIP₂	4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol
PIP₃	3,4,5-trisfosfato de fosfatidilinositol
PNAD	pesquisa nacional por amostra de domicílios
PFK	fosfofrutose cinase
POF	pesquisa de orçamentos familiares
Raptor	proteína associada à regulação do mTOR
Ras	pequena proteína GTPase (<i>rat sarcoma virus</i>)
RCIU	restrição de crescimento uterino
Rheb	proteína homóloga à Ras enriquecida em cérebro
rpS6	proteína ribossômica S6
S6K1	proteína ribossômica S6 cinase B1
SAN	segurança alimentar e nutricional
SREBP	proteína de ligação ao elemento regulador de esterol
UNICEF	Fundo da Nações Unidas para a Infância

OBS.: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Plasticidade do desenvolvimento	18
2.2 Subnutrição e dieta hipoproteica	20
2.3 Via Akt-mTOR no músculo esquelético	23
3 JUSTIFICATIVA	28
4 OBJETIVOS	29
4.1 Objetivo geral	29
4.2 Objetivos específicos	29
5 MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1 Animais	30
5.2 Grupos experimentais	30
5.3 Cirurgia de ablação do músculo sinergista ao EDL	32
5.4 Análises experimentais	33
5.4.1 Massa corpórea	33
5.4.2 Consumo alimentar	33
5.4.3 Glicemia de jejum	34
5.4.4 Indicadores murinométricos	34
5.4.5 Condição fisiológica da eutanásia	34
5.4.6 Coleta das amostras	34
5.4.7 Massa muscular úmida e seca	35
5.4.8 Histologia do músculo esquelético	35
5.5 Análises moleculares	35
5.5.1 Western blotting	35
5.6 Análise estatística	36
6 RESULTADOS	37

6.1 Efeitos da dieta hipoproteica na massa corporal materna	37
6.2 Efeitos da dieta hipoproteica na glicemia materna	39
6.3 Efeitos da dieta hipoproteica no consumo alimentar materno	41
6.4 Efeitos da dieta hipoproteica materna no desenvolvimento e composição corporal da prole	47
6.5 Efeitos da dieta hipoproteica materna na área de secção transversa das fibras musculares da prole de ratos	55
6.6 Efeitos da dieta hipoproteica materna na expressão e ativação de proteínas da via Akt-mTOR	58
7 DISCUSSÃO	61
8 CONCLUSÕES	66
REFERÊNCIAS	67
ANEXO	79

1 INTRODUÇÃO

Os dados epidemiológicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) publicados na edição de 2021 sobre os níveis e tendências da má nutrição são alarmantes. Segundo o documento da OMS, apesar dos anos anteriores, o número de crianças abaixo de cinco anos com baixo peso estivesse diminuindo, recentemente, o índice de crianças com sobrepeso está em crescente curva (Fundo das Nações Unidas para a Infância, 2021).

Em 2020, o número estimado de crianças com baixo peso (45,5 milhões) ainda era mais alto do que crianças com sobrepeso (38,9 milhões) no mundo. A alimentação inadequada (deficiência de nutrientes essenciais), a fome, durante os períodos gestacional e de amamentação é a principal causa de crianças com baixo peso com menos de cinco anos de idade (Fundo das Nações Unidas para a Infância, 2021).

Já foi relatado na literatura científica, uma alta correlação do baixo peso ao nascer, decorrente de uma baixa oferta de proteína na dieta, com diversas desordens metabólicas na vida adulta (Ravelli *et al.*, 1976). Alterações fisiológicas, metabólicas e moleculares explicam a hipótese de que diversas doenças da vida adulta possuem origem fetal, decorrentes do suprimento deficiente ou em excesso de nutrientes, de uma má nutrição, gerando no feto um processo adaptativo nas vias metabólicas, o que caracteriza a plasticidade do desenvolvimento e a capacidade do organismo a adaptar-se às mudanças ambientais (Barker, 1997; Gluckman; Hanson; Pinal, 2005).

Estudos com animais, ao longo dos anos, confirmam os efeitos da deficiente nutrição intrauterina e suas alterações nas vias metabólicas e no crescimento de órgãos que geram modificações em sua estrutura e funcionamento, além de influenciar na composição corporal e na produção de determinados hormônios (Desai *et al.*, 2005; Ozanne; Hales, 2002). Esses estudos induzem a restrição do crescimento intrauterino, e avaliam seus efeitos nos diferentes sistemas, sendo o modelo de restrição proteica um dos mais relatados na literatura (Ozanne; Hales, 1999; Ozanne; Hales, 2002; Ozanne *et al.*, 2004).

O músculo esquelético é um tecido essencial no metabolismo e representa importante papel em diversas vias de sinalização, principalmente, no que tange o metabolismo proteico. A dieta hipoproteica materna está relacionada com a diminuição do peso muscular, aumento na capacidade oxidativa muscular, danos

irreversíveis na estrutura muscular da prole e ainda alterações na estrutura dos sarcômeros (Bedi *et al.*, 1982; Oumi Miyoshi; Yamamoto, 2000; Toscano; Manhães-de-Castro; Canon, 2008; White *et al.*, 2000).

Essas alterações podem estar envolvidas com o aparecimento precoce de doenças na vida adulta. A estimulação da síntese proteica no músculo esquelético, ocorre em resposta à ativação da via de sinalização Akt (proteína cinase B) e mTOR1 (alvo mecanístico do complexo de rapamicina 1). A ativação de mTOR1 promove também transcrição de ácido desoxirribonucleico ribossomal (rDNA), gerando a elevação da capacidade da célula de sintetizar proteínas (Fingar *et al.*, 2002). A ativação da cascata Akt-mTOR1, promove a regulação da tradução de proteínas relacionadas à hipertrofia da musculatura esquelética (Bodine *et al.*, 2001).

Uma dieta com restrição proteica provoca, portanto, uma regulação negativa na expressão da Akt, e consequentemente, modula via Akt-mTOR1 (De Vasconcelos *et al.*, 2022), pois essa via é estimulada na presença de insulina e de outros nutrientes como, por exemplo, alguns aminoácidos. O alvo mecanístico da rapamicina (mTOR) é uma proteína que atua no crescimento celular e síntese proteica, sendo considerado um sensor nutricional, somando fatores ambientais com a capacidade de sobrevivência do organismo (Anthony *et al.*, 2002).

Em seu estudo Zhu *et al.* (2004), concluíram que uma restrição materna, principalmente, de proteínas prejudica a síntese proteica muscular no feto, que se dá pela diminuição no número de miofibrilas secundárias, em consequência de uma sinalização negativa gerada pela mTOR1. Além disso, a diminuição do crescimento celular mediado pela inibição de mTOR1 pode ser explicado pela diminuição do transporte celular de leucina, potente ativador dessa via de sinalização (Ross *et al.*, 2007). Sendo que uma diminuição na massa muscular corporal está associada com a resistência à insulina, condições de pré-diabetes e síndrome metabólica, independente da adiposidade central e visceral (Atlantis *et al.*, 2009; Larsen *et al.*, 2015; Mizgier *et al.*, 2014; Srikanthan; Karlamangla, 2011).

Desta forma, a pergunta norteadora e que serviu como ponto de partida para esse estudo foi: a dieta hipoproteica materna prejudica a capacidade hipertrófica do músculo esquelético diminuindo a ativação da via de sinalização Akt-mTOR?

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plasticidade do desenvolvimento

Nas fases iniciais de crescimento e desenvolvimento ocorrem diversos processos de diferenciação e proliferação celular, sendo caracterizado como períodos críticos do desenvolvimento (Morgane *et al.*, 1993). Modificações nesses períodos, provocadas por determinados insultos ambientais podem levar a uma série de problemas no desenvolvimento do organismo. Esses insultos podem estar relacionados a dieta, a atividade física ou ao estresse (Gluckman; Hanson; Pinal, 2005). Essas alterações podem ser estruturais, funcionais, metabólicas ou moleculares e acontecem em diversos tecidos. No músculo esquelético, por exemplo, pode ocorrer aumento da capacidade oxidativa muscular, diminuição do peso muscular, modificações estruturais dos sarcômeros, aumento de resistência à insulina e diminuição de síntese proteica (Zhu *et al.*, 2004).

Pode-se abordar, portanto, a origem fetal das doenças, o que era chamado de programação fetal, que é na verdade o processo adaptativo causado pela desordem no meio intrauterino levando ao redirecionamento de processos e recursos para manter a sobrevivência do feto (Vickers; Ikenasio; Breier, 2001). A plasticidade do desenvolvimento define-se pela propriedade pela qual, o genótipo é capaz de produzir fenótipos distintos, a depender das condições ambientais em que ele está exposto durante o desenvolvimento (Klingenberg, 2019).

A teoria da variação facilitada pode ser utilizada para o melhor entendimento da plasticidade do desenvolvimento, que é regulada não só pela variação genética, mas também pelo ambiente, podendo causar adaptações, para promover a sobrevivência durante o desenvolvimento (Moczek, 2015). Os efeitos da plasticidade do desenvolvimento incluem dessensibilização de alguns receptores hormonais, diminuição na expressão de moléculas sinalizadoras e enzimas reguladoras, que estão fortemente associadas aos fenótipos de resistência à insulina, sendo estes, marcadores precoces durante a fase de desenvolvimento dessas doenças na vida adulta (Hales; Ozanne, 2003).

Ocorre então uma série de adaptações no feto, como resposta às condições ambientais, onde o genótipo pode se moldar e produzir diferentes fenótipos a depender da condição do ambiente durante as fases do desenvolvimento a qual o

ser vivo está exposto, essa flexibilidade de resposta é denominada plasticidade do desenvolvimento (Hanson *et al.*, 2011).

A plasticidade do desenvolvimento associa, portanto, os processos adaptativos do organismo, às condições ambientais durante os períodos críticos do desenvolvimento, podendo gerar efeitos à curto e à longo prazo no estado de saúde do indivíduo (Reichetzeder *et al.*, 2014). Esses efeitos à curto prazo, estão associados a sobrevivência e desenvolvimento do feto, porém, essas adaptações à longo prazo, podem gerar o desenvolvimento precoce de doenças crônicas no indivíduo (Gluckman, 2009).

Atualmente diversos modelos animais são utilizados para investigar os elementos associados à plasticidade do desenvolvimento, dentre eles: expressão gênica, mecanismos epigenéticos e vias de sinalização moduladas principalmente por hormônios (Gibert, 2020; Gluckman; Hanson; Pinal, 2005), que definem os eventos e alterações que a plasticidade pode causar nos tecidos, no que se refere a capacidade metabólica de determinados fenótipos. Além desses, outros estudos observam os efeitos da nutrição materna na gênese de doenças na prole à longo prazo e são de alta relevância para o estudo da plasticidade do desenvolvimento e da epigenética (McMillen; Robinson, 2005; Langley-Evans; Lilley; McMullen, 2006). Sendo, a epigenética caracterizada por alterações na expressão gênica e fenotípica, como consequência do ambiente, porém sem alterações no DNA (McMillen; Robinson, 2005).

Quando ocorre por exemplo, uma desnutrição proteica, durante esse período de gestação e lactação, os fenótipos da prole se adaptam para um suposto ambiente pós-natal de carência e restrição nutricional, todavia, quando o ambiente pré-natal não se assemelha ao ambiente pós-natal, maior é o risco do desenvolvimento de doenças crônicas (Gluckman; Hanson; Pinal, 2005).

Os padrões de crescimento e a composição corporal durante o início da vida, podem estar relacionados com o risco de desenvolvimento precoce de algumas doenças crônicas na vida adulta, ou seja, o peso ao nascer e a rota de crescimento podem ser determinantes para a saúde do indivíduo. Há dois caminhos, onde o baixo crescimento durante os períodos críticos do desenvolvimento pode de alguma maneira restringir permanentemente o ganho de massa magra, diminuindo a capacidade metabólica; ou ainda, um acelerado crescimento e ganho de peso pode resultar em alta carga metabólica. Esses mecanismos de forma complementar podem

resultar nessa maior predisposição a algumas doenças (Fowden; Giussani; Forhead, 2006; Wells, 2007).

Nesse sentido, a dieta hipoproteica materna pode causar plasticidade no que se refere a capacidade metabólica de determinados fenótipos, reduzindo essa capacidade e gerando um desequilíbrio na prole (Ozanne *et al.*, 2005). Diversos modelos animais verificaram os efeitos de uma dieta hipoproteica em ratas durante gestação e lactação, para a partir disso investigar as repercussões à longo prazo na prole. Como por exemplo, identificar os desarranjos fisiológicos e moleculares em órgãos e tecidos relacionados à restrição do crescimento intrauterino fetal e ao aparecimento de doenças crônicas na vida adulta (Martin-Gronert; Ozanne, 2007; Ozanne; Hales, 2002; Ozanne *et al.*, 2005).

Além disso, a regulação negativa transitória da piruvato desidrogenase cinase 4, no fígado e tecido adiposo, gerando adaptação metabólica como consequência dessa restrição proteica materna (Lira *et al.*, 2020). A plasticidade do desenvolvimento, pode ser definida por uma alimentação inadequada durante o início da vida através da modulação da expressão proteica no músculo esquelético à longo prazo, que pode estar relacionada a diversos fatores epigenéticos (De Vasconcelos *et al.*, 2022).

2.2 Subnutrição e dieta hipoproteica

No Brasil, do total de 213,3 milhões de brasileiros(as), estima-se que 61,3 milhões de pessoas convivem com algum grau de insegurança alimentar e, destes, 43,4 milhões não têm alimentos em quantidade suficiente e 19 milhões de brasileiros enfrentam a fome (Organização Mundial de Saúde, 2022). Os dados da última Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada entre os anos 2017 e 2018 mostraram piora nas condições de Segurança Alimentar e Nutricional (SAN), da população brasileira, tanto em função das crises política e econômica iniciadas em 2015 e agravada a partir daí.

Dados mais recentes como o inquérito recente realizado pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) em 2021, que revela o impacto sofrido pela população brasileira em decorrência da crise sanitária da doença do coronavírus 2019 (Covid-19), que resultou em 58% de piora nos hábitos alimentares. A pandemia

acirrou as desigualdades sociais no Brasil, com o agravante da demora na proposição de medidas e diretrizes nacionais para o enfrentamento da insegurança alimentar.

A má nutrição de maneira geral, é definida como uma condição de deficiência ou excesso de nutrientes, que se dá a partir de diversos fatores, entre eles destaca-se uma ingestão inadequada, má absorção ou falhas na utilização desses nutrientes (Gillespie; Girgis; Mayer, 1996). Os efeitos da ingestão de uma dieta baixa em proteínas são variados e podem gerar consequências leves ou severas a depender do grau ou do comprometimento no desenvolvimento, que ocorre sobretudo em países subdesenvolvidos (World Health Organization, 2010). Foi relatada, uma relação entre o baixo peso ao nascer e o subsequente desenvolvimento de resistência à insulina, diabetes tipo 2 e síndrome metabólica em uma variedade de populações em todo o mundo (Hales; Barker, 2001).

A nutrição tem papel fundamental na saúde, uma dieta com baixa ingestão de proteínas, pode provocar diversas alterações a níveis e fisiológicos, bioquímicos e moleculares. Estudos com animais já demonstraram que dietas hipoproteicas maternas, podem provocar perda de massa corpórea, diminuição dos estoques de glicogênio e redução de proteínas musculares e hepáticas, por exemplo (Waterlow, 1956; Berends *et al.*, 2013).

Estudos em animais vêm sendo realizadas acerca das consequências de uma dieta hipoproteica durante a gestação e lactação. Uma dieta baixa em proteínas, por exemplo, durante o período gestacional pode reduzir os níveis de aminoácidos essenciais circulantes e com isso gerar um retardo no crescimento intrauterino (Kum Kum *et al.*, 2009).

Dentre as alterações, a desnutrição proteica materna se mostra associada a diminuição do peso ao nascer, a redução do crescimento pós-natal e alteração no peso dos órgãos na prole. A dieta hipoproteica materna pode causar perda de massa muscular na prole e aumentar tecido adiposo (Kwong *et al.*, 2000; Berends *et al.*, 2013). A manutenção da massa muscular é de extrema importância, principalmente para garantir a sobrevivência e a qualidade de vida de pessoas que apresentam doenças crônicas como diabetes, diminuindo complicações causadas pela doença (Coleman *et al.*, 2015).

Os estudos de Ozanne *et al.* (2004; 2005) com ratos, constataram que a baixa oferta de proteína durante a gestação e lactação aumenta a possibilidade de desenvolvimento da obesidade e resistência à insulina na vida adulta. O músculo

esquelético é o principal sítio de metabolização de glicose pós-prandialmente (DeFronzo, 1992).

Berends *et al.* (2013) demonstraram que ratos submetidos à restrição proteica intrauterina apresentaram redução dos níveis de expressão proteica de várias proteínas fosforiladas da via insulina e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), como o substrato do receptor de insulina tipo 1 (IRS1), a proteína cinase-3 de fosfatidilinositol (PI3-K) e a Akt, em tecido adiposo epididimal e no músculo esquelético sendo este resultado considerado um indicador do desenvolvimento de resistência à insulina e síndrome metabólica na idade adulta (Ozanne *et al.*, 2005).

No músculo esquelético, uma dieta pobre em proteínas pode causar disfunções metabólicas, estruturais e funcionais, podendo diminuir o peso muscular, aumentar a capacidade oxidativa muscular e danificar de maneira irreversível a estrutura muscular (Bedi *et al.*, 1982; Toscano; Manhães-de-Castro; Canon, 2008).

Em músculos específicos, como é o caso do EDL, a deficiência proteica durante esses períodos críticos de desenvolvimento está associada ao aumento das fibras tipo I e IIa e diminuição das fibras tipo IIb em ratos aos 180 dias de vida (Bedi *et al.*, 1982). As fibras do tipo I, se caracterizam por serem do tipo oxidativas, de contração lenta e aeróbicas, já as fibras do tipo II, são fibras glicolíticas, de rápida contração e anaeróbicas (Bedi *et al.*, 1982). Pode ainda haver prejuízo na multiplicação celular e no número dos núcleos musculares na prole (Bayol *et al.*, 2004). Além desses achados, outros estudos apontam que esses ratos apresentam menor sensibilidade à insulina quando comparados ao controle (Ozanne *et al.*, 2003).

Nesses estudos com modelo de dieta hipoproteica no começo da vida, pode-se perceber as consequências referente ao crescimento fetal, plasticidade do desenvolvimento e seus efeitos na vida adulta, porém, os mecanismos de vias de sinalização celular associados pela má nutrição durante esse período ainda não estão totalmente estabelecidos (Gazzola *et al.*, 2001).

Os aminoácidos atuam como reguladores do desenvolvimento fetal, induzindo a ativação de vias metabólicas entre a placenta e o feto, podendo atuar e influenciar diretamente na expressão de diversas proteínas que participam do processo de tradução proteica (Regnault *et al.*, 2005). Recentemente, foi verificado que uma dieta materna baixa em proteínas leva, por meio da via Akt-mTOR, à resistência à insulina

com redução de proteína e massa muscular esquelética na idade adulta, por meio principalmente da ativação reduzida de Akt e de glicogênio sintase cinase 3 beta (GSK-3 β) no músculo sóleo de ratos (De Vasconcelos *et al.*, 2022). Nesse mesmo estudo, a dieta materna hipoproteica também diminuiu a fosforilação de proteína ribossômica S6 (rpS6) no resíduo de aminoácido serina 240/244 (Ser^{240/244}) sem estímulo de insulina também no músculo sóleo de ratos (De Vasconcelos *et al.*, 2022).

2.3 Via Akt-mTOR no músculo esquelético

Diversas vias de sinalização participam do controle da síntese de proteínas e na resposta hipertrófica do músculo esquelético. Dentre essas vias, destaca-se a ativação da sinalização de mTOR (PI3-K-Akt-mTOR) sua ativação está associada a sobrecarga funcional e outros fatores ambientais (Bodine *et al.*, 2001).

A Akt/ PKB é uma proteína chave na via de sinalização para ativação de mTOR, ela atua no controle do metabolismo, sobrevivência, crescimento e proliferação celular (Nader, 2005). Pertence à família de proteínas serina/treonina, sendo composta por três membros: Akt1, Akt2 e Akt3, as duas primeiras são expressas principalmente no músculo esquelético e regulam a estrutura e função muscular, além de modular o metabolismo da glicose (Altomare *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2001). O aumento da expressão de Akt-1, por exemplo, resulta no crescimento dos órgãos e no fenótipo relacionado a hipertrofia muscular (Cho *et al.*, 2001). Enquanto, na diminuição da expressão ou inativação gênica conjunta de Akt1 e Akt2, observa-se grave deficiência de crescimento, aumento da mortalidade pós-natal e atrofia muscular grave, com redução no tamanho das fibras musculares (Peng *et al.*, 2003).

A mTOR é uma proteína da família das cinases relacionadas à PI3-K e forma uma subunidade catalítica de dois complexos proteicos diferentes, mTOR1 (mTORC1) e mTOR2 (mTORC2). Sendo mTOR1 caracterizada por três principais componentes, mTOR, Raptor (proteína reguladora associada ao mTOR) e mLST8 (mamífero letal com proteína SEC13 8, também conhecida como semelhante à subunidade beta da proteína G – G β L) (Kim *et al.*, 2002).

O mTOR1, é responsável por desempenhar uma série de funções fisiológicas que vem sendo exemplificadas em diversos estudos (Düvel *et al.*,

2010; Kim *et al.*, 2002; Sakamoto *et al.*, 2002; Schiaffino; Mammucari, 2011). Dentre essas funções, mTOR1 promove síntese proteica, através da fosforilação de dois efetores-chave, a proteína ribossômica S6 cinase B1 (S6K1) e o fator de iniciação de tradução eucariótica 4E (eIF4E). Esse complexo mTOR1 promove também síntese lipídica por meio do fator de transcrição, proteína de ligação ao elemento regulador de esterol (SREBP), e síntese de nucleotídeos necessários para a replicação do DNA e biogênese dos ribossomos em células em crescimento e proliferação (Holz *et al.*, 2005; Porstmann *et al.*, 2008; Ben-Sahra *et al.*, 2016).

O mTORC1 também auxilia no crescimento, e promove uma mudança no metabolismo da glicose da fosforilação oxidativa para a glicólise, que aumenta a expressão de várias enzimas glicolíticas, como a fosfofrutose cinase (PFK), além de promover o crescimento celular, suprimindo o catabolismo proteico (Düvel *et al.*, 2010).

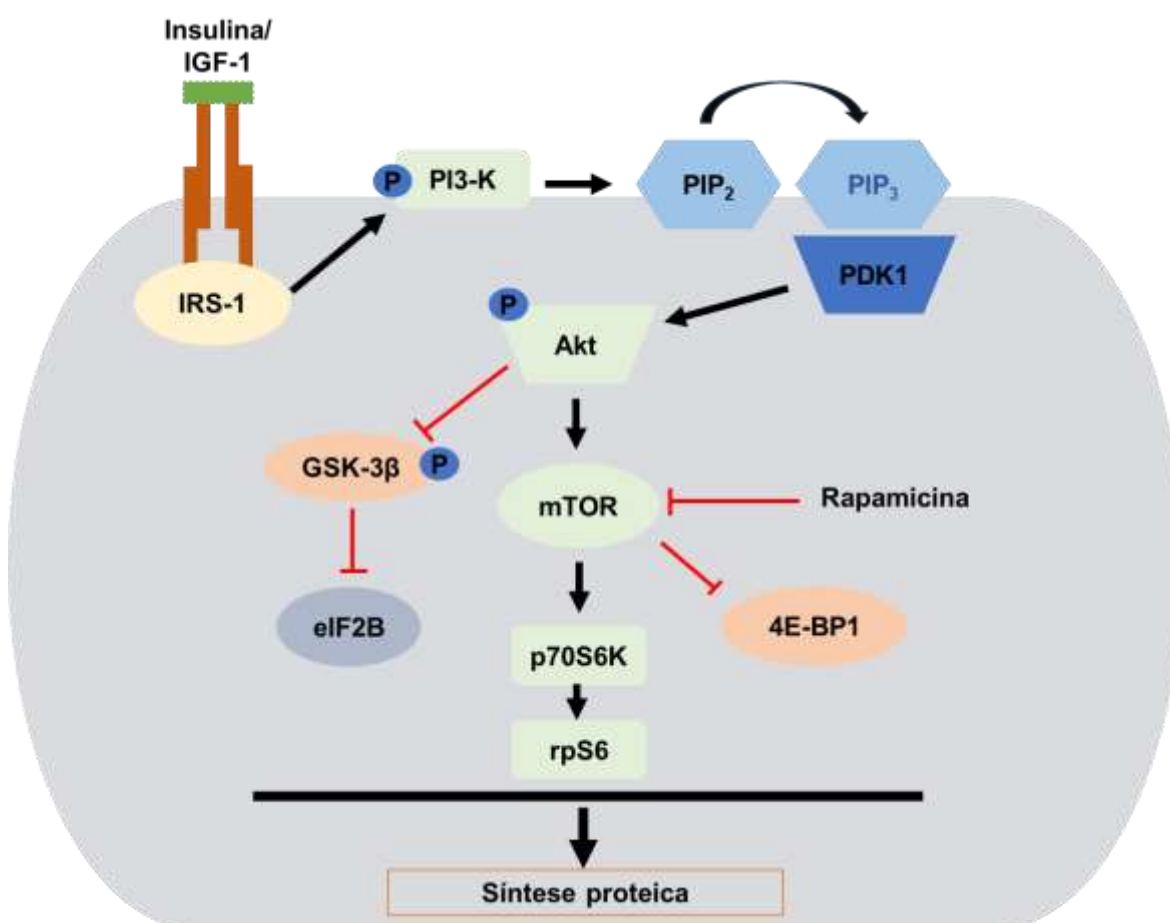
A via PI3-K-Akt-mTOR (Figura 1) é ativada a partir de fatores de crescimento, que podem ser, por exemplo, a insulina e o IGF-1. Os hormônios se ligam aos seus receptores, e ocorre autofosforilação do receptor, por consequência, IRS-1 é recrutado e fosforilado, para a partir disso iniciar a transdução de sinal da via. A PI3-K é fosforilada e fosforila o 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP₂), transformando-o em 3,4,5-trisfosfato de fosfatidilinositol (PIP₃), um sítio de ligação para a proteína cinase 1 dependente de fosfoinositídeo-3 (PDK1), que por fosforilação ativa a Akt (Saxton; Sabatini, 2017).

Atualmente são conhecidas três isoformas de Akt, todavia, apenas duas encontram-se no músculo esquelético, que são Akt1 e Akt2, sendo Akt1 mais associada ao crescimento celular e síntese proteica (Sakamoto *et al.*, 2002; Schiaffino; Mammucari, 2011).

A Akt1 ativada fosforila o complexo de proteínas hamartina e tuberina (TSC1/TSC2), este complexo inibe a ativação da proteína homóloga à Ras enriquecida em cérebro (Rheb), o que possibilita a ativação do complexo mTOR1. Por sua vez, ao ser ativado, o mTOR1 fosforila a proteína 1 de ligação ao fator de iniciação da tradução eucariótica 4E (4E-BP1) e a proteína ribossômica S6 cinase (p70S6K) ou S6K. A ativação em conjunto com a helicase no ribossomo iniciam a tradução, promovendo desta maneira síntese proteica (Laplanche, Sabatini, 2009; Gingras; Raught; Sonenberg, 1999).

A regulação da sinalização de mTOR também é modulada por aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, valina e isoleucina), com destaque para a leucina que participa ativamente da síntese de proteínas (Avruch *et al.*, 2009). A inativação da sinalização de mTOR, leva a forte diminuição da síntese proteica, culminando em redução significativa de massa magra, com consequências na regulação do crescimento e da homeostase (Zhang *et al.*, 2018).

Figura 1 – Via de sinalização intracelular da PI3-K-Akt-mTOR em músculo esquelético.



IGF-1 = fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; IRS-1 = substrato do receptor da insulina tipo 1; PI3-K = proteína cinase 3 de fosfatidilinositol; PIP₂ = 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol; PIP₃ = 3,4,5-trisfosfato de fosfatidilinositol; Akt = proteína cinase B; GSK3β = glicogênio sintase cinase 3 beta; eIF2B = fator de iniciação de tradução eucariótica 2B; mTOR = alvo mecânico da rapamicina; PDK-1 = proteína cinase 1 dependente de fosfoinositídeo 3; 4E-BP1 = proteína 1 de ligação ao fator de iniciação da tradução eucariótica 4E; p70S6K = proteína ribossômica S6 cinase; rpS6 = = proteína ribossômica S6.

Fonte: A autora (2024).

No músculo esquelético, a sinalização de mTOR, está associada à hipertrofia muscular (Bodine *et al.*, 2001). Estudos em células cultivadas e em

camundongos revelam que IGF-1 e leucina promovem hipertrofia por meio da ativação da sinalização mTOR1 (Anthony *et al.*, 2000; Rommel *et al.*, 2001). Além disso, a contração muscular pode ativar mTOR1 no músculo, pois estímulos mecânicos podem ativar a sinalização desse complexo, induzindo a fosforilação do Raptor (Frey *et al.*, 2014).

Para verificar e analisar a ativação da via e os mecanismos envolvidos na hipertrofia do músculo esquelético, em animais, é utilizada a abordagem experimental de hipertrofia compensatória por meio de sobrecarga funcional por ablação da musculatura sinergista (Bodine *et al.*, 2001; Ishido *et al.*, 2006).

A ablação do músculo tibial anterior, por exemplo, é capaz de induzir hipertrofia no músculo EDL. Além disso, já está bem relatado na literatura que após sete dias da cirurgia de ablação do músculo sinergista ocorre a ativação máxima da via de síntese proteica, resultando em hipertrofia máxima do músculo (Bodine; Baar, 2012; Armstrong; Ianuzzo, 1997). Sendo esse modelo, ideal para análise em um curto período após o procedimento. A ablação é, portanto, caracterizada pela remoção do músculo sinergista de uma das patas do animal, sem comprometimento dos outros músculos, nesse caso a pata contralateral é o controle (Alway *et al.*, 2005; Armstrong; Ianuzzo, 1977).

O modelo de sobrecarga funcional é utilizado há bastante tempo, sendo considerado padrão ouro para verificar a resposta hipertrófica do músculo, muitos estudos utilizaram esse modelo experimental para verificar os mecanismos envolvidos na hipertrofia do músculo esquelético (Bodine; Baar, 2012; Goldberg, 1968a; 1968b; Goldberg *et al.*, 1975; Ishido, 2006). A cirurgia de ablação é o modelo experimental que se assemelha ao exercício resistido (Johnson, 1991; Goldberg *et al.*, 1975).

O estímulo à hipertrofia ocorre através da indução da hipertrofia muscular esquelética, proporcionando resposta satisfatória para análise pouco tempo após intervenção cirúrgica (Alway *et al.*, 2005). A sobrecarga compensatória é alcançada por inativação da musculatura sinergista, enquanto o músculo que permanece no animal é sobrecarregado durante a locomoção (Sakuma *et al.*, 1998).

A via de sinalização Akt-mTOR apresenta alta capacidade modulatória e por isso pode apresentar alterações a depender de diversos fatores extrínsecos, por exemplo, insultos nutricionais. A dieta hipoproteica materna pode levar a

desregulação da Akt e da via de sinalização Akt-mTOR, por meio da modulação na expressão gênica incluindo mecanismos epigenéticos. Uma dieta materna baixa em proteínas, pode ainda, levar à resistência à insulina com redução da taxa de síntese de proteínas e massa muscular esquelética via Akt-mTOR na prole, que pode ser explicada pela diminuição na sinalização de Akt e GSK-3 β na presença da insulina (De Vasconcelos *et al.*, 2022).

A nossa hipótese é que a dieta hipoproteica nas fases de gestação e lactação prejudica a resposta hipertrófica do músculo EDL através da modulação negativa da via Akt-mTOR em ratos adultos.

3 JUSTIFICATIVA

De acordo com o relatório da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) em 2019, o Brasil retorna ao mapa da fome que inclui os países que apresentam população superior a 5% em extrema pobreza. Os dados ainda revelam que no Brasil se faz presente uma correlação estatística entre insegurança alimentar e obesidade, devido ao fato de que alimentos industrializados e menos nutritivos são mais acessíveis a essa população em insegurança alimentar.

Nesse cenário, sabendo que a alimentação durante a gestação e lactação é o ponto determinante para o desenvolvimento fetal, e considerando as possíveis variações na dieta materna, principalmente, associada a fatores socioeconômicos, levando a diminuição no consumo de proteínas, a diminuição no suprimento desse nutriente pode interferir diretamente na saúde fetal e modular efeitos metabólicos que podem chegar até a fase adulta.

Com isso, diversos estudos já apontaram que a dieta restrita em proteínas induz doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta (McArdle *et al.*, 2006). Além disso, uma dieta com baixa oferta de proteínas influencia, diminuindo ativação algumas vias de sinalização celular como, por exemplo, na via Akt-mTOR, deve-se então considerar as consequências de alterações em mecanismos moleculares subjacentes (Gurmini *et al.*, 2005).

Desse modo, é pertinente a investigação dos efeitos de uma dieta hipoproteica materna sobre a via Akt-mTOR no músculo esquelético na prole adulta de ratos submetidos ao protocolo de hipertrofia compensatória.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da dieta hipoproteica materna sobre a via Akt-mTOR no músculo esquelético em prole adulta de ratos submetidos à hipertrofia compensatória.

4.2 Objetivos específicos

Nas mães:

- Avaliar consumo alimentar e peso corpóreo;
- Calcular conversão alimentar e eficiência energética;
- Verificar glicemia em jejum;

Na prole:

- Avaliar comprimento e peso corpóreo;
- Medir a massa do tecido adiposo branco;
- Verificar massa seca do músculo EDL;
- Analisar os tipos e área de secção transversa das fibras musculares;
- Avaliar a ativação e expressão de proteínas da via Akt-mTOR do músculo EDL.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais

Foram utilizados ratos da linhagem *Wistar*. Os animais foram obtidos na colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Todos os animais foram mantidos em ambiente com ciclo invertido de luz, mantendo-se as luzes apagadas das 08:00 às 20:00, condições padrão de biotério e com livre acesso à água e ração. Para obtenção de neonatos, foram acasalados animais machos e fêmeas nulíparas na proporção 1:2. O projeto foi aprovado e 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 com as normas internacionais estabelecidas pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. Todos os protocolos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFPE, parecer número 114/2022 (ANEXO 1).

5.2 Grupos experimentais

Foram utilizadas 12 ratas, que foram divididas igualmente em dois grupos e receberam dieta controle (19% de proteínas) ou dieta hipoproteica (9% de proteína) (Tabelas 1 e 2) no período de gestação e lactação ($n = 6/\text{grupo}$). Pós desmame os machos da prole foram divididos em gaiolas com até quatro animais e receberam dieta padrão de biotério até os 90 dias de idade.

Tabela 1 – Composição de macronutrientes e do valor energético das dietas maternas.

Distribuição	Dieta controle	Dieta hipoproteica
kcal/g	3,6	3,6
Proteínas (%)	19	9
Carboidratos (%)	63	73
Lipídios (%)	18	18

Fonte: A autora (2024).

Tabela 2 – Composição centesimal das dietas maternas.

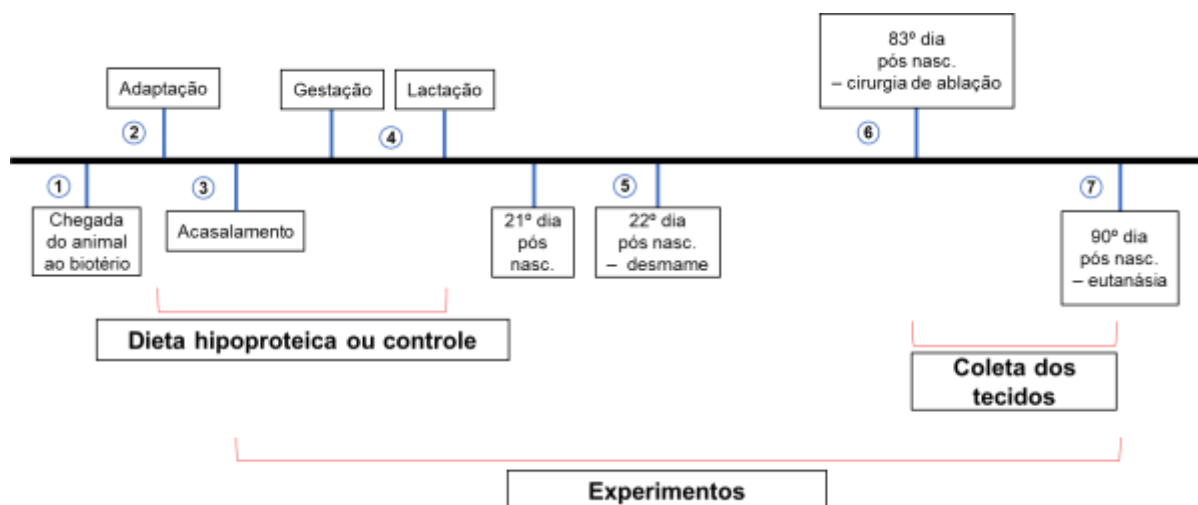
Ingredientes (g/100 g)	Dieta controle	Dieta hipoproteica
Amido de milho	39,74	55,40
Caseína	20,00	9,40
Amido de milho dextrinizado	13,20	7,80
Sacarose	10,00	10,00
Óleo de soja	7,00	7,00
Fibra	5,00	5,00
Mix mineral	3,50	3,50
Mix vitamínico	1,00	1,00
Metionina	0,30	0,14
Bitartarato de colina	0,25	0,25
TBHQ	0,01	0,01

Fonte: A autora (2024).

Aos 83 dias de vida (Figura 2), esses animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de ablação do músculo sinergista ao EDL, o tibial anterior, da pata traseira esquerda, e a pata contralateral recebeu uma simulação do procedimento cirúrgico (Sham) e foi utilizado como controle. Assim, cada grupo com as respectivas dietas foi subdividido em dois grupos nas análises que envolviam tecido muscular: pata contralateral (PC) e pata induzida à hipertrofia (PH) formando quatros grupos experimentais: dieta materna controle pata contralateral (DC_{Mat}-PC) e pata induzida à hipertrofia (DC_{Mat}-PH) e dieta materna hipoproteica pata contralateral (DH_{Mat}-PC) e pata induzida a hipertrofia (DH_{Mat}-PH).

Aos 90 dias de vida, os animais foram eutanasiados, para retirada dos tecidos e foram analisadas a massa seca dos músculos EDL (n = 8/grupo, 2-3 animais por ninhada), a massa do tecido adiposo branco (n = 8/grupo, 2 animais por ninhada), a área de secção transversa das fibras musculares (n = 5/grupo, 1-2 animais por ninhada) e a ativação e expressão de proteínas da via Akt-mTOR do músculo EDL (n = 7/grupo, 1-2 animais por ninhada).

Figura 2 – Desenho experimental do estudo.



Representação das fases dos experimentos que se dividem em 1 – chegada do animal ao biotério; 2 – adaptação; 3 – acasalamento; 4 – gestação e lactação; 5 – desmame e início dos experimentos na prole; 6 – cirurgia de ablação; 7 – eutanásia para coleta de tecidos e material da prole aos 90 dias de vida.

Fonte: A autora (2024).

5.3 Cirurgia de ablação do músculo sinergista ao EDL

Para a cirurgia o animal foi anestesiado (cetamina e xilazina, 200 e 100 mg/kg, respectivamente, de peso corpóreo, por via intraperitoneal). O músculo tibial anterior foi removido sem o comprometimento do nervo, do suprimento de sangue e de outros músculos. Foi realizada uma incisão longitudinal na porção anterior da pata traseira esquerda, assim o músculo tibial anterior foi exposto, e os tendões proximal e distal foram isolados para a excisão do distal (Figura 3). A fim de diminuir o risco de contaminação a pele foi suturada, e o corte recebeu solução contendo iodo (povidine), o animal também recebeu analgésico (dipirona 5 mg/kg de 12 em 12 horas, por via intraperitoneal), para evitar que o animal sentisse qualquer desconforto e para facilitar sua recuperação (Armstrong *et al.*, 1979; Baldwin *et al.*, 1982; Bodine; Baar, 2012; Degens; Turek; Binkhorst, 1993).

Figura 3 – Etapas da cirurgia de ablação.



1 – retirada dos pelos (ambas as patas); 2 – incisura longitudinal na pata traseira, porção anterior (ambas as patas); 3 – retirada do músculo tibial anterior (apenas pata hipertrofia); 4 – sutura (ambas as patas).

Fonte: A autora (2024).

5.4 Análises experimentais

5.4.1 Massa corpórea

As gestantes tiveram o peso corporal aferido no 1º, 7º, 14º e 21º dia. Os filhotes tiveram o peso corporal aferido diariamente durante a lactação (1º ao 21º dia pós nascimento – DPN), após este período o peso foi aferido semanalmente.

5.4.2 Consumo alimentar

Durante a gestação e lactação, o consumo alimentar foi realizado diariamente. O consumo foi determinado pela diferença entre a quantidade de dieta ofertada durante o início do ciclo escuro (08 h) e a quantidade de dieta rejeitada 24 h depois (De Souza *et al.*, 2008). O consumo energético semanal foi calculado pela multiplicação da quantidade de dieta ingerida durante a gestação e lactação pelo valor energético de cada dieta experimental, além dos macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios). Foi calculado também o consumo relativo, que representa a razão entre o consumo absoluto e o peso do animal, além dos cálculos de conversão alimentar (CA) e eficiência energética (EE) (Cavalcante *et al.*, 2013).

5.4.3 Glicemia de jejum

A glicemia de jejum foi realizada no 14º dia de gestação, os animais foram submetidos a jejum de 12 h, a partir das 18 h, às 06 h da manhã a amostra de sangue eram coletadas, por meio de corte na extremidade da cauda do animal, para determinação da concentração de glicose sanguínea. Para a determinação da glicemia, as análises foram realizadas imediatamente com o glicosímetro *Accu-check Performa®*.

5.4.4 Indicadores murinométricos

Para obtenção dessas medidas foram utilizadas fita métrica inextensível e régua ou paquímetro digital (Jomaraca®). As medidas referentes a circunferência torácica e abdominal serão embasadas no protocolo de Novelli *et al.* (2007). Foi realizada além das circunferências o eixo longitudinal e comprimento da cauda, nos 7º, 14º, 21º, 30º, 60º e 90º dias.

5.4.5 Condição fisiológica da eutanásia

No dia da eutanásia todos os animais foram submetidos à jejum de 4 h, seguida de alimentação por 2 h antes da eutanásia, para garantir que todos permanecessem na mesma condição fisiológica, no estado alimentado, ou seja, em fase de anabolismo, para garantir resultados precisos e estimulação da via de sinalização de síntese proteica.

5.4.6 Coleta das amostras

Aos 90 dias de idade, os filhotes foram eutanasiados por decapitação. Foi então realizada a coleta das amostras do músculo extensor longo dos dedos (EDL) por meio de uma incisão na face lateral das patas posteriores e seccionados nos tendões, algumas amostras desses músculos foram congeladas no -80 °C para as análises de *Western blotting* e histologia, outras foram utilizadas para peso úmido e seco. Bem como, foram coletadas amostras de tecido adiposo epididimal e retroperitoneal para análise da massa.

5.4.7 Massa muscular úmida e seca

Foi aferida a massa úmida e seca do músculo EDL. O músculo foi isolado por incisão dos tendões proximais e distais do mesmo, pesados para verificação da massa úmida e posteriormente colocados em estufa a 60 °C. Após 72 h, os músculos foram pesados e os valores expressos foram normalizados pelo comprimento da tíbia do animal. Outra parte da amostra teve os músculos coletados e armazenadas a -80 °C para as análises moleculares.

5.4.8 Histologia do músculo esquelético

Durante a eutanásia, as amostras de tecido muscular (EDL) foram congeladas com auxílio de n-hexano e armazenadas a -80 °C. A preparação das lâminas foi realizada a partir de cortes seriados na porção central do músculo EDL, na espessura de 8 µm, utilizando criostato em temperatura de 32 °C (Leica CM 3050, Weitzlar, Alemanha), corados com hematoxilina/eosina (HE) para análise da área transversa das fibras musculares. Os campos microscópios foram obtidos por meio do microscópio óptico ZEISS modelo Primostar3 (objetiva 20x), acoplado ao programa para captação de imagens da ZEISS (versão 4.8.1.0, Carl Zeiss Imaging Solutions, Jena, Alemanha). Para o processamento das imagens obtidas foi utilizado o mesmo programa. Foram mensuradas as áreas de 30 fibras musculares em cada imagem, totalizando 150 fibras por músculo (Bodine; Baar, 2012; Marzuca-Nassr *et al.*, 2016).

5.5 Análises moleculares

5.5.1 Western blotting

As amostras dos músculos esqueléticos foram homogeneizadas em tampão de extração contendo antiproteases e antifosfatases. O tecido foi homogeneizado em solução tampão para extração de proteínas contendo ácido diaminoetanotetraacético (EDTA) 10 mM, Tris-Base 100 mM, pirofosfato de sódio 10 mM, fluoreto de sódio 100 mM, ortovanadato de sódio 10 mM, PMSF (fenilmetilsulfonilfluoreto) 2 mM e aprotinina 0,01 mg/mL. O conteúdo total de proteínas foi medido pelo método de Bradford (1976). Quantidades iguais (30 g) de proteína das amostras foram separadas por eletroforese

em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE - *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*), as proteínas do gel foram transferidas para membranas de nitrocelulose.

Essas por sua vez, foram incubadas com anticorpo primário específico e em seguida com anticorpo secundário ligado a uma peroxidase. Os anticorpos primários utilizados foram: p-Akt em Ser 473 (9271), Akt (9272), rpS6 (2217). O anticorpo secundário utilizado foi HRP-*conjugated antibody anti-rabbit* (Millipore, Temecula, CA, EUA). A luminescência foi detectada pelo equipamento de captura de imagens *ChemiDoc* (Biorad) e a análise das bandas foram quantificadas pelo *software Image G*, sendo normalizadas pelo controle interno de proteína da amostra (utilizando o corante Ponceau) (De Vasconcelos *et al.*, 2022).

5.6 Análise estatística

As variáveis contínuas do trabalho foram testadas quanto à normalidade utilizando o teste de *Shapiro-Wilk*. Quando as variáveis apresentaram distribuição normal, foram aplicados os testes paramétricos e no caso contrário, foram tratadas com testes não paramétricos. Em ambos os casos os resultados foram apresentados a média e o erro padrão da média (e.p.m.).

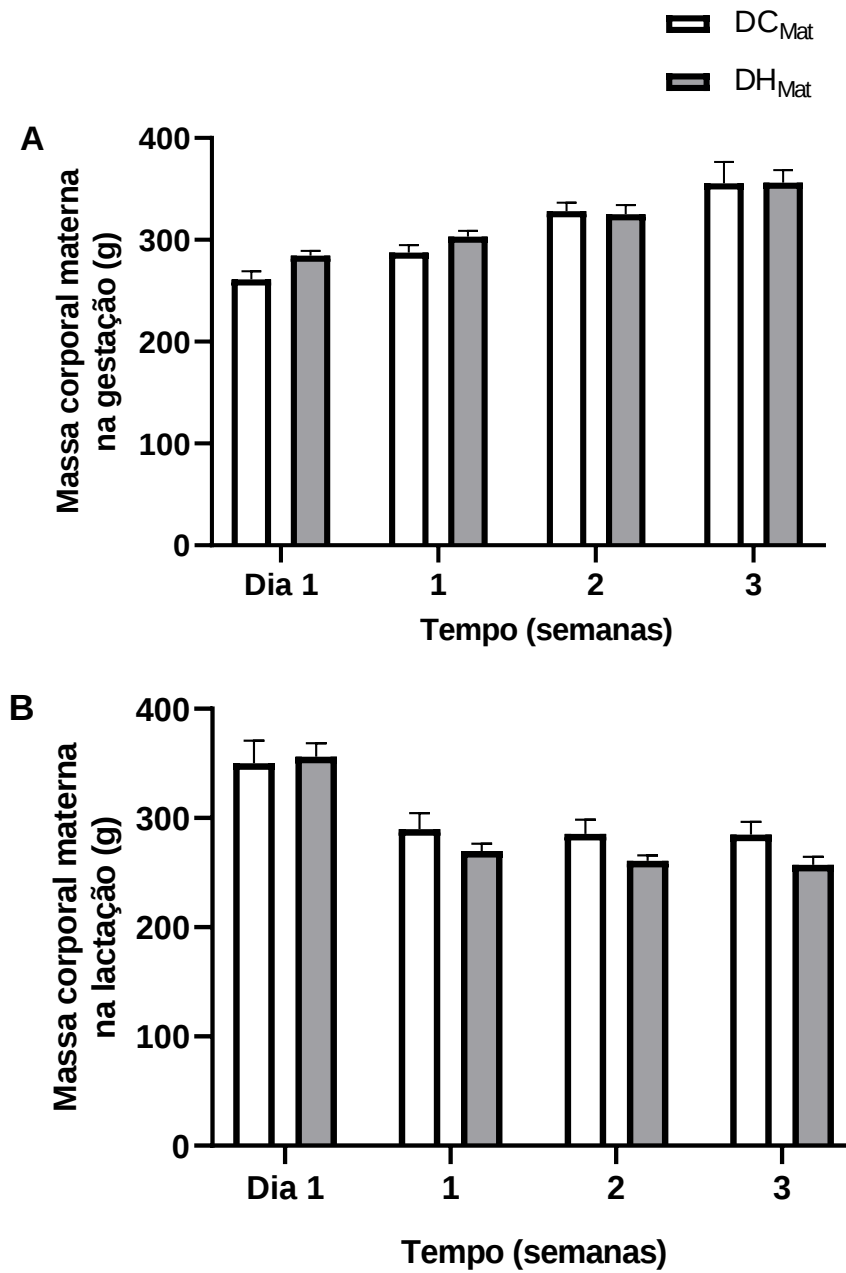
Para comparação de dados paramétricos entre dois grupos empregou-se o teste *t* de *Student*, e em caso de medidas repetidas em função do tempo foi usado o teste análise de variância ANOVA *two-way*, seguida pelo pós-teste de *Holm-Sidak*. Para comparação de dados não paramétricos entre dois grupos usou-se o teste de *Mann-Whitney*. Para análise da área de secção transversa dos músculos utilizou-se o teste de normalidade de *Anderson-Darling*. A tabulação dos dados foi realizada no programa *Microsoft Excel*® e a análise foi realizada pelo programa *GraphPad Prism*® 9.0. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando $p \leq 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 Efeitos da dieta hipoproteica na massa corporal materna

Durante o período de gestação, com relação ao peso corporal materno, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos dieta controle materna (DC_{Mat}) e dieta hipoproteica materna (DH_{Mat}), em todo o intervalo analisado (Figura 4A). Resultado semelhante foi observado durante a lactação (Figura 4B).

Figura 4 – Massa corporal média semanal das ratas do grupo materno durante a gestação (A) e a lactação (B).



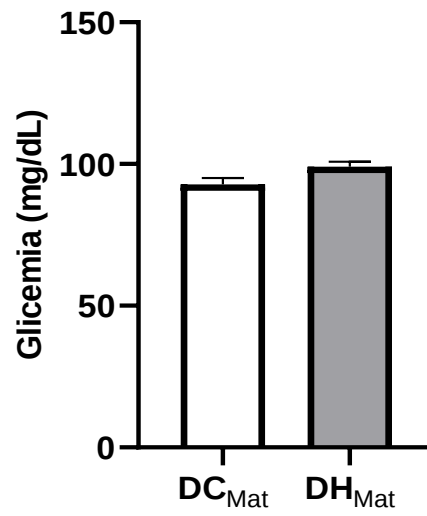
As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 6/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

6.2 Efeitos da dieta hipoproteica na glicemia materna

No que se refere a glicemia de jejum materna no 14º dia gestacional, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos (Figura 5).

Figura 5 – Glicemia de jejum aos 14 dias nos grupos DC_{Mat} e DH_{Mat}.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente (n = 6/grupo). Teste de *Mann-Whitney*. $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

6.3 Efeitos da dieta hipoproteica no consumo alimentar materno

Em relação ao consumo alimentar relativo durante gestação, foram observadas diferenças entre os grupos na segunda semana, onde o grupo DH_{Mat} apresentou consumo relativo menor que o DC_{Mat} (10,4%), como observado abaixo (Figura 6A).

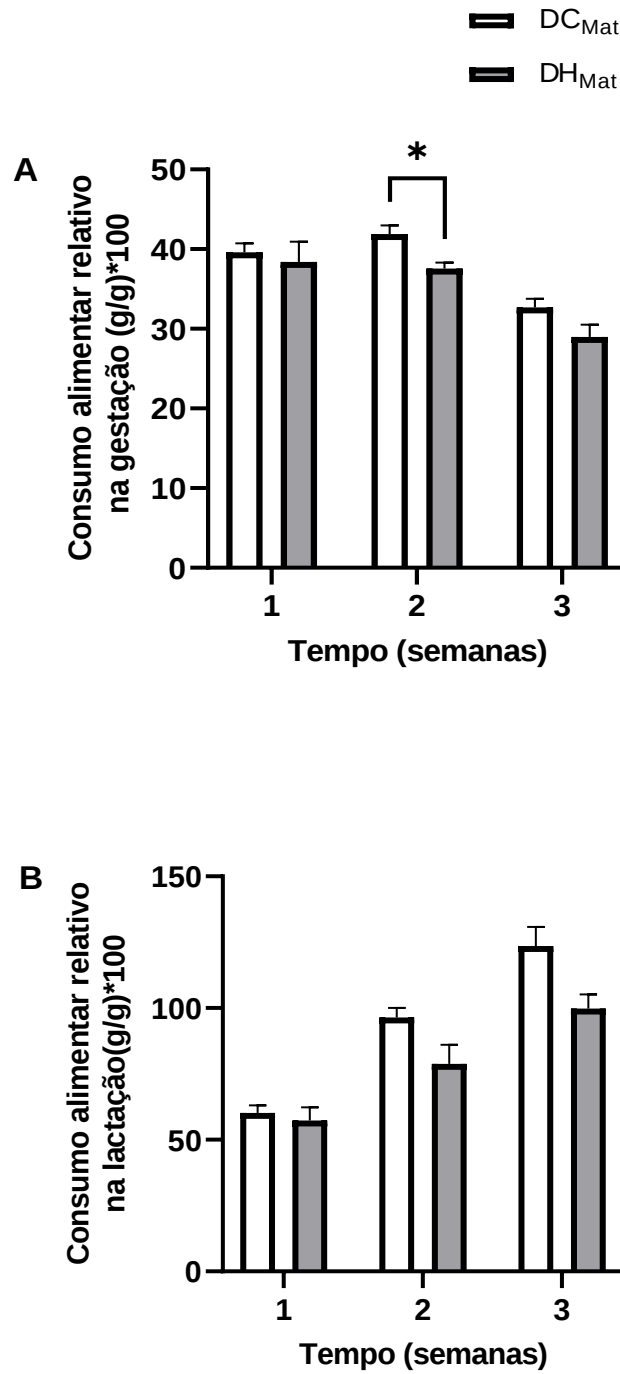
Quanto ao consumo alimentar relativo (Figura 6B) durante a lactação, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos em nenhuma das semanas analisadas.

Com relação ao consumo energético (Figura 7A), consumo de carboidratos (Figura 7B) e consumo de lipídios (Figura 7D), não foram observadas diferenças entre os grupos. Porém, o consumo de proteínas, o grupo de dieta hipoproteica materna apresentou consumo proteico menor, quando comparado ao grupo dieta controle materna (Figura 7C) em todo período. Na 1ª semana (55,4%), na 2ª semana (59,3%) e na 3ª semana (59,5%), esse resultado condiz com o esperado após oferta de dieta baixa em proteínas durante a gestação.

Já durante o período de lactação, não houve diferença entre os grupos DC_{Mat} e DH_{Mat} durante as 1ª e 2ª semanas, porém na 3ª semana, o grupo DH_{Mat} apresentou menor consumo energético que o grupo DC_{Mat} (21,7%) (Figura 8A). Não houve diferenças significantes no consumo de carboidratos em ambos os grupos (Figura 8B). O consumo de proteínas, assim como ocorreu durante a gestação, foi menor em todas as semanas da lactação 1ª semana (56,4%), 2ª semana (62,5%) e 3ª semana (65,2%) (Figura 8C). No consumo de lipídios não houve diferença na primeira e segunda semana, porém na terceira semana, ocorreu a redução do consumo de lipídios no grupo DH_{Mat} em comparação ao DC_{Mat} (21,6%) (Figura 8D).

Após a realização do cálculo de conversão alimentar (Figura 9A-B) e eficiência energética (Figura 10A-B) durante a gestação e lactação, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos.

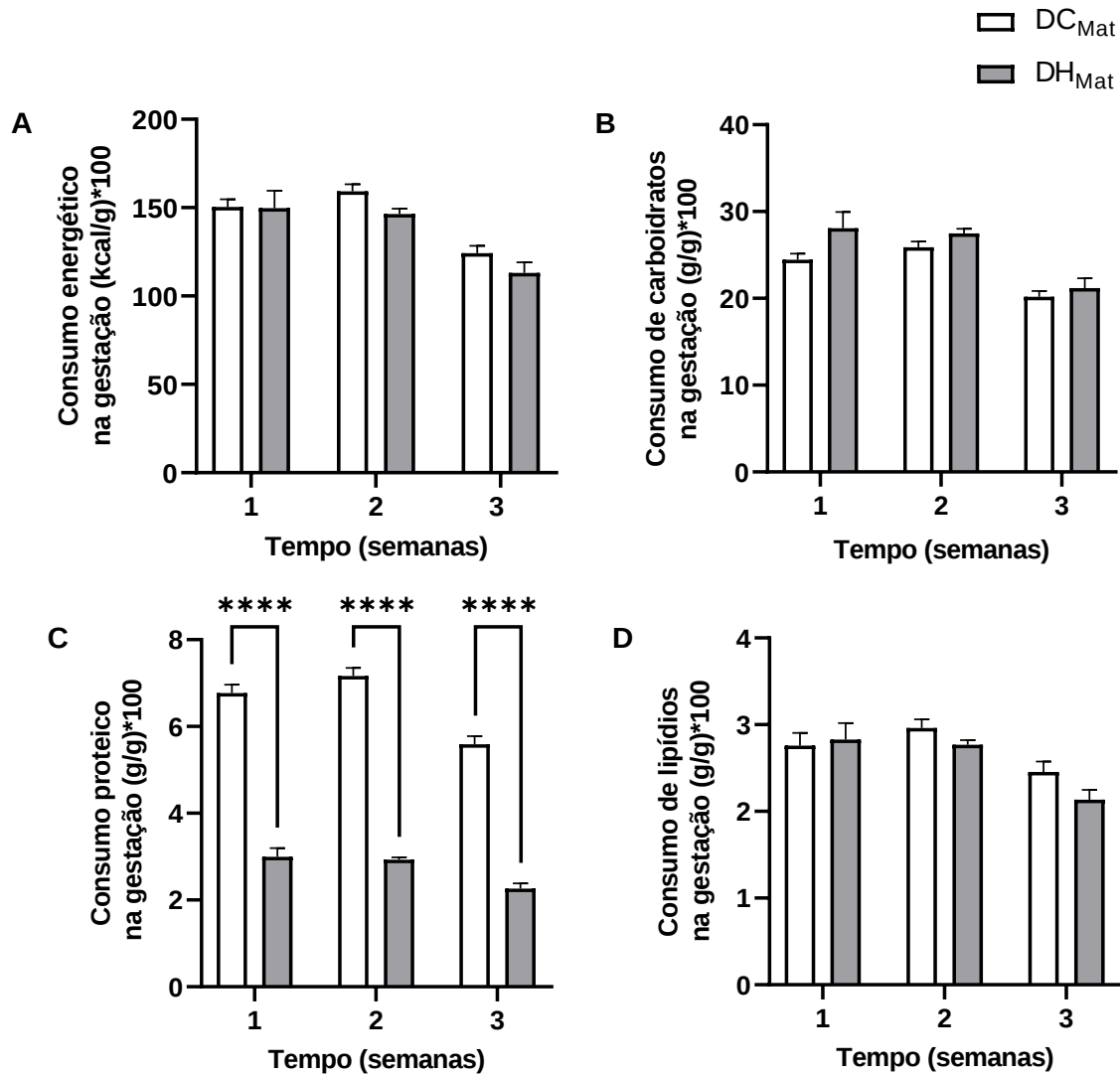
Figura 6 – Consumo alimentar semanal relativo durante a gestação (A) e lactação (B).



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente (n = 6/grupo). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. * $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

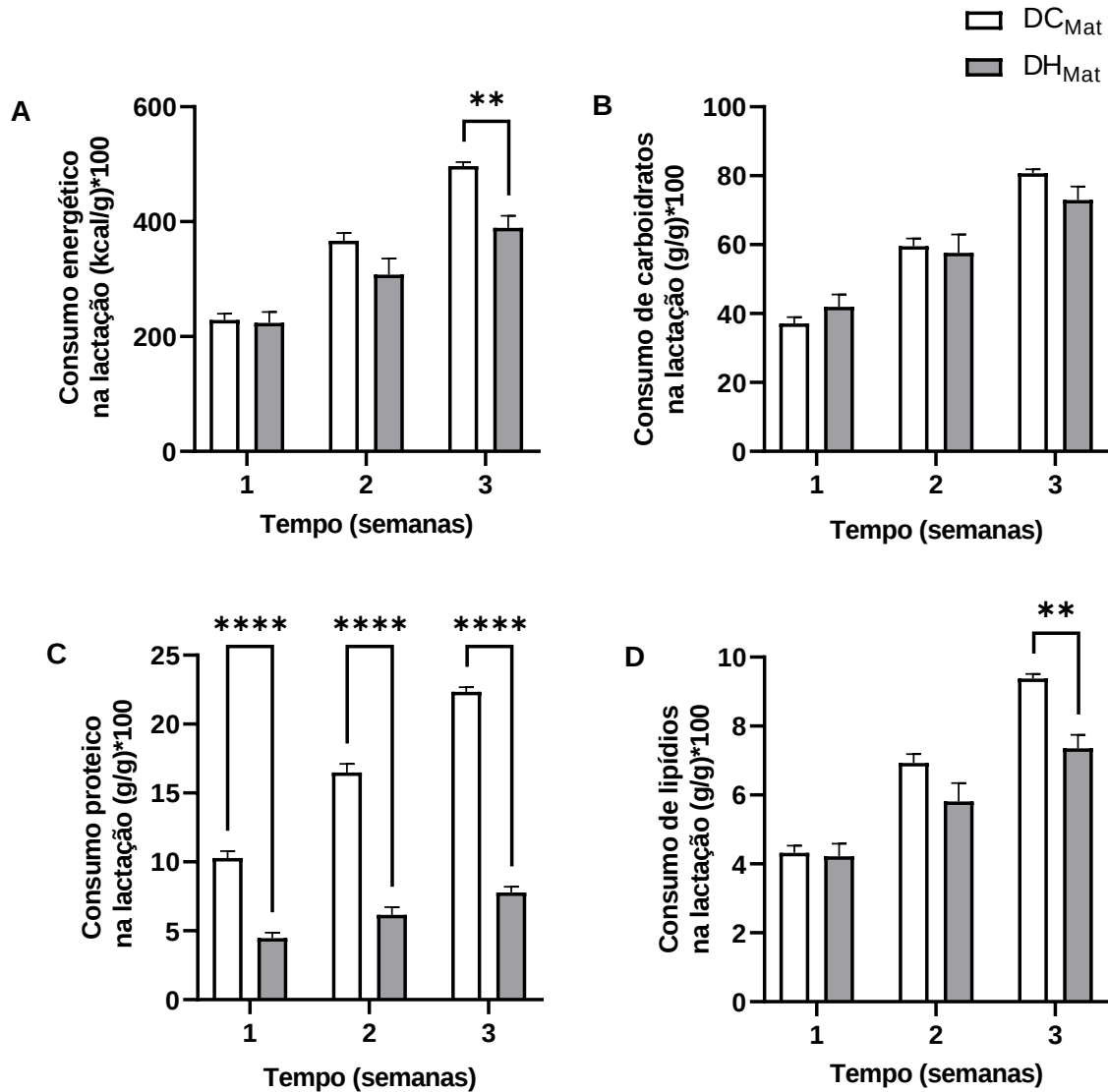
Figura 7 – Ingestões relativas energética (A), de carboidratos (B), proteica (C) e lipídica (D) no período de gestação.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 6/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. **** $p < 0,0001$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

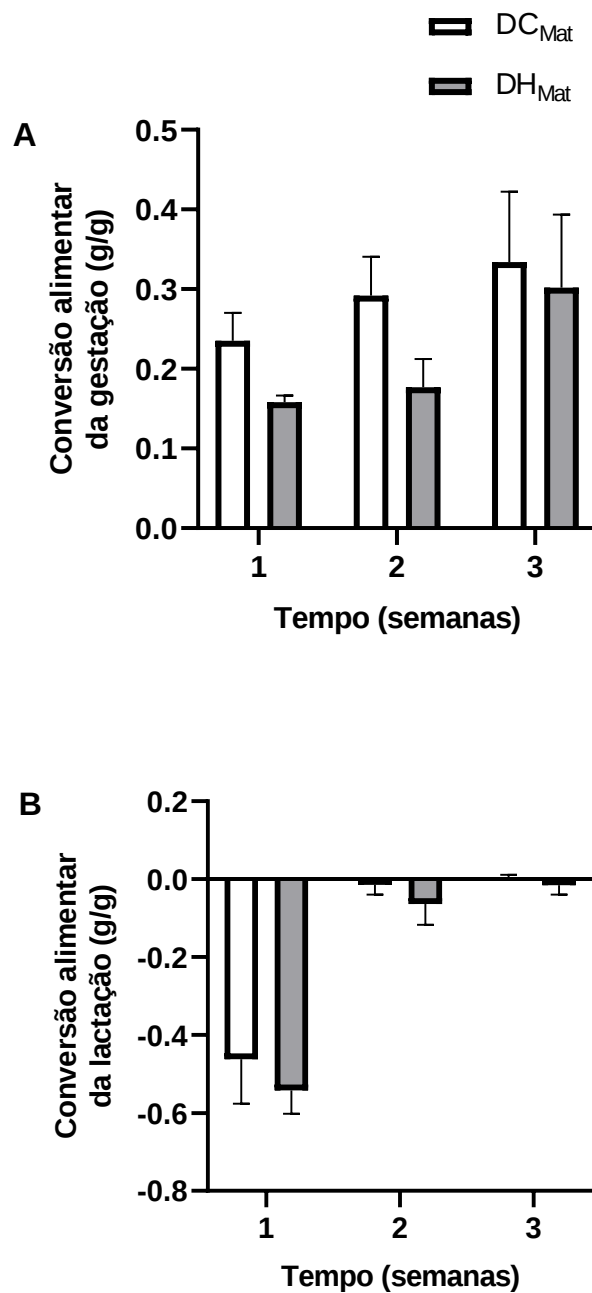
Figura 8 – Ingestões relativas energética (A), de carboidratos (B), proteica (C) e lipídica (D) no período de lactação.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente (n = 6/grupo). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. ** $p < 0,01$ e **** $p < 0,0001$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

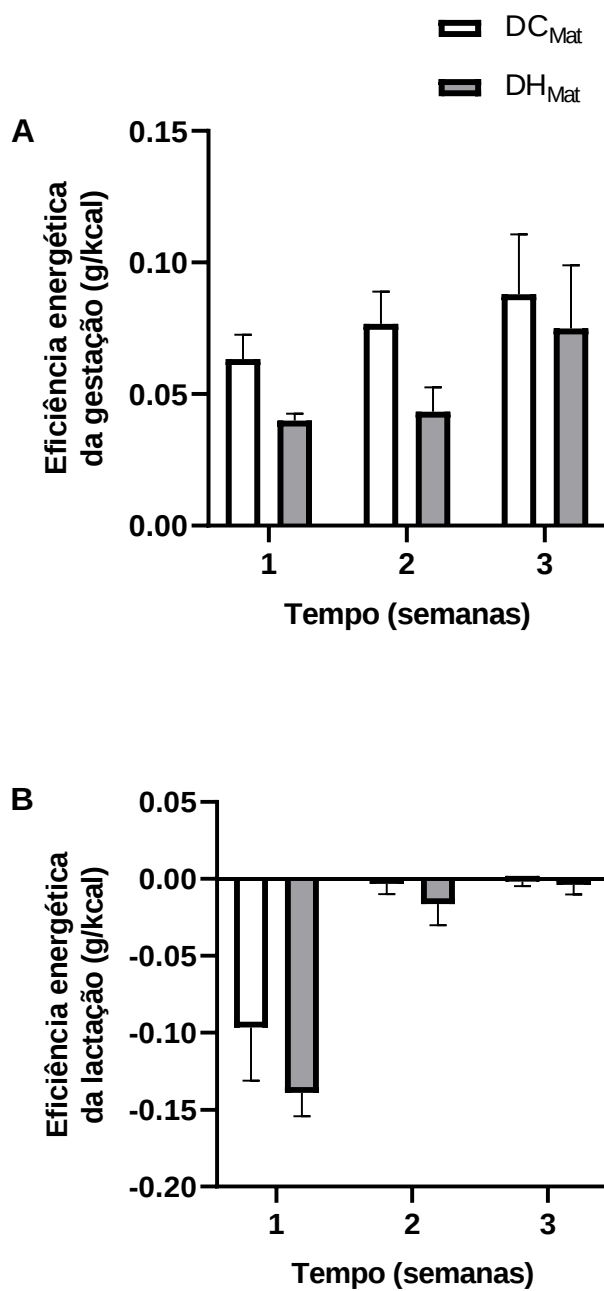
Figura 9 – Conversão alimentar materna durante a gestação (A) e a lactação (B).



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 6/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

Figura 10 – Eficiência energética materna durante a gestação (A) e a lactação (B).



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 6/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

6.4 Efeitos da dieta hipoproteica materna no desenvolvimento e composição corporal da prole

Quanto a massa diária da prole durante o período de lactação, dos sete aos 21 dias, de forma geral, o peso do grupo DH_{Mat} foi menor que no grupo DC_{Mat} em todo período, sendo a diferença de peso de 22% no 1º dia e (32,4%) no 21º dia da lactação (Figura 11A).

Na massa semanal da prole pós desmame, o grupo DH_{Mat} apresentou menor peso em comparação do grupo DC_{Mat} no 35º dia (17,9%), 42º dia (22,3%), 49º dia (20,2%) e 90º dia (11,6%) pós desmame (Figura 11B).

No que se diz respeito aos indicadores murinométricos, parâmetro bastante utilizado para verificar desenvolvimento, a circunferência torácica da prole apresentou-se menor no grupo DH_{Mat} em comparação com o DC_{Mat} no 7º (10,7%), 14º (4,7%), 21º (12,2%) e 90º (9,7%) dias (Figura 12A).

Os resultados da circunferência abdominal foram semelhantes ao da circunferência torácica, os animais do grupo DH_{Mat} apresentaram circunferência abdominal menor que o DC_{Mat} nos 7º (11,3%), 14º (12%), 21º (21,2%) e 30º (9,2%) dias de idade (Figura 12B).

O eixo longitudinal foi menor no grupo DH_{Mat} em comparação ao DC_{Mat} no 7º (10,8%), 14º (10,4%), 21º (16,3%), 30º (10%), 60º (11,9%) e 90º (6,9%) dia (Figura 13A).

Quanto ao comprimento da cauda o grupo DH_{Mat} apresentou redução no tamanho da cauda em comparação ao grupo DC_{Mat} no 21º (13,7%), 60º (11,8%) e 90º (9,6%) dias (Figura 13B). Esses indicadores murinométricos em conjunto com os dados de peso, principalmente durante a lactação, sugerem que a dieta hipoproteica materna prejudica o crescimento e desenvolvimento da prole até os 90 dias.

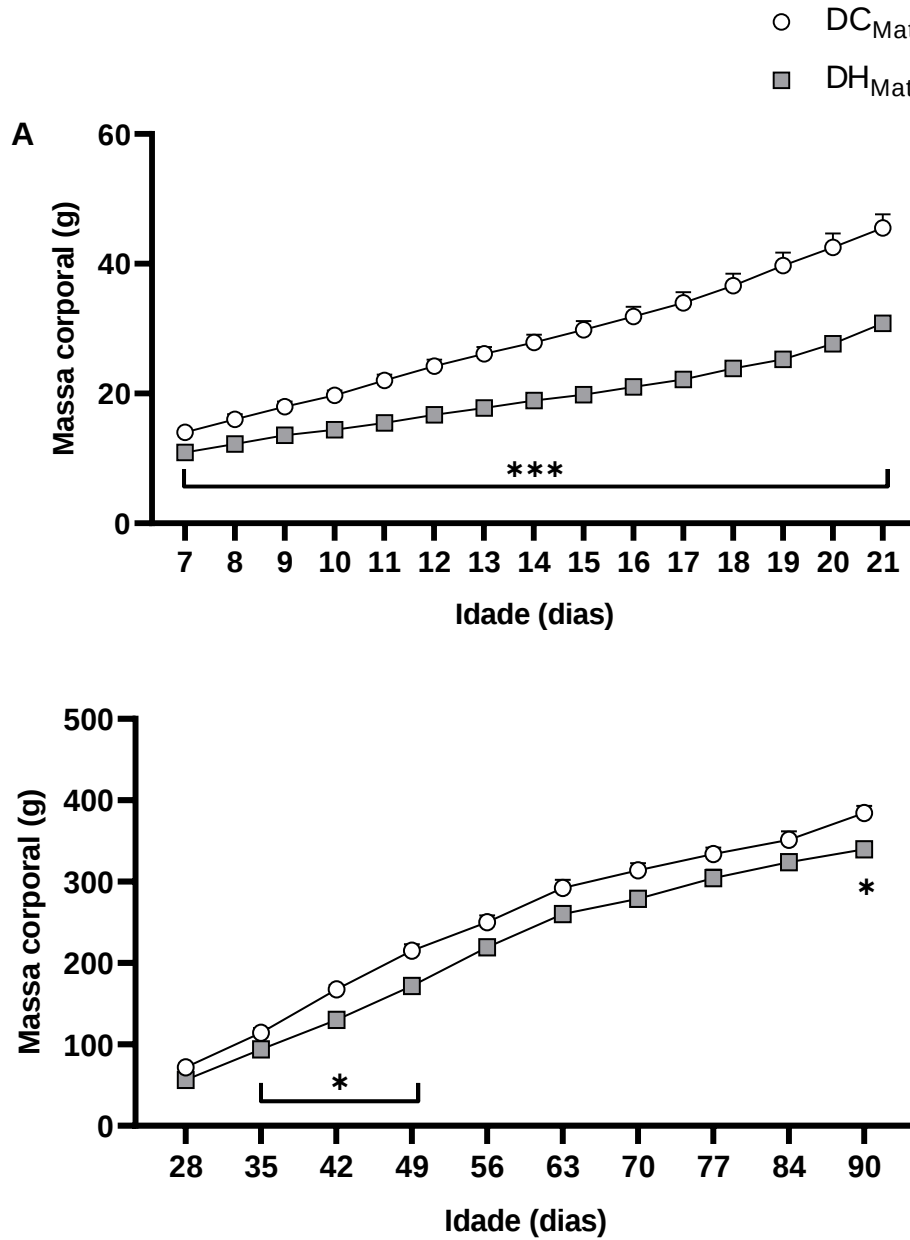
Aos 90 dias de idade da prole, após a eutanásia, foi verificado o peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal, a partir desse dado, foi calculado a massa relativa desses dois tecidos. Não foram identificadas diferenças significantes nas massas relativas dos tecidos adiposos retroperitoneal (Figura 14A) e epididimal (Figura 14B) da prole aos 90 dias de idade.

Na análise de massa úmida do músculo EDL, na prole aos 90 dias de idade, foi observado aumento da massa úmida muscular no grupo DC_{Mat}-PH em relação ao grupo DC_{Mat}-PC (25,2%), porém não foi encontrado diferença significativa entre os

grupos que tiveram a dieta hipoproteica materna. Foi observado também menor massa úmida muscular no grupo DH_{Mat}-PC em relação ao grupo DC_{Mat}-PC (21,4%), evidenciando que a prole dos animais de dieta hipoproteica materna apresenta menos massa muscular que os animais de dieta controle materna. O peso úmido do músculo EDL no grupo DH_{Mat}-PH também foi menor em relação ao grupo DC_{Mat}-PH (28%) (Figura 15).

Quanto a massa seca do músculo EDL na prole aos 90 dias de idade, os resultados foram semelhantes aos de peso úmido. Foi observado aumento da massa seca muscular no grupo DC_{Mat}-PH em relação ao grupo DC_{Mat}-PC (14,4%), porém não foi encontrado diferença significativa entre os grupos que tiveram a dieta hipoproteica materna. e houve uma diminuição no grupo DH_{Mat}-PC em relação ao grupo DC_{Mat}-PC (22,6%). O peso seco do músculo EDL no grupo DH_{Mat}-PH também foi menor em relação ao grupo DC_{Mat}-PH (26,3%), confirmando que houve diminuição na capacidade hipertrófica da prole de animais do grupo dieta hipoproteica materna (Figura 16).

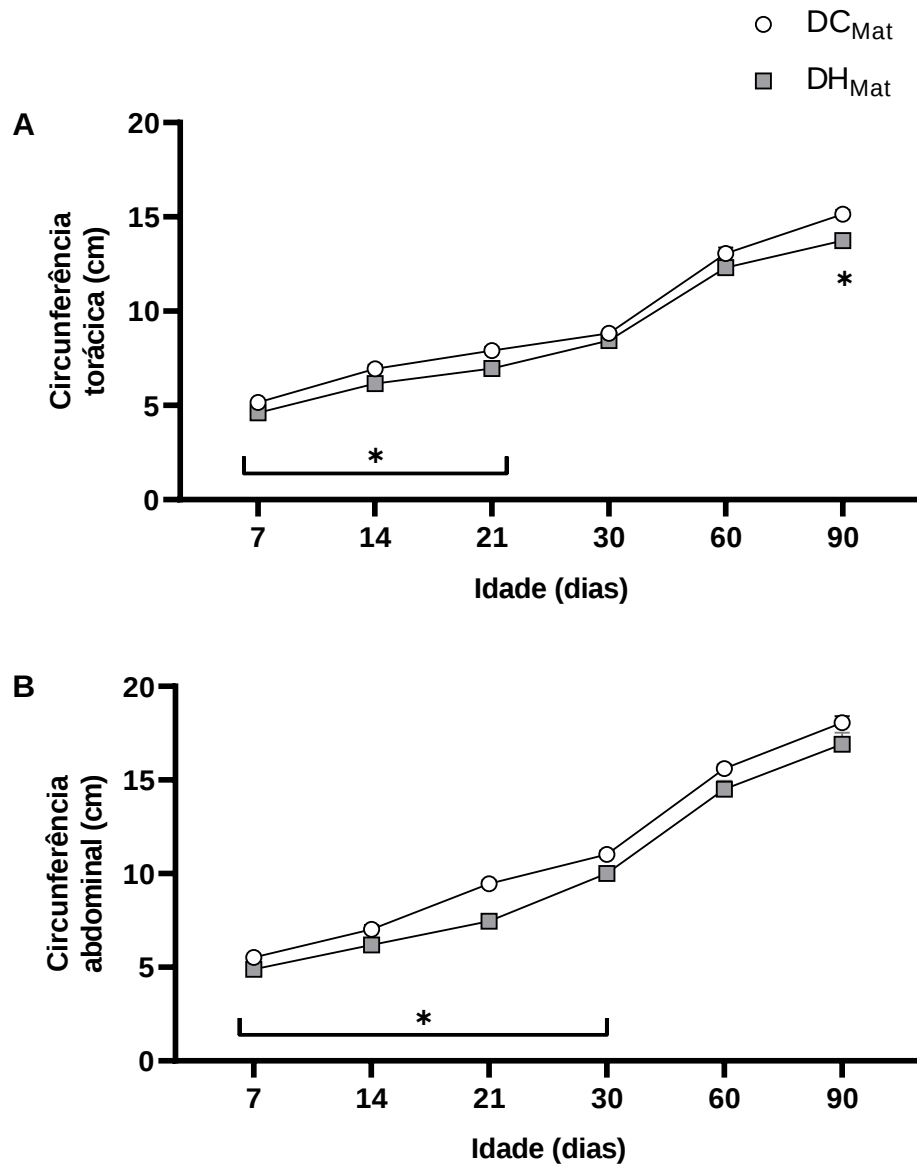
Figura 11 – Massa corporal média da prole dos sete aos 21 (A) e dos 28 aos 90 (B) dias de vida.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente (n = 8/grupo). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

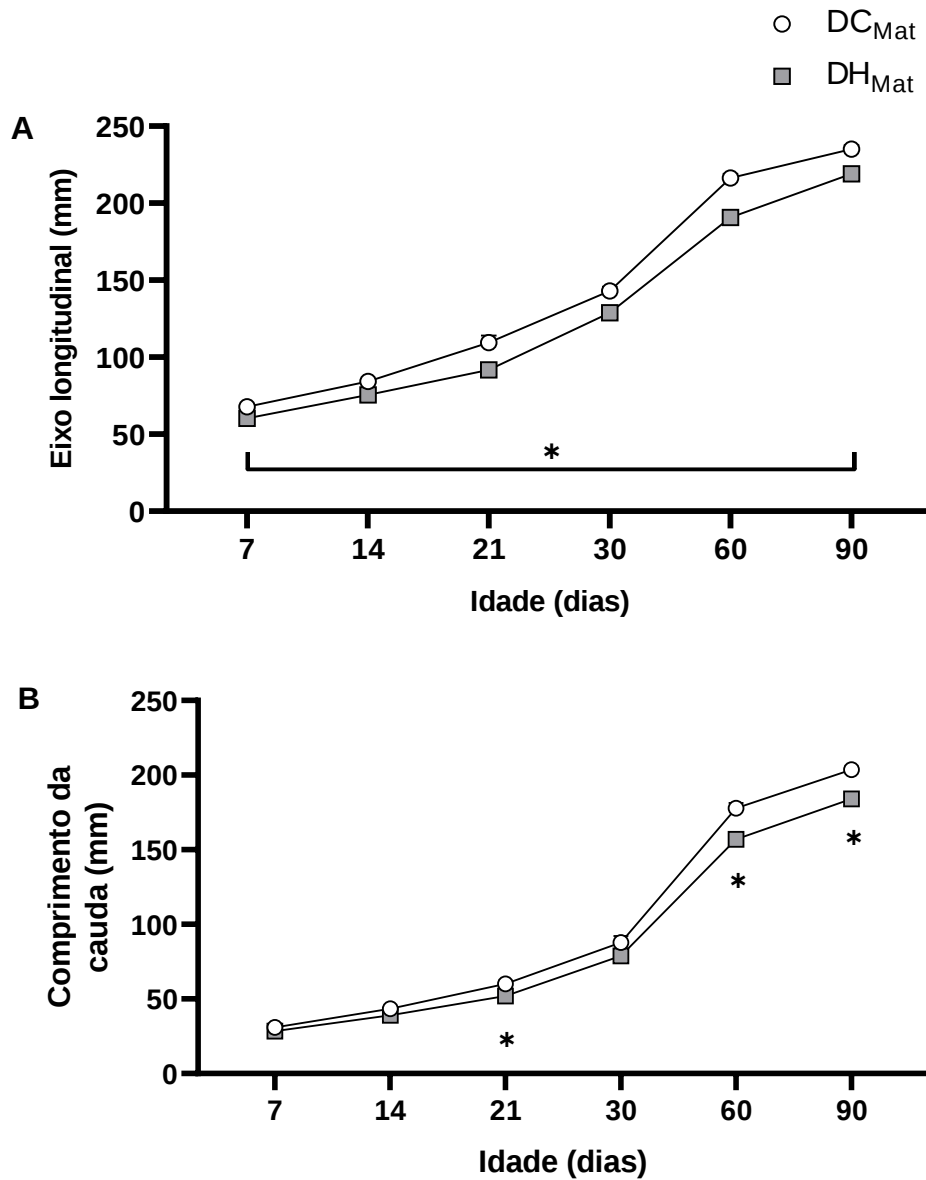
Figura 12 – Circunferências torácica (A) e abdominal (B) da prole dos sete aos 90 dias de vida.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 8/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. * $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

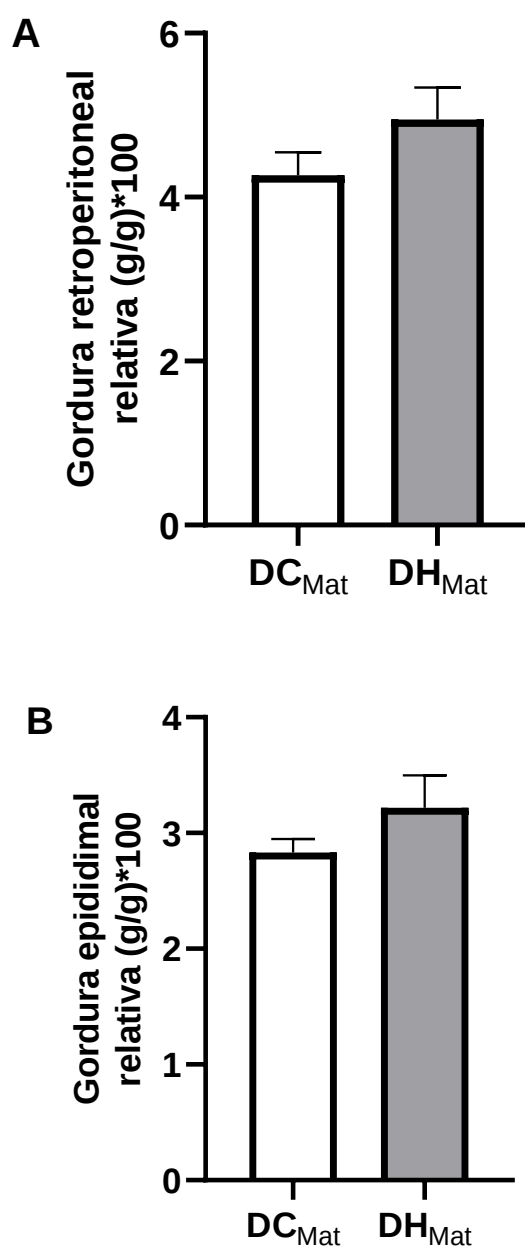
Figura 13 – Eixo longitudinal (A) e comprimento da cauda (B) da prole dos sete aos 90 dias de vida.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 8/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $*p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

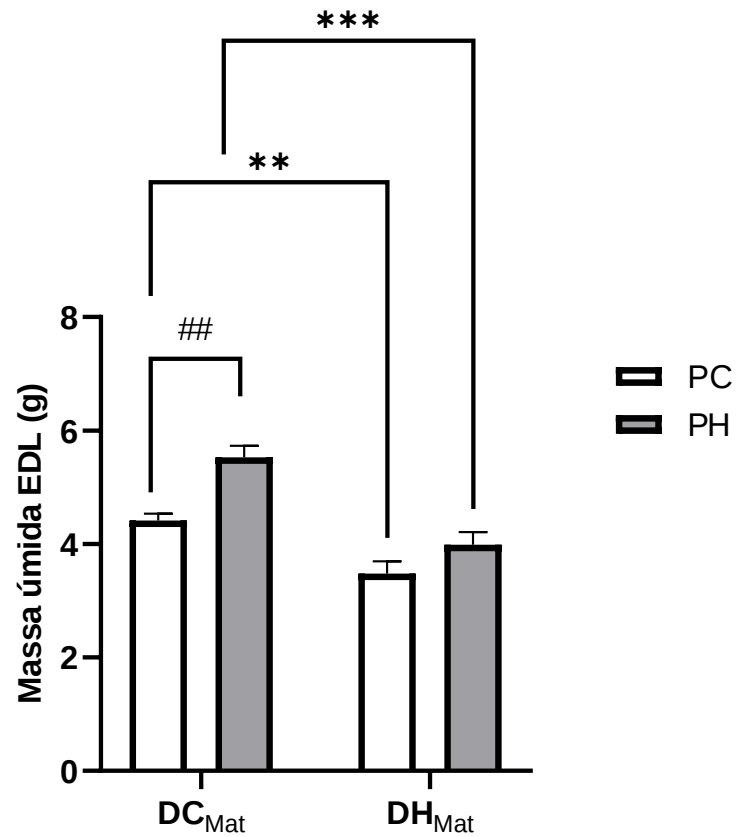
Figura 14 – Massas relativas das gorduras retroperitoneal (A) e epididimal (B) da prole aos 90 dias de vida.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 8/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $*p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna.

Fonte: A autora (2024).

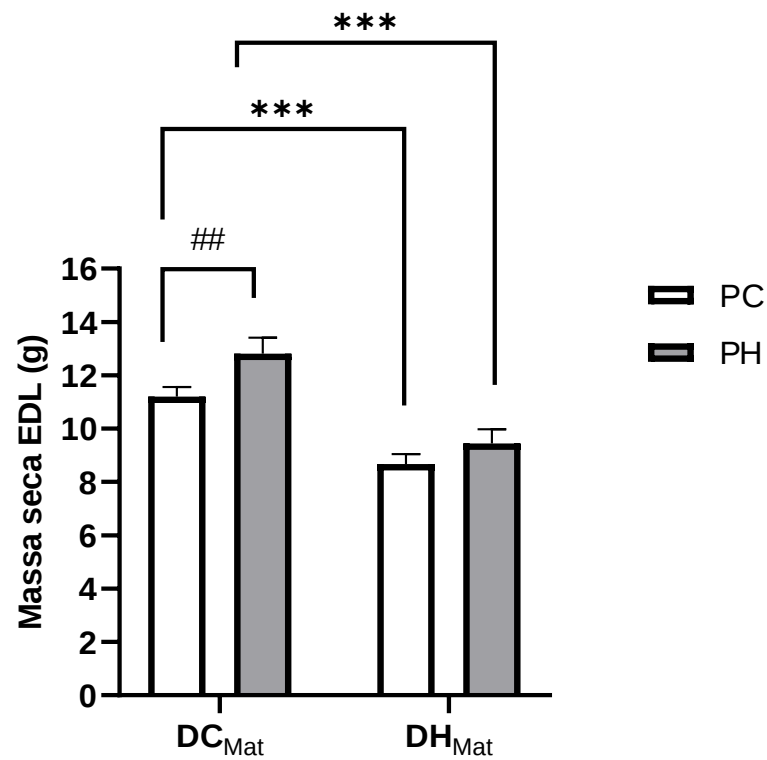
Figura 15 – Massa úmida do músculo EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 8/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $**p < 0,01$ e $***p < 0,001$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). $##p < 0,01$ (DC_{Mat}-PC vs. DC_{Mat}-PH). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna; PC = pata controle; PH = pata hipertrofia.

Fonte: A autora (2024).

Figura 16 – Massa seca do músculo EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade.



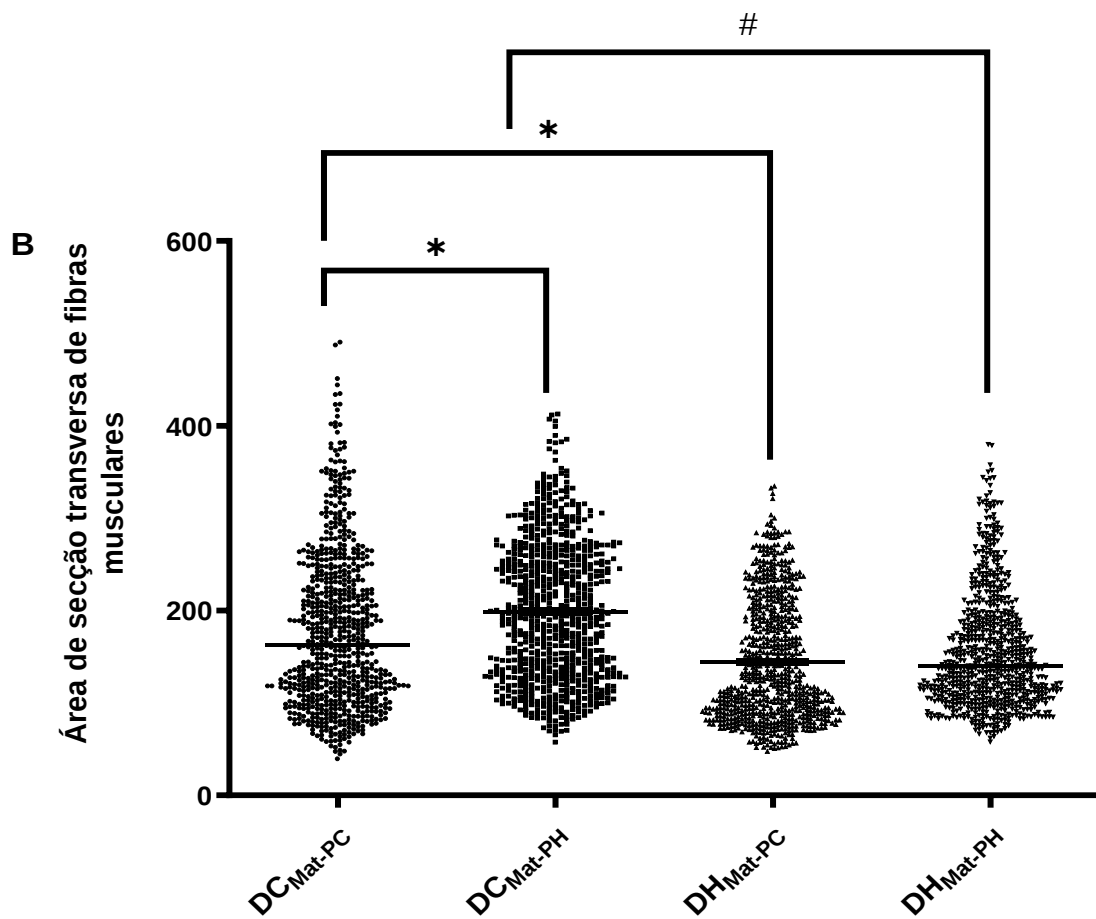
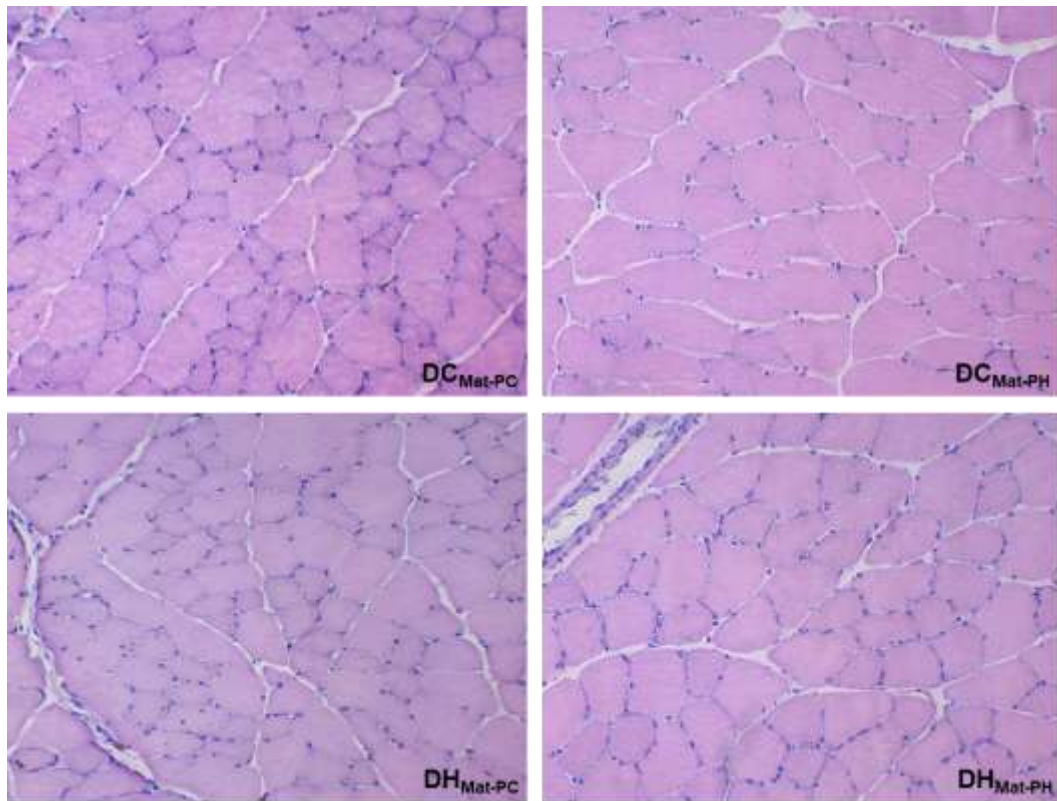
As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 8/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. *** $p < 0,001$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). ** $p < 0,01$ (DC_{Mat}-PC vs. DC_{Mat}-PH). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna; PC = pata controle; PH = pata hipertrofia.

Fonte: A autora (2024).

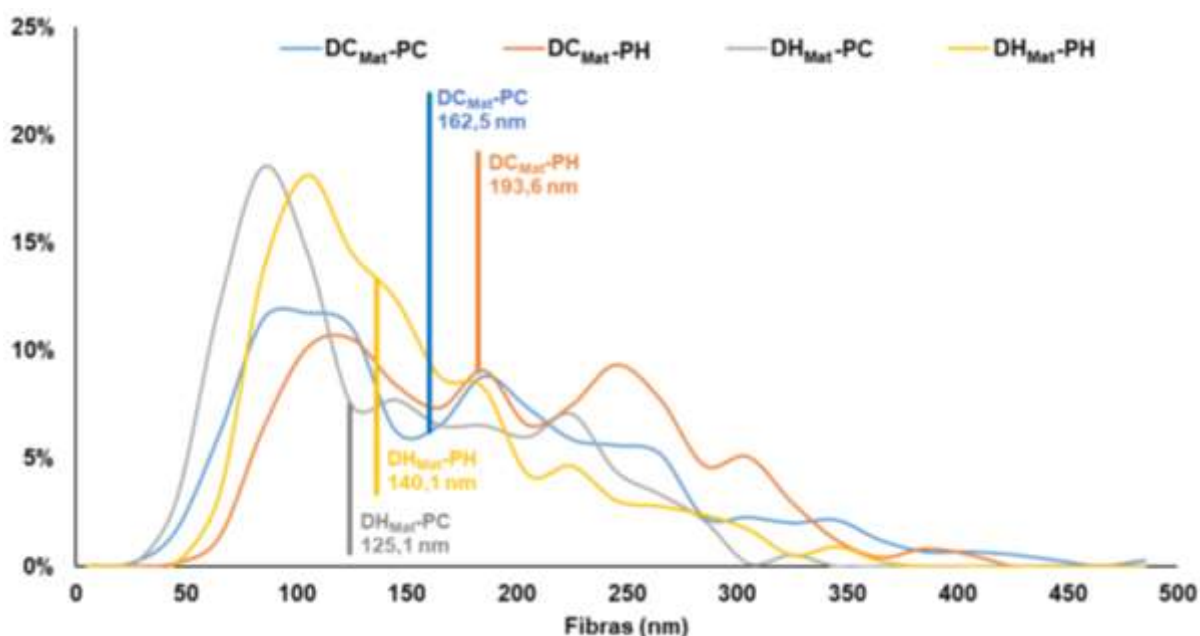
6.5 Efeitos da dieta hipoproteica materna na área de secção transversa das fibras musculares da prole de ratos

Após a realização da histologia do músculo EDL da prole, foi identificado que a prole DC_{Mat}-PH apresentou aumento no tamanho da área das células em comparação ao grupo DC_{Mat}-PC, como era esperado após o protocolo de sobrecarga compensatória, com maior concentração entre 200-350 μm^2 . O grupo DH_{Mat}-PC apresentou redução na área em comparação ao grupo DC_{Mat}-PC, com maior concentração entre 100-200 μm^2 , essa diminuição foi apresentada também relação ao grupo DH_{Mat}-PH em comparação ao grupo DC_{Mat}-PH com maior concentração entre 100-200 μm^2 (Figura 17A-C).

Figura 17 – Microfotografia das áreas de secção transversa dos músculos EDL (**A**), área de secção transversa muscular (**B**) e distribuição da área das fibras musculares (**C**) das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade.



(Continuação)



As colunas e as barras representam a mediana e o percentil de 25 e de 75 para o percentual de distribuição, respectivamente ($n = 5/\text{grupo}$). Aumento na objetiva de 20x, 150 áreas por animal. Teste de normalidade de *Anderson-Darling*. $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat} e DC_{Mat}-PC vs. DC_{Mat}-PH). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna; DC_{Mat}-PC = dieta controle materna pata controle; DC_{Mat}-PH = dieta controle materna pata hipertrofia; DH_{Mat}-PC = dieta hipoproteica materna pata controle; DH_{Mat}-PH = dieta hipoproteica materna pata hipertrofia.

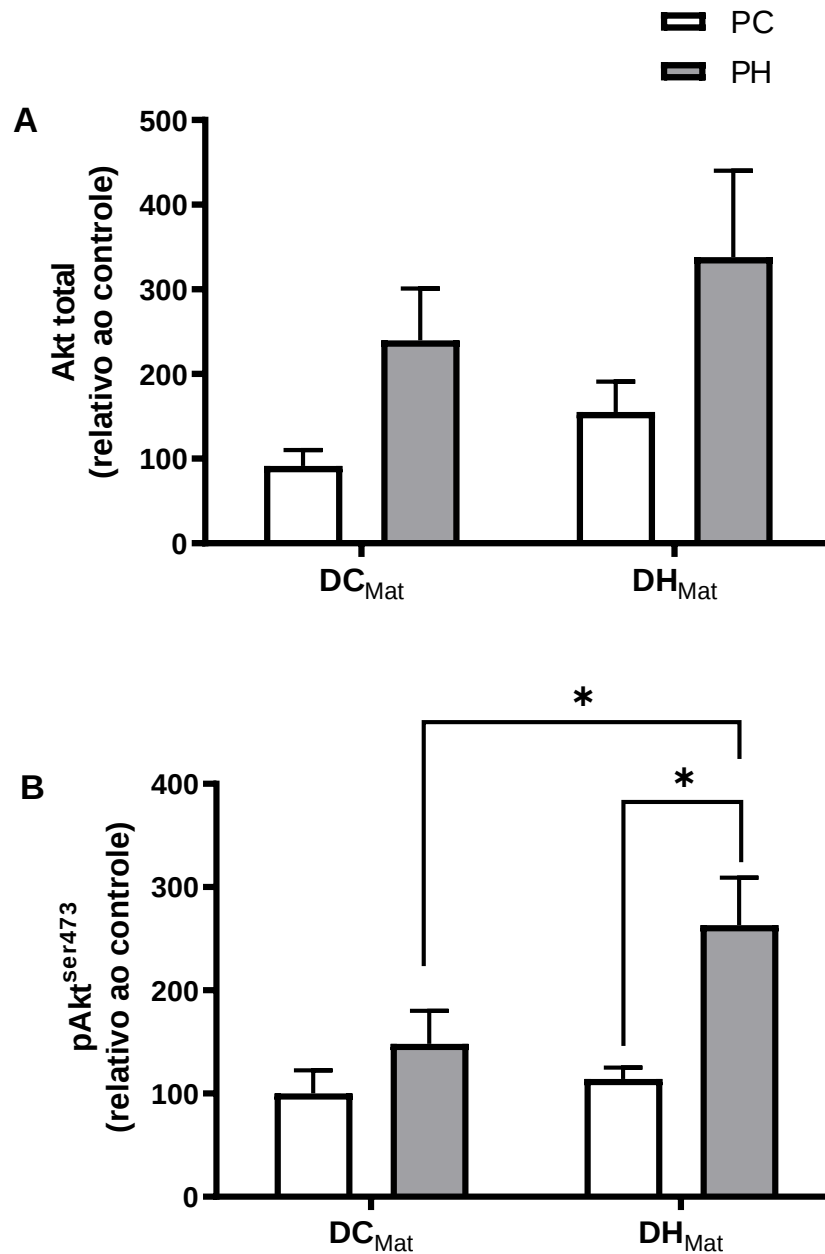
Fonte: A autora (2024).

6.6 Efeitos da dieta hipoproteica materna na expressão e ativação de proteínas da via Akt-mTOR

O fator hipertrofia foi significativo tanto no grupo dieta controle materna e dieta hipoproteica materna para o conteúdo de Akt total no músculo EDL (Figura 18A). O conteúdo da pAkt^{Ser473} aumentou na pata hipertrofia do grupo DH_{Mat} em comparação a pata controle, no grupo DC_{Mat}, após sete dias de sobrecarga compensatória, no grupo DC_{Mat} não houve diferença significativa, entre a pata controle e a submetida a hipertrofia compensatória (Figura 18B). Ao se comparar a pata hipertrofia do grupo dieta hipoproteica materna, com a pata hipertrofia do grupo dieta controle materna, não foram encontradas diferenças significativas no conteúdo de Akt total, quanto ao conteúdo da pAkt^{Ser473} foi maior no grupo dieta hipoproteica materna, quando comparado a pata hipertrofia do grupo dieta controle materna (Figura 18).

Quanto ao conteúdo total de rpS6, não houve diferenças significativas entre os grupos, apesar de se observar tendência ao aumento da expressão dessa proteína, na pata submetida ao protocolo de hipertrofia compensatória (Figura 19).

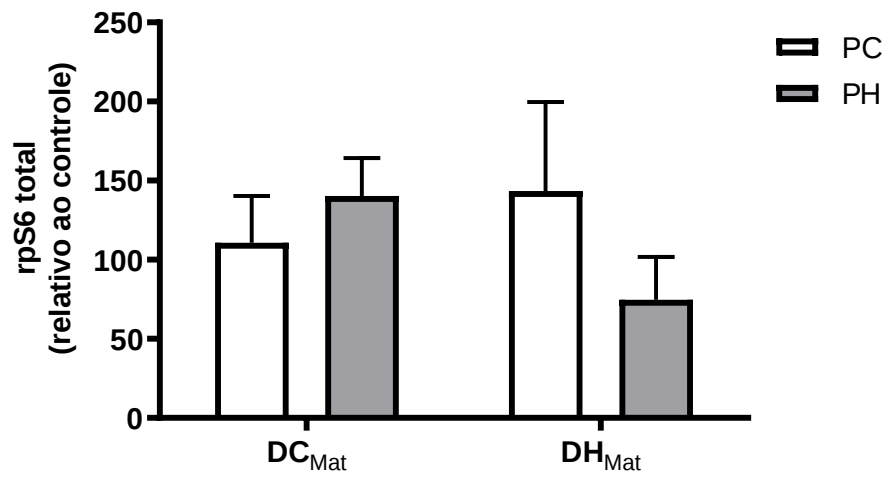
Figura 18 – Conteúdos relativos da Akt total (A) e fosforilada (B) nos músculos EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade.



As colunas e as barras representam a média e o e.p.m., respectivamente ($n = 7/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. * $p < 0,05$ (fator hipertrofia); * $p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna; PC = pata controle; PH_{Mat-PH} = pata hipertrofia.

Fonte: A autora (2024).

Figura 19 – Conteúdos relativos da rpS6 total nos músculos EDL das patas controle e hipertrofia da prole aos 90 dias de idade.



As colunas e as barras representam à média e o e.p.m., respectivamente ($n = 7/\text{grupo}$). ANOVA *two-way*, seguida do pós-teste *Holm-Sidak*. $*p < 0,05$ (DC_{Mat} vs. DH_{Mat}). DC_{Mat} = dieta controle materna; DH_{Mat} = dieta hipoproteica materna; PC = pata controle; PH_{Mat-PH} = pata hipertrofia.

Fonte: A autora (2024).

7 DISCUSSÃO

O presente estudo, avaliou as repercussões, do consumo de uma dieta hipoproteica durante a gestação e lactação, sobre o desenvolvimento, crescimento e os efeitos dessa dieta na capacidade hipertrófica e via Akt-mTOR no músculo EDL da prole adulta de ratos. Já foi evidenciado na literatura que uma dieta hipoproteica durante os períodos críticos do desenvolvimento, pode levar a prejuízos no crescimento e desenvolvimento (Mohammed *et al.*, 2023; Barros *et al.*, 2006; Desai *et al.*, 1996). Apesar do grande número de estudos, que demonstram os efeitos de uma dieta materna pobre em proteínas, na prole de ratos durante a idade adulta, este estudo, foi o primeiro a demonstrar que a dieta hipoproteica materna levou a redução da capacidade hipertrófica e foi capaz de modular a via sinalização da via Akt-mTOR no músculo EDL em ratos com 90 dias de idade.

Durante o período gestacional o ganho de peso materno, tem como objetivo principal, acumular as reservas energéticas para o período embrionário (Clapp, 2006). Na gestação e lactação, não foram observadas diferenças no peso corporal materno, sendo assim durante a gestação as mães de ambos os grupos apresentaram aumento semelhante na massa corporal, bem como no período de lactação apresentaram redução semelhante na massa corporal (Figura 4). Essa semelhança no peso materno dos dois grupos, também foi observada nos estudos de Rodford *et al.* (2008) e Takemori *et al.* (2013), esse resultado pode estar correlacionado ao fato de ambas as dietas serem isocalóricas. No presente estudo, a glicemia materna de jejum no 14º dia de gestação não apresentou diferenças estatísticas entre os grupos (Figura 5). Diferentemente de outros estudos que demonstraram que uma dieta materna baixa em proteínas aumentou a glicemia de jejum durante a gestação, embora nesse trabalho não tenha sido realizado análises das células beta pancreáticas, provavelmente, o tempo de exposição à dieta, nos animais, não foi suficiente para promover hiperglicemia materna, bem como a espécie animal diferente pode ter influenciado. já que o estudo de Mohammed *et al.*, 2023 não utilizou ratos da linhagem *wistar*. Esses estudos apontam, que a alteração da glicemia materna poderia estar relacionada a uma possível dessensibilização à insulina, e aumento nos níveis de insulina, o que é compatível com resistência à insulina (Mohammed *et al.*, 2023; Sparre *et al.*, 2003; Ozanne *et al.*, 2003).

Com relação ao consumo alimentar durante a gestação, a dieta hipoproteica reduziu o consumo alimentar nas mães na segunda semana de gestação, já durante a lactação o consumo alimentar dos dois grupos apresentou-se semelhantes e sem diferenças estatísticas (Figura 6). Com relação ao consumo energético e de macronutrientes durante a gestação, tanto o consumo energético, quanto de carboidratos e lipídios não apresentaram diferenças entre os grupos, já o consumo de proteínas foi diminuído no grupo DH_{Mat} em relação do grupo DC_{Mat}, devido a manipulação dietética restrita em proteínas oferecida aos animais nesse período (Figura 7). Durante a lactação, além da diminuição do consumo de proteínas do grupo DH_{Mat} em todo período, houve também diminuição do consumo energético e de lipídios na 3ª semana da lactação nos animais desse grupo em relação ao controle (Figura 8). Já foi demonstrado anteriormente que ratas alimentadas com dieta hipoproteica durante a lactação com diminuição severa na relação proteína ou energia, apresentaram distúrbio no comportamento alimentar com redução de até 50% do consumo diário de ração (Ramos *et al.*, 2000).

Uma das explicações para essa redução da ingestão alimentar é que a dieta hipoproteica pode alterar o controle do comportamento alimentar em ratos, através de processos que envolvem o controle da saciedade, sendo que a regulação da ingestão alimentar envolve principalmente o recrutamento de uma variedade de sistemas periféricos de saciedade que tentam diminuir o sistema central de comando alimentar (Cambraia; Vannucchi; De Oliveira, 1997; Nascimento *et al.*, 2013). Outra questão da diminuição especificamente na 3ª semana, pode ser explicada pelo fato de que, nessa idade a prole de DC_{Mat} já consegue acesso a dieta e começa a consumi-la, enquanto a prole de DH_{Mat}, por ser menor apresenta maior dificuldade de acesso ao consumo da ração.

No que se refere aos cálculos de conversão alimentar e eficiência energética, tanto na lactação, quanto na gestação, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos nos resultados desse estudo, confirmando que as mães de dieta hipoproteica não reduziram a eficiência de ganho de peso na gestação e lactação (Figuras 9-10). Este cálculo demonstra o quão é eficiente a utilização de energia que pode ser fornecida pela dieta a um organismo (Gillian; Mccracken, 1984). A massa corporal da prole durante todo período da lactação e em alguns dias pós desmame, até os 90 dias de idade, foi menor no grupo que recebeu dieta materna restrita em proteína, em comparação ao grupo controle, esse resultado se alinha com resultados

de estudos anteriores (Figura 11) (Gluckman *et al.*, 2007; Alheiros-Lira *et al.*, 2017; Mohammed *et al.*, 2023).

O desenvolvimento e crescimento somático da prole de ratos cujas mães foram alimentadas com dieta hipoproteica também se mostrou prejudicado, sendo esse resultado observado nas análises murinométricas, referentes às circunferências torácica e abdominal, ao eixo longitudinal e comprimento da cauda, esses resultados corroboram os estudos anteriores (Figuras 12-13) (Ozanne; Hales, 2002; Fidalgo *et al.*, 2010; Fidalgo *et al.*, 2013). Possivelmente, o mecanismo subjacente que pode estar envolvido com a diminuição nos padrões de crescimento da prole, pode envolver alterações hormonais entre tais a redução da concentração do IRS-1, ou a diminuição do mRNA do hormônio do crescimento, em estudos utilizando a mesma espécie de animal, onde as mães foram submetidas a dieta hipoproteica durante a gestação e lactação e foram analisadas as prole aos 90 e 180 dias, onde os resultados de 90 dias corroboram com nossos achados (El-Khattabi *et al.*, 2003; De-Moura *et al.*, 2007).

Apesar desses animais do grupo DH_{Mat}, apresentarem prejuízo no crescimento e desenvolvimento, no que se refere a composição corporal, as massas do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao grupo DC_{Mat}, porém é perceptível uma tendência de aumento da massa do tecido adiposo no grupo DH_{Mat}, apesar de não ser estatisticamente diferente. Esse resultado se mostrou contrário a estudos anteriores, que relataram aumento da adiposidade na prole cuja mãe sofreu restrição proteína durante gestação e lactação (Figura 14) (Alheiros-Lira *et al.*, 2017; Mohammed *et al.*, 2023). Uma limitação desse resultado pode ser o número de animais avaliados ou ainda a idade analisada, já que os dados apresentaram uma tendência visível de aumento do tecido adiposo e o aumento no número de animais poderia tornar essa diferença significativa.

A nível de massa muscular, a dieta hipoproteica materna provocou diminuição da massa úmida e seca do músculo EDL (Figuras 15-16). A hipertrofia foi, portanto, diminuída nos animais do grupo de dieta hipoproteica materna, demonstrando que a restrição proteica durante a gestação e lactação é capaz de provocar diminuição na capacidade hipertrófica do músculo EDL de ratos adultos. Estudos anteriores, com o modelo de hipertrofia compensatória e condições metabólicas diferentes foram utilizados, porém analisando outros fatores. Fortes *et al.* (2017) avaliaram os mecanismos envolvidos na hipertrofia muscular induzida pela sobrecarga nos músculos sóleo e EDL, em animais diabéticos, e observou que ambos os músculos

ao serem submetidos à sobrecarga apresentaram respostas hipertróficas semelhantes, diferentemente do que se observou no nosso resultado com a restrição proteica. Souza *et al.* (2020), avaliaram os efeitos da sobrecarga funcional, comparados com a suplementação de glutamina, no músculo EDL, onde a suplementação de glutamina associada ao protocolo de ablação, está diretamente relacionada ao aumento de massa muscular esquelética e ao aumento do tamanho das fibras musculares.

A confirmação da capacidade hipertrófica muscular foi possível, após análise das áreas de secção transversa das fibras musculares, a dieta hipoproteica materna reduziu o tamanho das fibras musculares do músculo EDL. Além disso, nos animais do grupo dieta controle materna, a pata que foi submetida ao protocolo de sobrecarga compensatória, apresentou fibras musculares de maior área, quando comparadas a pata contralateral dos animais do mesmo grupo. Assim como observado no resultado de massa do músculo EDL, nos animais de dieta hipoproteica materna, a pata submetida a sobrecarga funcional apresentou fibras musculares de menor área de secção transversa, quando comparadas ao grupo de dieta controle materna, confirmando, prejuízo na capacidade hipertrófica do músculo (Figura 17).

O aumento da área das fibras musculares na pata dos animais do grupo controle, que foi submetido ao protocolo de sobrecarga compensatória, corrobora os resultados de estudos anteriores, os quais utilizaram a mesma espécie animal, porém utilizando outras variáveis (Fortes *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2020). Bem como, Johnson e Klueber (1991) também verificaram um aumento no diâmetro das fibras musculares EDL de ratos, induzido por sobrecarga compensatória, porém em seu estudo analisaram diferentes intervalos de tempo, após 7, 21 e 42 dias. Nosso estudo foi o primeiro a verificar as áreas das fibras musculares em animais submetidos a dieta hipoproteica materna, após protocolo de sobrecarga funcional.

No músculo EDL a expressão e ativação da Akt, aconteceu de forma semelhante tanto nos animais DC_{Mat} quanto nos animais DH_{Mat}. De maneira geral, o conteúdo da proteína Akt e sua ativação não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, todavia, o fator hipertrofia foi significativo tanto no grupo dieta controle materna quanto no grupo dieta hipoproteica materna nas patas que foram submetidas ao protocolo de sobrecarga compensatória, observando-se aumento nos níveis de Akt. Esses achados corroboram os resultados encontrados por outros autores, que quando induziram a hipertrofia compensatória no músculo EDL ou plantar em ratos

por meio da ablação sinergista (Fortes *et al.*, 2017; Miyazaki *et al.*, 2011; Thomson; Gordon, 2005; 2006; Glass, 2001). Já no conteúdo de pAkt^{Ser473} a sua forma ativa, observou-se aumento significativo na pata hipertrofia do grupo DH_{Mat} em comparação com a sua pata controle, sendo que esse fator hipertrofia não foi acentuado no grupo dieta controle materna, resultado que se diferente do que observado em outros estudos, que utilizaram o protocolo de sobrecarga tanto no EDL quanto no sóleo, onde na pata submetida a hipertrofia compensatória do grupo controle níveis de pAkt^{Ser473} aumentavam, talvez uma quantidade maior de amostras poderia corroborar os resultados com os já vistos anteriormente (Figura 18). Quanto ao conteúdo de rpS6 total, houve uma tendência ao aumento no grupo dieta materna controle, na pata que foi submetida ao protocolo de sobrecarga funcional, porém não foi estatisticamente significativo. Diferentemente observado por Fortes *et al.*, 2017, que verificaram aumento nos níveis totais de rpS6, nas patas dos animais submetidos à ablação (Figura 19). Um fator de influência e limitante nesse resultado no presente trabalho foi o n amostral, talvez uma quantidade maior de amostras poderia corroborar os resultados com os já vistos anteriormente.

8 CONCLUSÕES

A dieta hipoproteica durante gestação e lactação provocou a diminuição do consumo de proteínas durante todo o período, associado à redução do consumo energético e de lipídios na última semana de lactação sem alterações no peso corporal, consumo e glicemia de jejum das mães.

Na prole, a dieta hipoproteica materna prejudicou o crescimento e desenvolvimento até os 90 dias de idade. No músculo EDL da prole, a dieta hipoproteica materna diminuiu a capacidade hipertrófica do músculo EDL, apresentando células musculares com menor área de secção transversa, mesmo após estímulo hipertrófico. Sendo assim, a dieta hipoproteica materna modulou resposta a plasticidade do desenvolvimento no músculo esquelético da prole. Ademais, a dieta hipoproteica materna não modulou a expressão proteína Akt (*upstream* da via), mas indicando possível modulação da expressão proteica da rpS6 (*downstream* da via). Dessa forma, são necessários mais estudos para avaliar os efeitos moleculares da dieta hipoproteica materna no músculo esquelético e na via Akt-mTOR da prole, além da análise de outras vias estão também envolvidas na regulação da hipertrofia muscular e que merecem ser investigadas em estudos futuros como por exemplo o sistema ubiquitina-proteassoma.

REFERÊNCIAS

- ALHEIROS-LIRA, Maria Cláudia; JUREMA-SANTOS, Gabriela Carvalho; DA-SILVA, Helyson Tomaz; DA-SILVA, Amanda Cabral; SENNA, Sueli Moreno; SILVA, Wylla Tatiana Ferreira; FERRAZ, José Candido; LEANDRO, Carol Góis. Effects of high-fat diet on somatic growth, metabolic parameters and function of peritoneal macrophages of young rats submitted to a maternal low-protein diet. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 117, n. 6, p. 796-803, mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s0007114517000708>.
- ALTOMARE, D., TESTA, J. Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. **Oncogene**, [s. l.], v. 24, 7455–7464, nov. 2005. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1209085>.
- ALTOMARE, D.; LYONS, G.; MITSUUCHI, Y.; CHENG, J. Q.; TESTA, J. R. Akt2 mRNA is highly expressed in embryonic brown fat and the AKT2 kinase is activated by insulin. **Oncogene**, [s. l.], v. 16, 2407–2411, 1998. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1201750>
- ALWAY, Stephen E.; SIU, Parco M.; MURLASITS, Zsolt; BUTLER, David C Muscle hypertrophy models: applications for research on aging. **Canadian Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 591–624, out. 2005. DOI: <https://dx.doi.org/10.1139/h05-143>.
- ANTHONY, Joshua C.; LANG, Charles H.; CROZIER, Stephen J.; ANTHONY, Tracy G.; MACLEAN, David A.; KIMBALL, Scot R.; JEFFERSON, Leonard S. Contribution of insulin to the translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 282, n. 5, p. 1092-1101, maio 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00208.2001>.
- ANTHONY, Joshua C.; YOSHIZAWA, Fumiaki; ANTHONY, Tracy Gautsch; VARY, Thomas C.; JEFFERSON, Leonard S.; KIMBALL, Scot R. Leucine Stimulates Translation Initiation in Skeletal Muscle of Postabsorptive Rats via a Rapamycin-Sensitive Pathway. **The Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 130, n. 10, p. 2413-2419, out. 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jn/130.10.2413>.
- ARMSTRONG, R. B.; IANUZZO, C. D. Compensatory hypertrophy of skeletal muscle fibers in streptozotocin-diabetic rats. **Cell and Tissue Research**, [s. l.], v. 181, n. 2, p. 255-266, jul. 1977. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/BF00219985>.
- ARMSTRONG, R. B.; MARUM, P.; TULLSON, P.; SAUBERT, C. W. Acute hypertrophic response of skeletal muscle to removal of synergists. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 835–42, abr. 1979. DOI: <https://dx.doi.org/10.1152/jappl.1979.46.4.835>
- ATLANTIS, Evan; MARTIN, Sean A.; HAREN, Matthew T.; TAYLOR, Anne W.; WITTERT, Gary A. Inverse associations between muscle mass, strength, and the metabolic syndrome. **Metabolism: Clinical and Experimental**, [s. l.], v. 58, n. 7, p. 1013–1022, jul. 2009. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2009.02.027>.

AVRUCH, Joseph; LONG, Xiaomeng; LIN, Yenshou; ORTIZ-VEGA, Sara; RAPLEY, Joseph; PAPAGEORGIOU, Angela; OSHIRO, Noriko; KIKKAWA, Ushio. Activation of mTORC1 in two steps: Rheb-GTP activation of catalytic function and increased binding of substrates to raptor1. **Biochemical Society Transactions**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 223-226, fev. 2009. DOI: <https://dx.doi.org/10.1042/BST0370223>.

BALDWIN, K. M.; VALDEZ, V.; HERRICK, R. E.; MACINTOSH, A. M.; ROY, R. R. Biochemical properties of overloaded fast-twitch skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, [s. l.], v. 52, n. 2, p. 467-72, fev. 1982. DOI: <https://dx.doi.org/10.1152/jappl.1982.52.2.467>.

BARKER, David James Purslove. Fetal nutrition and cardiovascular disease in later life. **British Medical Bulletin**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 96-108, jan. 1997. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a011609>.

BARROS, Karla M. F. T.; MANHÃES-DE-CASTRO, Raul; LOPES-DE-SOUZA, Sandra; MATOS, Rhowena J. B.; DEIRÓ, Tereza C. B. J.; CABRAL-FILHO, José E.; CANON, Francis. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional Neuroscience**, [s. l.], v. 9, n. 1-2, p. 99-104, fev./abr. 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/10284150600772148>.

BEDI, K. S.; BIRZGALIS, A. R.; MAHON, M.; SMART, J. L.; WAREHAM, A. C. Early life undernutrition in rats. 1. Quantitative histology of skeletal muscles from underfed young and refed adult animals. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 417-431, mai. 1982. DOI: <https://dx.doi.org/10.1079/BJN19820053>.

BEN-SAHRA, Issam; HOWELL, Jessica J.; ASARA, John M.; MANNING, Brendan D. Stimulation of de Novo Pyrimidine Synthesis by Growth Signaling Through mTOR and S6K1. **Science**, [s. l.], v. 339, n. 6125, p. 1323-1328, mar. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1228792>.

BERENDS, L. M.; FERNANDEZ-TWINN, D. S.; MARTIN-GRONERT, M. S.; CRIPPS, R. L.; OZANNE, S. E. Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes an insulin-resistant phenotype in adipose tissue. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 37, n. 8, p. 1051-1057, ago. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2012.196>

BHASIN, K. K.; NAS, V. A.; MARTIN, L. J.; DAVIS, R. C.; DEVASKAR, S. U.; LUSIS, A. J. Maternal low-protein diet or hypercholesterolemia reduces circulating essential amino acids and leads to intrauterine growth restriction. **Diabetes**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 559-566, mar. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.2337/db07-1530>.

BODINE, S. C.; BAAR, K. Analysis of skeletal muscle hypertrophy in models of increased loading. **Myogenesis**, [s. l.], v. 798, n. 2, p. 213-229, 2012.

BODINE, Sue C.; STITT, Trevor N.; GONZALEZ, Michael; KLINE, William O.; STOVER, Gretchen L.; BAUERLEIN, Roy; ZLOTCHENKO, Elizabeth; SCRIMGEOUR, Angus; LAWRENCE, John C.; GLASS, David J. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy

|
in vivo. **Nature Cell Biology**, [s. l.], v. 3, n. 11, p. 1014-1019, out. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ncb1101-1014>.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 72, p. 248–54, 7 mai. 1976. DOI: <https://dx.doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.

CAMBRAIA, R. P. B.; VANNUCCHI, H.; DE-OLIVEIRA, L. M. Food intake and weight of lactating rats maintained on different protein-calorie diets, and pup growth. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 30, n. 8, p. 985-988, ago. 1997. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X1997000800012>.

CAVALCANTE, Taisy Cinthia Ferro; DA SILVA, Jennyffer Mayara Lima; DA SILVA, Amanda Alves da Marcelino; MUNIZ, Gisélia Santana; NETO, Laércio Marques da Luz; DE SOUZA, Sandra Lopes; CASTRO, Raul Manhães de; FERRAZ, Karla Mônica; DO NASCIMENTO, Elizabeth. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**, [s. l.], v. 48, p. 1157-1168, nov. 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s11745-013-3833-Z>.

CHEN, Riyan; KIM, Oekyung; YANG, Jiangbo; SATO, Kanoka; EISENMANN, Kathryn M.; MCCARTHY, James; CHEN, Hegang; QIU, Yun. Regulation of Akt/PKB Activation by Tyrosine Phosphorylation. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 276, n. 34, p. 31858-31862, ago. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.c100271200>.

CHO, Han; THORVALDSEN, Joanne L.; CHU, Qingwei; FENG, Fei; BIRNBAUM, Morris J. Akt1/PKB α Is Required for Normal Growth but Dispensable for Maintenance of Glucose Homeostasis in Mice. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 276, n. 42, p. 38349-38352, out. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.c100462200>.

CLAPP, James F. Effects of Diet and Exercise on Insulin Resistance during Pregnancy. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 84-90, jun. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/met.2006.4.84>.

COLEMAN, S. K.; REBALKA, I. A.; D'SOUZA, D. M.; HAWKE, T. J. Skeletal muscle as a therapeutic target for delaying type 1 diabetic complications. **World Journal of Diabetes**, [s. l.], v. 10, n. 17, p. 1323-1336, dez. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.4239/wjd.v6.i17.1323>.

DE MOURA, E. G.; LISBOA, P. C.; CUSTÓDIO, C. M.; NUNES, M. T.; SOUZA, K. P.; PASSOS, M. C. Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 134-139, fev. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.04.002>.

DE SOUZA, Sandra Lopes; OROZCO-SOLIS, Ricardo; GRIT, Isabelle; DE CASTRO, Raul Manhães; BOLAÑOS-JIMÉNEZ, Francisco. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **European Journal of**

Neuroscience, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 1400-1408, mar. 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06105.x>.

DE VASCONCELOS, Diogo Antonio Alves; NACHBAR, Renato Tadeu; PINHEIRO, Carlos Hermano; AMARAL, Cátia Lira do; CRISMA, Amanda Rabello; VITZEL, Kaio Fernando; ABREU, Phablo; ALONSO-VALE, Maria Isabel; LOPES, Andressa Bolsoni; BENTO-SANTOS, Adriano; FALCÃO-TEBAS, Filipe; SANTANA, David Filipe de; NASCIMENTO, Elizabeth do; CURI, Rui; PITHON-CURI, Tania Cristina; HIRABARA, Sandro Massao; LEANDRO, Carol Góis. Maternal low-protein diet reduces skeletal muscle protein synthesis and mass via Akt-mTOR pathway in adult rats. **Frontiers in Nutrition**, [s. l.], v. 30, p. 947458, ago. 2022. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389/fnut.2022.947458>.

DEFRONZO, R. A. Pathogenesis of type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus: a balanced overview. **Diabetologia**, [s. l.], v. 35, p. 389-397, abr. 1992. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00401208>.

DEGENS, H.; TUREK, Z.; BINKHORST, R. A. Compensatory hypertrophy and training effects on the functioning of ageing rat m. plantaris. **Mechanisms of Ageing and Development**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 299-311, jan. 1993. DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/0047-6374\(93\)90016-k](https://dx.doi.org/10.1016/0047-6374(93)90016-k).

DESAI, Mina; CROWTHER, Nigel J.; LUCAS, Alan; HALES, C. Nicholas. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 591-603, out. 1996. DOI: <http://dx.doi.org/10.1079/bjn19960065>.

DÜVEL, Katrin; YECIES, Jessica L.; MENON, Suchithra; RAMAN, Pichai; LIPOVSKY, Alex I.; SOUZA, Amanda L.; TRIANTAFELLOW, Ellen; MA, Qicheng; GORSKI, Regina; CLEAVER, Stephen; HEIDEN, Matthew G. Vander; MACKEIGAN, Jeffrey P.; FINAN, Peter M.; CLISH, Clary B.; MURPHY, Leon O.; MANNING, Brendan D. Activation of a Metabolic Gene Regulatory Network Downstream of mTOR Complex 1. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 171-183, jul. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2010.06.022>.

EL-KHATTABI, Ilham; GRÉGOIRE, Francine; REMACLE, Claude; REUSENS, Brigitte. Isocaloric maternal low-protein diet alters IGF-I, IGFBPs, and hepatocyte proliferation in the fetal rat. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 285, n. 5, p. E991-E1000, nov. 2003. DOI: <https://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00037.2003>.

FIDALGO, M.; FALCÃO-TEBAS, F.; BENTO-SANTOS, A.; DE OLIVEIRA, E.; NOGUEIRA-NETO, J. F.; DE MOURA, E. G.; LISBOA, P. C.; DE CASTRO, R. M.; LEANDRO, C. G. Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. **British Journal of Nutrition**. [s. l.], v. 14, n. 3, p. 449-456, fev. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114512001316>.

FIDALGO, Marco; MACÊDO, Érika Michelle Correia de; DANTAS, Renata; FOERSTER, Patrícia; NEVES, Caroline; MANHÃES-DE-CASTRO, Raul; LEANDRO, Carol Góis. Effects of physical training and malnutrition during pregnancy on the skull

axis of newborn rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, [s. l.], v. 16, p. 441-444, 2010. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922010000600009>.

FINGAR, Diane C.; SALAMA, Sofie; TSOU, Christina; HARLOW, Ed; BLENIS, John. Mammalian cell size is controlled by mTOR and its downstream targets S6K1 and 4EBP1/eIF4E. **Genes & Development**, [s. l.], v. 16, n. 12, p. 1472-1487, jun. 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1101/gad.995802>.

FORTES, Marco A. S.; SCERVINO, Maria V. M.; MARZUCA-NASSR, Gabriel N.; VITZEL, Kaio F.; PINHEIRO, Carlos H. da Justa; Curi, Rui. Hypertrophy Stimulation at the Onset of Type I Diabetes Maintains the Soleus but Not the EDL Muscle Mass in Wistar Rats. **Frontiers of Physiology**, [s. l.], v. 26, n. 8, p. 830, out. 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389/fphys.2017.00830>.

FOWDEN, A.; GIUSSANI, D.; FORHEAD, A. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. **Physiology**, [s. l.], v. 21, p. 29-37, fev. 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1152/physiol.00050.2005>.

FREY, John W.; JACOBS, Brittany L.; GOODMAN, Craig A.; HORNBERGER, Troy A. A role for Raptor phosphorylation in the mechanical activation of mTOR signaling. **Cellular Signalling**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 313-322, fev. 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.11.009>

Fundo das Nações Unidas para a Infância. Relatório da ONU: ano pandêmico marcado por aumento da fome no mundo. 2021. Disponível em: <https://www.unicef.org/brazil/comunicados-de-imprensa/relatorio-da-onu-ano-pandemico-marcado-por-aumento-da-fome-no-mundo>. Acesso em: 23 jan. 2024.

GAZZOLA, Renata Franchi; SALA, Roberto; BUSSOLATI, Ovidio; VISIGALLI, Rossana; DALL'ASTA, Valeria; GANAPATHY, Vadivel; GAZZOLA, Gian C. The adaptive regulation of amino acid transport system A is associated to changes in ATA2 expression. **FEBS letters**, [s. l.], v. 490, p. 11-14, mar. 2001. DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02126-3](https://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02126-3).

GIBERT, Jean-Michel. La plasticité phénotypique : une brève introduction. **Biologie Aujourd'hui**, [s. l.], v. 214, n. 1-2, p. 25-31, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/jbio/2020004>.

GILLESPIE, Piers; GIRGIS, Mona; MAYER, Peter. This great evil": Anticipating political obstacles to development: anticipating political obstacles to development. **Public Administration and Development**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 431-453, dez. 1996. DOI: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1099-162x\(199612\)16:53.0.co;2-o](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1099-162x(199612)16:53.0.co;2-o).

GILLIAN BARR H.; MCCracken, K. J. High efficiency of energy utilization in 'cafeteria'- and force-fed rats kept at 29°. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 379-387, mai. 1984. DOI: <https://dx.doi.org/10.1079/BJN19840044>

GINGRAS, Anne-Claude; RAUGHT, Brian; SONENBERG, Nahum. EIF4 Initiation Factors: effectors of mrna recruitment to ribosomes and regulators of translation. **Annual Review of Biochemistry**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 913-963, jun. 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.biochem.68.1.913>.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BUKLIJAS, T.; LOW, F. M.; BEEDLE, A. S. Epigenetic mechanisms that underpin metabolic and cardiovascular diseases. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 5, n. 7, p. 401-408, jul. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2009.102>.

GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A.; PINAL Catherine. The developmental origins of adult disease. **Maternal & Child Nutrition**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 130-141, jul. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1740-8709.2005.00020.x>.

GOLDBERG, A. L. Protein synthesis during work-induced growth of skeletal muscle. **The Journal of Cell Biology**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 653-8, mar. 1968b. DOI: <https://dx.doi.org/10.1083/jcb.36.3.653>.

GOLDBERG, A. L. Role of insulin in work-induced growth of skeletal muscle. **Endocrinology**, [s. l.], v. 83, n. 5, p. 1071-1073, 1968a. DOI: <https://dx.doi.org/10.1210/endo-83-5-1071>.

GOLDBERG, A. L.; ETLINGER, J. D.; GOLDSPINK, D. F.; JABLECKI, C. Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. **Medicine and Science in Sports**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 185-198, 1975.

GURMINI, Jocemara; CECÍLIO, William Augusto Casteleins; SCHULER, Sandra Lúcia; OLANDOSKI, Márcia; NORONHA, Lúcia de. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 271-278, ago. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442005000400009>.

HALES, C Nicholas; BARKER, David J. P. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical Bulletin**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 5-20, nov. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/bmb/60.1.5>.

HALES, C. Nicholas; OZANNE, Susan E. For Debate: Fetal and early postnatal growth restriction lead to diabetes, the metabolic syndrome and renal failure. **Diabetologia**, [s. l.], v. 46, n. 7, p. 1013-1019, jul. 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-003-1131-7>.

HANSON, Mark; GODFREY, Keith M.; LILLYCROP, Karen A.; BURDGE, Graham C.; GLUCKMAN, Peter D. Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease: theoretical considerations and epigenetic mechanisms. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 106, n. 1, p. 272-280, jul. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2010.12.008>.

HOLZ, Marina K.; BALLIF, Bryan A.; GYGI, Steven P.; BLENIS, John. MTOR and S6K1 Mediate Assembly of the Translation Preinitiation Complex through Dynamic Protein Interchange and Ordered Phosphorylation Events. **Cell**, [s. l.], v. 123, n. 4, p. 569-580, nov. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.024>.

ISHIDO, M.; UDA, Munehiro; MASUHARA, Mitsuhiro; KAMI, Katsuya. Alterations of M-cadherin, neural cell adhesion molecule and β -catenin expression in satellite cells during overload-induced skeletal muscle hypertrophy. **Acta Physiologica**, [s. l.], v. 187, n. 3, p. 407-418, jul. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-1716.2006.01577.x>.

JOHNSON, Todd L.; KLUEBER, Kathleen M. Skeletal muscle following tonic overload: functional and structural analysis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 49-55, jan. 1991.

KIM, Joungmok; KUNDU, Mondira; VIOLLET, Benoit; GUAN, Kun-Liang. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. **Nature Cell Biology**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 132-141, jan. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ncb2152>.

KLINGENBERG, Christian Peter. Phenotypic plasticity, developmental instability, and robustness: The concepts and how they are connected. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 7, p. 56, mar. 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389/fevo.2019.00056>.

KWONG, W. Y.; WILD, A. E.; ROBERTS, P.; WILLIS, A. C.; FLEMING, T. P. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. **Development**, [s. l.], v. 127, n. 19, p. 4195-4202, out. 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/dev.127.19.4195>.

LANGLEY-EVANS, S. C.; LILLEY, C.; McMULLEN, S. Maternal protein restriction and fetal growth: lack of evidence of a role for homocysteine in fetal programming. **The British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 96, n. 3, p. 578-586, set. 2006.

LAPLANTE, Mathieu; SABATINI, David M. MTOR signaling at a glance. **Journal Of Cell Science**, [s. l.], v. 122, n. 20, p. 3589-3594, out. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.051011>.

LARSEN, Britta A.; WASSEL, Christina L.; KRITCHEVSKY, Stephen B.; STROTMEYER, Elsa S.; CRIQUI, Michael H.; KANAYA, Alka M.; FRIED, Linda F.; SCHWARTZ, Ann V.; HARRIS, Tamara B.; IX, Joachim H. Association of Muscle Mass, Area, and Strength with Incident Diabetes in Older Adults: The Health ABC Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s. l.], v. 101, n. 4, p. 1847-1855, abr. 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-3643>.

LIRA, Allan de Oliveira; ALVES, José Luiz de Brito; FERNANDES, Mariana Pinheiro; VASCONCELOS, Diogo; SANTANA, David Filipe; COSTA-SILVA, João Henrique da; MORIO, Béatrice; LEANDRO, Carol Góis; PIROLA, Luciano. Maternal low protein diet induces persistent expression changes in metabolic genes in male rats. **World Journal of Diabetes**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 182-192, mai. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.4239/wjd.v11.i5.182>.

MARTIN-GRONERT, M. S.; OZANNE, S. E. Experimental IUGR and later diabetes. **Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 261, n. 5, p. 437-452, mai 2007. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01800.x>.

MARZUCA-NASSR, Gabriel Nasri; VITZEL, Kaio Fernando; DE SOUSA, Luís Gustavo; MURATA, Gilson M.; CRISMA, Amanda Rabello; RODRIGUES JUNIOR, Carlos Flores; ABREU, Phablo; TORRES, Rosângela Pavan; MANCINI-FILHO, Jorge; HIRABARA, Sandro M.; NEWSHOLME, Philip; CURI, Rui. Effects of high EPA and high DHA fish oils on changes in signaling associated with protein metabolism

induced by hindlimb suspension in rats. **Physiological Reports**, [s. l.], v. 4, n. 18, p. e12958, set. 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.14814/phy2.12958>.

McARDLE, H. J.; ANDERSEN, H. S.; JONES, H.; GAMBLING, L. Fetal Programming: causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats – a review. **Placenta**, [s. l.], v. 27, p. 56-60, abr. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2006.01.014>.

McMILLEN, I. C.; ROBINSON, J. S. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. **Physiology Reviews**, [s. l.], v. 85, p. 571-633, 2005. DOI: <https://dx.doi.org/10.1152/physrev.00053.2003>.

MIYAZAKI, Mitsunori; McCARTHY, John J.; FEDELE, Mark J.; ESSER, Karyn A. Early activation of mTORC1 signalling in response to mechanical overload is independent of phosphoinositide 3-kinase/Akt signalling. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 589, n. 7, p. 1831–46, abr. 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2011.205658>

MIZGIER, M. L. CASAS, M.; CONTRERAS-FERRAT, A.; LLANOS, P.; GALGANI, J. E. Potential role of skeletal muscle glucose metabolism on the regulation of insulin secretion. **Obesity Reviews**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 587–597, jul. 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/obr.12166>.

MOCZEK, A P. Developmental plasticity and evolution—quo vadis? **Heredity**, [s. l.], v. 115, n. 4, p. 302-305, mar. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2015.14>.

MOHAMMED, Shujaiddin; QADRI, Syed Shah Yousuf Hussain; MOLANGIRI, Archana; BASAK, Sanjay; RAJKUMAR, Hemalatha. Gestational low dietary protein induces intrauterine inflammation and alters the programming of adiposity and insulin sensitivity in the adult offspring. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 116, p. 109330, jun. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2023.109330>.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DÍAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J. R. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 91-128, 1993. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0149-7634\(05\)80234-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0149-7634(05)80234-9).

NADER, Gustavo A. Molecular determinants of skeletal muscle mass: getting the Akt together. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s. l.], v. 37, n. 10, p. 1985-1996, out. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2005.02.026>.

NOVELLI, M.; D'ALEO, V.; LUPI, R.; PAOLINI, M.; SOLETI, A.; MARCHETTI, P.; MASIELLO P. Reduction of oxidative stress by a new low-molecular-weight antioxidant improves metabolic alterations in nonobese mouse diabetic model. **Pancreas** [s. l.], v. 35, n. 4, p. e10–e17, nov. 2007. DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/mpa.0b013e318150e4f2>.

Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. **Insegurança Alimentar e Covid-19 no Brasil**. 2019. Disponível em: <https://www.fao.org/family-farming/detail/fr/c/1392789/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

OUMI, Masayo; MIYOSHI, Masayuki; YAMAMOTO, Torao. The ultrastructure of skeletal and smooth muscle in experimental protein malnutrition in rats fed a low protein diet. **Archives of Histology and Cytology**, [s. l.], v. 63, n. 5, p. 451-457, 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1679/aohc.63.451>.

OZANNE, S. E.; JENSEN, C. B.; TINGEY, K. J.; STORGAARD, H.; MADSBAD, S.; VAAG, A. A. Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulinsignalling protein expression. **Diabetologia**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 547-552, mar. 2005. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s00125-005-1669-7>.

OZANNE, S. E.; OLSEN, G. S.; HANSEN, L. L.; TINGEY, K. J.; NAVE, B. T.; WANG, C. L.; HARTIL, K.; PETRY, C. J.; BUCKLEY, A. J.; MOSTHAF-SEEDORF, L. Early growth restriction leads to down regulation of protein kinase C zeta and insulin resistance in skeletal muscle. **Journal of Endocrinology**, [s. l.], v. 177, n. 2, p. 235-241, mai. 2003. DOI: <https://dx.doi.org/10.1677/joe.0.1770235>.

OZANNE, Susan E.; HALES, C. Nicholas. Early programming of glucose-insulin metabolism. **Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 368-373, nov. 2002. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s1043-2760\(02\)00666-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1043-2760(02)00666-5). PMID: 12367817.

OZANNE, Susan E.; HALES, C. Nicholas. Early programming of glucose–insulin metabolism. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 368-373, 2002.

OZANNE, Susan E.; HALES, C. Nicholas. The long-term consequences of intra-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. **Proceedings of the Nutrition Society**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 615-619, ago. 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s0029665199000804>.

OZANNE, Susan E.; LEWIS, Rohan; JENNINGS, Bridget J.; HALES, C. Nicholas. Early programming of weight gain in mice prevents the induction of obesity by a highly palatable diet. **Clinical Science**, [s. l.], v. 106, n. 2, p. 141-145, fev. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1042/cs20030278>.

PENG, Xiao-Ding; XU, Pei-Zhang; CHEN, Mei-Ling; HAHN-WINDGASSEN, Annett; SKEEN, Jennifer; JACOBS, Joel; SUNDARARAJAN, Deepa; CHEN, William S.; CRAWFORD, Susan E.; COLEMAN, Kevin G. Dwarfism, impaired skin development, skeletal muscle atrophy, delayed bone development, and impeded adipogenesis in mice lacking Akt1 and Akt2. **Genes & Development**, [s. l.], v. 17, n. 11, p. 1352-1365, jun. 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1101/gad.1089403>.

PORSTMANN, Thomas; SANTOS, Claudio R.; GRIFFITHS, Beatrice; CULLY, Megan; WU, Mary; LEEVERS, Sally; GRIFFITHS, John R.; CHUNG, Yuen-Li; SCHULZE, Almut. SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. **Cell Metabolism**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 224-236, set. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2008.07.007>.

RAMOS, C. F.; TEIXEIRA, C. V.; PASSOS, M. C. F.; PAZOS-MOURA, C. C.; LISBOA, P. C.; CURTY, F. H.; DE MOURA, E. G. Low-protein diet changes thyroid function in lactating rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology**

and Medicine, [s. l.], v. 224, n. 4, p. 256-263, set. 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1525-1373.2000.22429.x>.

RAVELLI, Gian-Paolo; STEIN, Zena A.; SUSSER, Mervyn W. Obesity in Young Men after Famine Exposure in Utero and Early Infancy. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 295, n. 7, p. 349-353, ago. 1976. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/nejm197608122950701>.

REGNAULT, T. R. H.; FRIEDMAN, J. E.; WILKENING, R. B.; ANTHONY, R. V.; HAY, W. W. Fetoplacental transport and utilization of amino acids in IUGR – a review. **Placenta**, [s. l.], v. 26, p. 52-62, abr. 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2005.01.003>.

REICHETZEDER, Christoph; CHEN, Hong; FÖLLER, Michael; SLOWINSKI, Torsten; LI, Jian; CHEN, You-Peng; LANG, Florian; HOCHER Berthold. Maternal vitamin D deficiency and fetal programming--lessons learned from humans and mice. **Kidney Blood Pressure Research**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 315-329, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/10.1159/000355809>.

RODFORD, Joanne L.; TORRENS, Christopher; SLOW, Richard C. M.; MANN, Giovanni E.; HANSON, Mark A.; Clough, Geraldine F. Endothelial dysfunction and reduced antioxidant protection in an animal model of the developmental origins of cardiovascular disease. **Journal of Physiology**, [s. l.], v. 586, n. 19, p. 4709-4720, out. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2008.156976>.

ROMMEL, Christian; BODINE, Sue C.; CLARKE, Brian A.; ROSSMAN, Roni; NUNEZ, Lorna; STITT, Trevor N.; YANCOPOULOS, George D.; GLASS, David J. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. **Nature Cell Biology**, [s. l.], v. 3, n. 11, p. 1009-1013, out. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ncb1101-1009>.

ROOS, Sara; JANSSON, Nina; PALMBERG, Isabelle; SÄLJÖ, Karin; POWELL, Theresa L.; JANSSON, Thomas. Mammalian target of rapamycin in the human placenta regulates leucine transport and is down-regulated in restricted fetal growth. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 582, n. 1, p. 449-459, jun. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2007.129676>.

SAKAMOTO, Kei; HIRSHMAN, Michael F.; ASCHENBACH, William G.; GOODYEAR, Laurie J. Contraction Regulation of Akt in Rat Skeletal Muscle. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 277, n. 14, p. 11910-11917, abr. 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m112410200>.

SAKUMA, K.; WATANABE, K.; TOTSUKA, T.; URAMOTO, I.; SANO, M.; SAKAMOTO, K. Differential adaptations of insulin-like growth factor-I, basic fibroblast growth factor, and leukemia inhibitory factor in the plantaris muscle of rats by mechanical overloading: an immunohistochemical study. **Acta Neuropathologica**, [s. l.], v. 95, n. 2, p. 123-30, fev. 1998. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s004010050775>.

SAXTON, Robert A.; SABATINI, David M. MTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. **Cell**, [s. l.], v. 168, n. 6, p. 960-976, mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>.

SCHIAFFINO, Stefano; MAMMUCARI, Cristina. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. **Skeletal Muscle**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 4, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2044-5040-1-4>.

SOUZA, Diego Ribeiro de; DE VASCONCELOS, Diogo Antonio Alves; MURATA, Gilson Masahiro; FORTES, Marco Aurélio Salomão; MARZUCA-NASSR, Gabriel Nasri; LEVADA-PIRES, Adriana Cristina; VITZEL, Kaio Fernando; ABREU, Phablo; SCERVINO, Maria Vitória Martins; HIRABARA, Sandro Massao. Glutamine supplementation versus functional overload in extensor digitorum longus muscle hypertrophy. **Pharmanutrition**, [s. l.], v. 14, p. 100236, dez. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phanu.2020.100236>.

SPARRE, T.; REUSENS, B.; CHERIF, H.; LARSEN, M. R.; ROEPSTORFF, P.; FEY, S. J.; LARSEN, P. M.; REMACLE, C.; NERUP, J. Intrauterine programming of fetal islet gene expression in rats – effects of maternal protein restriction during gestation revealed by proteome analysis. **Diabetologia**, [s. l.], v. 46, p. 1497-1511, set. 2003.

SRIKANTHAN, Preethi; KARLAMANGLA, Arun S. Relative muscle mass is inversely associated with insulin resistance and prediabetes. Findings from the third national health and nutrition examination survey. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 96, n. 9, p. 2898–2903, set. 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0435>.

TAKEMORI, Kumiko; TAHARA, Aki; MURAKAMI, Tetsuo; KOMETANI, Takashi. Effects of oxidative stress on vascular reactivity in the offspring of protein-restricted stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, [s. l.], v. 77, n. 8, p. 1689-1693, ago. 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.1271/bbb.130244>

THOMSON, David M.; GORDON, Scott E. Diminished overload-induced hypertrophy in aged fast-twitch skeletal muscle is associated with AMPK hyperphosphorylation. **Journal of Applied Physiology**, [s. l.], v. 98, n. 2, p. 557-564, fev. 2005. DOI: <https://dx.doi.org/10.1152/japplphysiol.00811.2004>.

THOMSON, David M.; GORDON, Scott E. Impaired overload-induced muscle growth is associated with diminished translational signalling in aged rat fast-twitch skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 574, n. 1, p. 291–305, jul. 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2006.107490>.

TOSCANO, Ana Elisa; MANHÃES-DE-CASTRO, Raul; CANON, Francis. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. **Nutrition**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 270-278, mar. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2007.12.004>.

VICKERS, Mark H.; IKENASIO, Bettina A.; BREIER, Bernhard H. IGF-I Treatment Reduces Hyperphagia, Obesity, and Hypertension in Metabolic Disorders Induced by

Fetal Programming. **Endocrinology**, [s. l.], v. 142, n. 9, p. 3964-3973, set. 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/endo.142.9.8390>.

WATERLOW, John C. The protein content of liver and muscle as a measure of protein deficiency in human subjects. **West Indian Medical Journal**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 167-174, set. 1956.

WELLS, Jonathan C. K. The thrifty phenotype hypothesis: thrifty offspring or thrifty mother? **Journal of Theoretical Biology**, [s. l.], v. 221, p. 143-161, mar. 2003. DOI: <https://dx.doi.org/10.1006/jtbi.2003.3183>.

WHITE, P.; CATTANEO, D.; DAUNCEY, M. J. Postnatal regulation of myosin heavy chain isoform expression and metabolic enzyme activity by nutrition. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 84, p. 185-94, ago. 2000. DOI: <https://dx.doi.org/10.1017/S0007114500001410>.

ZHANG, X.; LUO, Y.; WANG, C.; DING, X.; YANG, X.; WU, D.; SILVA, F.; YANG, Z.; ZHOU, Q.; WANG, L.; WANG, X.; ZHOU, J.; BOYD, N.; SPAFFORD, M.; BURGE, M.; YANG, X. O.; LIU, M. Adipose mTORC1 Suppresses Prostaglandin Signaling and Beige Adipogenesis via the CRTC2-COX-2 Pathway. **Cell Reports**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 3180-3193, set. 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2018.08.055>.

ZHU, Mei-Jun; FORD, Stephen P.; NATHANIELSZ, Peter W.; DU, Min. Effect of Maternal Nutrient Restriction in Sheep on the Development of Fetal Skeletal Muscle1. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 71, n. 6, p. 1968-1973, dez. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.104.034561>.

ANEXO

Anexo 1 – Cópia da certidão de aprovação do Projeto junto à Comissão de Ética no Uso de Animais.



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

Recife, 19 de julho de 2023

Ofício nº 51/23

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

Para: Prof. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos

Departamento de Nutrição/ Fisiologia Geral/ Fisiologia da Nutrição

Processo nº 114 /2022

Certificamos que a proposta intitulada **“Os efeitos da dieta hipoproteica materna sobre a via akt-mtor no músculo edl em prole adulta de ratos submetidos à hipertrofia do músculo.”**, Registrado com o nº 114/2022 sob a responsabilidade de **Prof. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos** 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 27/06/2023

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	27/06/2023 a 15/06/2025
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	80 animais
Peso/Idade	400g /0-90 dias
Sexo	(16 Fêmeas) e (64 Machos)
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.