



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

CAROLINA RAMOS DE MENDONÇA

Efeitos do resveratrol sobre a via de sinalização da insulina no músculo esquelético:
estudo em ratos adultos submetidos à dieta obesogênica materna e miotubos C₂C₁₂

Recife

2025

CAROLINA RAMOS DE MENDONÇA

Efeitos do resveratrol sobre a via de sinalização da insulina no músculo esquelético:
estudo em ratos adultos submetidos à dieta obesogênica materna e miotubos C₂C₁₂

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutorado.

Área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição

Orientador: Prof. Dr. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos

Co-Orientadora: Profª. Drª. Lígia Cristina Monteiro Galindo

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Mendonça, Carolina Ramos de.

Efeitos do resveratrol sobre a via de sinalização da insulina no músculo esquelético: estudo em ratos adultos submetidos à dieta obesogênica materna e miotubos C2C12 / Carolina Ramos de Mendonça. - Recife, 2025.

130 f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2025.

Orientação: Diogo Antonio Alves de Vasconcelos.

Coorientação: Lígia Cristina Monteiro Galindo.

Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Dieta hiperlipídica; 2. Plasticidade do desenvolvimento;
3. Resistência à insulina; 4. Músculo esquelético; 5.
Resveratrol. I. Vasconcelos, Diogo Antonio Alves de. II.
Galindo, Lígia Cristina Monteiro. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CAROLINA RAMOS DE MENDONÇA

Efeitos do resveratrol sobre a via de sinalização da insulina no músculo esquelético:
estudo em ratos adultos submetidos à dieta obesogênica materna e miotubos C₂C₁₂

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutorado.
Área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dr. Diogo Antonio Alves de Vasconcelos (Orientador/ Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Rubem Carlos Araujo Guedes (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dr^a. Mariana Pinheiro Fernandes (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dr^a. Laureane Nunes Masi (Examinador Externo)
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Dr. Sandro Massão Hirabara (Examinador Externo)
Universidade Cruzeiro do Sul (UNICSUL)

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus, que me sustentou até aqui. Agradeço especialmente à minha mãe, **Lúcia Carla**, por todo o suporte e por nunca me deixar desistir. Sou grata à minha família e aos amigos que se tornaram como família: **Carla Ramos, Camila Ramos, Rhaiza Rodrigues, Wira Rodrigues, Larissa Cavalcanti, Tainá Cavalcanti, Lara Maria, Gustavo Ribeiro e Carolina Ribeiro**, que sempre estiveram presentes nos momentos em que eu só precisava me distrair. Agradeço à professora **Tâmara Gomes**, que me abriu as portas para o mundo acadêmico, aos amigos que fiz no mestrado, **Bárbara Santana e Henrique Gouveia**. Ao professor **Diogo Vasconcelos**, minha profunda gratidão por acreditar em mim mais do que eu mesma acreditava, serei eternamente grata por ter me recebido no doutorado e pelas oportunidades incríveis que me ofereceu. Estendo também meus agradecimentos à professora **Lígia Galindo**, que acompanhou minha trajetória desde o mestrado, e à professora **Beatrice Morio**, por seus ensinamentos e acolhimento em um período em que eu estava longe de casa, agradeço também a toda equipe do Laboratório CarMeN de Lyon que proporcionou a realização de parte desse projeto e aos colegas que conheci nesse período **Natalie, Eduardo, Jéssica, Felipe, Paulo e Alessa**. Registro minha gratidão a **Fernando Wesley**, que contribuiu ativamente para este projeto e se tornou um amigo. Aos primeiros amigos do doutorado, **Vitor Carlos, Raissa Andrade e Anielle Mylena**, obrigada por tornarem esse percurso mais leve. Aos ICs **Gabriel Amadeu e Alice Beatriz**, pela dedicação ao projeto e pela amizade especial que construímos. No decorrer do doutorado, novos amigos chegaram. Agradeço a **Bianch Alxsandro e Pedro Henrique**, que sempre me fazem rir, tornando essa fase mais leve. Também sou grata a **Jonathan Manoel e Bruna Melo**, pelas conversas entre experimentos e pela convivência tão agradável. Um agradecimento especial a **Brenda Vasconcelos**, com quem compartilhei momentos felizes e desabafos. Saber que você estaria presente, em qualquer atividade, já me confortava. Não imaginava criar uma ligação tão forte em tão pouco tempo, e tenho certeza de que nossa amizade será para a vida toda. Agradeço ainda a todos os professores que fizeram parte da minha trajetória acadêmica, aos funcionários da UFPE, que tornam possível o

funcionamento de tudo, e, por fim, aos órgãos de fomento CAPES e CNPQ, que possibilitaram a realização desse projeto.

RESUMO

A exposição materna a uma dieta obesogênica durante gestação e lactação pode levar a distúrbios metabólicos na descendência. O resveratrol, composto antioxidante, demonstra potencial para prevenir alterações metabólicas associadas à resistência à insulina. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos metabólicos e moleculares do resveratrol ingerido durante as fases de gestação e lactação, com foco na expressão das proteínas de via da sinalização da insulina no músculo esquelético de ratos adultos submetidos à dieta obesogênica materna. De forma complementar, buscou-se elucidar os mecanismos diretos de ação do resveratrol em miotubos C₂C₁₂ *in vitro*. No estudo *in vivo*, os grupos foram formados, de acordo com a dieta materna e ingestão ou não de resveratrol materno, em: dieta controle materna (DC_{Mat}) (19% PTN, 63% CHO, 18% LIP), dieta obesogênica materna (DO_{Mat}) (18% PTN, 43% CHO, 39% LIP) e dieta obesogênica materna com resveratrol (DO_{Mat+Res}). No estudo *in vitro*, os grupos foram divididos em controle tratados ou não com resveratrol 50uM ou 100uM: BSA, BSA+Res50, BSA+Res100 ou resistentes a insulina, tratados ou não com resveratrol 50uM ou 100uM: PAL, PAL+Res50 e PAL+Res100. Experimentos *in vivo* incluíram caracterização do ambiente materno através do: Consumo alimentar e calórico, massa corporal e massa do tecido adiposo retroperitoneal. Na prole aos 90 dias houve avaliação da: massa corporal, teste de tolerância à glicose, massas de tecido adiposo epididimal e retroperitoneal, massa úmida e seca dos músculos (sóleo, EDL), tamanho dos adipócitos e expressão de mRNAs dos genes AKT, AMPK e Citrato Sintase (CS) e proteínas da via de sinalização da insulina IRS-1, AKT, GSK-3β e RP-S6 no músculo esquelético. No experimento *in vitro*, avaliou-se atividade das proteínas p-AKT, p-GSK-3β e p-AMPK em miotubos C₂C₁₂ resistentes à insulina. Nos experimentos *in vivo*, o resveratrol foi capaz de mitigar os efeitos da dieta obesogênica materna, atenuando o ganho de peso corporal, reduzindo a hipertrofia dos adipócitos, aumentando a massa úmida, elevando a expressão do mRNA citrato sintase e das proteínas GSK-3β e RP-S6 no músculo sóleo. No estudo *in vitro*, o resveratrol, na concentração de 50uM, foi capaz de aumentar a atividade da proteína p-AKT em

miotubos C₂C₁₂ indicando melhora da resistência à insulina induzida por palmitato. Esses achados reforçam o potencial do resveratrol como agente promissor para atenuar distúrbios metabólicos induzidos por dieta obesogênica materna.

Palavras chave: Dieta hiperlipídica, plasticidade do desenvolvimento, resistência à insulina, músculo esquelético, resveratrol.

ABSTRACT

Maternal exposure to an obesogenic diet during gestation and lactation leads to metabolic disturbances in the offspring. Resveratrol, an antioxidant compound, shows potential to prevent metabolic alterations associated with insulin resistance. This study aimed to investigate the metabolic and molecular effects of resveratrol administered during gestation and lactation, with a focus on the expression of insulin signaling pathway proteins in the skeletal muscle of adult rats exposed to a maternal obesogenic diet. Complementarily, we sought to elucidate the direct mechanisms of action of resveratrol in C₂C₁₂ myotubes *in vitro*. In the in vivo study, groups were established according to maternal diet and maternal resveratrol administration: control maternal diet (ConMat) (19% PTN, 63% CHO, 18% LIP), obesogenic maternal diet (ObMat) (18% PTN, 43% CHO, 39% LIP), and obesogenic maternal diet with resveratrol (ObMat+Res). In the in vitro study, groups were divided into controls treated or not with resveratrol 50 µM or 100 µM: BSA, BSA+Res50, BSA+Res100; or insulin-resistant groups treated or not with resveratrol 50 µM or 100 µM: PAL, PAL+Res50, and PAL+Res100. The in vivo experiments included characterization of the maternal environment through: food and caloric intake, body mass, and retroperitoneal adipose tissue mass. In the offspring (90 days), evaluations included: body mass, glucose tolerance test, epididymal and retroperitoneal adipose tissue mass, wet and dry weight of muscles (soleus, EDL), adipocyte size, and mRNA expression of the genes AKT, AMPK, and CS, as well as protein expression of the insulin signaling pathway IRS-1, AKT, GSK-3β, and RP-S6 in skeletal muscle. In the in vitro experiment, the activity of p-AKT, p-GSK-3β, and p-AMPK proteins was assessed in insulin-resistant C₂C₁₂ myotubes. In vivo, resveratrol was able to mitigate the effects of the maternal obesogenic diet by attenuating body weight gain, reducing adipocyte hypertrophy, increasing wet muscle mass, and enhancing mRNA expression of citrate synthase and protein of GSK-3β and RP-S6 in the soleus muscle. In vitro, resveratrol at 50 µM increased p-AKT protein activity

indicating an improvement in palmitate-induced insulin resistance in C₂C₁₂ myotubes. These findings reinforce the potential of resveratrol as a promising agent to attenuate metabolic disturbances induced by a maternal obesogenic diet.

Keywords: High-fat diet, developmental plasticity, insulin resistance, skeletal muscle, resveratrol.

Lista de ilustrações

Seção 1 – Experimentos *in vivo*

- Figura 1 – Via de sinalização da insulina
- Figura 2 – Mecanismo de resistência à insulina no músculo esquelético, fígado e tecido adiposo branco
- Figura 3 – Desenho experimental
- Gráfico 1 – Peso corporal materno
- Gráfico 2 – Consumo alimentar materno (relativo) da dieta e leite condensado na gestação
- Gráfico 3 – Consumo alimentar materno (relativo) da dieta e leite condensado na lactação
- Gráfico 4 – Consumo calórico materno (relativo) da dieta + leite condensado na gestação e lactação
- Gráfico 5 – Consumo de carboidratos materno (relativo) dieta + leite condensado na gestação e lactação
- Gráfico 6 – Consumo de proteína materno (relativo) dieta + leite condensado na gestação e lactação
- Gráfico 7 – Consumo de lipídios materno (relativo) dieta + leite condensado na gestação e lactação
- Gráfico 8 – Peso tecido adiposo retroperitoneal materno relativo e absoluto.
- Gráfico 9 – Peso corporal diário (1º ao 21º) DPN
- Gráfico 10 – Peso corporal semanal (28º ao 90º) DPN
- Gráfico 11 – Peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal da prole aos 90 dias de idade.
- Gráfico 12 – Área do adipócito do tecido adiposo retroperitoneal

Figura 4 – Faixa da área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal

Gráfico 13 – Teste de tolerância a glicose aos 60 de 90 dias de vida

Gráfico 14 – Expressão de mRNA dos genes AKT e AMPK

Gráfico 15 – Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6 no músculo sóleo

Gráfico 16 – Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, RP-S6 e GSK-3 β no músculo EDL

Seção 2 – Experimentos *in vitro*

Gráfico 1 – Razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂

Gráfico 2 – Efeito da insulina sobre a razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂

Gráfico 3 – Razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂

Gráfico 4 – Efeito da insulina sobre a razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂

Gráfico 5 – Razão P-GSK-3 β /GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂

Gráfico 6 – Efeito da insulina sobre a razão p-GSK-3 β /GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂

Lista de Tabelas

- Tabela 1 – Composição de macronutrientes das dietas segundo o valor energético total (VET)
- Tabela 2 – Composição centesimal das dietas experimentais
- Tabela 3 – Composição centesimal do leite condensado
- Tabela 4 – Peso relativo úmido e seco dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos.
- Tabela 5 – Resumo dos resultados maternos
- Tabela 6 – Resumo dos resultados na prole aos 90 dias
- Tabela 7 – Resumo dos resultados em miotubos C₂C₁₂

Sumário

1.	Introdução	13
2.	Revisão da Literatura.....	15
2.1	Plasticidade do desenvolvimento (história e conceito).....	15
2.2	Dieta obesogênica e plasticidade do desenvolvimento	18
2.3	Sensibilidade à insulina	21
2.4	Resistência à insulina induzida por dieta obesogênica	24
2.5	Resveratrol.....	27
3.	Hipótese.....	30
4.	Objetivos	30
4.1	Objetivo geral	30
4.2	Seção 1 – Estudo <i>in vivo</i>	30
4.2.1	Objetivos específicos	30
4.3	Seção 2 – Estudo <i>in vitro</i>	31
4.3.1	Objetivos específicos	31
5.	Material e Métodos.....	32
5.1	Animais.....	32
5.2	Grupos Experimentais e ingestão de resveratrol	32
5.3	Análises Experimentais.....	35
5.3.1	Massa corporal.....	35
5.3.2	Consumo Alimentar.....	35
5.3.3	Teste de tolerância à glicose (GTT)	36
5.3.4	Massas dos depósitos de tecido adiposo epididimal e retroperitoneal	37
5.3.5	Massa úmida e seca dos músculos sóleo, extensor longo dos dedos (EDL):	37
5.3.6	Análise histológica	37
5.3.7	Análises moleculares	38
5.4	Análise estatística.....	42
6.	Material e métodos	42
6.1	Cultura de miotubos C2C12 e <i>Western blotting</i>.....	42
6.2	Análise estatística.....	44
7.	Seção 1 – Resultados experimentos <i>in vivo</i>	44
7.1	Resultados materno.....	44
7.1.1	Peso corporal materno	44
7.1.2	Consumo Alimentar materno (gestação).....	45
7.1.3	Consumo Alimentar materno (lactação).....	46

7.1.4	Consumo calórico materno (gestação e lactação).....	47
7.1.5	Consumo de carboidratos materno (gestação e lactação).....	48
7.1.6	Consumo de proteínas materno (Gestação e lactação).....	49
7.1.7	Consumo de lipídios materno (gestação e lactação).....	51
7.1.8	Peso tecido adiposo retroperitoneal materno.....	52
7.2	Resultados Prole	52
7.2.1	Peso corporal diário (1º ao 21º DPN) e semanal da prole.....	52
7.2.2	Peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal da prole	54
7.2.3	Área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal	55
7.2.4	Teste de tolerância a glicose.....	57
7.2.5	Peso seco e úmido dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos	58
7.2.6	Expressão de mRNA de AKT, AMPK e citrato sintase no músculo sóleo	59
7.2.7	Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, GSK-3β e RP-S6 no músculo sóleo	61
7.2.8	Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, RP-S6 e GSK-3β no músculo EDL	63
8.	Seção 2 – Resultados dos experimentos <i>in vitro</i>	64
8.1	Atividade das proteínas AKT, AMPK, GSK-3β em miotubos C₂C₁₂.....	64
9.	Discussão:.....	70
10.	Conclusão	77
11.	Referências	78
12.	Anexo	86
13.	Apêndice A – Revisão Sistemática.....	87
14.	Apêndice B – Revisão da literatura submetida.....	99
15.	Apêndice C – Tabela de valores individuais	100

1. Introdução

As mudanças nos padrões alimentares têm desempenhado papel central no aumento de distúrbios metabólicos na população mundial. A transição nutricional promovida pela modernização e globalização tem levado ao consumo crescente de alimentos ultraprocessados e desequilibrado, associado à redução da atividade física, o que contribui para alterações metabólicas desde a infância até a vida adulta (Fox; Feng; Asal, 2019; OMS, 2020). Entre crianças menores de cinco anos, cerca de 38,2 milhões já apresentam impactos decorrentes dessas mudanças alimentares, refletindo a magnitude global do problema (OMS, 2020).

O excesso de adiposidade é particularmente relevante em mulheres em idade reprodutiva e gestantes. O consumo de dietas obesogênicas durante períodos críticos, como gestação e lactação, pode criar um ambiente intrauterino adverso, programando a prole para alterações metabólicas na vida adulta (C.N. Hales and D.J.P. Barker, 1992; Hales; Barker, 2001). Fatores genéticos e ambientais contribuem para o desenvolvimento de obesidade e desordens metabólicas, podendo exercer seus efeitos de forma direta ou indireta por meio da saúde materna durante a gestação, a qual estabelece um ambiente intrauterino desfavorável e aumenta a vulnerabilidade ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos (Dearden; Ozanne, 2023). Essa suscetibilidade envolve alterações hormonais e nutricionais que comprometem a função futura de órgãos e, também, mecanismos epigenéticos que induzem modificações estáveis na expressão gênica (Dearden; Ozanne, 2023). Esse processo decorre da capacidade do organismo de se adaptar a estímulos ambientais por meio de alterações moleculares, fenômeno denominado plasticidade do desenvolvimento (Gluckman; Hanson; Beedle, 2007).

Estudos em modelos experimentais corroboram essa hipótese. A exposição materna a dietas obesogênicas durante a gestação compromete o desenvolvimento fetal e resulta em obesidade, resistência à insulina e disfunções metabólicas na prole (Fernandez-Twinn et al., 2014; Samuelsson et al., 2008). Em ratos *Sprague-Dawley*, a prole exposta à dieta hiperlipídica materna apresentou, aos 20 meses de idade, resistência à insulina, danos mitocondriais, diminuição na expressão do transportador de glicose (*GLUT-4*) e aumento na expressão da *SIRT3* no músculo esquelético (Zhang et al., 2022).

Além dos modelos animais, estudos *in vitro* utilizando culturas de células têm desempenhado papel fundamental na compreensão dos mecanismos celulares e moleculares da resistência à insulina. Esses modelos permitem avaliar, de forma controlada, os efeitos de nutrientes, hormônios e compostos bioativos sobre vias de sinalização específicas. Por exemplo, a exposição de células musculares C₂C₁₂ ao palmitato tem sido amplamente utilizada para induzir resistência à insulina, possibilitando investigar alterações em proteínas como IRS-1, AKT e GLUT-4, cruciais para a captação de glicose (Bahramzadeh; Bolandnazar; Meshkani, 2023). Nesse contexto, o aprofundamento do conhecimento sobre os mecanismos moleculares envolvidos na resistência à insulina diretamente em células musculares é essencial para subsidiar o desenvolvimento de estratégias de prevenção ou reversão desses processos de forma aguda (Bahramzadeh; Bolandnazar; Meshkani, 2023).

Dentro dessa perspectiva, compostos antioxidantes e anti-inflamatórios, como os polifenóis, podem exercer diversos efeitos na promoção da saúde, incluindo ação preventiva ou terapêutica em doenças cardiovasculares, distúrbios neurodegenerativos, câncer e obesidade (Cory et al., 2018; Manach et al., 2004). Entre eles, destaca-se o resveratrol, um polifenol não flavonoide pertencente à subclasse dos estilbenos, amplamente estudado por seu efeito antidiabético e antiobesidade (Manach et al., 2004; Martins; Nicoletti, 2016; Tsai et al., 2020). Em prole de ratas expostas à dieta hiperlipídica materna, a administração desse composto reduziu o peso corporal da prole na vida adulta, diminuiu o acúmulo de gordura retroperitoneal, atenuou a desregulação da leptina e reduziu a expressão gênica de enzimas relacionadas à lipogênese (Tsai et al., 2020). Outro estudo verificou que o resveratrol foi capaz de atenuar a obesidade, prevenir a esteatose hepática e melhorar a sensibilidade e secreção de insulina em prole de ratas submetidas a diabetes gestacional (Brawerman et al., 2019).

Diante dos achados e da lacuna na literatura científica sobre os efeitos do resveratrol, ingerido durante a gestação e lactação, na modulação da via da sinalização da insulina no músculo esquelético da prole em ratos submetidos à dieta obesogênica materna, o presente estudo tem como objetivo, investigar os efeitos da ingestão de resveratrol, durante a gestação e a lactação, no metabolismo da glicose e da sensibilidade à insulina no músculo esquelético de ratos adultos expostos à

dieta obesogênica materna; e investigar, em modelo *in vitro*, a ação direta do resveratrol na modulação da resistência à insulina induzida por palmitato em miotubos C₂C₁₂, a fim de investigar os possíveis mecanismos musculares maternos que podem ter contribuído para os efeitos observados na prole.

2. Revisão da Literatura

2.1 Plasticidade do desenvolvimento (história e conceito)

Pode-se dizer que a ideia de origem do desenvolvimento de doenças por insultos precoces na vida adulta, já existe há bastante tempo; em 1930 sugeria-se que certas condições (nutricionais, farmacêuticas) durante a gestação poderia influenciar no desenvolvimento fetal (Gluckman; Hanson; Buklijas, 2010). Os períodos de guerra também foram marcados por fortes indícios sobre a origem do desenvolvimento de algumas doenças, relacionando períodos marcados por fome intensa com mortalidade (Gluckman 2016). Um exemplo disso foi a conhecida fome holandesa, no período da segunda guerra mundial, onde os dados demonstraram que a fome durante o último período da gestação causou diminuição de peso ao nascimento, enquanto a fome durante todo o período da gestação acarretava em aborto espontâneo e malformação na descendência (Low; Gluckman; Hanson, 2012). Apenas em 1970, o endocrinologista alemão Guünter publicou artigos evidenciando que alguns insultos no período materno e logo após ao nascimento estão relacionados ao desenvolvimento de doenças mais tarde na vida, sendo um dos primeiros a utilizar o termo de pré-programação (Low; Gluckman; Hanson, 2012).

Estudos epidemiológicos também tiveram sua contribuição; BARKER foi um dos principais pesquisadores nessa área devido a quantidade e relevância de publicações relacionando doenças na idade adulta atribuída ao período fetal. Desde 1987, BARKER e colaboradores formaram um corpo de evidências que corroboram a hipótese conhecida como hipótese da origem fetal de doenças na vida adulta. Inicialmente, as suas pesquisas tinham foco em comparação entre as populações. Anos mais tarde, o foco passou a ser pessoas adultas ou idosas que tiveram suas medidas antropométricas registradas detalhadamente na infância. Em 1990, BARKER e colaboradores estudaram os efeitos do crescimento intrauterino sobre a pressão sanguínea na vida adulta, crianças que apresentavam

baixo peso ao nascer e peso da placenta elevado, tinham pressão sanguínea maior quando adultos, correlacionando ambiente intrauterino e aparecimento de doenças metabólicas na vida adulta (Barker et al., 1990; Barker DJP, Osmond, 1987).

Com o objetivo de estudar as associações epidemiológicas entre crescimento fetal inadequado e desenvolvimento de diabetes tipo 2 e síndrome metabólica, Hales e Barker (2001) lançaram a hipótese do fenótipo poupadour a “*the thrifty phenotype hypothesis*”, que atribui o aporte nutricional prejudicado durante o período fetal e pós-natal, ao aparecimento de doenças metabólicas tardeamente. Já em 2009, Wells lançou o modelo de ‘Capacidade e Carga Metabólica’ baseado na hipótese do fenótipo poupadour. Onde a capacidade metabólica é uma variável contínua que pode sofrer influência da carga metabólica e a interação entre as duas pode representar associação entre crescimento inicial e aparecimento de doenças metabólicas tardeamente (Wells, 2009).

A hipótese do fenótipo poupadour e o modelo de capacidade e carga metabólica surgiram na tentativa de explicar os mecanismos associados a gênese da saúde e da doença (*DOHAD – Origem do desenvolvimento da saúde e da doença*). Nesse contexto, emergiu o conceito de origem desenvolvimentista da saúde e da doença, que substituiu o conceito de origem fetal de doenças na vida adulta proposto por BARKER. Essa mudança ocorreu porque o período fetal não é o único que pode estar relacionado ao aparecimento de doenças crônicas ao longo da vida. Também pelo fato de que períodos considerados plásticos ou críticos para o desenvolvimento podem não ser promotores apenas de doenças, mas também podem estar associados à indução da plasticidade de modo geral (Gluckman; Hanson, 2006).

Atualmente, postula-se duas principais hipóteses para a origem evolutiva do desenvolvimento da saúde e da doença (Malani et al., 2022): 1) A hipótese da restrição do desenvolvimento, que assume que condições adversas no início da vida levam a compensações adaptativas durante o desenvolvimento, dessa forma, essas compensações promovem a sobrevivência do organismo, porém, ocorre às custas da qualidade fenotípica, saúde e risco de doenças na idade adulta (Malani et al., 2022). 2) A segunda hipótese é a da resposta adaptativa preditiva que postula que devido a certas adversidades no início da vida, o organismo se

concentra em previsões sobre seu ambiente no futuro, as adaptações fenotípicas são feitas baseada nessa previsão, e consequências na idade adulta podem ocorrer devido a previsões incorretas (Malani et al., 2022).

O termo mais atual é o conceito de plasticidade do desenvolvimento, que se dá através da propriedade de um determinado genótipo produzir diferentes fenótipos em resposta a diferentes condições ambientais, durante o desenvolvimento (Hanson et al., 2011). Dessa forma, para qualquer genótipo existe uma série de fenótipos que se desenvolvem em qualquer ambiente específico, seja ele de escassez ou não (Hanson et al., 2011). Um dos ambientes de desenvolvimento ocorre no período da gestação e lactação, e a nutrição é um dos principais estímulos externos que podem afetar o feto e infância (Hanson et al., 2011). Entre as maneiras em que o ambiente em desenvolvimento pode afetar o fenótipo está o efeito direto, como por exemplo, de hormônios ou nutrientes, e os mecanismos epigenéticos modulam a expressão de genes específicos à longo prazo, induzindo mudanças hereditárias sem alterar a sequência dos genes (Hanson et al., 2011; Rajamoorthi; LeDuc; Thaker, 2022). Essa regulação na expressão de genes reflete em mudanças no fenótipo que acontecem, principalmente, devido aos mecanismos epigenéticos de metilação do DNA, modificação de histonas e microRNAs (Hanson et al., 2011; Rajamoorthi; LeDuc; Thaker, 2022).

Como visto anteriormente, os estudos tinham maior foco na desnutrição, pois, era a deficiência nutricional mais prevalente durante aquele período (C.N. Hales and D.J.P. Barker, 1992; Hales; Barker, 2001). Contudo, recentemente, pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de entender como o excesso nutricional e ambiente obesogênico *in utero* pode prejudicar a saúde do feto e quais seriam os possíveis mecanismos para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos à longo prazo (Alfaradhi; Ozanne, 2011; Perng; Oken; Dabelea, 2019). Vale salientar, que a resistência à insulina durante períodos críticos de desenvolvimento é um fator determinante na plasticidade de desenvolvimento, e consequentemente, no aparecimento de distúrbios metabólicos e moleculares mais tarde (Fernandez-Twinn et al., 2014).

2.2 Dieta obesogênica e plasticidade do desenvolvimento

A dieta obesogênica é usualmente descrita por diferentes características, incluindo elevada densidade energética, alto teor de lipídios (especialmente de ácidos graxos saturados), elevada palatabilidade e baixo conteúdo de fibras. Esse padrão alimentar favorece o acúmulo de adiposidade e/ou desenvolvimento da obesidade, além de exercer papel central na indução de alterações metabólicas associadas, como a resistência à insulina (Moura e Dias et al., 2021; Preguiça et al., 2020).

O consumo exacerbado de alimentos com altos teores de lipídios e carboidratos, de forma semelhante ao observado em humanos, induz efeitos metabolicamente prejudiciais à saúde em modelos experimentais. Para reproduzir e estudar esses padrões, modelos pré-clínicos frequentemente utilizam a oferta contínua de dietas altamente palatáveis, caracterizadas por promoverem hiperfagia hedônica (Preguiça et al., 2020). Entre as mais empregadas destacam-se as dietas hiperlipídicas (*High-fat diet*), em açúcar e suas combinações, denominadas como dietas ocidentais. Essas dietas hiperlipídicas, em geral, apresentam 45% a 60% do valor energético proveniente de gordura, sendo aquelas ricas em ácidos graxos saturados mais deletérios à saúde do que as compostas predominantemente por ácidos graxos insaturados. Por sua vez, dietas hiperglicídicas, embora menos frequentes, são utilizadas com 60% a 70% da energia derivada de sacarose ou frutose (Small et al., 2018).

Tanto dietas elevadas em lipídios quanto em carboidratos podem induzir distúrbios metabólicos, como resistência à insulina, diabetes tipo 2 e hipertensão arterial (Álvarez-Chávez; Canto, 2022; Balakumar et al., 2016; Fernandez-Twinn et al., 2017), sendo que a combinação desses padrões alimentares produz efeitos mais pronunciados. Bakumar et al. (2016) observaram que a associação entre dieta elevada em gordura (50%) e frutose (65%) induziu intolerância à glicose, resistência à insulina e dislipidemia de forma mais intensa do que cada dieta isoladamente, enquanto Fernández et al. (2018) relataram aumento do peso corporal, da deposição de gordura e da ingestão calórica, além de redução na expressão de genes como PGC1 α , PGC1 β e Mfn2, relacionados ao gasto energético em animais expostos à dieta combinada. Small et al. (2018) demonstraram que regimes com mais de 45% da energia proveniente de gordura ou carboidratos estão frequentemente

associados à redução da ação da insulina, sendo que em dietas hiperlipídicas esse efeito envolve alterações na composição de fosfolipídios da membrana, mudanças no metabolismo de ácidos graxos, processos inflamatórios e modulação direta da sinalização da insulina. De forma análoga, a exposição materna à dietas obesogênicas durante gestação e lactação compromete a saúde tanto materna quanto da prole, predispondo-as à obesidade, resistência à insulina e disfunções metabólicas (Fernandez-Twinn et al., 2014; Samuelsson et al., 2008).

Em camundongos, a indução de obesidade materna por meio de dieta com altos teores de lipídios e carboidratos resultou em aumento da adiposidade nos descendentes, acompanhada de hipertrofia de adipócitos, redução da massa de músculo esquelético, diminuição da atividade locomotora, hipertensão arterial, além de elevação das concentrações de glicose e insulina em jejum (Samuelsson et al., 2008). Adicionalmente, em estudo de Fernandez-Twinn et al. (2014), que empregaram o mesmo modelo dietético, foi observada na prole de camundongos redução da expressão de proteínas-chave da via de sinalização da insulina no tecido adiposo branco, incluindo o receptor de insulina (IR), as subunidades p110 β e p85 α da PI3K, bem como AKT1/2 e IRS-1. Essas alterações evidenciam que a via de sinalização da insulina constitui um dos principais alvos prejudicados pela dieta materna, comprometendo o metabolismo da glicose e favorecendo o desenvolvimento de resistência à insulina e, subsequentemente, diabetes (Boucher; Kleinridders; Kahn, 2014).

Já a ingestão da dieta hiperlipídica em ratas *Sprague-Dawley*, restrita ao período gestacional, resultou em alterações metabólicas tanto nas fêmeas gestantes quanto na prole (Zhang et al., 2022). As ratas que receberam essa dieta apresentaram elevação dos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e lipoproteína de baixa densidade (LDL). Além disso, desenvolveram resistência à insulina, evidenciada pelo aumento das concentrações de glicose e insulina em jejum, bem como pelo índice HOMA-IR. Os autores sugerem que tais efeitos decorreram do elevado teor lipídico da dieta, independentemente do excesso calórico (Zhang et al., 2022). Essas alterações maternas repercutiram na prole em idade avançada, que, mesmo alimentada com dieta normocalórica, apresentou disfunção mitocondrial no músculo esquelético e acúmulo de gotículas lipídicas neste tecido, associados à resistência à insulina (Zhang et al., 2022).

A dieta obesogênica materna pode comprometer a saúde da prole por diferentes mecanismos. Um deles ocorre de forma direta, quando a dieta obesogênica materna estabelece um ambiente materno caracterizado por hiperglicemia, hiperinsulinemia e alterações no perfil de nutrientes e hormônios. Essas condições modificam a disponibilidade de substratos e sinais metabólicos no feto, influenciando o desenvolvimento de órgãos e programando maior risco de obesidade e doenças cardiometabólicas (Dearden; Ozanne, 2023). O ambiente obesogênico intrauterino pode ainda induzir resistência à insulina precoce no hipotálamo fetal, prejudicando a maturação de vias responsáveis pelo controle da ingestão alimentar e predispondo à hiperfagia em camundongos C57BL/6 (Dearden; Ozanne, 2023). Para que os efeitos dessa exposição se perpetuem até a vida adulta, há mecanismos epigenéticos que funcionam como uma memória celular (Dearden; Ozanne, 2023).

A epigenética, que envolve modificações como metilação do DNA, alterações de histonas e ação de microRNAs, não altera a sequência do DNA, mas regula de forma estável e herdável a expressão gênica. Em revisão sobre programação nutricional da resistência à insulina, Duque-Guimarães et al. (2013) demonstraram que dietas maternas hiperlipídicas levaram a modificações de histonas (H3K9 e H4K20) nos promotores dos genes da adiponectina e da leptina. Esse processo resultou em menor expressão de adiponectina, hormônio que favorece a sensibilidade à insulina, e maior expressão de leptina no tecido adiposo da prole de camundongos. A dieta hiperlipídica materna também alterou as marcas de histonas no gene da fosfoenolpiruvato carboxiquinase (Pck), associando-se ao aumento da expressão de genes da gliconeogênese no fígado da prole. Dessa forma, a reprogramação epigenética consolida os distúrbios metabólicos iniciados no útero, predispondo ao desenvolvimento de resistência à insulina e outras doenças na vida adulta (Duque-Guimarães; Ozanne, 2013).

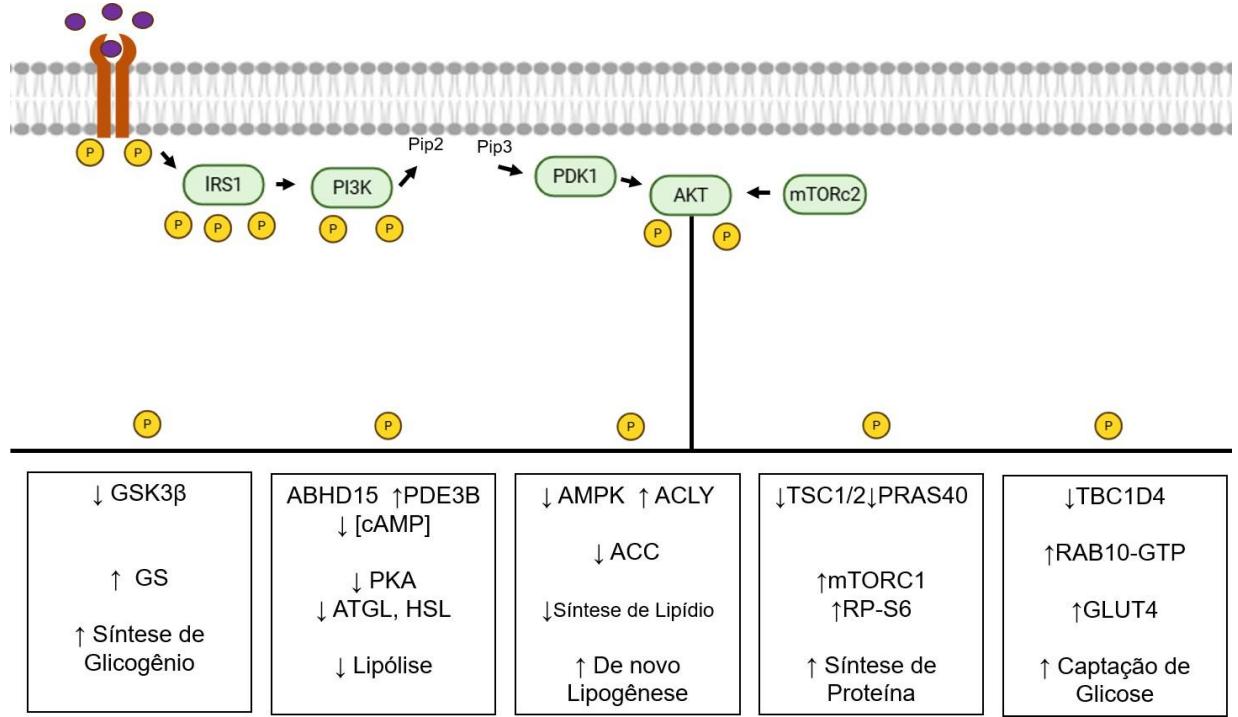
A resistência à insulina constitui, portanto, um dos principais e mais persistentes desfechos da plasticidade do desenvolvimento desencadeada por uma dieta materna inadequada. Trata-se de um mecanismo central que, uma vez programado, favorece o surgimento de um amplo espectro de doenças metabólicas (Dearden; Ozanne, 2023; Duque-Guimarães; Ozanne, 2013). Para compreender plenamente como essas programações nutricionais precoces afetam o metabolismo, é essencial

analisar a sensibilidade à insulina e os processos intracelulares que controlam a resposta das células a esse hormônio.

2.3 Sensibilidade à insulina

A sensibilidade à insulina corresponde à resposta biológica da célula frente à ação do hormônio. Ela é essencial para que os tecidos utilizem a glicose de forma eficiente, garantindo sua captação e metabolismo adequados e, assim, a manutenção da homeostase glicêmica. Nesse contexto, a eficiência da via de sinalização da insulina é determinante para preservar um estado de sensibilidade ao hormônio e assegurar o equilíbrio metabólico (Albaugh et al., 2023).

No estado pós-prandial, por exemplo, depois da alimentação, ocorre a digestão das macromoléculas e absorção dos nutrientes. Há o aumento da concentração de glicose no plasma sanguíneo, o principal estimulador da liberação de insulina, hormônio peptídico central na regulação do metabolismo energético, exerce seus efeitos ao se ligar ao receptor de insulina, uma tirosina quinase composta por duas subunidades α e duas β (Boucher; Kleinridders; Kahn, 2014; Sylow et al., 2021). A ligação da insulina às subunidades α do receptor promove alterações conformacionais nas subunidades β , desencadeando uma cascata de eventos de autofosforilação e fosforilação subsequente de proteínas-alvo (Boucher; Kleinridders; Kahn, 2014; Sylow et al., 2021). Dentre os principais substratos ativados destaca-se o IRS-1 (substrato do receptor de insulina), que recruta e ativa a PI3K (fosfatidilinositol-3 quinase), culminando na fosforilação e ativação da AKT (proteína quinase B). Esses componentes, até a ativação da AKT, são considerados mais acima (*upstream*) da via de sinalização de insulina, por representarem pontos comuns a diferentes tipos celulares (James; Stöckli; Birnbaum, 2021). Em contraste, os efeitos fisiológicos específicos de cada tecido são mediados por efetores abaixo da via (*downstream*), modulados a partir da ativação da AKT. Dessa forma, as proteínas são reguladas, promovendo funções essenciais como a translocação do transportador de glicose GLUT-4 para a membrana plasmática, a síntese de glicogênio, a partir da fosforilação da GSK-3 β , a lipogênese e a síntese proteica, via mTOR1 através da ativação da RP-S6 (Figura 1) (James; Stöckli; Birnbaum, 2021).



Embora muitas células expressem receptores de insulina, seus efeitos na homeostase energética e metabólica são mais evidentes no músculo esquelético, fígado e no tecido adiposo branco, com cada tecido desempenhando funções distintas (Petersen; Shulman, 2018).

O músculo esquelético é o principal tecido responsável pelo metabolismo da glicose, 80% da glicemia pós-prandial é metabolizada neste tecido, consumindo energia e armazenando substratos para uso posterior (Vasconcelos DAA et al., 2022). Nesse contexto, a cascata de sinalização da insulina no miócito é direcionada principalmente para aumentar a captação de glicose, estimular a síntese de glicogênio, que corresponde a aproximadamente 75% da glicose captada pelo músculo esquelético, e promover processos anabólicos, incluindo a síntese proteica, contribuindo para o crescimento e a manutenção da massa muscular (James; Stöckli; Birnbaum, 2021; Petersen; Shulman, 2018).

No fígado, a insulina exerce papel central na regulação da glicose e no metabolismo lipídico. Sua ação envolve a supressão da produção hepática de glicose, por meio da redução da gliconeogênese e da inibição da glicogenólise, além do estímulo à síntese de glicogênio. Paralelamente, promove a lipogênese e o acúmulo de lipídios, em parte pela ativação do fator de transcrição SREBP-1c, que aumenta a expressão de genes lipogênicos. Assim como em outros tecidos, a insulina ativa a via de sinalização intracelular (IRS-PI3K-AKT) no fígado; no entanto, a entrada de glicose nos hepatócitos ocorre de forma independente da insulina, mediada pelo transportador GLUT-2, que funciona de acordo com o gradiente de concentração (Petersen; Shulman, 2018).

Já o tecido adiposo, constitui o principal local de armazenamento energético do organismo, e a insulina desempenha papel central na regulação de seu metabolismo. Nesse tecido, a insulina aumenta a captação de glicose pelos adipócitos, inibe a lipólise, principalmente, por meio da desfosforilação e inativação da lipase hormônio-sensível, e estimula a lipogênese. Esse processo ocorre tanto pela ativação da lipoproteína lipase no endotélio capilar do tecido adiposo, facilitando o influxo de ácidos graxos, quanto pela utilização da glicose intracelular, que fornece glicerol-3-fosfato essencial para a síntese de triglicerídeos. Além disso, a insulina promove a translocação do transportador de glicose (GLUT-4) e a esterificação lipídica, estimulando a adipogênese (Petersen; Shulman, 2018; Samuel; Shulman, 2016).

Para quantificar e avaliar a sensibilidade à insulina nos diferentes tecidos, diversos métodos experimentais são empregados. Dentre os principais, destaca-se o *Clamp euglicêmico hiperinsulinêmico*, considerado o padrão-ouro *in vivo*, que consiste na infusão contínua de insulina em níveis elevados e constantes, acompanhada pelo ajuste da taxa de infusão de glicose necessário para manter a euglicemia, permitindo estimar a ação da insulina em todo o corpo. Outros métodos amplamente utilizados incluem os testes de tolerância à glicose (*GTT- Glucose tolerance test*), que avaliam a capacidade do organismo de metabolizar a glicose após sua administração. Para estudos de fluxo metabólico, utilizam-se traçadores isotópicos, como glicose-¹³C ou palmitato marcado, permitindo calcular taxas de processos específicos, como síntese de glicogênio, lipólise e lipogênese. Além disso, curvas de dose-resposta à insulina fornecem informações complementares,

distinguindo entre resistência periférica (necessidade de maiores doses de insulina para obtenção do mesmo efeito) e redução da responsividade (diminuição do efeito biológico máximo) (James; Stöckli; Birnbaum, 2021; Petersen; Shulman, 2018).

No estado de jejum, quando há redução da glicose, e consequentemente, de insulina, a sinalização insulínica é menos ativada nos três tecidos-alvo periféricos. Isso estabelece um estado catabólico coordenado, no qual o tecido adiposo libera ácidos graxos e glicerol, o fígado utiliza glicerol para produzir glicose, e o músculo oxida ácidos graxos como fonte de energia (James; Stöckli; Birnbaum, 2021).

Quando ocorre desbalanço metabólico decorrente do consumo excessivo de nutrientes, há redução da sensibilidade à insulina periférica (Petersen; Shulman, 2018). A eleveda disponibilidade de ácidos graxos, por exemplo, leva ao acúmulo de derivados lipídicos como diacilglicerol e ceramidas no músculo esquelético, interferindo na via da sinalização da insulina (Silveira et al., 2008). Nesse estado, os tecidos-alvo falham em responder adequadamente à insulina, levando ao estado metabólico disfuncional similar ao jejum, apesar da presença de nutrientes e hiperinsulinemia (James; Stöckli; Birnbaum, 2021). Isso é caracterizado pela incapacidade da insulina de suprimir a produção de glicose hepática e a lipólise no tecido adiposo, resultando no aumento de ácidos graxos livres circulantes. Esse excesso de lipídios promove acúmulo ectópico de gordura no músculo e fígado, que é fator central para o desenvolvimento e propagação da resistência à insulina periférica (Samuel; Shulman, 2016).

2.4 Resistência à insulina induzida por dieta obesogênica

A dieta obesogênica é caracterizada pelo consumo excessivo de gorduras e/ou carboidratos simples, promovendo balanço energético positivo e acúmulo de gordura corporal. Esse padrão alimentar está diretamente associado ao desenvolvimento da obesidade e de diversas alterações metabólicas. Entretanto, evidências são sugestivas de que, independentemente do ganho de peso, a ingestão da dieta hiperlipídica, especialmente elevada em gordura saturada, por si só é capaz de induzir desordens metabólicas, entre elas a resistência à insulina (Coelho et al., 2011; Schrauwen, 2007; Small et al., 2018). Um dos principais mecanismos envolvidos nesse processo é a elevação dos ácidos graxos livres circulantes, resultado da ingestão excessiva de lipídios. Esse aumento de substratos

compromete a homeostase metabólica ao favorecer o acúmulo de lipídios ectópicos em tecidos insulino-sensíveis e promove ativação de vias inflamatórias e de estresse celular (Samuel; Shulman, 2016). Nesse contexto, os efeitos da dieta obesogênica se manifestam, em grande parte, por meio da alteração da sinalização da insulina em tecidos periféricos, configurando o estado de resistência ao hormônio (Samuel; Shulman, 2016).

A resistência à insulina é definida como a condição em que tecidos insulino-dependentes, como o músculo esquelético e tecido adiposo, não respondem de forma adequada às concentrações normais de insulina circulante (Yaribeygi et al., 2019). Considerando que a insulina exerce papel central na entrada de glicose nas células, qualquer alteração em sua via de sinalização resulta em hiperglicemia, decorrente da redução da captação celular de glicose. Nesse sentido, a resistência à insulina constitui um traço comum a diferentes distúrbios metabólicos, incluindo obesidade, dislipidemia, síndrome metabólica, hipertensão, doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) e diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) (Yaribeygi et al., 2019).

Na resistência à insulina, mesmo diante de concentrações normais de insulina plasmática, os tecidos-alvo respondem de forma inadequada. Isso compromete mecanismos como a supressão da produção de glicose endógena e da lipólise, a captação celular de glicose e a síntese de glicogênio, resultando em hiperglicemia persistente. Como resposta compensatória, ocorre a hiperinsulinemia (Petersen; Shulman, 2018).

Diversos fatores podem contribuir para esse quadro, incluindo a ação de mediadores inflamatórios e adipocinas, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, fosforilação anômala do IRS-1 em resíduos de serina, redução da afinidade do receptor pela insulina, mutações no GLUT-4 e acúmulo de lipídios intramusculares decorrente do excesso de ácidos graxos (Yaribeygi et al., 2019). Esses mecanismos comprometem a sinalização, levando à redução da expressão de IRS-1 e GLUT-4, à diminuição da quantidade ou da funcionalidade de receptores de insulina, entre outros efeitos deletérios (Yaribeygi et al., 2019).

De acordo com Samuel & Shulman (2016), a resistência à insulina se instala de forma sequencial nos principais tecidos insulino-sensíveis. O processo geralmente se inicia no músculo esquelético, onde há o acúmulo ectópico de lipídios. Os ácidos graxos induzem resistência à insulina pela ativação da *PKC-θ*, que fosforila a IRS-1 em resíduos de serina/treonina, inibindo sua fosforilação em tirosina. Isso compromete a interação do IRS-1 com a PI3-quinase e reduz a translocação do *GLUT-4* para a membrana plasmática. Além disso, a *PKC-θ* ativa a via do *NFkB* por meio da fosforilação do seu inibidor, *IκB* (Samuel & Shulman et al., 2016). Com a menor captação muscular, a glicose pós-prandial é desviada para o fígado, favorecendo a lipogênese de novo, a síntese de triglicerídeos e o aumento da produção de VLDL, o que contribui para hipertrigliceridemia e redução do HDL. Na sequência, instala-se a resistência à insulina no tecido adiposo, caracterizada por falha na supressão da lipólise e maior liberação de ácidos graxos livres e glicerol. Esse aumento do fluxo de substratos para o fígado intensifica a esterificação de triglycerídeos, a produção de acetil-CoA e a ativação da piruvato carboxilase, resultando em maior gliconeogênese e agravamento da hiperglicemia (figura 2).

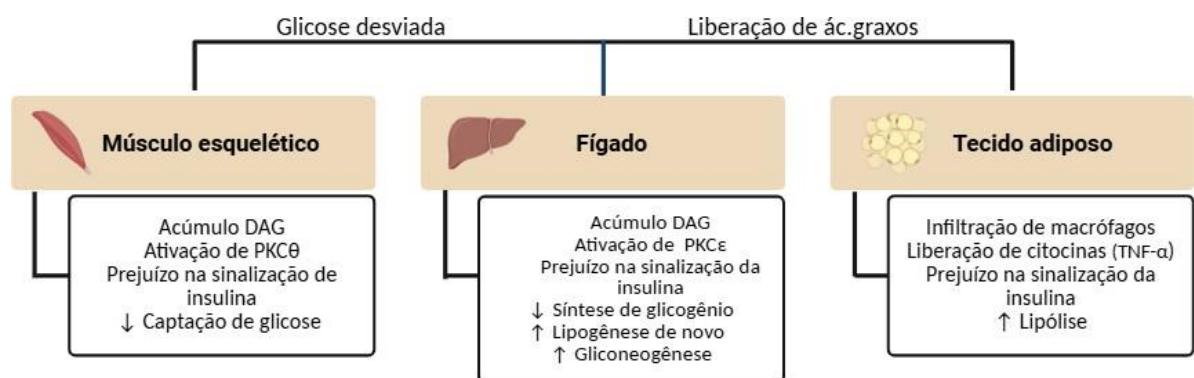


Figura 2. Mecanismo de resistência à insulina no músculo, fígado e tecido adiposo branco. Fonte: Elaborada pela autora.

No contexto da resistência à insulina e da plasticidade do desenvolvimento, o consumo materno da dieta hiperlipídica exerce efeitos duradouros sobre a programação metabólica da prole de roedores (Duque-Guimarães; Ozanne, 2013). Esses efeitos envolvem mecanismos intrauterinos e epigenéticos que afetam diferentes tecidos insulino-sensíveis: no músculo esquelético, há redução da área muscular e do número de fibras, acúmulo de lipídios intramusculares e diminuição

da expressão de receptores de insulina e do transportador GLUT-4, prejudicando a captação de glicose; no fígado, a dieta materna hiperlipídica promove alterações no metabolismo hepático, incluindo aumento de espécies reativas de oxigênio, diminuição de defesas antioxidantes, inflamação, lipotoxicidade e alterações na expressão de genes relacionados à oxidação de ácidos graxos e à gliconeogênese, elevando o risco de esteatose hepática não alcoólica; no tecido adiposo, um ambiente obesogênico leva à disfunção dos adipócitos, aumento da adiposidade, inflamação e secreção alterada de adipocinas, contribuindo para a resistência à insulina (Duque-Guimarães; Ozanne, 2013).

Dante da complexidade da resistência à insulina induzida por ácidos graxos e de sua instalação precoce em tecidos como o músculo esquelético, há grande interesse em estratégias capazes de prevenir ou atenuar suas consequências metabólicas. Além de abordagens clássicas como dieta e exercício, compostos bioativos de origem natural têm despertado atenção pelo potencial antioxidante e anti-inflamatório, modulando vias moleculares críticas da sinalização da insulina (Brawerman et al., 2019; Tsai et al., 2020a). Entre esses compostos, destaca-se o resveratrol, um polifenol amplamente estudado por seus efeitos benéficos sobre obesidade, diabetes e distúrbios metabólicos, que será discutido a seguir (Bahramzadeh; Bolandnazar; Meshkani, 2023).

2.5 Resveratrol

O resveratrol foi primeiramente isolado do *Veratrum grandiflorum* O. Loes por Takaoka em 1939, e especula-se que seu nome foi criado a partir de sua estrutura química e planta fonte utilizada para isolamento (Pezzuto, 2019). Apesar de sua descoberta em 1939, apenas anos mais tarde houve o primeiro grande interesse no estudo desse composto, que ocorreu devido ao paradoxo francês (Catalgol et al., 2012; Renaud; Lorgeil, 1992). O paradoxo francês surgiu a partir de estudos epidemiológicos que apontaram o fato de que apesar do alto consumo de gordura saturada na população francesa, os mesmos possuíam baixa mortalidade por doença coronariana, isso foi relacionado ao consumo moderado de álcool, mais especificamente o vinho (Renaud; Lorgeil, 1992). A partir daí outros estudos foram realizados com o objetivo de investigar os principais compostos presentes no vinho, e entre eles estava o resveratrol (Catalgol et al., 2012).

O resveratrol (*trans-3,5,4'-Trihydroxystilbene*) é um polifenol não flavonoide pertencente à subclasse dos estilbenos (Abbas et al., 2017; Manach et al., 2004). Por polifenol, entende-se que é um composto bioativo presente em alimentos à base de plantas. O resveratrol é uma das principais substâncias encontradas no amendoim, soja, romã, vinho e suco de uva (Abbas et al., 2017; Manach et al., 2004; Martins; Nicoletti, 2016). Além disso, o resveratrol tem demonstrando efeitos na promoção da saúde, atuando na prevenção e/ou atenuação de diversas condições incluindo doenças coronarianas e neurodegenerativas, câncer, inflamação e diabetes (Catalgol et al., 2012).

Em relação a sua absorção e biodisponibilidade, o resveratrol apresenta taxa de absorção relativamente elevada, estimada entre 70% e 75% da quantidade ingerida (Walle et al., 2004). A absorção ocorre principalmente no intestino, sendo o composto subsequentemente metabolizado tanto nesse órgão quanto no fígado. No entanto, apesar da alta taxa de absorção, sua biodisponibilidade sistêmica é limitada devido à rápida metabolização nos tecidos mencionados (Walle, 2011).

Durante esse processo, o resveratrol é prontamente conjugado a sulfatos e ácido glucurônico no intestino e no fígado, o que reduz significativamente a disponibilidade do composto na forma livre e biologicamente ativa (Walle, 2011). Apesar disso, os metabólitos conjugados do resveratrol podem se acumular em tecidos como o fígado e os rins, atuando como reservatórios inativos. Supõe-se que esses metabólitos poderiam ser desconjugados por enzimas específicas ao alcançarem os tecidos-alvo, possibilitando, assim, a liberação do composto ativo (Walle et al., 2004). Sendo essa uma hipótese ainda sob investigação.

No que diz respeito à administração de resveratrol, a dose utilizada é um fator determinante para seus efeitos biológicos e sua segurança. Em estudos com animais, doses entre 2,5 e 22,4 mg/kg são geralmente consideradas baixas, enquanto doses altas variam de 25 mg/kg até 3.000 mg/kg. Embora tanto doses baixas quanto altas possam induzir respostas fisiológicas distintas, algumas pesquisas relatam que doses acima de 3.000 mg/kg estão associadas à toxicidade renal e a alterações em órgãos como coração e pulmão (Mukherjee; Dudley; Das, 2010). Além disso, os efeitos do resveratrol parecem dependentes da dose: enquanto doses baixas exercem ações cardioprotetoras e antiapoptóticas, doses

elevadas podem induzir apoptose, eliminando células tumorais, mas também podendo comprometer a integridade de células saudáveis (Mukherjee; Dudley; Das, 2010). A meia-vida plasmática do resveratrol varia entre 7 e 14 horas, dependendo da dose administrada e das características individuais do metabolismo (Walle et al., 2004).

Pesquisas científicas recentes utilizando o resveratrol têm demonstrado seus potenciais efeitos sobre desordens metabólicas associadas à obesidade e diabetes (Brawerman et al., 2019; Tsai et al., 2020a). Trabalho que investigou os efeitos antiobesidade do resveratrol na prole de ratas submetidas a obesidade materna, verificou que o resveratrol foi capaz de diminuir o peso corporal da prole na vida adulta, diminuir depósito de gordura retroperitoneal, reduzir desregulação da leptina e diminuir a expressão gênica de enzimas relacionadas a lipogênese (Tsai et al., 2020). Já outro estudo com objetivo de avaliar os efeitos antidiabéticos do resveratrol em prole de ratas que foram submetidas a diabetes gestacional, verificou que o resveratrol administrado durante o período da gestação e lactação foi capaz de atenuar a obesidade, prevenir esteatose hepática, melhorar a sensibilidade a insulina e secreção de insulina estimulada por glicose nas ilhotas da prole com 15 semanas de idade (Brawerman et al., 2019).

O mecanismo molecular do resveratrol parece envolver principalmente, a SIRT1, regulador central da homeostase energética, e a AMPK, sensor intracelular de energia (Chen et al., 2018). Estudo *in vitro* demonstrou que o composto aumenta a captação de glicose em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina por meio da via SIRT1-p-AMPK, associada ao aumento da proteína FOXO1 no citoplasma. Já *in vivo*, em tecido adiposo epididimal de camundongos, o resveratrol elevou a expressão de proteínas-chave da sinalização da insulina, como IRS-1, p-IRS-1, p-AKT, SIRT1, p-AMPK α , FOXO1 e GLUT-4 (Chen et al., 2018).

No contexto da plasticidade do desenvolvimento, a administração do resveratrol durante gestação e lactação tem sido associada à redução de adiposidade e peso corporal, normalização de leptina e aumento da expressão do receptor de leptina no tecido adiposo retroperitoneal. Além disso, promove a ativação de SIRT1, reduz a transcrição de genes lipogênicos e suprime enzimas envolvidas na síntese de ácidos graxos, atuando de forma dependente ou

independente da SIRT1, dependendo do contexto metabólico pós-natal (Liu et al., 2020; Tsai et al., 2020).

Embora a maior parte dos estudos com resveratrol avalie o tecido adiposo, tanto em modelos de administração direta quanto no contexto da programação metabólica, há evidências de que o composto também possa melhorar a captação de glicose, a sensibilidade à insulina, o metabolismo lipídico, a função mitocondrial e a inflamação no músculo esquelético (Bahramzadeh; Bolandnazar; Meshkani, 2023). No entanto, até o momento, não existem estudos que investiguem especificamente os efeitos do resveratrol sobre a via da sinalização da insulina no tecido muscular no contexto da plasticidade do desenvolvimento.

3. Hipótese

O resveratrol administrado durante a gestação e lactação atenua a resistência à insulina no músculo esquelético de ratos adultos expostos à dieta obesogênica materna, promovendo efeitos metabólicos e moleculares benéficos na prole. Parte desses efeitos *in vivo* pode decorrer de uma ação direta do resveratrol sobre a sinalização da insulina materna, conforme investigado em modelo *in vitro*.

4. Objetivos

4.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos metabólicos e moleculares do resveratrol ingerido durante a gestação e lactação, com foco na expressão de proteínas da via de sinalização da insulina no músculo esquelético de ratos adultos expostos à dieta obesogênica materna, e avaliar, em modelo *in vitro*, a ação direta do resveratrol na modulação da resistência à insulina induzida por palmitato em miotubos C₂C₁₂, visando elucidar possíveis mecanismos moleculares no músculo esquelético materno que possam estar associados aos efeitos observados na prole.

4.2 Seção 1 – Estudo *in vivo*

4.2.1 Objetivos específicos

Avaliar as repercussões do tratamento materno com resveratrol, durante a gestação e lactação, em ratos adultos oriundos de mães submetidas à dieta obesogênica, sobre:

Avaliação e caracterização do ambiente materno:

- Massa corporal materna;
- Consumo alimentar materno;
- Consumo calórico materno
- Massa dos depósitos do tecido adiposo retroperitoneal materna.

Avaliação da prole aos 90 dias:

- Massa corporal da prole;
- Teste de tolerância à glicose da prole;
- Massas dos depósitos de tecido adiposo epididimal e retroperitoneal da prole;
- Massa seca dos músculos sóleo, extensor longo dos dedos da prole;
- Área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal da prole;
- Expressão de mRNAs AKT, AMPK, CS por qPCR da via de sinalização de insulina no músculo sóleo de ratos adultos.
- Expressão das proteínas IRS1, AKT, GSK-3 β , RP-S6 da via de sinalização de insulina no músculo sóleo de ratos adultos por *western-blotting*.

4.3 Seção 2 – Estudo *in vitro*

4.3.1 Objetivos específicos

- Verificar os efeitos do resveratrol sobre a sinalização da insulina diretamente em miotubos C₂C₁₂ induzidos à resistência à insulina pelo palmitato (AKT, GSK-3 β e AMPK).
- Comparar a eficácia de diferentes concentrações de resveratrol (50 μ M e 100 μ M) na modulação da via da sinalização da insulina em cultura de miotubos C₂C₁₂ tratados com palmitato.

Seção 1 – Experimentos realizados *in vivo*

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 (12/12h), 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 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*, o projeto foi submetido e aprovado nº0020/2021 pela Comissão de Ética em Uso animal (CEUA) da UFPE.

5.2 Grupos Experimentais e ingestão de resveratrol

Uma semana antes do acasalamento, durante a gestação e lactação as ratas foram alimentadas com dieta controle proposta por Reeves, Nielsen e Fahey (1993) AIN-G93 (63% carboidrato, 18% lipídio e 19% proteína), formulada com ingredientes adquiridos da empresa Rhoster indústria e comércio Ltda. (SP, Brasil) ou dieta obesogênica hiperlipídica modificada, baseada na dieta AIN-G93, utilizando ingredientes adquiridos da Rhoster Indústria e Comércio Ltda. (SP, Brasil) e produtos comerciais obtidos em supermercados locais, a partir da adaptação do estudo de Cavalcante et al (2013), rica em energia e altamente palatável (43% carboidrato, 39% lipídio e 18% proteína) com leite condensado da marca camponesa (Alvoar Lácteo S.A., MG, Brasil) (77,6% açúcar, 11,2% gordura, 11,2% proteína) (tabela 1) (Martin-Gronert et al., 2010). Após a 1° semana de dieta, as ratas foram postas para acasalamento, e foi feita a confirmação da prenhez através do teste de esfregaço vaginal, onde a constatação do espermatozoide na secreção vaginal caracterizou o dia zero da gestação.

Após a confirmação da gestação até o fim da lactação, veículo, etanol (\geq 99,5%, Neon Comercial Ltda., SP, Brasil) ou resveratrol (Roval Química Ltda., PE,

Brasil) (0,22 mol/L de etanol) foi adicionado à água para atingir uma concentração final de 50mg/L, como previamente relatado em estudo com objetivo de verificar os efeitos do resveratrol sobre o metabolismo da prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica (Ros et al., 2021). As garrafas de água eram protegidas da luz, para evitar oxidação do resveratrol e foi trocada de duas a três vezes por semana. A partir da quantidade de água ingerida pelos animais, foi obtido a dose aproximada de resveratrol pelo grupo D_OMat+Res na gestação 1,2mg/kg/dia e lactação 2,6 mg/kg/dia (volume de água consumida x concentração de resveratrol).

Os grupos então foram divididos, de acordo com a dieta e tratamento com veículo ou resveratrol, em: Dieta Controle materna (DCMat, n=8); Dieta obesogênica materna (DOMat, n=8); e Dieta obesogênica materna + resveratrol (DOMat+Res n=8) (Fig. 3).

Foi mantido um total de 8 filhotes por ninhada. Os filhotes foram desmamados no 22º dia pós-natal (DPN) e alimentados com dieta padrão de biotério (Nuvilab., PR, Brasil) até os 90º DPN, quando foram eutanasiados.

Desenho Experimental:

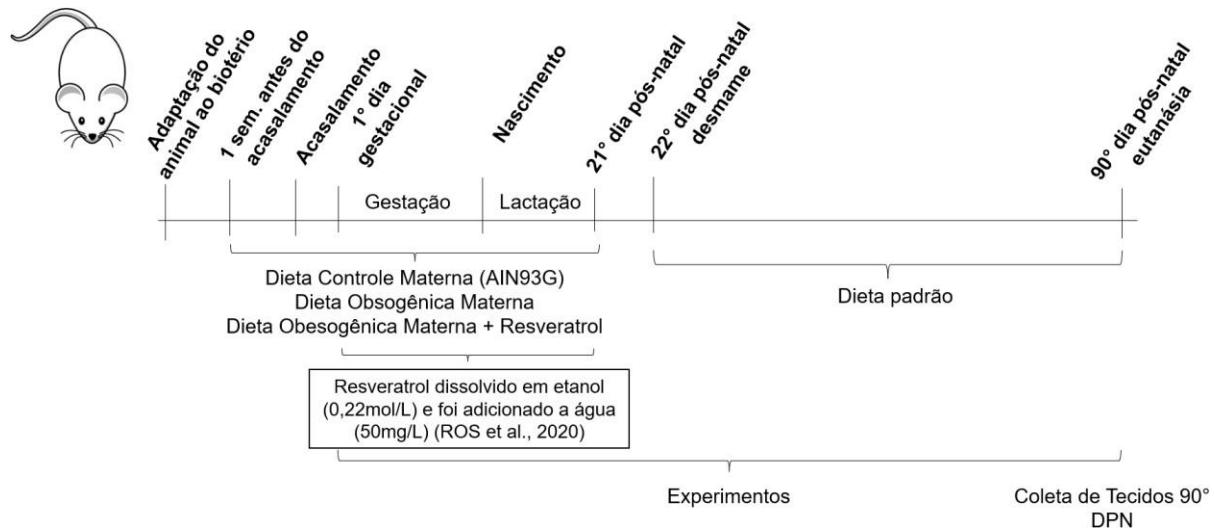


Fig. 3 Desenho Experimental

Tabela 1 - Composição de macronutrientes das dietas segundo o valor energético total (VET)

DIETAS	PROTEÍNA	CARBOIDRATO	LIPÍDIO	VET
--------	----------	-------------	---------	-----

	(%kcal VET)	(%kcal VET)	(%kcal VET)	(%Kcal/g)
Obesogênica (crescimento)	18	43	39	4,0
AING93 (crescimento)	19	63	18	3,6

Tabela 2 – Composição centesimal das dietas experimentais

Constituintes (%g)	AING93 (crescimento)	Dieta obesogênica (crescimento)
Amido de milho	39,75	11,70
Amido dextrinizado	13,20	-
Ração comercial de biotério	-	8,00
Biscoito maisena de chocolate	-	5,00
Farinha de soja		4,00
Caseína	20,00	20,00
Celulose	5,00	4,00
Óleo de soja	7,00	3,00
Banha	-	5,30
Manteiga	-	4,00
Margarina (85% lipídio)	-	4,00
Creme de leite (20% lipídio)	-	4,00
Açúcar	10,00	22,00
Sais – mix mineral	3,50	2,50
Vitaminas	1,00	0,70
Colina	0,25	0,25
Metionina	0,30	0,25
BHT = 0,14mg	0,0014	0,0014
NaCl (39,34% de Na)	-	0,30
Glutamato Monossódico (12,3% de Na)	-	1,00
Calorias (g/100)	3,60	4,00

Tabela 3. Composição centesimal do leite condensado

Constituintes (%g)	Porção: 100g

Carboidratos (g)	56
Açúcares totais (g)	56
Açúcares adicionados (g)	45
Proteínas (g)	6,9
Gorduras totais (g)	8
Gorduras saturadas	5
Sódio (mg)	105
Calorias (g/100)	3,24

5.3 Análises Experimentais

5.3.1 Massa corporal

O peso corporal das ratas gestantes foi aferido semanalmente durante todo o período da gestação utilizando uma balança analítica de alta precisão (Marte, modelo Ad3300; sensibilidade de 0,01 g). Essa medida permitiu o monitoramento do ganho ponderal materno ao longo do ciclo gestacional.

Os filhotes foram pesados diariamente durante o período de lactação, do 7º ao 21º dia pós-natal (DPN), a fim de acompanhar o crescimento e desenvolvimento neonatal de forma precisa. Após o desmame, o peso corporal dos filhotes passou a ser aferido semanalmente, utilizando a mesma balança analítica, garantindo consistência nas medições.

5.3.2 Consumo Alimentar

Durante a gestação e lactação, o consumo alimentar materno foi monitorado diariamente por meio da pesagem dos alimentos e do leite condensado, separadamente, em balança analítica de alta precisão (Marte, modelo AD3300; sensibilidade: 0,01 g). Para cada animal, a ingestão de dieta foi calculada pela diferença entre a quantidade ofertada no início do ciclo escuro (08:00 h) e a quantidade remanescente após 24 h, conforme descrito por Lopes de Souza et al. (2008). O mesmo procedimento foi adotado para o leite condensado, ofertado em garrafas, determinando-se o consumo individual a partir da diferença entre as

quantidades inicial e final no mesmo intervalo de tempo. A partir desses registros diários, foi calculado o consumo alimentar médio semanal.

O consumo energético absoluto foi obtido multiplicando-se a quantidade de dieta ingerida pelo valor energético de cada dieta experimental (kcal/g), previamente determinado a partir de sua composição centesimal. O consumo de macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) foi calculado de forma análoga, pela multiplicação da ingestão de dieta (g/dia) pela proporção correspondente de cada macronutriente presente na dieta (g/g).

Para reduzir a influência da variação de peso corporal entre os animais, os resultados de consumo alimentar, energético e de macronutrientes foram expressos também em termos relativos, dividindo-se os valores absolutos pelo peso corporal (g) de cada animal. Dessa forma, obteve-se o consumo relativo, expresso em g ou kcal/dia/g de peso corporal, para facilitar a comparação entre grupos experimentais.

5.3.3 Teste de tolerância à glicose (GTT)

O teste de tolerância à glicose intraperitoneal (GTT) foi realizado nos 60º e 88º dias pós-natais (DPN). Para isso, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas, a ração era retirada às 20h (ciclo claro) e a glicose era administrada às 8h do dia seguinte (ciclo escuro), com acesso livre à água. Inicialmente, foi coletada uma amostra basal de sangue (tempo 0) através de um pequeno corte na ponta da cauda. Em seguida, cada animal recebeu uma sobrecarga de glicose por via intraperitoneal (i.p.), na forma de solução a 50%, na dose de 1,0 g/kg de peso corporal.

A glicemia foi medida utilizando um glicosímetro portátil (Roche Diagnostics Corporation). Amostras adicionais de sangue foram coletadas da ponta da cauda nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos após a administração de glicose, permitindo a construção do perfil glicêmico pós-sobrecarga.

Os valores de glicemia obtidos em cada tempo foram registrados individualmente para cada animal. Com base nesses dados, foi calculada a área sob a curva de glicose (AUC), fornecendo uma medida integrada da resposta glicêmica durante o teste.

5.3.4 Massas dos depósitos de tecido adiposo epididimal e retroperitoneal

Aos 90 dias de vida, os animais foram eutanasiados por decapitação, de acordo com as normas de bem-estar animal e protocolo aprovado pelo comitê de ética em pesquisa. Após a eutanásia, foram coletados os coxins de tecido adiposo branco dos depósitos epididimal e retroperitoneal. Os tecidos foram cuidadosamente dissecados, livres de tecidos conectivos adjacentes, e pesados em balança analítica para registro do peso absoluto de cada depósito. Em seguida, cada amostra foi dividida: uma porção foi fixada em formalina tamponada com fosfato a 10% para posterior processamento histológico, enquanto a outra porção foi acondicionada em microtubos, resfriada em gelo seco e posteriormente armazenada a -80 °C, preservando a integridade do tecido para análises moleculares futuras. Todos os procedimentos de coleta, pesagem, divisão e armazenamento foram realizados de forma padronizada.

5.3.5 Massa úmida e seca dos músculos sóleo, extensor longo dos dedos (EDL):

Aos 90 dias de vida, os animais foram eutanasiados de acordo com protocolo aprovado pelo comitê de ética em pesquisa. Após a eutanásia, os músculos sóleo e EDL foram cuidadosamente isolados a partir de incisões nos tendões proximais e distais correspondentes. Inicialmente, todos os músculos foram pesados em estado úmido, e em seguida colocados em estufa a 60 °C por 72 horas para obtenção do peso seco, após o qual foram pesados novamente. Os valores de massa muscular seca foram normalizados pelo peso do animal. Os músculos sóleo e EDL da outra pata foram armazenadas a -80 °C para futuras análises moleculares.

5.3.6 Análise histológica

Fragmentos de tecido adiposo retroperitoneal foram coletados e fixados em formalina tamponada com fosfato a 10% por 48 horas à temperatura ambiente. Após a fixação, as amostras foram desidratadas em uma série de concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%) por 30 minutos em cada solução, diafanizadas em xilol e, em seguida, incluídas em parafina (ponto de fusão de 58°C).

Secções de 5 µm de espessura foram obtidas usando um micrótomo rotativo e montadas em lâminas de vidro. Para a análise histológica, as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (H&E).

Para a análise morfométrica, as lâminas foram observadas em um microscópio de luz (Zeiss - Carl Zeiss NTS Ltd). Quatro lâminas por animal foram analisadas, e de cada lâmina, seis campos de visão aleatórios foram selecionados para captura de imagens com a objetiva de 10x. As imagens foram obtidas por um avaliador que desconhecia os grupos experimentais (análise cega). A área de aproximadamente 30 adipócitos por imagem foi mensurada, totalizando 180 adipócitos por animal e 900 adipócitos por grupo experimental, este número de contagem representa uma estimativa precisa do tamanho dos adipócitos (Parle et al, 2014), utilizando o software de análise de imagem Zeiss Zen 3.8.

5.3.7 Análises moleculares

5.3.7.1 Análise da expressão de proteínas por *Western Blotting*

A análise por *Western blotting* foi conduzida para determinar a expressão das proteínas-chave relacionadas à via de sinalização da insulina. O procedimento baseou-se em protocolo previamente publicado por Marzuca-Nassr et al. (2016), com modificações.

Preparação das Amostras e Homogeneização

Fragmentos dos músculos sóleos e EDL, pesando em média 70mg a 80mg, foram obtidos e imediatamente homogeneizados em tampão de lise gelado (Tris base 100mM (PH= 7,5), EDTA 10mM, Triton X-100 1%, pirofosfato de sódio 10mM, fluoreto de sódio 100mM, ortovanadato de sódio 10mM, PMSF 2mM e aprotinina 0.01mg/ml em água deionizada), com inibidores de protease e fosfatase. O homogeneizado foi então centrifugado a 4°C por 20 minutos a 5488 x g. Após a centrifugação, o sobrenadante foi cuidadosamente coletado e reservado. Uma alíquota de 2 µL de cada sobrenadante foi utilizada para a quantificação do conteúdo total de proteínas, seguindo o método de Bradford (1976).

Eletroforese e Transferência

Após a quantificação, quantidades iguais de proteína por amostra (25 a 30 µg) foram diluídas em tampão de amostra Laemmli (fosfato de Na⁺ 0,5M (PH= 7), azul de bromofenol (0,01%), SDS (10%), glicerol 50%) contendo ditiotreitol (PM= 154,3), e incubadas em banho-maria a 90°C por 5min. As proteínas foram separadas por peso molecular através de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) em tampão de corrida (Tris base 200mM, glicina 1,52M, EDTA 7,18mM, SDS 0,4%), a porcentagem do gel foi ajustada conforme o peso molecular das proteínas alvo. Em seguida, as proteínas do gel foram eletrotransferidas para uma membrana de nitrocelulose em tampão de transferência (Tris base 25mM. Glicina 1,92mM, SDS 0,02%, metanol 20%), em um sistema de transferência úmido (100V, 90min a 18°C). A eficiência da transferência foi verificada por coloração com Ponceau S, seguida de lavagem da membrana em TBST (*Tris-Buffered Saline with Tween 20*, 10 mM Tris base, 150 mM NaCl, 0,05%, Tween 20) para remoção do corante.

Incubação e Detecção de Proteínas

Para bloquear sítios de ligação inespecíficos, a membrana de nitrocelulose foi incubada em uma solução de Albumina de Soro Bovino (BSA) a 5% overnight a 18°C, sob agitação constante. Em seguida, a membrana foi incubada com anticorpos primários obtidos da *Cell Signalling Technology* (Danvers, MA, EUA), conforme especificidade a seguir: AKT (#9272), IRS-1 (#2382), GSK3β (#9315), RPS6 (#2217), diluídos em BSA 5% na proporção de 1:1000, overnight, a 18°C.

No dia seguinte, os anticorpos foram retirados da membrana e foram feitas três lavagens de 10min com TBST. Após as lavagens a membrana foi incubada com o anticorpo secundário, anti-rabbit IgG conjugado à peroxidase (HRP) (*Cell Signaling Technology*, Danvers, MA, EUA), diluído na proporção de 1:5000 em solução de BSA 5%, por 1 hora e 30 minutos à 18°C, sob agitação. Após esse período foram feitas três lavagens de 7min. em TBST, e a detecção das bandas foi realizada por quimioluminescência utilizando um substrato de peroxidase preparado em laboratório. O substrato foi preparado em duas soluções separadas: Solução 1 – 500 µL de Tris base 1 M (pH 8,5), 50 µL de luminol (250 µM) e 22 µL de ácido p-cumárico (90 µM), completados a 5 mL com água *Milli-Q*; Solução 2 – 50 µL de Tris base 1 M (pH 8,5) e 3,05 µL de peróxido de hidrogênio 30%, completados a 5 mL com água *Milli-Q*. As duas soluções foram misturadas em proporção 1:1

imediatamente antes do uso e aplicadas à membrana para captura das imagens por sinais de quimioluminescência.

A membrana foi incubada na solução por 5 minutos, e as imagens foram imediatamente capturadas por um fotodocumentador (ChemiDoc XRS+). A análise de intensidade das bandas foi quantificada utilizando o software *ImageJ*, permitindo a avaliação da expressão proteica total e das proteínas analisadas normalizadas peloponceau.

5.3.7.2 Análise de Expressão de mRNA por qPCR

A análise da expressão de RNA mensageiro (mRNA) no tecido muscular (sóleo) foi realizada por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR), utilizando um método de extração de RNA com o reagente TRIzol e posterior síntese de DNA complementar (cDNA).

Extração de RNA

A extração de RNA total foi realizada seguindo o protocolo do reagente TRIzol® (Invitrogen), com modificações. Amostras de tecido muscular (70-80 mg) foram homogeneizadas, utilizando-se o homogeneizador de tecidos (politron), em 500 µl de *TRIzol* (*Invitrogen*). Para a fase de separação, adicionou-se 0,1 ml de clorofórmio para 500ul ml de *TRIzol* utilizado. A mistura foi agitada vigorosamente por 15 segundos e incubada por 2 a 3 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 5488 x g por 15 minutos a 4°C. A fase aquosa superior, que contém o RNA, foi cuidadosamente transferida para um novo tubo.

A precipitação do RNA foi realizada pela adição de álcool isopropílico. Foram adicionados 250 µl de isopropanol ao tecido muscular. As amostras foram incubadas por 10 minutos a 4°C e centrifugadas a 12.000 x g por 10 minutos a 4°C. O precipitado de RNA formou um *pellet* semelhante a um gel, e o sobrenadante foi cuidadosamente descartado. O *pellet* de RNA foi lavado com etanol 75%, na proporção de 1 ml para cada 1 ml de TRIzol inicialmente usado. As amostras foram centrifugadas a 7.500 x g por 5 minutos a 4°C, e o sobrenadante de etanol foi descartado completamente. O *pellet* de RNA foi seco ao ar ou a vácuo por 5 a 10 minutos, evitando que secasse completamente para não comprometer sua

solubilidade. Finalmente, o RNA foi ressuspenso em água livre de RNase, foram utilizados 100 µl de água. As amostras de RNA foram armazenadas a -70°C. A concentração e a pureza do RNA foram determinadas por espectrofotometria, utilizando 1 µl de RNA no Nanodrop. A pureza foi avaliada pela razão A260/A280.

Síntese de cDNA

A síntese de cDNA foi realizada com o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (ThermoFisher Scientific). Um *master mix* foi preparado com os reagentes do kit: 2,0 µl de 10x RT Buffer, 0,8 µl de 25x dNTP Mix, 2,0 µl de 10x RT Random Primers, 1,0 µl de Multiscribe Reverse Transcriptase e 4,2 µl de água livre de RNase. Ao *master mix*, foi adicionado 10 µl de RNA total de cada amostra, totalizando 20 µl de reação. A reação foi processada em um termociclador, sob o seguinte programa: 10 minutos a 25°C, 120 minutos a 37°C e 5 minutos a 85°C. Após a síntese, o cDNA foi diluído. A diluição inicial foi de 18 µl de cDNA em 432 µl de água livre de RNase. A concentração final de cDNA foi de 4 ng/µl, o que se enquadra na faixa de 3 a 30 ng de cDNA recomendada para as reações de PCR. O cDNA diluído foi armazenado a -20°C.

Reação de PCR em Tempo Real (qPCR)

A quantificação de mRNA foi realizada por qPCR. A expressão dos genes de interesse Citrato sintase, AKT e AMPK foi analisada, utilizando HPRT1 como gene de referência. Cada reação de 15 µl continha 7,5µl de SYBR Green Master Mix, 1,6 µl de água, 0,15 µl de corante, 0,75µl de *primer* e 5µl de cDNA. A concentração final dos *primers* (HPRT1, AKT, AMPK, CS) foi ajustada para 5 µM a partir de uma solução estoque de 100 µM. Para isso, 10 µl de cada *primer forward* e *reverse* foram diluídos em 80 µl de água, totalizando 100 µl.

As amostras foram pipetadas em triplicata em uma placa de 384 poços. Um controle negativo, contendo apenas água livre de RNase, foi incluído para cada tipo de tecido. A placa foi selada e centrifugada para remover bolhas. A amplificação foi realizada em um termociclador ViiA 7 (Life Technologies). O programa de ciclagem consistiu em uma etapa de Hold a 50°C por 2 minutos, seguida de outra a 95°C por

10 minutos, e 40 ciclos de 15 segundos a 95°C (desnaturação) e 1 minuto a 60°C (anelamento/extensão).

Análise dos Dados

O limiar de ciclo (Ct) médio foi calculado para cada amostra a partir dos valores de triplicata. A expressão dos genes de interesse foi normalizada usando a expressão do gene HPRT1 como controle endógeno. A quantificação relativa da expressão gênica foi calculada utilizando o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, onde o valor do ΔCt foi obtido pela subtração do Ct do gene de interesse pelo Ct do gene endógeno (housekeeping). O valor do $\Delta\Delta Ct$ foi calculado pela subtração da média do ΔCt de um grupo controle pelo ΔCt de cada amostra experimental. Os valores relativos de expressão foram, então, submetidos à análise estatística.

5.4 Análise estatística:

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada utilizando o *GraphPad Prism* 8.4.3 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). A normalidade foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para análises com medidas repetidas de dados paramétricos, utilizou-se ANOVA two-way, considerando dieta e resveratrol como fatores, seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey. Para dados não paramétricos, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis. Nas análises sem medidas repetidas, foi empregado ANOVA one-way seguido do teste de Tukey. Em todos os casos, considerou-se significância estatística para $p \leq 0,05$ (alfa de 5%). Para a análise da área transversal dos adipócitos foram utilizadas as medianas do intervalo de confiança de 95%.

Seção 2: Experimentos realizados *in vitro*

6. Material e métodos

6.1 Cultura de miotubos C₂C₁₂ e *Western blotting*

As células da linhagem murina C₂C₁₂ foram descongeladas e cultivadas em uma atmosfera úmida com 5% de CO₂ à 37°C. O meio de crescimento consistia em DMEM (alta glicose, sem piruvato, GlutaMax 1×) suplementado com 10% de soro fetal

bovino (SFB) e 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina). Para diferenciação em miotubos, utilizou-se *DMEM* (alta glicose, sem piruvato, GlutaMax 1×) suplementado com 2% de soro de cavalo (HS) e 1% de antibiótico.

Durante a manutenção da linhagem, as células não foram deixadas completamente confluentes para evitar diferenciação precoce, sendo planejadas passagens a cada dois dias. Para subcultivo, o meio de cultura foi aspirado, as células lavadas com PBS e descoladas com 1 mL de tripsina-EDTA (0,25%), seguidas de centrifugação a 506 × g por 5 minutos. As células foram ressuspensas em *DMEM* e uma alíquota foi utilizada para contagem em câmara de *Neubauer*.

As células foram semeadas em placas de 6 poços a uma concentração de 200.000 células por poço. Quando atingiram 100% de confluência (aproximadamente 48 h), iniciou-se a diferenciação, com substituição do meio a cada dois dias. A morfologia celular foi monitorada nos dias 2, 4, 6 e 7, sendo observado o início da fusão no quarto dia e diferenciação completa no sétimo dia.

No sexto dia de diferenciação, os miotubos foram tratados por 16 h com BSA ou palmitato (400 µM), na ausência ou presença de resveratrol (50 ou 100 µM). Após o tratamento, as células foram lavadas com PBS e pré-incubadas em meio sem soro por 3 h antes da estimulação com insulina (100 nM) por 15 minutos.

Para análise da expressão de proteínas por *Western blotting*, os mitubos foram lisados diretamente nos poços com 200 µL de tampão de lise *RIPA* (tampão de extração de proteínas) contendo inibidores de protease e fosfatase. Os lisados foram centrifugados a 5488 × g por 15 minutos a 4°C e o sobrenadante contendo proteínas coletado. A concentração proteica foi determinada por espectrofotometria (adaptado do método de Bradford). Quantidades iguais de proteína (25–40 µg) foram diluídas em tampão de Laemmli com *DTT*, aquecidas a 95°C por 5 minutos, separadas por SDS-PAGE e transferidas para membranas de fluoreto de polivinilideno (*PVDF*) em sistema semi-úmido (1 h a 100 V). O gel foi corado com *InstantBlue* para verificar a eficiência do processo da transferência de proteínas do gel para membrana.

As membranas foram bloqueadas com BSA (albumina) por 1–2 h à temperatura ambiente, incubadas com anticorpo primário durante a noite a 4°C e, após três lavagens com tampão de lavagem, incubadas com anticorpo secundário conjugado

com *HRP* (peroxidase) por 1h à temperatura ambiente. A detecção foi realizada com substrato quimioluminescente (Luminata Forte ou Classico, Millipore), e as imagens capturadas em fotodocumentador *Chemidoc CAM002/CAM004*. A intensidade das bandas foi quantificada usando o software *ImageJ*, permitindo análise da expressão total e da fosforilação de proteínas sinalizadoras de insulina: AKT, GSK-3 β e AMPK.

6.2 Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada utilizando o *GraphPad Prism 8.4.3* (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Para avaliar diferenças entre grupos, foi utilizada ANOVA two-way, considerando como fatores o tratamento com resveratrol e o tratamento com palmitato ou BSA (controle), seguida do teste de comparações múltiplas de *Tukey*. O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

7. Seção 1 – Resultados experimentos *in vivo*

7.1 Resultados materno

7.1.1 Peso corporal materno

Com relação ao peso corporal materno, não houve diferenças significantes entre os grupos DC_{Mat}, DO_{Mat} e DO_{Mat+Res} em todo o período da gestação e do desmame.

Gráfico 1. Peso corporal materno (gestação e desmame)

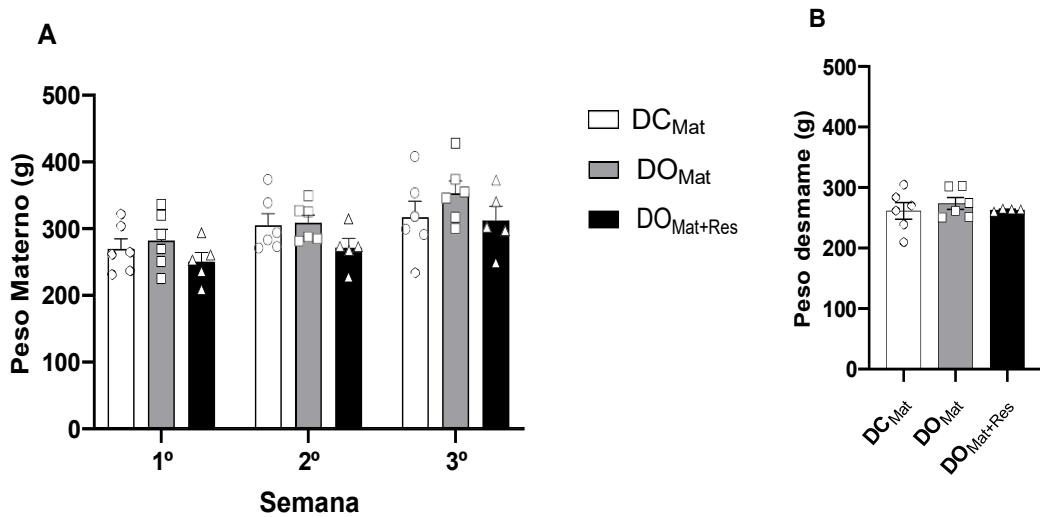


Gráfico 1: Peso corporal materno na gestação (A) e ao desmame (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6), dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=5) e dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. Teste: ANOVA two way (A), ANOVA One-Way (B) seguido do pós-teste de Tukey.

7.1.2 Consumo Alimentar materno (gestação)

No consumo alimentar materno no período da gestação, os animais que receberam a dieta obesogênica apresentaram diminuição do consumo da dieta em comparação ao grupo que recebeu a dieta controle da 1º (DC_{Mat}=6.12±0.58; vs *DO_{Mat}=3.01±0.31, p=0.004) até a 3º semana da gestação (DC_{Mat}=6.83±0.62 vs *DO_{Mat}=3.67±0.45, p=0.007), e o grupo que recebeu o resveratrol DO_{Mat+Res} não apresentou diferença em comparação com o grupo DO_{Mat}. No consumo de leite condensado, não houve diferença entre os grupos que consumiram a dieta obesogênica.

Gráfico 2. Consumo alimentar materno (relativo) da dieta e leite condensado na gestação.

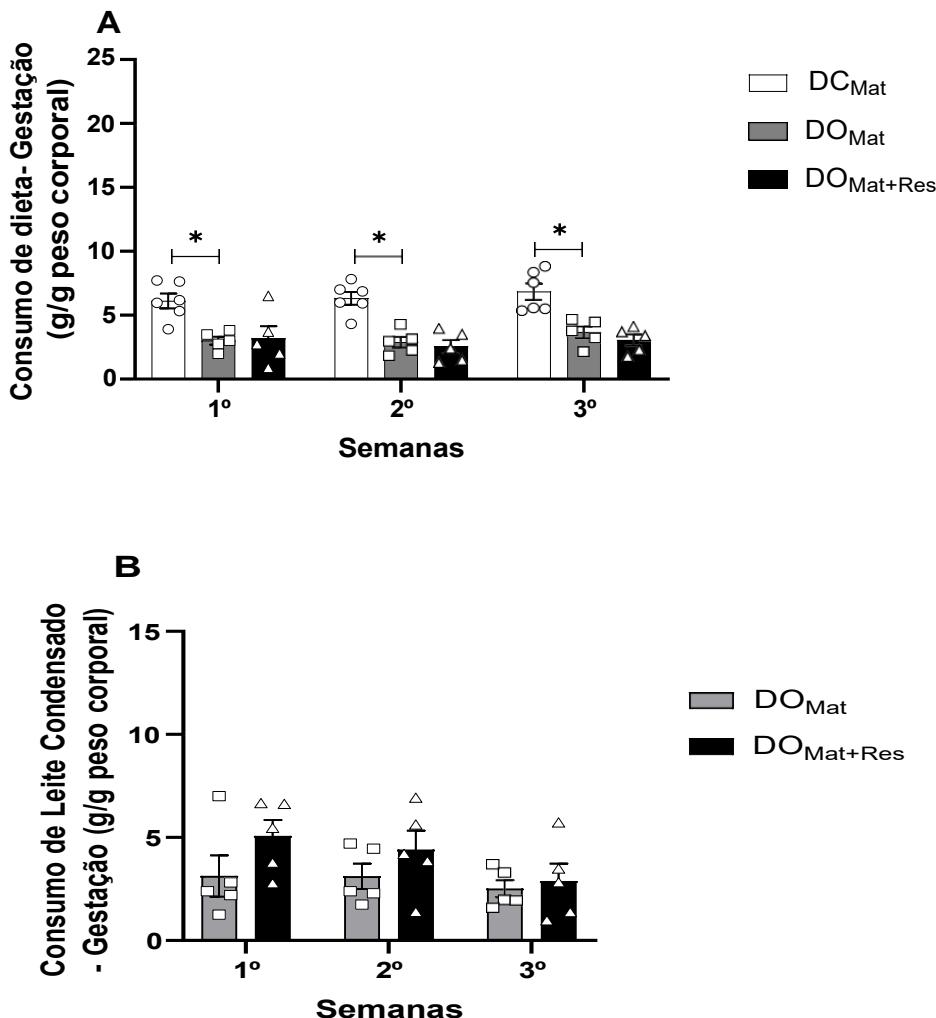


Gráfico 2: Consumo de dieta (A) e leite condensado (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6); dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=5); e dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste Tukey.*p<0,05.

7.1.3 Consumo Alimentar materno (lactação)

No consumo alimentar no período da lactação os resultados foram semelhantes ao da gestação, onde o grupo que recebeu dieta obesogênica diminuiu seu consumo em comparação com o grupo dieta controle na 1º (DC_{Mat}=10.45±0.83; vs *DO_{Mat}=5.51±0.50, p=0.002) e 2º semana (DC_{Mat}=14.28±0.63; vs

* $DO_{Mat}=9.17\pm 0.82$, $p=0.003$) da lactação. Já, no consumo do leite condensado não houve diferença entre o grupo que recebeu dieta obesogênica DO_{Mat} e o grupo que recebeu dieta obesogênica em conjunto com o resveratrol $DO_{Mat+Res}$.

Gráfico 3. Consumo alimentar (relativo) da dieta e leite condensado na lactação

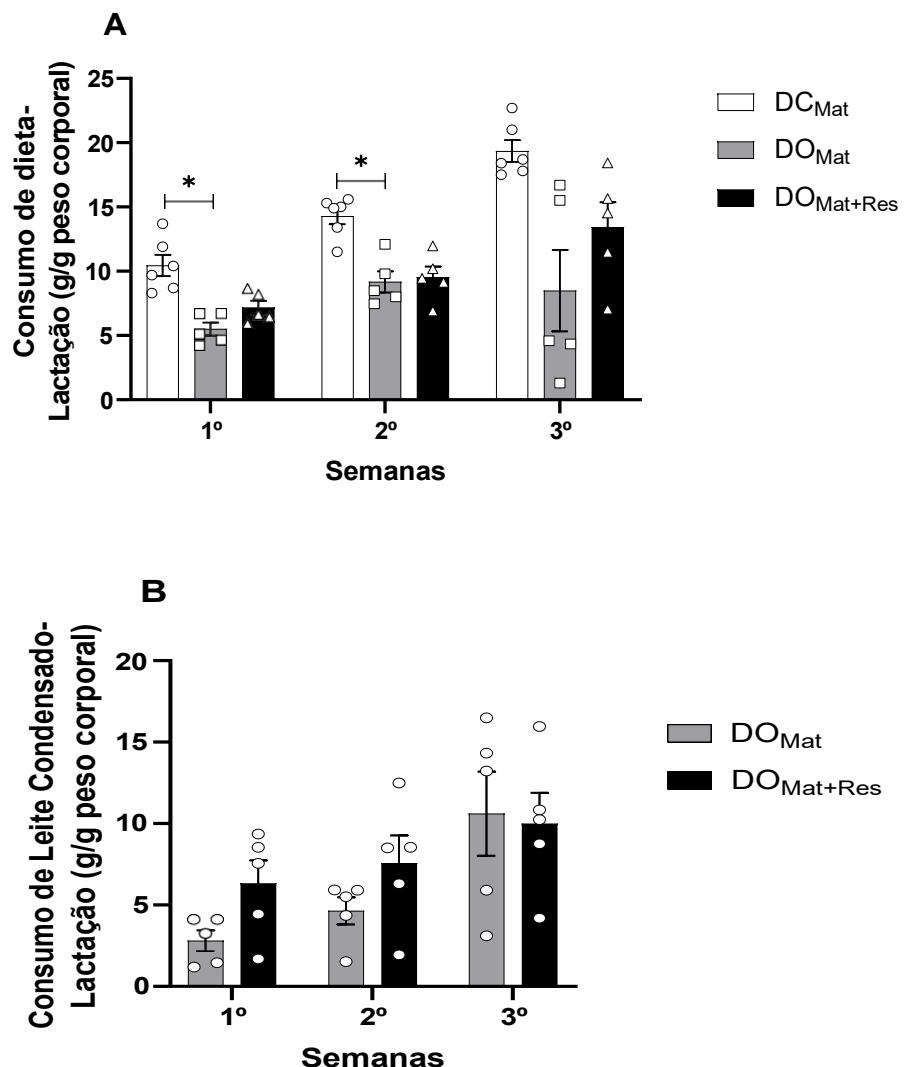


Gráfico 3: Consumo de dieta (A) e leite condensado (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=5), dieta obesogênica (DO_{Mat} , n=5) e dieta obesogênica+resveratrol ($DO_{Mat+Res}$, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média \pm EPM. * DC_{Mat} vs DO_{Mat} , DO_{Mat} vs $DO_{Mat+Res}$. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste Tukey. * $p<0,05$.

7.1.4 Consumo calórico materno (gestação e lactação)

No que diz respeito ao consumo calórico no período da gestação e lactação, não houve diferença entre os grupos DC_{Mat}, DO_{Mat} e DO_{Mat+Res}.

Gráfico 4. Consumo calórico materno (relativo) da dieta + leite condensado gestação e lactação

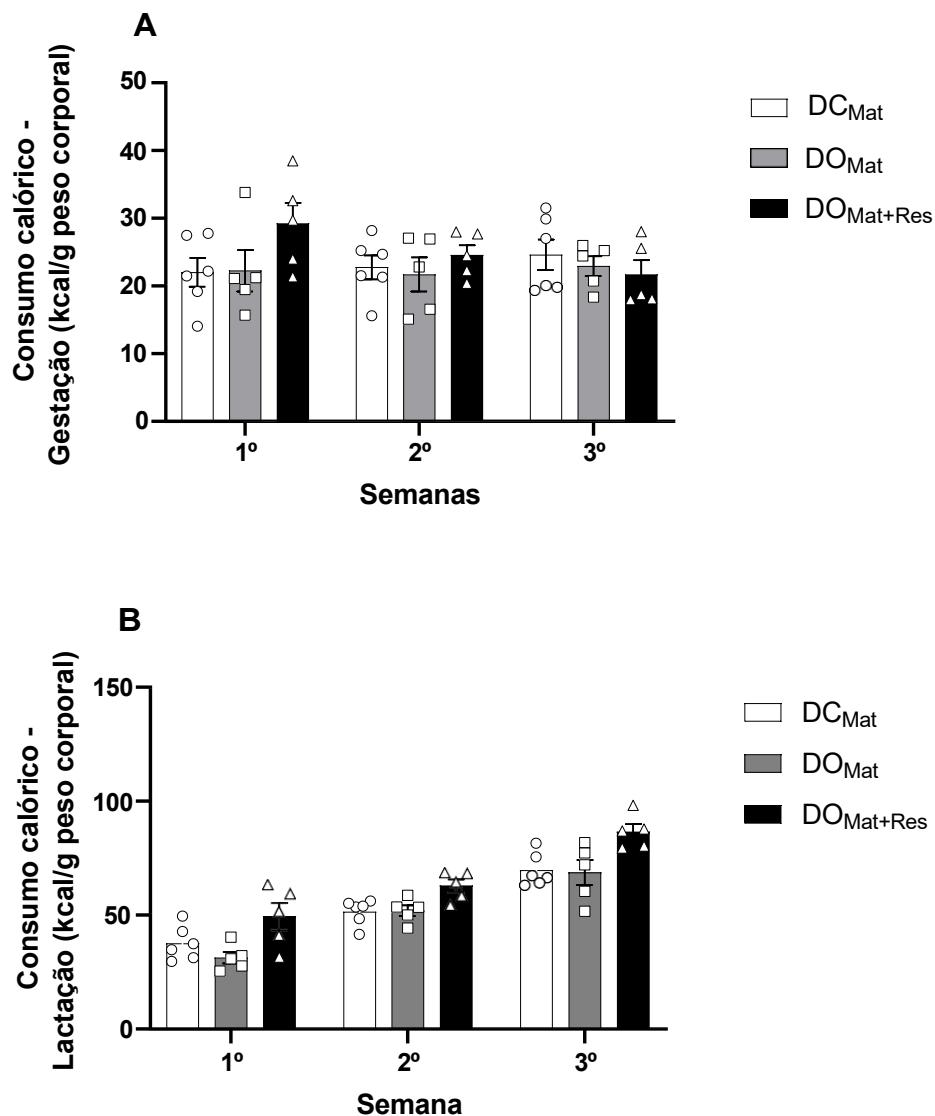


Gráfico 4: Consumo (dieta e do leite condensado) calórico na gestação (A) e lactação (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6), dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=5); e dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.1.5 Consumo de carboidratos materno (gestação e lactação)

Com relação ao consumo de carboidratos, não houve diferença entre os grupos no período da gestação. No entanto, no período da lactação houve uma diminuição do consumo no grupo que recebeu dieta obesogênica em comparação com o grupo que recebeu dieta controle na 1º ($DC_{Mat}=5.92\pm0.48$ vs $*DO_{Mat}=3.93\pm0.36$, $p=0.02$) e 2º semana da lactação ($DC_{Mat}=8.10\pm0.35$ vs $*DO_{Mat}=6.51\pm0.32$, $p=0.02$). Os grupos DO_{Mat} e $DO_{Mat+Res}$ não demonstraram diferenças significativas.

Gráfico 5. Consumo de carboidratos materno (relativo) dieta + leite condensado na gestação e lactação

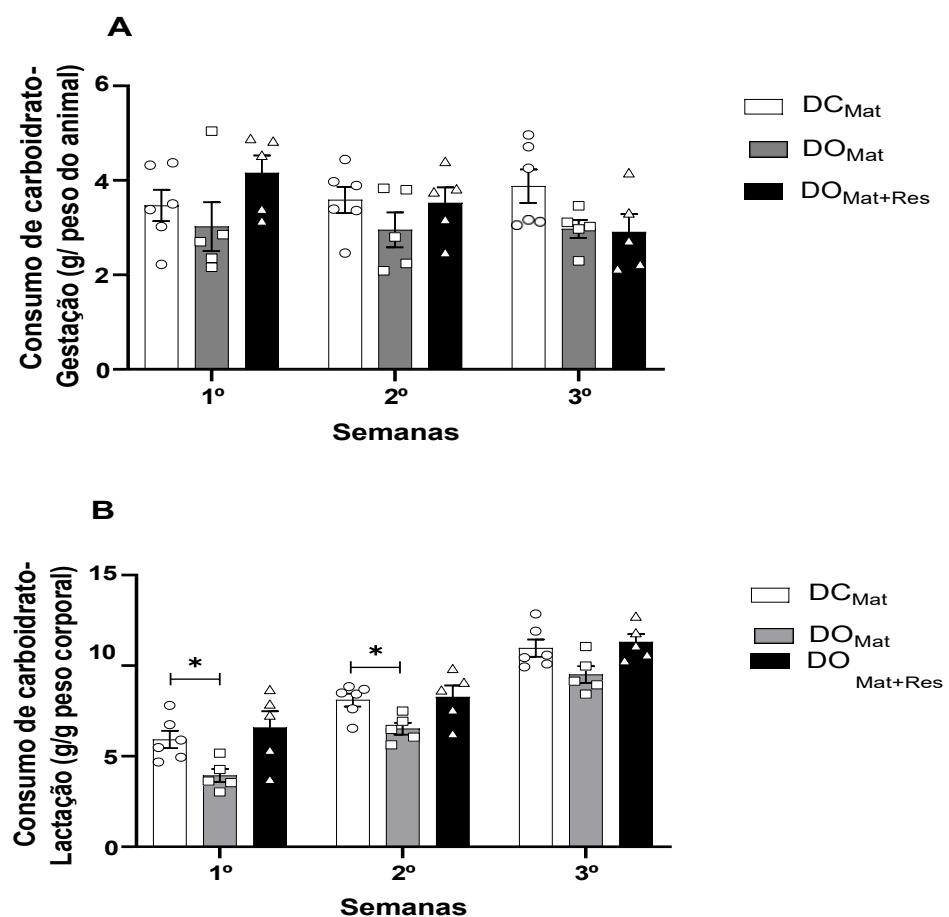


Gráfico 5: Consumo (dieta e do leite condensado) de carboidratos na gestação (A) e lactação (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6), dieta obesogênica (DO_{Mat} , n=5) e dieta obesogênica+resveratrol ($DO_{Mat+Res}$, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média \pm EPM. * DC_{Mat} vs DO_{Mat} , DO_{Mat} vs $DO_{Mat+Res}$. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.* $p<0,05$.

7.1.6 Consumo de proteínas materno (Gestação e lactação)

No consumo de proteínas materno, houve diminuição do consumo na 1º semana da lactação no grupo dieta obesogênica materna em comparação com o grupo que consumiu dieta controle ($DC_{Mat}=1.78\pm0.14$ vs $*DO_{Mat}=1.22\pm0.09$, $p=0.02$). Não houveram diferenças significativas entre o grupo DO_{Mat} e $DO_{Mat+Res}$.

Gráfico 6. Consumo de proteína materno (relativo) dieta + leite condensado na gestação e lactação

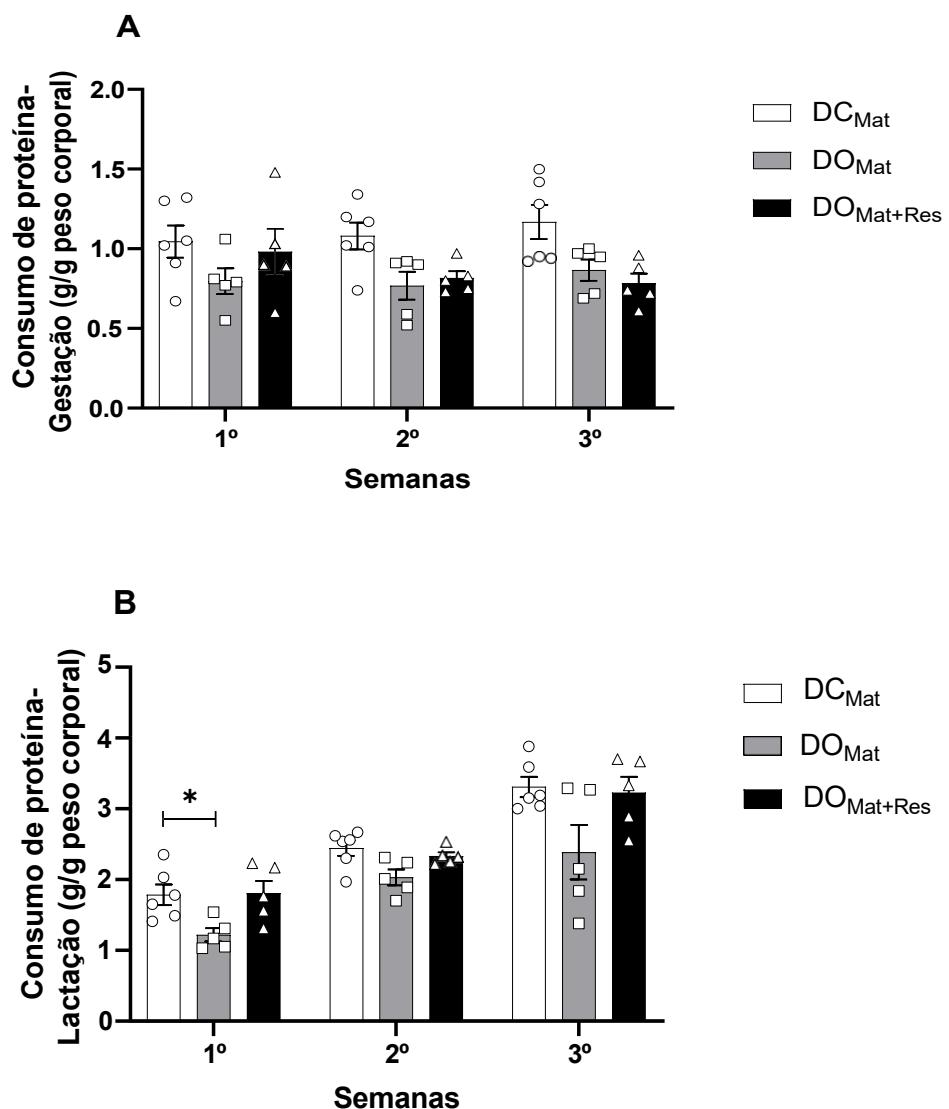


Gráfico 6: Consumo (dieta e do leite condensado) de proteínas na gestação (A) e lactação (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6), dieta obesogênica (DO_{Mat} , n=5) ou dieta obesogênica+resveratrol ($DO_{Mat+Res}$, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. * DC_{Mat} vs DO_{Mat} , DO_{Mat} vs $DO_{Mat+Res}$. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.* $p<0,05$.

7.1.7 Consumo de lipídios materno (gestação e lactação)

Com relação ao consumo de lipídios, os animais do grupo DO_{Mat} apresentaram maior consumo de lipídios durante a gestação na 1º (DC_{Mat}=0.44±0.04 vs *DO_{Mat}=0.77±0.07, p=0.02), 2º (DC_{Mat}=0.45±0.03 vs *DO_{Mat}=0.75±0.08, p=0.04) e na 3º semana (DC_{Mat}=0.49±0.04 vs *DO_{Mat}=0.84±0.06, p=0.006) em comparação com o grupo DC_{Mat}. Na lactação, o grupo DO_{Mat} continuou apresentando maior consumo de lipídios na 1º (DC_{Mat}=0.75±0.06 vs *DO_{Mat}=1.20±0.06, p=0.002) e na 2º semana (DC_{Mat}=1.02±0.04; n=6 vs *DO_{Mat}=1.84±0.12, p=0.003). O grupo DOMat+Res não apresentou diferenças significativas em comparação ao grupo DOmat.

Gráfico 7. Consumo de lipídios materno (relativo) dieta + leite condensado na gestação e lactação

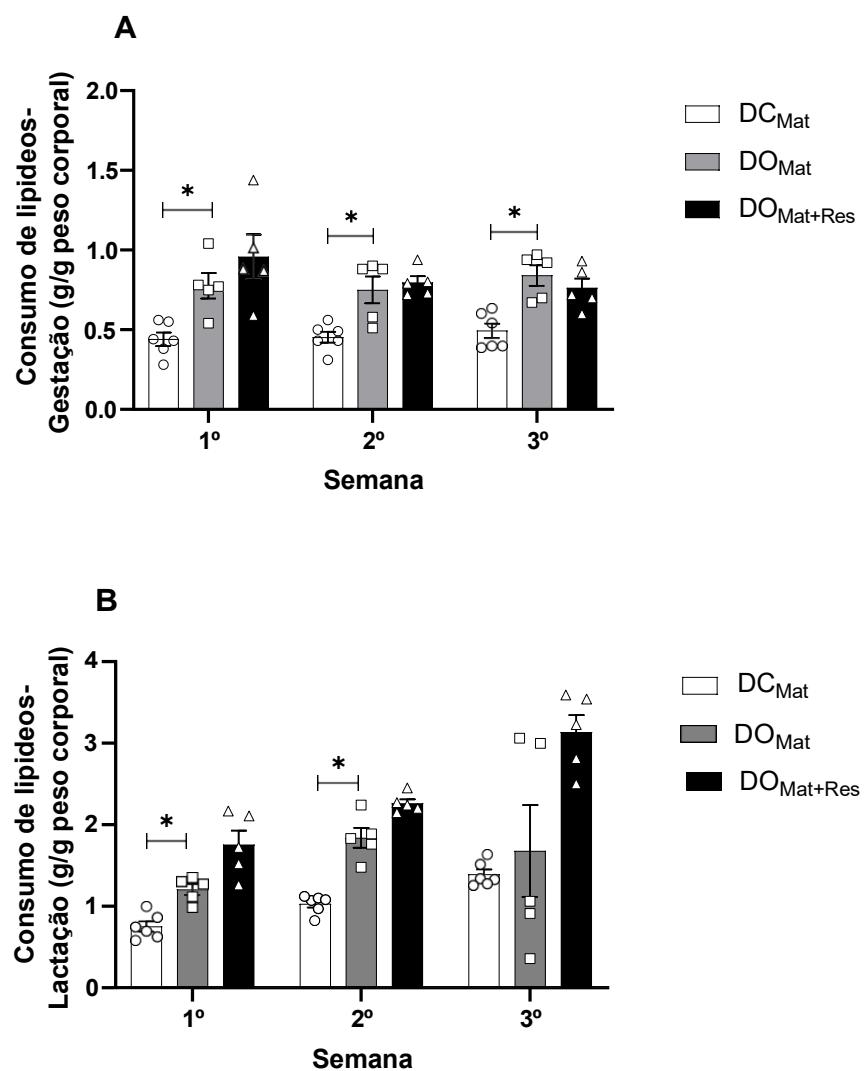


Gráfico 7: Consumo (dieta e do leite condensado) de lipídios na gestação (A) e lactação (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6), dieta obesogênica (DO_{Mat} , n=5) ou dieta obesogênica+resveratrol ($DO_{Mat+Res}$, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média \pm EPM. * DC_{Mat} vs DO_{Mat} , DO_{Mat} vs $DO_{Mat+Res}$. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.1.8 Peso tecido adiposo retroperitoneal materno

No peso absoluto e relativo do tecido adiposo retroperitoneal materno não houveram diferenças entre os grupos DC_{Mat} , DO_{Mat} e $DO_{Mat+Res}$.

Gráfico 8. Peso tecido adiposo retroperitoneal materno relativo e absoluto.

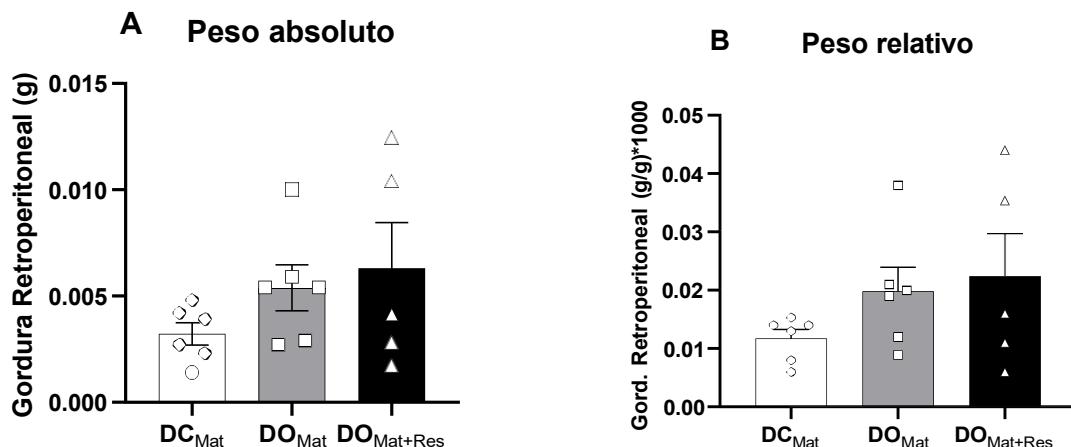


Gráfico 8: Peso do tecido adiposo retroperitoneal relativo (A) e absoluto (B). Ratas Wistar receberam dieta controle (DC_{Mat} n=6), dieta obesogênica (DO_{Mat} , n=6) ou dieta obesogênica+resveratrol ($DO_{Mat+Res}$, n=5) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média \pm EPM. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2 Resultados Prole

7.2.1 Peso corporal diário (1º ao 21º DPN) e semanal da prole

No que diz respeito ao peso corporal diário da prole os animais que receberam dieta obesogênica materna começaram a apresentar um aumento do peso a partir do 13º dia ($DC_{Mat}=26.41\pm0.80$ vs $*DO_{Mat}=30.88\pm1.19$, p=0.01) até o 21º dia da lactação ($DC_{Mat}=43.32\pm2.09$ vs $*DO_{Mat}=48.81\pm2.21$, p=0.001). No ganho de peso total diário, o grupo DO_{Mat} aumentou o peso corporal em comparação ao

grupo DC_{Mat} (DC_{Mat}=27.37±1.81 vs *DO_{Mat}=32.98±2.29, p=0.03) que foi atenuado pelo uso do resveratrol no grupo DO_{Mat+Res}.

Gráfico 9. Peso corporal diário (1º ao 21º DPN)

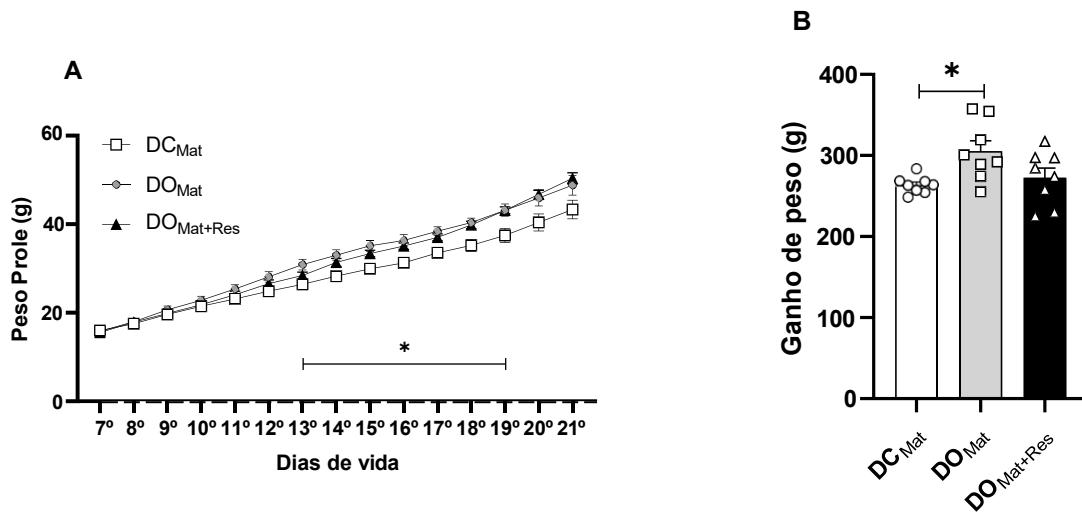


Gráfico 9: Peso corporal diário (A) e ganho de peso total diário (B) da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DC_{Mat} n=8), dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=8) ou dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=8) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res} Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

No peso corporal semanal, o grupo DO_{Mat} aumentou o peso em comparação com o grupo DC_{Mat} a partir da 63º semana (DC_{Mat}=273.84±7.92 vs *DO_{Mat}=305.02±7.14, p=0.02) até a 90º semana (DC_{Mat}=338.14±6.65 vs *DO_{Mat}=387.99±13.26, p=0.01) e o grupo DO_{Mat+Res} não apresentou diferença. No ganho de peso total semanal o grupo DO_{Mat} demonstrou aumento do peso em comparação ao grupo controle (DC_{Mat}=263.1±3.71 vs *DO_{Mat}=305.5±12.86, p=0.03). Já o grupo que recebeu resveratrol DO_{Mat+Res} atingiu média próxima ao grupo DC_{Mat}.

Gráfico 10. Peso corporal semanal (28° ao 90° DPN)

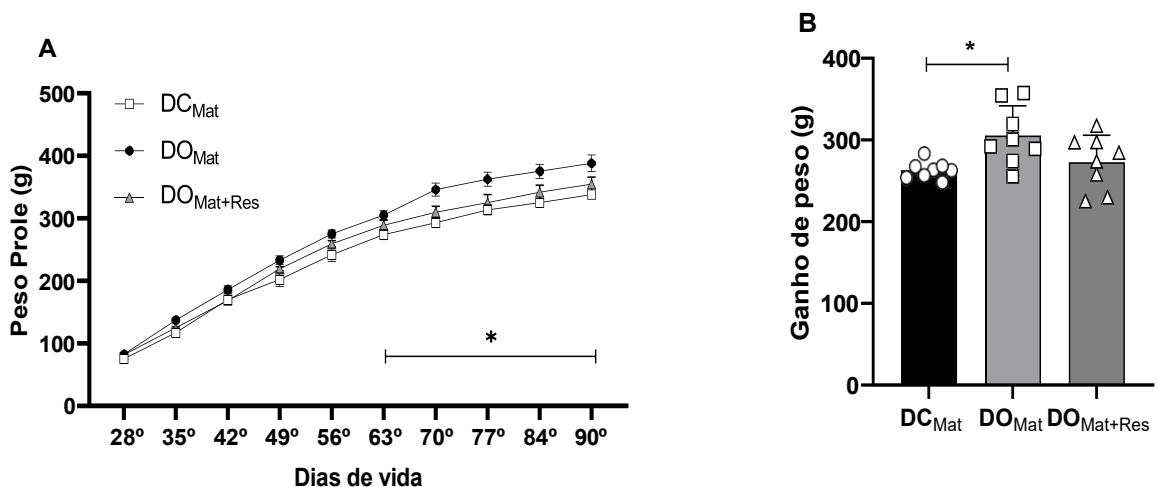


Gráfico 10: Peso corporal semanal (A) e ganho de peso total semanal a partir da 28º semana da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DC_{Mat} n=8), dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=8) ou dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=8) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2.2 Peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal da prole

No peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal da prole não houve diferenças entre os grupos experimentais DC_{Mat}, DO_{Mat} e DO_{Mat+Res}.

Gráfico 11. Peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal relativo da prole aos 90 dias de idade

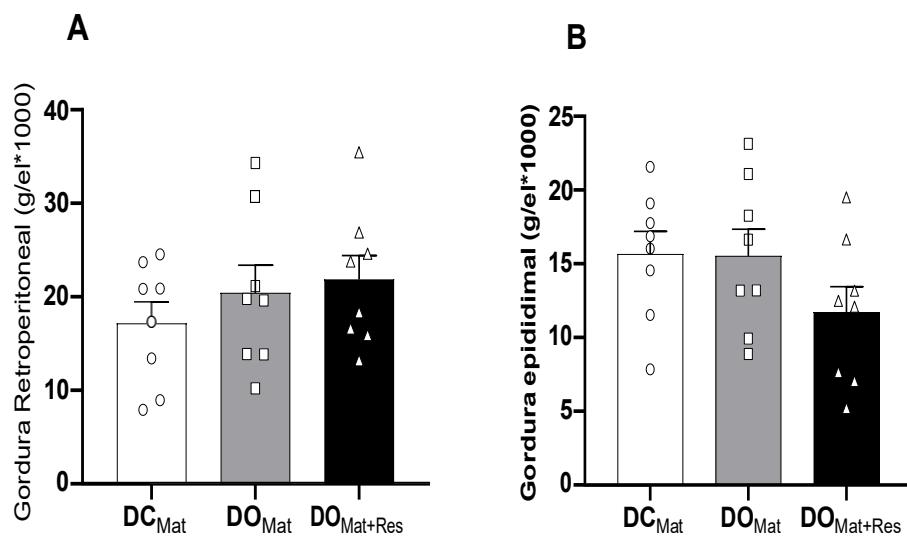


Gráfico 11: Peso do tecido adiposo retroperitoneal (A) epididiman (B) da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DCMat n=8), dieta obesogênica (DOMat, n=8) ou dieta obesogênica+resveratrol (DOMat+Res, n=8) durante a gestação e lactação. El= Eixo longitudinal. Dados estão expressos em média ± EPM. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2.3 Área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal

Na área do adipócito do tecido adiposo retroperitoneal, os animais que receberam uma dieta obesogênica materna apresentaram uma maior área dos adipócitos em comparação aos animais que receberam a dieta controle materna (DCMat=568±18.27 vs *DOMat=603.1±18.48). Já os animais que receberam a dieta obesogênica com ingestão de resveratrol obtiveram menor área dos adipócitos em comparação com o grupo que recebeu apenas a dieta obesogênica (DOMat=603.1±18.48 vs *DOMat+Res=441.1±9.12).

Gráfico 12. Área do adipócito do tecido adiposo retroperitoneal

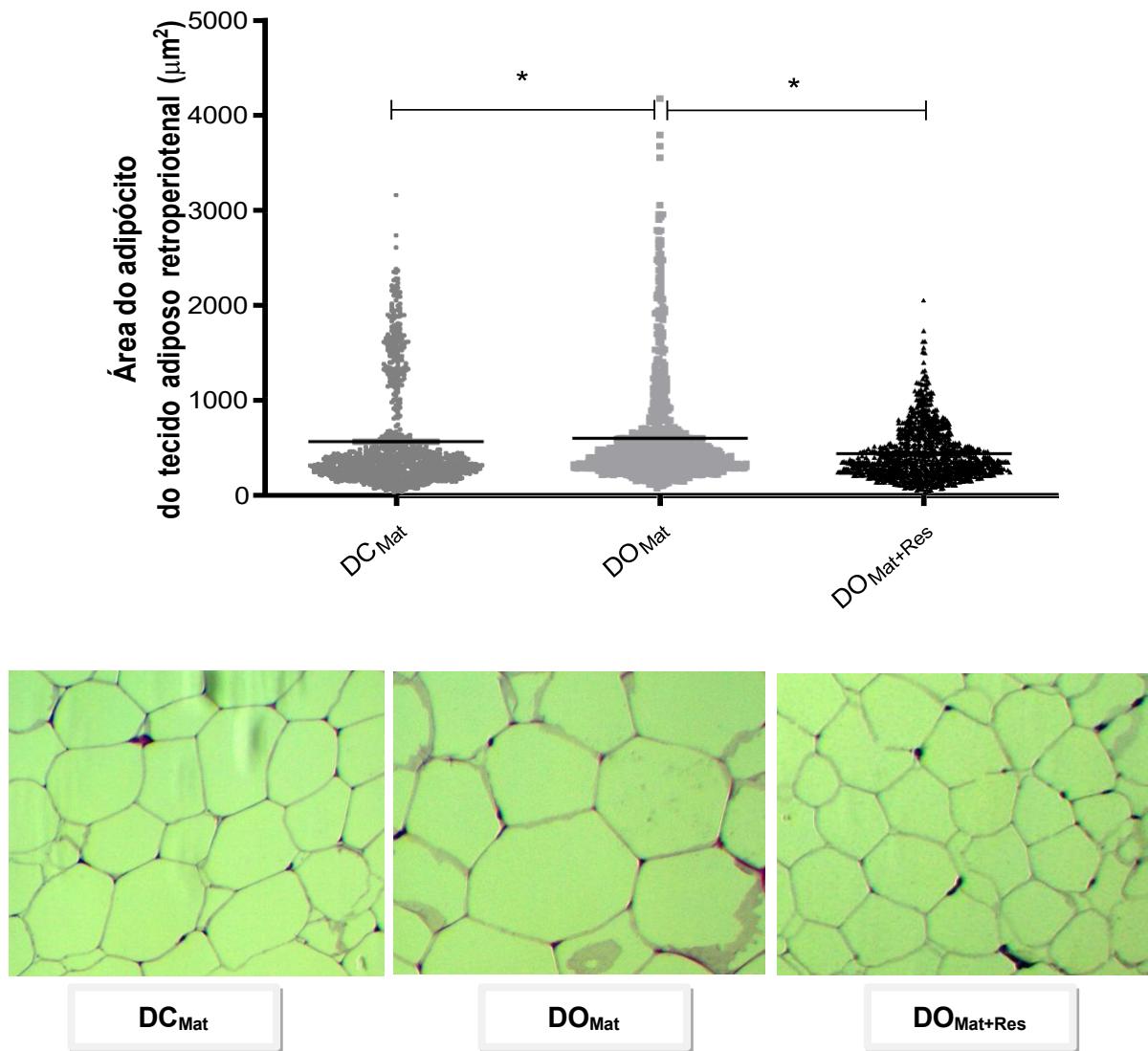
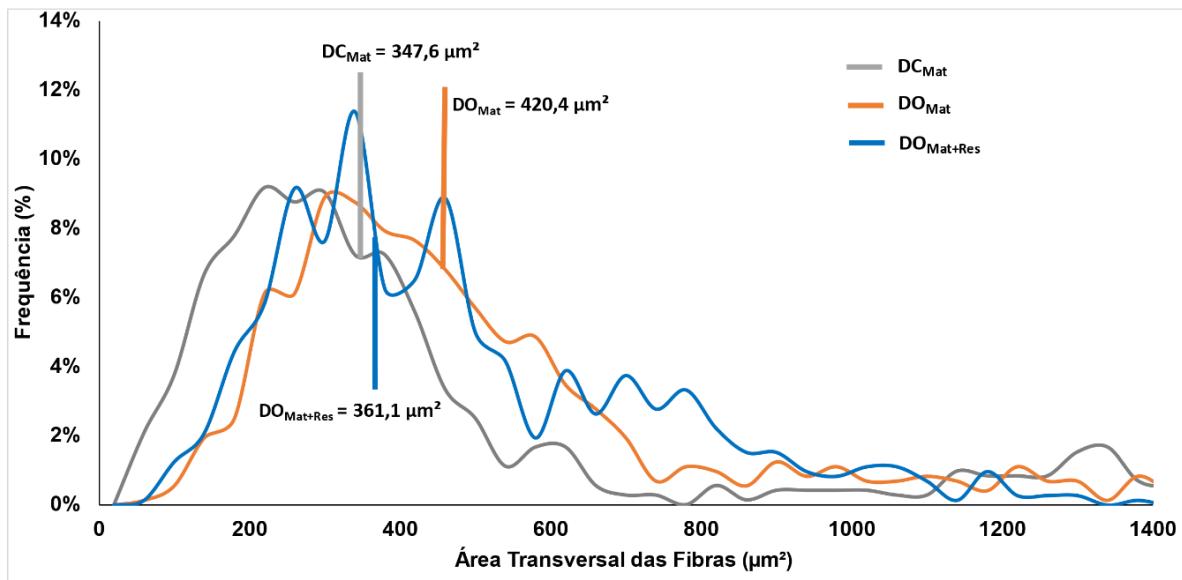


Gráfico 12: Área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DC_{Mat} n=4), dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=4) ou dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=4) durante a gestação e lactação. Foram considerados estatisticamente diferentes os grupos cujo intervalo de confiança de 95% da mediana que não apresentaram sobreposição entre si. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}.

Na figura 2. demonstramos de forma representativa a mediana da área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal, onde o grupo que recebeu dieta controle apresentou uma área mediana de DC_{Mat}=347,6 μm^2 , e os grupos que receberam uma dieta obesogênica ou dieta obesogênica com resveratrol apresentaram uma mediana de DO_{Mat}=420,4 μm^2 e DO_{Mat+Res}=361,6 μm^2 , respectivamente.

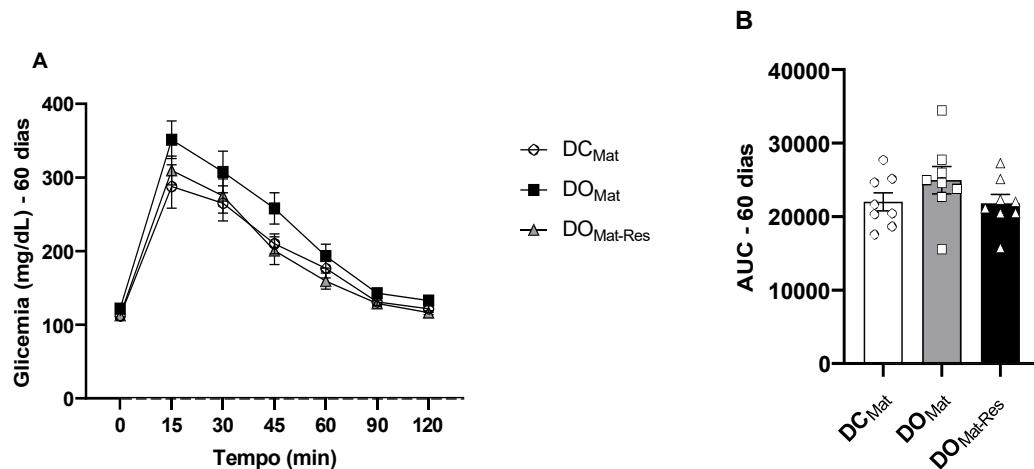
Figura 2. Faixa da área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal



7.2.4 Teste de tolerância a glicose

No teste de tolerância a glicose aos 60 dias, não houve diferença entre os grupos experimentais DC_{Mat}, DO_{Mat}, DO_{Mat+Res}. Já, aos 90 dias o grupo DO_{Mat} apresentou um aumento na glicemia aos 30min em comparação com o grupo DC_{Mat} (DC_{Mat}=282 \pm 17.43 vs *DO_{Mat}=338 \pm 11.63). Adicionalmente, na área sob a curva da glicose não houve diferenças significativas entre os grupos.

Gráfico 13. Teste de tolerância a glicose aos 60 de 90 dias de vida



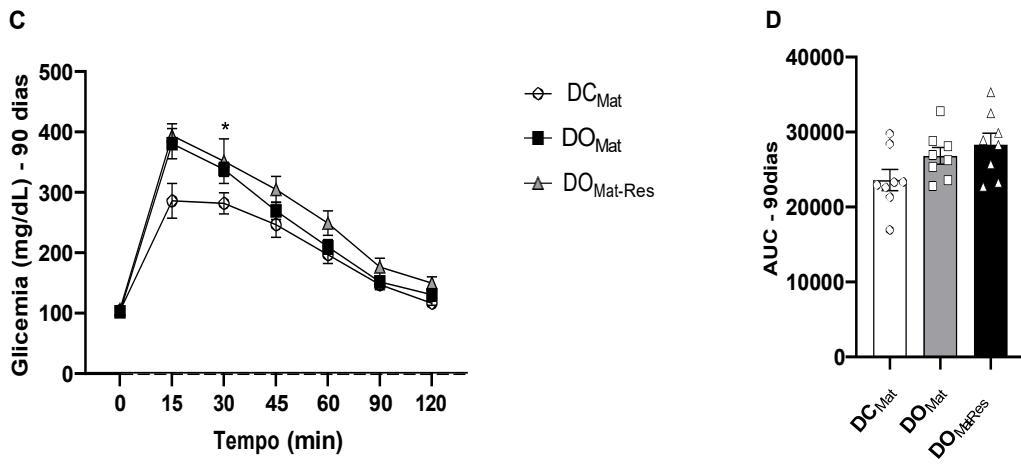


Gráfico 13: Teste de tolerância a glicose: Glicemia aos 60 (A) e 90 dias (C). Área sob a curva aos 60 (B) e 90 dias (D) da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DCMat n=8), dieta obesogênica (DOMat, n=8) ou dieta obesogênica+resveratrol (DOMat+Res, n=8) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2.5 Peso seco e úmido dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos

Com relação ao peso úmido do músculo sóleo, o grupo que recebeu dieta obesogênica materna apresentou diminuição do peso em comparação com o grupo que recebeu apenas a dieta controle (DCMat=40.465±0.05 vs *DOMat=0.425±0.16, p=0.02). Enquanto, o grupo que recebeu a dieta obesogênica juntamente com o resveratrol aumentou o peso do sóleo em comparação ao grupo que recebeu dieta obesogênica materna (DOMat=0.428±0.03 vs *DOMat+Res=0.435±0.03, p=0.005). Por outro lado, na massa seca do músculo sóleo, não houve diferença entre os grupos. Em relação ao músculo EDL, o peso seco e úmido, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 5. Peso relativo úmido e seco dos músculos sóleo, extensor longo dos dedos.

Peso úmido (mg/g)	DC _{Mat}	DO _{Mat}	DOR _{Mat+Res}
Sóleo	0.465±0.05	0.425±0.16*	0.480±0.18*

EDL	0.425±0.02	0.431±0.03	0.412±0.28
Peso seco (mg/g)	DCMat	DO_{Mat}	DOR_{Mat+Res}
Sóleo	0.121±0.009	0.115±0.009	0.115±0.02
EDL	0.111±0.009	0.115±0.009	0.110±0.007

Tabela 5: Peso úmido e seco dos músculos sóleo, extensor longo dos dedos da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DCMat n=8), dieta obesogênica (DO_{Mat}, n=8) ou dieta obesogênica+resveratrol (DO_{Mat+Res}, n=8) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2.6 Expressão de mRNA de AKT, AMPK e citrato sintase no músculo sóleo

Animais que receberam a dieta obesogênica materna diminuíram a expressão do mRNA da AKT em comparação aos animais que receberam a dieta controle (DCMat=1.30±0.19 vs *DO_{Mat}=0.66±0.07, p=0.01). Não houve diferença na expressão do mRNA da AKT entre os grupos DO_{Mat} e DO_{Mat+Res}. Já na expressão do mRNA da citrato sintase, o grupo que recebeu dieta obesogênica materna em conjunto com o resveratrol aumentou a expressão em comparação ao grupo que recebeu apenas a dieta obesogênica (DO_{Mat}=1.64±0.34 vs *DO_{Mat+Res}=5.79±1.39, p=0.01). Com relação a expressão de mRNA de AMPK, não houve resultados significantes entre os grupos.

Gráfico 14: Expressão de mRNA dos genes AKT, AMPK e citrato sintase

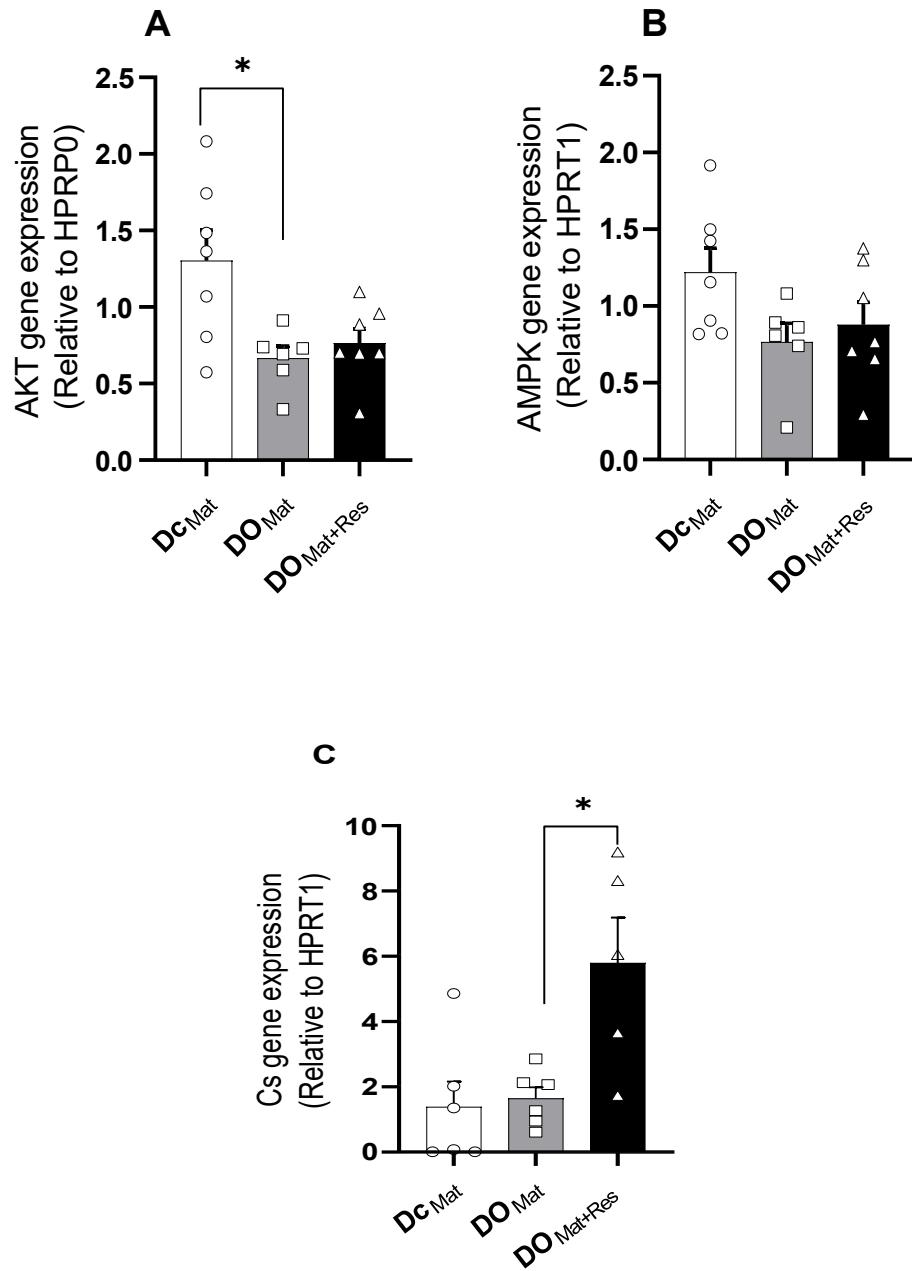
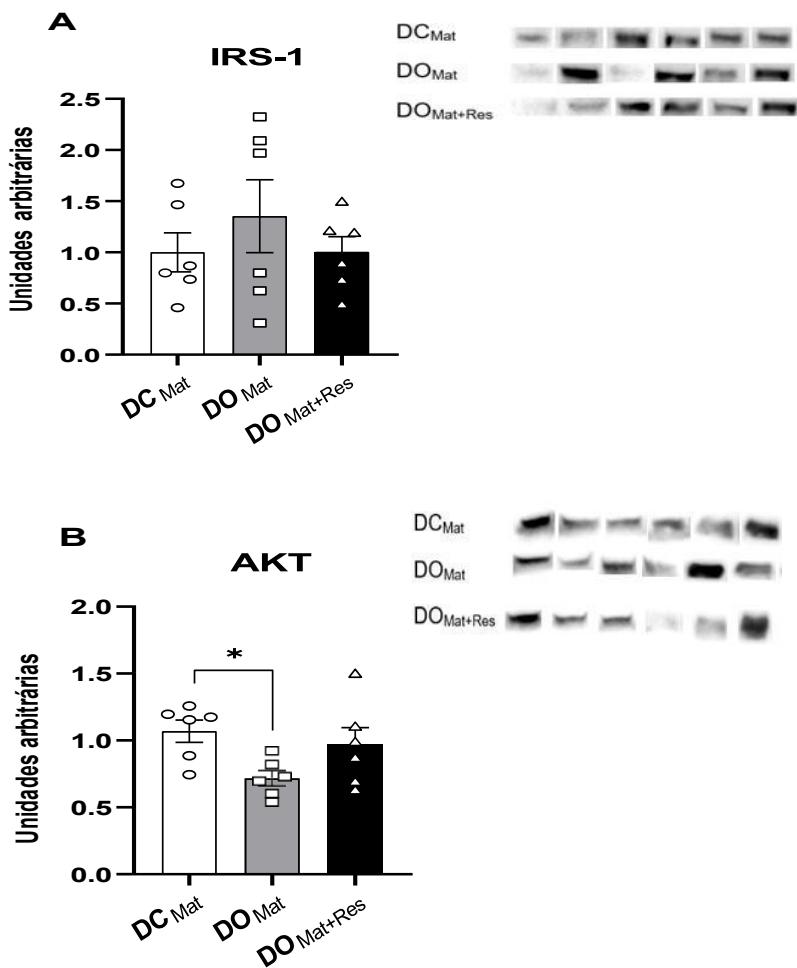


Gráfico 14: Expressão dos genes AKT (A) AMPK (B) e da Citrato sintase (C) no músculo sóleo da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DCMat n=6), dieta obesogênica (DOMat, n=6) ou dieta obesogênica+resveratrol (DOMat+Res, n=7) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média ± EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2.7 Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6 no músculo sóleo

Houve diminuição da AKT no grupo que recebeu a dieta obesogênica materna em comparação a dieta controle materna ($DC_{Mat}=1.227\pm0.23$ vs $*DO_{Mat}=0.824\pm0.16$, $p=0.04$). Já, na expressão de RP-S6 houve aumento no grupo $DO_{Mat+Res}$ em relação ao grupo DO_{Mat} ($DO_{Mat}=0.350\pm0.09$ vs $*DO_{Mat+Res}=0.704\pm0.28$, $p=0.04$). Em relação a expressão da proteína GSK-3 β houve aumento no grupo $DO_{Mat+Res}$ em comparação ao grupo DO_{Mat} ($DO_{Mat}=0.47\pm0.09$ vs $*DO_{Mat+Res}=1.18\pm0.28$, $p=0.03$). Contudo, na expressão da proteína IRS-1 não houve diferenças significativas entre os grupos.

Gráfico 15. Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6 no músculo sóleo



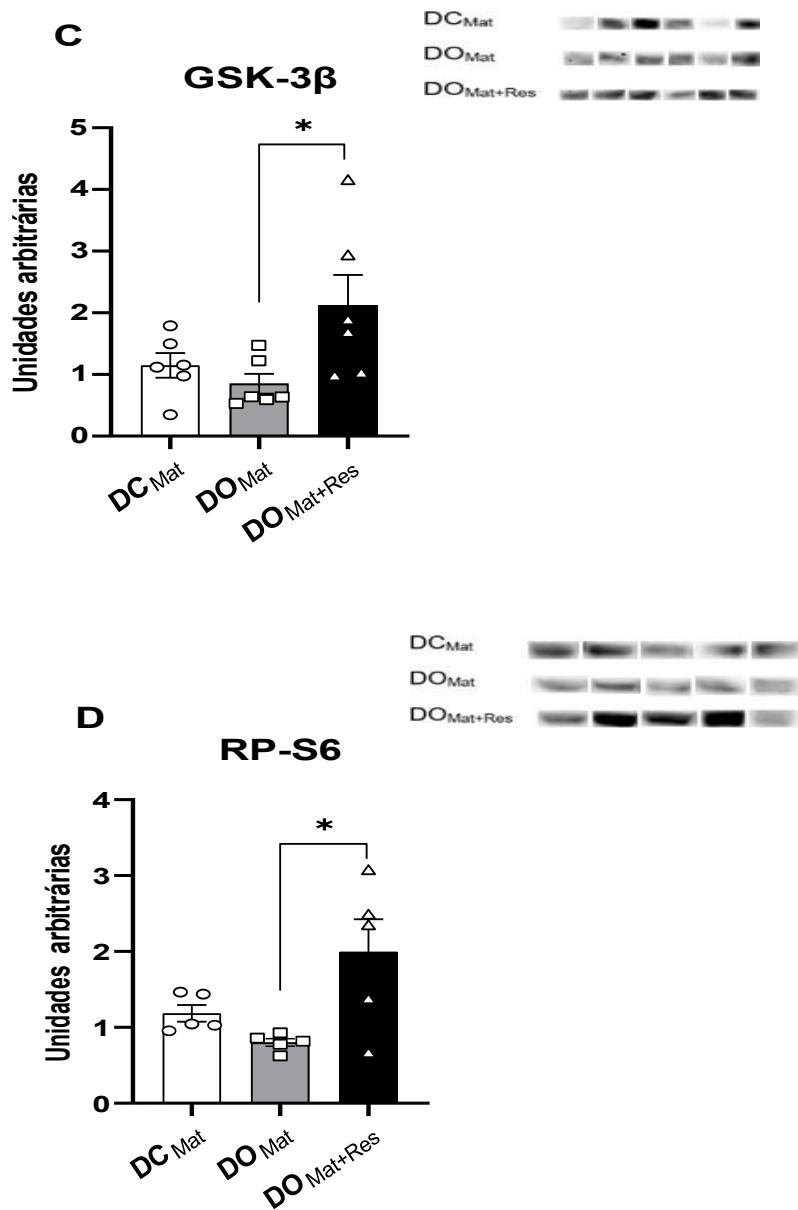
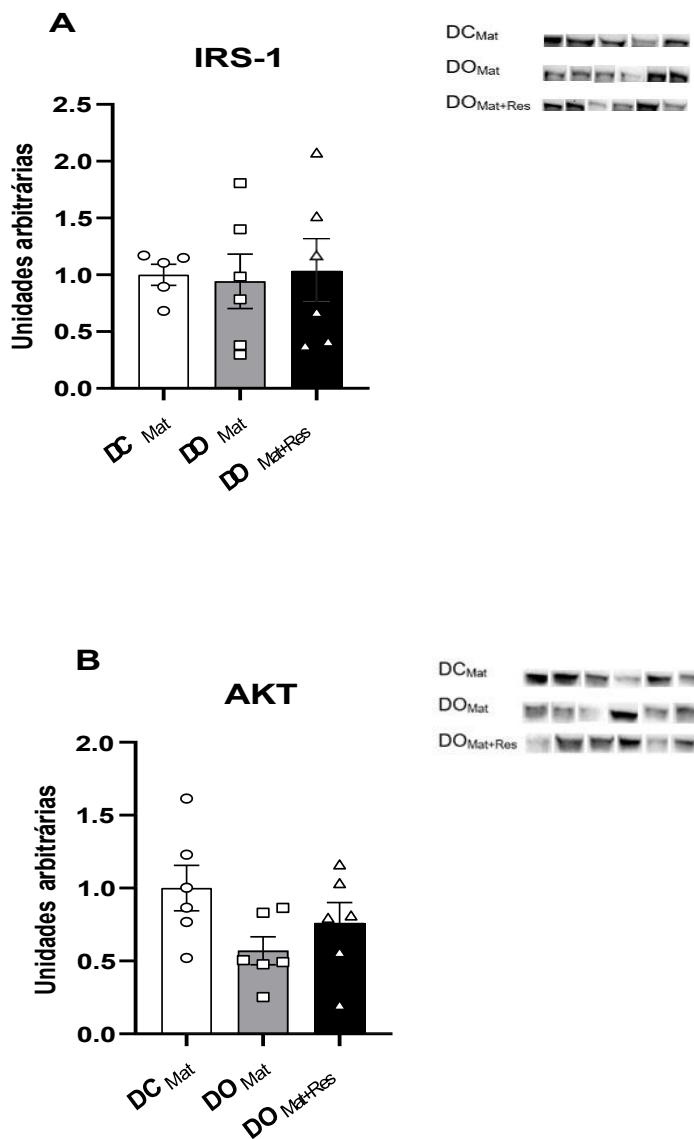


Gráfico 15: Expressão das proteínas IRS-1, AKT, RP-S6 e GSK-3 β do músculo sóleo da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DCMat n=6), dieta obesogênica (DOMat, n=6) ou dieta obesogênica+resveratrol (DOMat+Res, n=6) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média \pm EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

7.2.8 Expressão das Proteínas IRS-1, AKT, RP-S6 e GSK-3 β no músculo EDL

Referente a expressão das proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6 no músculo EDL não houve diferença estatística entre os grupos.

Gráfico 16. Expressão das proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6



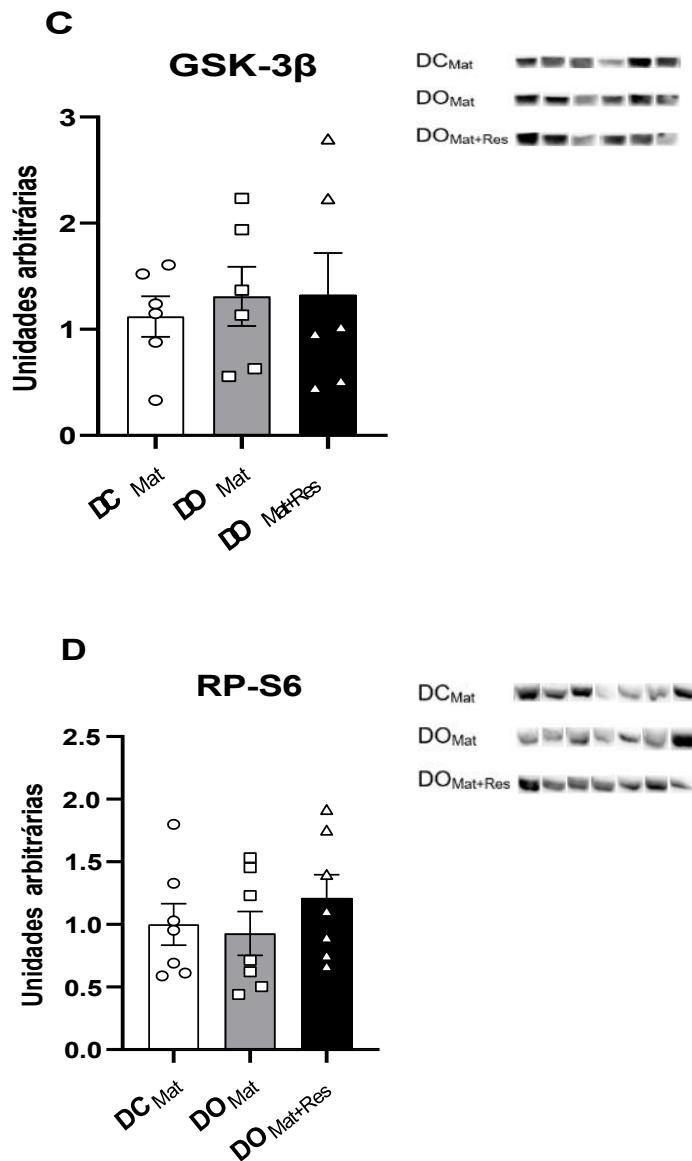


Gráfico 16: Expressão das proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6 no músculo EDL da prole de ratas Wistar que receberam dieta controle (DCMat n=6), dieta obesogênica (DOMat, n=6) ou dieta obesogênica+resveratrol (DOMat+Res, n=6) durante a gestação e lactação. Dados estão expressos em média \pm EPM. *DC_{Mat} vs DO_{Mat}, DO_{Mat} vs DO_{Mat+Res}. Teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

8. Seção 2 – Resultados dos experimentos *in vitro*

8.1 Atividade das proteínas AKT, AMPK, GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂

Relativo à razão p-AKT/AKT, houve diminuição da atividade da proteína p-AKT no grupo palmitato estimulado com insulina em relação ao grupo BSA

estimulado com insulina. O grupo tratado com resveratrol 50uM aumentou a atividade da p-AKT, porém, não houve diferença significativa. No grupo que recebeu resveratrol 100uM também não houve diferença significativa entre os grupos. Não houve diferença na atividade das proteínas p-GSK-3 β e p-AMPK.

No que diz respeito ao efeito da insulina sobre a razão p-AKT/AKT, houve um aumento na atividade da p-AKT no grupo palmitato tratado com resveratrol 50uM em comparação ao seu respectivo controle ($PALC_{ctrl}=1.36\pm0.18$ vs $PALR50uM=3.22\pm1.34$, $p=0.03$). Enquanto, o grupo R100uM diminuiu a atividade da p-AKT em comparação ao grupo R50uM ($R50uM=3.22\pm1.34$ vs $R100uM=1.29\pm1.18$, $p=0.03$). Não houve diferenças significativas nos grupos que analisaram as proteínas GSK-3 β e AMPK.

Gráfico 1. Razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂

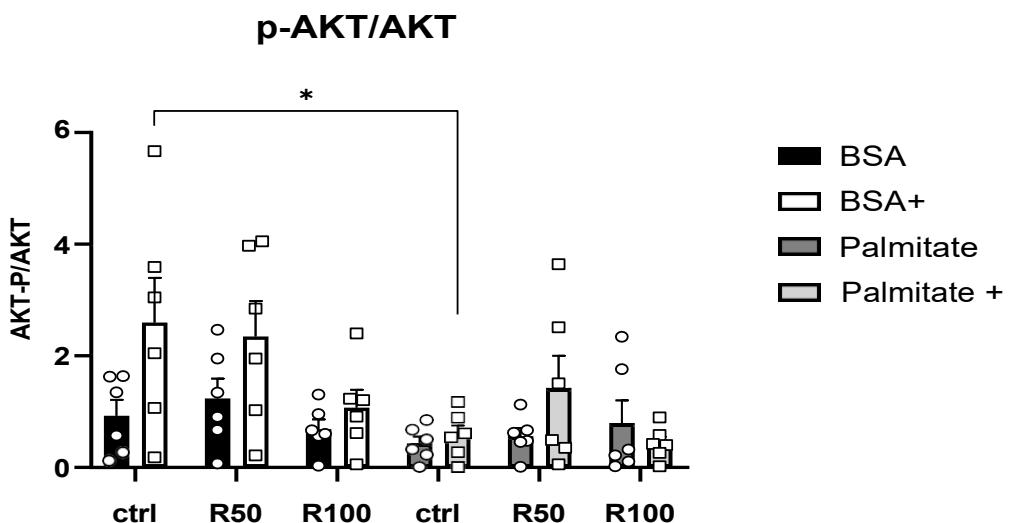


Gráfico 1: Razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂ tratadas com BSA ou Palmitato juntamente com veículo DMSO (n=6) ou resveratrol 50uM (n=6) ou resveratrol 100uM (n=6). Dados estão expressos em média ± EPM. +: Estimulado com insulina. *BSA+ vs Palmitato+. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

Gráfico 2. Efeito da insulina sobre a razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂

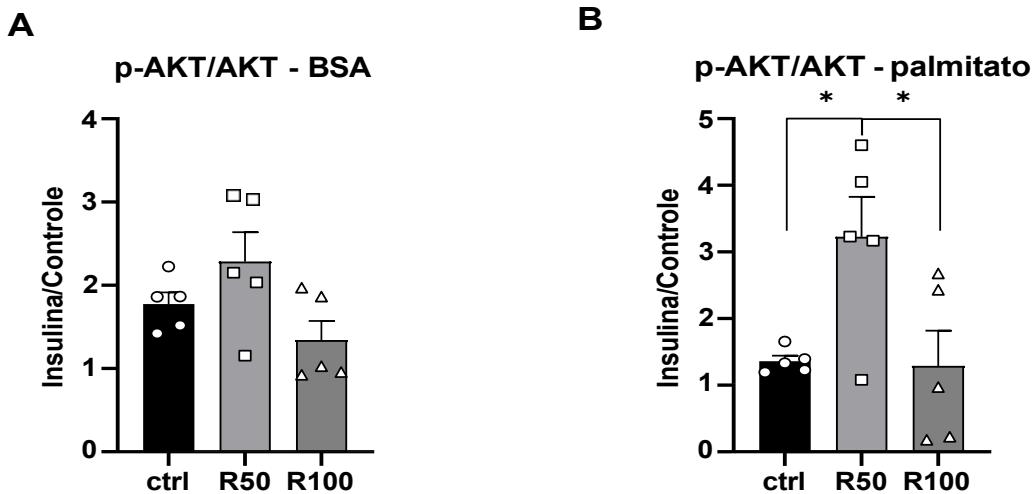


Gráfico 2: Efeito da insulina sobre a razão p-AKT/AKT AKT em miotubos C₂C₁₂ tratadas com BSA (A) juntamente com veículo DMSO (n=5) ou resveratrol 50uM (n=5) ou resveratrol 100uM (n=5). Efeito da insulina sobre a razão p/AKT/AKT AKT em miotubos C₂C₁₂ tratadas com palmitato (B) com veículo DMSO (n=5) ou resveratrol 50uM (n=5) ou resveratrol 100uM (n=5). Dados estão expressos em média ± EPM. *Ctrl palmitato vs R50 Palmitato. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.*p<0,05.

Gráfico 3. Razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂

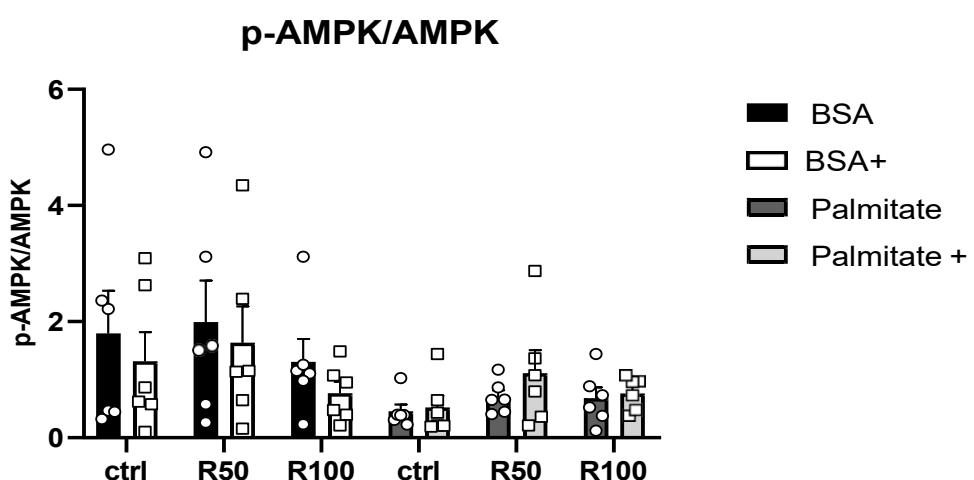


Gráfico 3: Razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂ tratadas com BSA ou Palmitato juntamente com veículo DMSO (n=6) ou resveratrol 50uM (n=6) ou resveratrol 100uM (n=6). Dados estão expressos em média ± EPM. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.

Gráfico 4. Efeito da insulina sobre a razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂

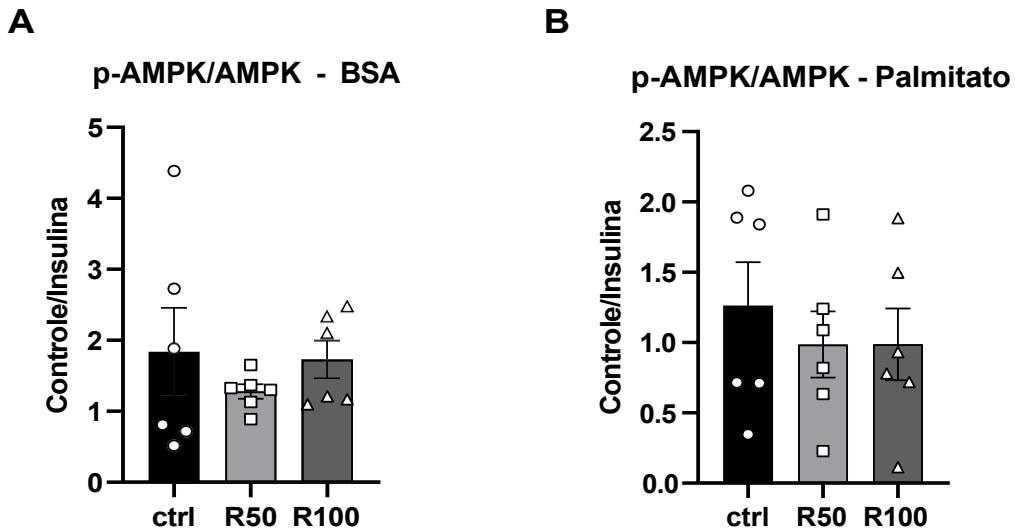


Gráfico 4: Efeito da insulina sobre a razão AMPK/p-AMPK em miotubos C₂C₁₂ tratadas com BSA (A) juntamente com veículo DMSO (n=5) ou resveratrol 50uM (n=5) ou resveratrol 100uM (n=5). Efeito da insulina sobre a razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂ tratadas com palmitato (B) com veículo DMSO (n=5) ou resveratrol 50uM (n=5) ou resveratrol 100uM (n=5). Dados estão expressos em média ± EPM. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.

Gráfico 5. Razão p-GSK-3β/GSK-3β em miotubos C₂C₁₂

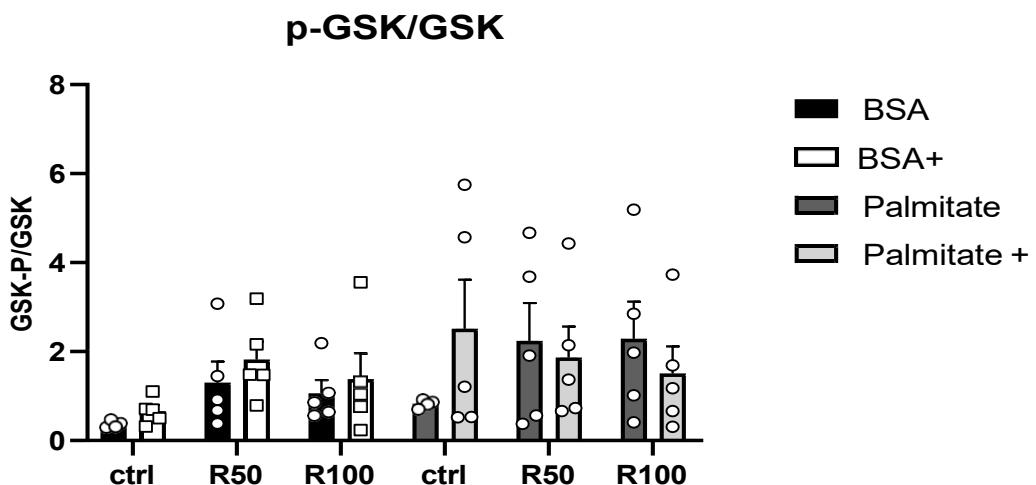


Gráfico 5: Razão p-GSK-3β/GSK-3β em miotubos C₂C₁₂ tratadas com BSA ou Palmitato juntamente com veículo DMSO (n=6) ou resveratrol 50uM (n=6) ou resveratrol 100uM (n=6). Dados estão expressos em média ± EPM. *BSA+ vs Palmitato+. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.

Gráfico 6. Efeito da insulina sobre a razão p-GSK-3 β /GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂

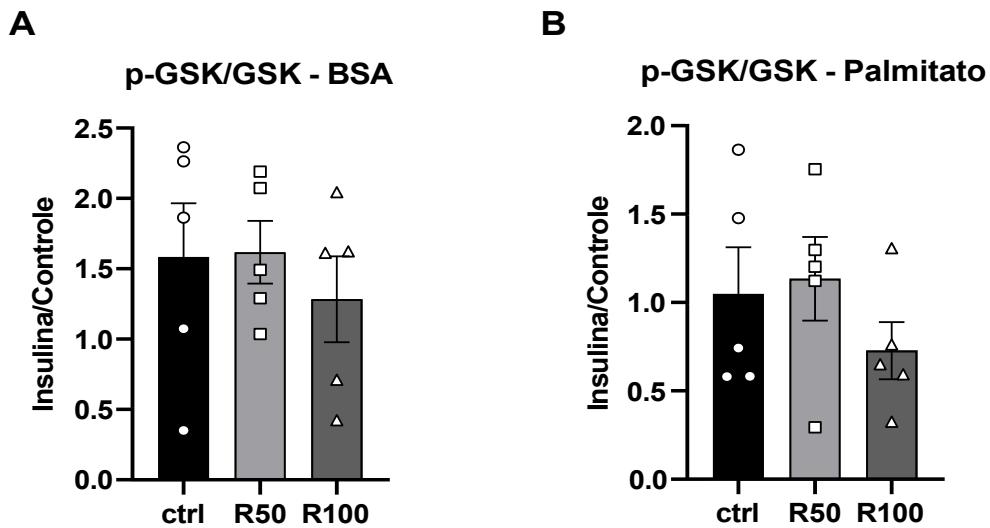


Gráfico 6: Efeito da insulina sobre a razão p-GSK-3 β /GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂ tratadas com BSA (A) juntamente com veículo DMSO (n=5) ou resveratrol 50uM (n=5) ou resveratrol 100uM (n=5). Efeito da insulina sobre a razão p-GSK-3 β /GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂ tratadas com palmitato (B) com veículo DMSO (n=5) ou resveratrol 50uM (n=5) ou resveratrol 100uM (n=5). Dados estão expressos em média \pm EPM. Teste ANOVA Two-Way seguido do pós-teste de Tukey.

Resumo dos resultados - Seção 1 – Experimentos *in vivo*

Resultados Materno

Análises experimentais	DO _{Mat}	DO _{Mat+Res}
Massa corporal	-	-
Consumo alimentar	↓	-
Consumo de leite condensado	-	-
Consumo calórico	-	-
Consumo de carboidratos	↓	-
Consumo de lipídios	↑	-
Consumo de proteínas	↓	-

Massa do tecido adiposo retroperitoneal	-	-
--	---	---

Tabela 5: Resumo dos resultados materno. DO_{Mat} vs DC_{Mat}, DO_{Mat+Res} vs DO_{Mat}.

Resultados na prole

Análises experimentais	DO _{Mat}	DO _{Mat+Res}
Massa corporal	↑	-
Teste de tolerância à glicose	-	-
Massa dos depósitos do tecido adiposo epididimal e retroperitoneal	-	-
Área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal	↑	↓
Peso úmido músculo sóleo	↓	↑
Peso úmido músculo EDL	-	-
Peso seco músculo sóleo	-	-
Peso seco músculo EDL	-	-

Expressão de mRNA por qPCR	DO _{Mat}	DO _{Mat+Res}
AKT	↓	-
AMPK	-	-
CS	-	↑

Expressão de proteínas por western blotting	DO _{Mat}	DO _{Mat+Res}
IRS-1	-	-
AKT	↓	-
GSK-3β	-	↑
RP-S6	-	↑

Tabela 6: Resumo dos resultados na prole aos 90 dias. DO_{Mat} vs DC_{Mat}, DO_{Mat+Res} vs DO_{Mat}.

Seção 2 – Experimentos *in vitro*

Sem o estímulo de insulina	Pal	Pal+Res50um	Pal+Res100um
p-AKT/AKT	-	-	-
p-AMPK/AMPK	-	-	-
GSK-3β	-	-	-
Com o estímulo de insulina			
p-AKT/AKT	↓	↑	-
p-AMPK/AMPK	-	-	-
GSK-3β	-	-	-

Tabela 7: Resumo dos resultados em miotubos C₂C₁₂. PAL vs BSA, PAL+Res50uM vs PAL.

9. Discussão:

A exposição materna à dieta obesogênica durante períodos críticos do desenvolvimento, como a gestação e a lactação, resulta em alterações metabólicas e moleculares na prole tais como aumento do peso corporal, resistência à insulina, diminuição da expressão de proteínas sinalizadoras da insulina nos tecidos periféricos (Mendonça et al., 2025). Nesse contexto, a questão do presente estudo foi testar se a ingestão de resveratrol, durante as fases críticas da gestação e lactação, poderia prevenir, atenuar ou reverter esses efeitos à longo prazo; bem como investigar se diferentes concentrações de resveratrol seria capaz de reverter a resistência à insulina induzida por ácidos graxos em miotubos C₂C₁₂. Dessa forma, o resveratrol ingerido, em baixas doses na água, durante as fases de gestação e lactação, foi capaz de atenuar o peso corporal (Seção 1; Figuras 9A–B e 10A–B), reduzir hipertrofia dos adipócitos (Seção 1; Figura 12), aumentar peso úmido do músculo sóleo (Seção 1; Tabela 5), aumenta mRNA da citrato sintase (Seção 1; Figura 14C) e aumentar as proteínas GSK-3β e RP-S6 (Seção 1; Figura 15C–D) no

músculo sóleo da prole de ratos submetidos a dieta obesogênica materna. Ademais, o resveratrol na concentração de 50uM, aumentou a atividade da proteína p-AKT (Seção 2; Figura 2B), elevando a sensibilidade a insulina diretamente no músculo esquelético. Em síntese, o presente trabalho demonstrou que o resveratrol, ingerido em fases críticas do desenvolvimento, foi capaz de modular a via de sinalização da insulina em músculo com predominância de fibras oxidativas. A partir dos experimentos *in vitro*, fortalece-se a hipótese de que o resveratrol possui potencial para melhorar a sensibilidade à insulina em um ambiente de resistência induzida pelo excesso de ácidos graxos, como ocorre na ingestão de dieta obesogênica durante a gestação e lactação.

No presente estudo, a dieta obesogênica não promoveu nas fêmeas gestantes alterações no peso corporal nem na massa de tecido adiposo, resultado possivelmente relacionado à ausência de diferença no consumo calórico total (Gomes et al., 2018; Zhang et al., 2022). Ainda assim, foram observadas mudanças no padrão de ingestão de macronutrientes, como o aumento no consumo de lipídios e a redução da ingestão de carboidratos (1^a e 2^a semana de lactação) e de proteínas (1^a semana), o que pode ter contribuído para os desfechos observados na prole. Esses resultados refletem a variabilidade encontrada na literatura, já que os efeitos das dietas obesogênicas variam de acordo com a composição (percentual de lipídios) e o período de exposição. Por exemplo, dietas em que 60% da energia é proveniente de lipídios exercem um impacto metabólico mais intenso em camundongos e ratos, levando ao desenvolvimento de obesidade em um curto período, quando comparados a animais alimentados com dietas contendo menor percentual de energia derivada de lipídios (Speakman J. 2019).

Apesar da heterogeneidade dos estudos, há evidências consistentes de que dietas obesogênicas, independentemente de sua composição específica ou do período de administração, são capazes de induzir alterações metabólicas maternas em diferentes magnitudes, incluindo elevação da glicemia e da insulinemia de jejum, aumento do colesterol total e do LDL, além de intensificação do estresse oxidativo (Adamu et al., 2017; Gomes et al., 2018; Mendonça et al., 2025; Zhang et al., 2022). Nossos achados estão em consonância com os de Zhang P. et al. (2022), que utilizaram ratos *Sprague Dawley* submetidos a uma dieta hiperlipídica contendo 45% da energia proveniente de lipídios, oferecida apenas durante o período gestacional.

Nesse estudo, observou-se aumento no consumo de lipídios sem alteração do consumo energético total, o peso materno também não foi modificado. Entretanto, a prole aos 600 dias de vida apresentou resistência à insulina no músculo esquelético, sugerindo que esse efeito pode estar associado à maior ingestão de lipídios materna (Zhang et al., 2022). De forma similar, nos resultados do presente estudo, embora não tenham sido observadas alterações fenotípicas no peso corporal, o perfil de ingestão de macronutrientes indica que a qualidade da dieta, mais do que o valor energético total, exerceu papel determinante.

Curiosamente, a ingestão de resveratrol não alterou o consumo alimentar materno, mas ainda assim promoveu efeitos na diminuição da hipertrofia dos adipócitos e na expressão de proteínas da via da sinalização da insulina, na prole. Esses resultados corroboram achados prévios, nos quais o resveratrol administrado no período da gestação em conjunto com dietas obesogênicas não modificou a ingestão alimentar ou energética, independentemente do modelo experimental, abrangendo ratos, camundongos e primatas não humanos (macacos) (Brawerman et al., 2019; Roberts et al., 2014; Ros et al., 2021; Zou et al., 2017). Apesar de não alterar o consumo alimentar, o resveratrol demonstrou efeitos consistentes na melhora da tolerância à glicose, redução da insulinemia e dos níveis séricos de triglicerídeos, além de reduzir o acúmulo de gordura materna (Zou et al., 2017). Em síntese, os achados metabólicos e moleculares causados pela ingestão materna de resveratrol na prole do presente trabalho, não foram acompanhados por alteração no consumo alimentar materno.

Na prole, a exposição materna à dieta obesogênica resultou em aumento do peso corporal, glicemia ligeiramente elevada aos 90 dias no teste de tolerância à glicose, expansão da área dos adipócitos no tecido adiposo retroperitoneal e redução do peso úmido do músculo sóleo, acompanhada de diminuição da expressão do mRNA e da proteína AKT, importante mediador da sinalização da insulina (James; Stöckli; Birnbaum, 2021). Por outro lado, a ingestão materna de resveratrol atenuou de forma consistente essas alterações, minimizando o ganho de peso, reduzindo a área dos adipócitos e aumentando o peso úmido do músculo sóleo. Além disso, o resveratrol elevou a expressão do mRNA citrato sintase e das proteínas GSK-3 β e RP-S6 apenas no músculo sóleo, com predominância de fibras

vermelhas e ricas em mitocôndrias, sugerindo uma modulação nos mecanismos moleculares relacionados à sinalização da insulina e ao metabolismo oxidativo.

No presente estudo, embora a exposição materna à dieta obesogênica tenha promovido aumento do peso corporal e hipertrofia dos adipócitos na prole, tais alterações não se refletiram em mudanças significativas na massa dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal. Estudos demonstram resultados divergentes na literatura quanto à massa desses tecidos, isso sugere mais uma vez que a intensidade e a duração da dieta, bem como a idade de avaliação dos animais, podem influenciar nesses efeitos (Ashino et al., 2012; De Almeida Faria et al., 2017; Fernandez-Twinn et al., 2014; Nguyen et al., 2019; Shankar et al., 2010). A hipertrofia dos adipócitos observada neste estudo, indica que a dieta obesogênica materna induziu um remodelamento celular, e o fenótipo pode aparecer em idades mais avançadas, e este efeito está associada ao desenvolvimento de resistência à insulina, observados tanto em humanos como em animais (Acosta et al., 2016; De Almeida Faria et al., 2017). Esse processo é possivelmente mediado por alterações na secreção de adipocinas inflamatórias, como IL-6 (Haczeyni; Bell-Anderson; Farrell, 2018; Janoschek et al., 2016b; McLaughlin et al., 2014).

Neste estudo, a ingestão de resveratrol durante a gestação e a lactação atenuou os efeitos da dieta obesogênica materna, reduzindo a hipertrofia dos adipócitos e minimizando o ganho de peso corporal na prole. A literatura, entretanto, apresenta resultados distintos quanto à ação do resveratrol sobre a adiposidade. Ros et al. (2021), por exemplo, ao avaliarem uma dieta obesogênica, em ratos *Wistar*, associada ao resveratrol durante a gestação e lactação, observaram redução do peso corporal, mas não constataram diminuição da área dos adipócitos nos tecidos subcutâneo e visceral. Nesse caso, houve redução do número de adipócitos, o que pode estar relacionado tanto à idade dos animais (150 dias) quanto à região do tecido analisada. Em contrapartida, Liu et al. (2020), que avaliaram ratos *Sprague Dawley* aos 120 dias, verificaram redução significativa da área dos adipócitos após ingestão da mesma dose de resveratrol utilizada no presente estudo. De forma semelhante, Zou et al. (2017) observaram, em camundongos C57BL/6, diminuição do diâmetro dos adipócitos em filhotes de 21 dias tratados com 200 mg/kg/dia de resveratrol, em comparação à prole exposta exclusivamente à dieta obesogênica materna.

Os mecanismos propostos para explicar tais efeitos incluem, a redução da lipogênese e o aumento da lipólise, mediados pela menor expressão da enzima FAS (*fatty acid synthase*), além da maior expressão do receptor de leptina (LEPR-B) e do estímulo à diferenciação dos adipócitos dos tecidos adiposos marrom e bege, acompanhados da ativação de genes termogênicos possivelmente regulados pela via SIRT1/AMPK (Liu et al., 2020; Zou et al., 2017). É relevante destacar que, de acordo com diferentes autores, os efeitos do resveratrol sobre a adiposidade parecem ocorrer de forma independente do consumo alimentar da prole (Brawerman et al., 2019; Fernández-Quintela et al., 2017; Zou et al., 2017).

Neste trabalho, também foi observada redução da massa úmida do músculo sóleo do grupo D_{OMat}, o que está de acordo com a literatura (Álvarez-Chávez; Canto, 2022). Uma revisão da literatura desenvolvida com o objetivo de abordar as evidências atuais que descrevem as consequências da exposição fetal à uma dieta materna obesogênica sobre o tecido muscular esquelético dos filhotes, demonstrou que grande parte dos estudos identificaram redução da massa muscular na vida pós-natal (Álvarez-Chávez; Canto, 2022). Além disso, o músculo sóleo, especialmente, reduziu a fosforilação das proteínas IRS-1 e AKT, diminuiu a expressão de mRNA e da proteína GLUT-4, e reduziu captação de glicose estimulada por insulina, demonstrando a resistência à insulina (Álvarez-Chávez; Canto, 2022). Em contrapartida, no presente trabalho, o resveratrol preservou a massa úmida do músculo sóleo em comparação ao grupo submetido apenas à dieta obesogênica materna. Estudos em modelos experimentais indicam que o resveratrol age, no músculo esquelético, principalmente por meio da atenuação do acúmulo de lipídios intramusculares, equilibrando o transporte lipídico para o músculo e a capacidade de oxidação mitocondrial, o que contribui para a melhora da resistência à insulina, o que pode ter contribuído para a manutenção do peso nesse tecido (Chen et al., 2011; Niu; Cao; Ji, 2020; Serrano et al., 2021).

Foi possível também observar nos nossos resultados, a redução tanto na expressão do mRNA de AKT quanto nos níveis da proteína AKT no músculo sóleo no grupo D_{OMat}. Os resultados referentes à diminuição da expressão da AKT em animais submetidos à dieta obesogênica materna são controversos na literatura (Latouche et al., 2014; Resende et al., 2013; Zhang et al., 2022). A idade de avaliação pode influenciar esse parâmetro em estudos que utilizaram dieta

obesogênica materna: Resende (2013), que avaliaram a expressão da AKT em ratos *Wistar* aos 90 dias, encontraram diminuição; Latouche (2014), que utilizaram ratos *Sprague-Dawley* aos 365 dias, encontrou aumento da proteína; já Zhang (2022), em ratos *Sprague-Dawley* aos 600 dias, não encontraram diferença na expressão da AKT. Fernandez-Twinn (2014) relacionaram a diminuição na expressão dessas proteínas no tecido adiposo a mecanismos epigenéticos, em especial aos mecanismos pós-transcpcionais mediados por microRNAs. No tecido adiposo da prole de mães obesas, o aumento do miR-126 causa a redução da expressão do substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1), contribuindo diretamente para a resistência à insulina e o estresse do retículo endoplasmático (ER) (Fernandez-Twinn et al., 2014).

Embora, neste estudo, o resveratrol não tenha revertido a redução da AKT (mRNA e proteína) observada nos animais expostos à dieta obesogênica materna, ele promoveu o aumento da expressão do mRNA da citrato sintase, enzima que participa da primeira etapa do ciclo de *Krebs*, indicando aumento de capacidade oxidativa (Chen et al., 2011). Estudo que avaliou a proteína citrato sintase no músculo tibial de camundongos adultos submetidos à dieta obesogênica, demonstrou que o resveratrol aumentou a atividade da citrato sintase mitocondrial promovendo restauração da função do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), aumento da capacidade de oxidação de ácidos graxos e prevenção do acúmulo lipídico que compromete a via de sinalização da insulina (Chen et al., 2011).

Adicionalmente, nós demonstramos que o resveratrol foi capaz de aumentar à longo prazo a expressão da proteína RP-S6, responsável pela síntese proteica, e da GSK-3 β , envolvida na síntese de glicogênio, proteínas *downstream* da via da sinalização da insulina (James et al., 2021). Estudo de Shelley et al., 2009, que analisou prole de camundongos C57BL/6 que passaram por dieta obesogênica materna verificou redução na expressão de proteínas-chave da via de sinalização da insulina, como IRS-1 e PI3K, no músculo esquelético (Shelley et al., 2009). Essas alterações persistentes são mediadas por mecanismos epigenéticos, incluindo metilação do DNA, modificações de histonas e microRNAs (Duque-Guimarães; Ozanne, 2013). Dessa forma, supõe-se que a intervenção com resveratrol tenha promovido uma plasticidade do desenvolvimento, elevando a expressão de RP-S6 e GSK-3 β . Contudo não existem estudos que avaliem epigeneticamente como o

resveratrol poderia estar modulando a expressão dessas proteínas frente ao desafio metabólico materno.

Com relação ao mecanismo de ação que o resveratrol modula a via de sinalização da insulina. O resveratrol parece atenuar os efeitos da dieta obesogênica, possivelmente por meio da redução de metabólitos lipídicos, melhora da função mitocondrial, maior translocação do GLUT-4 e inibição da inflamação e do estresse oxidativo (Bahramzadeh; Bolandnazar; Meshkani, 2023). Evidências sugerem que o mecanismo central envolve a ativação da SIRT1, que aumenta a biogênese mitocondrial, aumenta a eficiência do metabolismo energético e melhora a sensibilidade à insulina, além de suprimir a expressão de PTP1B, permitindo transmissão mais eficiente do sinal da insulina. A SIRT1 também ativa a AMPK, aumentando a captação de glicose independentemente da insulina. O principal mecanismo descrito sobre a ação do resveratrol está na inibição das fosfodiesterases, elevando os níveis de AMPc intracelular, o que ativa a via Epac1/CaMKK β /AMPK, aumentando a disponibilidade de NAD $^+$ e promovendo a ativação de PGC-1 α , favorecendo a biogênese mitocondrial, a oxidação de ácidos graxos e a eficiência metabólica celular (Repossi; Das; Eynard, 2020). O que nós hipotetizamos é que o resveratrol ingerido na gestação e lactação melhorou a sensibilidade à insulina nos músculos esqueléticos das mães, evitando a exposição materna ao estresse metabólico. E dessa forma, houve a plasticidade do desenvolvimento diferentemente do que foi observado no grupo DO_{Mat}.

Nesse sentido utilizamos um modelo *in vitro* de resistência à insulina em miotubos C₂C₁₂ tratados com palmitato, com o objetivo de verificar a ação direta do resveratrol, o que permitiu investigar de forma controlada os efeitos do resveratrol sobre a sinalização da insulina. A redução da p-AKT (Ser473) indica a presença de resistência à insulina (Mendonça et al., 2025). Nossos resultados mostraram que o palmitato reduziu a fosforilação de AKT após estímulo com insulina. E o tratamento com resveratrol (50 μ M) foi capaz de restaurar a ativação dessa proteína, enquanto a concentração de 100 μ M de resveratrol não teve efeito. Por outro lado, nem o palmitato nem o resveratrol alteraram a fosforilação de AMPK ou GSK-3 β , indicando que, nesse modelo, o efeito do resveratrol ocorreu de forma específica pela via PI3K/AKT. A ausência de alterações em proteínas mais abaixo da via da cascata, como a GSK-3 β , pode estar relacionada ao tempo de estímulo com insulina em

células resistentes, uma vez que, em nosso estudo, a estimulação foi realizada por 15 minutos, enquanto outros trabalhos relatam efeitos sobre essas proteínas após períodos mais prolongados, de pelo menos 30 minutos (Den Hartogh et al., 2020; Modi et al., 2017). No presente trabalho, foi demonstrado que o resveratrol na concentração de 50uM foi capaz de reverter o principal indicador molecular de resistência à insulina. Logo, podemos especular que o resveratrol tem capacidade de melhorar a sensibilidade à insulina, caso essa biomolécula esteja biodisponível diretamente no músculo esquelético com resistência à insulina pelo aumento de ácidos graxos.

Em síntese, ao integrar os resultados obtidos com as evidências da literatura, observa-se que o resveratrol exerce múltiplos efeitos no músculo esquelético, envolvendo tanto a regulação da sinalização da insulina quanto a modulação do metabolismo energético. Esses achados oferecem uma base para considerar esse composto como uma estratégia potencial de intervenção frente às alterações programadas pela dieta obesogênica materna.

10. Conclusão

O presente trabalho demonstrou que a ingestão de resveratrol, nas fases de gestação e lactação, promoveu efeitos moleculares e metabólicos em ratos submetidos à dieta obesogênica materna, tais como: atenuou o peso corporal, reduziu a hipertrofia dos adipócitos, aumentou peso úmido do músculo sóleo, elevou a expressão de mRNA de citrato sintase e as proteínas GSK-3 β e RP-S6 no músculo sóleo. Os resultados causados pela ingestão do resveratrol durante a fase crítica de desenvolvimento pode ser por meio de mecanismos epigenéticos, favorecendo a modulação da sinalização da insulina e do metabolismo oxidativo no músculo esquelético.

Diretamente em miotubos C₂C₁₂, o resveratrol, na concentração de 50uM, aumentou a atividade da proteína p-AKT, elevando a sensibilidade à insulina. Esse efeito, possivelmente é dos mecanismos envolvidos que modula o ambiente materno durante a gestação e a lactação. No entanto, estudos adicionais são necessários para elucidar de forma mais detalhada durante o ambiente materno e os mecanismos epigenéticos subjacentes à ação do resveratrol, permitindo

compreender como esses efeitos se traduzem no processo de plasticidade do desenvolvimento da prole.

11. Referências

- ABBAS, Munawar *et al.* Natural polyphenols: An overview. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 8, p. 1689–1699, 2017.
- ACOSTA, Juan R. *et al.* Increased fat cell size: a major phenotype of subcutaneous white adipose tissue in non-obese individuals with type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 59, n. 3, p. 560–570, 1 mar. 2016.
- ADAMU, Hadiza Altine *et al.* Perinatal exposure to germinated brown rice and its gamma amino-butyric acid-rich extract prevents high fat diet-induced insulin resistance in first generation rat offspring. **Food and Nutrition Research**, v. 60, 2 fev. 2016.
- ADAMU, Hadiza Altine *et al.* In utero exposure to germinated brown rice and its oryzanol-rich extract attenuated high fat diet-induced insulin resistance in F1 generation of rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, 21 jan. 2017.
- ALBAUGH, Vance L. *et al.* **Physiology Reconfigured: How Does Bariatric Surgery Lead to Diabetes Remission? Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**W.B. Saunders, 1 mar. 2023.
- ALFARADHI, Maria Z.; OZANNE, Susan E. Developmental programming in response to maternal overnutrition. **Frontiers in Genetics**, v. 2, n. JUNE, p. 1–13, 2011.
- ÁLVAREZ-CHÁVEZ, Ana L.; CANTO, Patricia. **Influence of maternal obesity on the skeletal muscle of offspring**. **Boletín Medico del Hospital Infantil de Mexico**Permanyer Publications, , 2022.
- ASHINO, Nicole G. *et al.* Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 4, p. 341–348, abr. 2012.

BAHRAMZADEH, Arash; BOLANDNAZAR, Kosar; MESHKANI, Reza. **Resveratrol as a potential protective compound against skeletal muscle insulin resistance.** *Heliyon* Elsevier Ltd, 1 nov. 2023.

BALAKUMAR, M. et al. High-fructose diet is as detrimental as high-fat diet in the induction of insulin resistance and diabetes mediated by hepatic/pancreatic endoplasmic reticulum (ER) stress. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 423, n. 1–2, p. 93–104, 1 dez. 2016.

BARKER, D. J. P. et al. Fetal and placental size and risk of. **British Medical Journal**, v. 301, p. 259–262, 1990.

BARKER DJP, OSMOND, C. Death rates from stroke in England and Wales predicted from past maternal mortality. **BRITISH MEDICAL JOURNAL**, v. 295, n. July, p. 83–86, 1987.

BOUCHER, Jeremie; KLEINRidders, Andre; KAHN, C. Ronald. Insulin Receptor Signaling in Normal. **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2014, v. 6, p. a009191, 2014.

BRAWERMAN, Gabriel M. et al. Maternal resveratrol administration protects against gestational diabetes-induced glucose intolerance and islet dysfunction in the rat offspring. **Journal of Physiology**, v. 597, n. 16, p. 4175–4192, 2019.

CATALGOL, Betul et al. Resveratrol: French paradox revisited. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3 JUL, n. July, p. 1–18, 2012.

CHEN, Lu Lu et al. Resveratrol attenuates high-fat diet-induced insulin resistance by influencing skeletal muscle lipid transport and subsarcolemmal mitochondrial β -oxidation. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 60, n. 11, p. 1598–1609, nov. 2011.

CHEN, Sifan et al. Resveratrol improves glucose uptake in insulin-resistant adipocytes via Sirt1. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 55, p. 209–218, 2018.

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

COELHO, D. F. et al. Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 44, n. 10, p. 966–972, 2011.

CORY, Hannah *et al.* The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems : A Mini-Review. **Frontiers in Nutrition**, v. 5, n. September, p. 1–9, 2018.

DE ALMEIDA FARIA, Juliana *et al.* A post-weaning obesogenic diet exacerbates the detrimental effects of maternal obesity on offspring insulin signaling in adipose tissue. **Scientific Reports**, v. 7, 24 mar. 2017.

DE LOS RÍOS, Ericka A. *et al.* Impaired prolactin actions mediate altered offspring metabolism induced by maternal high-fat feeding during lactation. **FASEB Journal**, v. 32, n. 6, p. 3457–3470, 1 jun. 2018.

DEARDEN, Laura; OZANNE, Susan E. **Early life impacts of maternal obesity: a window of opportunity to improve the health of two generations.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* Royal Society Publishing, 11 set. 2023.

DEN HARTOGH, Danja J. *et al.* Attenuation of free fatty acid (FFA)-induced skeletal muscle cell insulin resistance by resveratrol is linked to activation of AMPK and inhibition of mTOR and p70 S6K. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 1–17, 2 jul. 2020.

DUQUE-GUIMARÃES, Daniella E.; OZANNE, Susan E. **Nutritional programming of insulin resistance: Causes and consequences.** *Trends in Endocrinology and Metabolism*, out. 2013.

FERNÁNDEZ-QUINTELÀ, Alfredo *et al.* **Antibesity effects of resveratrol: Which tissues are involved?** *Annals of the New York Academy of Sciences* Blackwell Publishing Inc., 2017.

FERNANDEZ-TWINN, Denise S. *et al.* Downregulation of IRS-1 in adipose tissue of offspring of obese mice is programmed cell-autonomously through post-transcriptional mechanisms. **Molecular Metabolism**, v. 3, n. 3, p. 325–333, 2014.

FERNANDEZ-TWINN, Denise S. *et al.* Exercise rescues obese mothers' insulin sensitivity, placental hypoxia and male offspring insulin sensitivity. **Scientific Reports**, v. 7, 14 mar. 2017.

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

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BUKLIJAS, T. **A conceptual framework for the developmental origins of health and disease**. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 2010.

GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A. The developmental origins of health and disease : an overview. **Early Life Origins of Health and Disease**, v. 573, p. 1–7, 2006.

GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A.; BEEDLE, Alan S. Early life events and their consequences for later disease: A life history and evolutionary perspective. **American Journal of Human Biology**, v. 19, n. 1, p. 1–19, 2007.

GOMES, Rodrigo Mello *et al.* Maternal diet-induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 61, p. 24–32, 1 nov. 2018.

HACZEYNI, F.; BELL-ANDERSON, K. S.; FARRELL, G. C. **Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion**. *Obesity Reviews* Blackwell Publishing Ltd, , 1 mar. 2018.

HALES, C. Nicholas; BARKER, David J. P. The thrifty phenotype hypothesis. p. 5–20, 2001.

HANSON, Mark *et al.* **Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease: Theoretical considerations and epigenetic mechanisms**. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, jul. 2011.

JAMES, David E.; STÖCKLI, Jacqueline; BIRNBAUM, Morris J. **The aetiology and molecular landscape of insulin resistance**. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* Nature Research, , 1 nov. 2021.

JANOSCHEK, Ruth *et al.* Dietary intervention in obese dams protects male offspring from WAT induction of TRPV4, adiposity, and hyperinsulinemia. **Obesity**, v. 24, n. 6, p. 1266–1273, 1 jun. 2016a.

JANOSCHEK, Ruth *et al.* Dietary intervention in obese dams protects male offspring from WAT induction of TRPV4, adiposity, and hyperinsulinemia. **Obesity**, v. 24, n. 6, p. 1266–1273, 1 jun. 2016b.

LATOUCHE, Celine *et al.* Maternal overnutrition programs changes in the expression of skeletal muscle genes that are associated with insulin resistance and defects of oxidative phosphorylation in adult male rat offspring. **Journal of Nutrition**, v. 144, n. 3, p. 237–244, 1 mar. 2014.

LECOUTRE, Simon *et al.* Depot- and sex-specific effects of maternal obesity in offspring's adipose tissue. **Journal of Endocrinology**, v. 230, n. 1, p. 39–53, 2016.

LITZENBURGER, Thorsten *et al.* Maternal high-fat diet induces long-term obesity with sex-dependent metabolic programming of adipocyte differentiation, hypertrophy and dysfunction in the offspring. **Clinical Science**, v. 134, n. 7, p. 921–939, 1 abr. 2020.

LIU, Ta Yu *et al.* Resveratrol intake during pregnancy and lactation re-programs adiposity and ameliorates leptin resistance in male progeny induced by maternal high-fat/high sucrose plus postnatal high-fat/high sucrose diets via fat metabolism regulation. **Lipids in Health and Disease**, v. 19, n. 1, 25 jul. 2020.

LOW, Felicia M.; GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A. Developmental Plasticity, Epigenetics and Human Health. **Evolutionary Biology**, v. 39, n. 4, p. 650–665, 1 dez. 2012.

MALANI, Anup *et al.* **NBER WORKING PAPER SERIES SEEING THE FUTURE: A BETTER WAY TO MODEL AND TEST FOR ADAPTIVE DEVELOPMENTAL PLASTICITY.** [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<http://www.nber.org/papers/w29786>>.

MANACH, Claudine *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability 1,2. **Am J Clin Nutr**, v. 79, n. February, p. 727–747, 2004.

MARTIN-GRONERT, M. S. *et al.* Altered hepatic insulin signalling in male offspring of obese mice. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 1, n. 3, p. 184–191, 2010.

MARTINS, Padovani; NICOLETTI, Maria Aparecida. Polifenóis no vinho : resveratrol e seus benefícios. p. 216–225, 2016.

MCLAUGHLIN, T. *et al.* Subcutaneous adipose cell size and distribution: Relationship to insulin resistance and body fat. **Obesity**, v. 22, n. 3, p. 673–680, 2014.

MODI, Shalem *et al.* Plant-derived compounds strigolactone GR24 and pinosylvin activate SIRT1 and enhance glucose uptake in rat skeletal muscle cells. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

MUKHERJEE, Subhendu; DUDLEY, Jocelyn I.; DAS, Dipak K. **Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits. Dose-Response**, 2010.

NGUYEN, Long T. *et al.* SIRT1 overexpression attenuates offspring metabolic and liver disorders as a result of maternal high-fat feeding. **Journal of Physiology**, v. 597, n. 2, p. 467–480, 15 jan. 2019.

NIU, Juan; CAO, Yuquan; JI, Yongjuan. Resveratrol, a SIRT1 Activator, Ameliorates MK-801-Induced Cognitive and Motor Impairments in a Neonatal Rat Model of Schizophrenia. **Frontiers in Psychiatry**, v. 11, 24 jul. 2020.

PERNG, Wei; OKEN, Emily; DABELEA, Dana. Developmental overnutrition and obesity and type 2 diabetes in offspring. p. 1779–1788, 2019.

PETERSEN, Max C.; SHULMAN, Gerald I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. **Physiological Reviews**, v. 98, n. 4, p. 2133–2223, 2018.

PEZZUTO, John M. Resveratrol: Twenty years of growth, development and controversy. **Biomolecules and Therapeutics**, v. 27, n. 1, p. 1–14, 2019.

PREGUIÇA, Inês *et al.* **Diet-induced rodent models of obesity-related metabolic disorders—A guide to a translational perspective.** *Obesity Reviews*Blackwell Publishing Ltd, , 1 dez. 2020.

RAJAMOORTHI, Ananthi; LEDUC, Charles A.; THAKER, Vidhu V. **The metabolic conditioning of obesity: A review of the pathogenesis of obesity and the epigenetic pathways that “program” obesity from conception.** *Frontiers in Endocrinology*Frontiers Media S.A., , 18 out. 2022.

RAMOS DE MENDONÇA, Carolina *et al.* **Maternal obesogenic diet causes insulin resistance by modulating insulin signaling pathways in peripheral tissues of offspring: a systematic review.** *Life Sciences*Elsevier Inc., , 1 nov. 2025.

RENAUD, Serge; LORGERIL, M. De. Table Ii-Chd Mortality, High -Density-Lipoprotein (Hdl) Cholesterol, and Diet in Men in Three French Monica Centres. **The Lancet**, n. in, p. 1523–1526, 1992.

REPOSSI, Gastón; DAS, Undurti N.; EYNARD, Aldo Renato. **Molecular Basis of the Beneficial Actions of Resveratrol**. Archives of Medical ResearchElsevier Inc., , 1 fev. 2020.

RESENDE, Angela C. *et al.* Grape skin extract protects against programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal high-fat diet during lactation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 12, p. 2119–2126, dez. 2013.

ROBERTS, Victoria H. J. *et al.* Beneficial and cautionary outcomes of resveratrol supplementation in pregnant nonhuman primates. **FASEB Journal**, v. 28, n. 6, p. 2466–2477, 2014.

ROS, Purificación *et al.* Sex differences in long-term metabolic effects of maternal resveratrol intake in adult rat offspring. **Endocrinology (United States)**, v. 161, n. 8, 2021.

SAMUEL, Varman T.; SHULMAN, Gerald I. **The pathogenesis of insulin resistance: Integrating signaling pathways and substrate flux**. **Journal of Clinical Investigation**American Society for Clinical Investigation, , 4 jan. 2016.

SAMUELSSON, Anne Maj *et al.* Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: A novel murine model of developmental programming. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 383–392, 2008.

SCHRAUWEN, Patrick. High-fat diet, muscular lipotoxicity and insulin resistance. *In:* fev. 2007.

SERRANO, Alba *et al.* Long-term programming of skeletal muscle and liver lipid and energy metabolism by resveratrol supplementation to suckling mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 95, 1 set. 2021.

SHANKAR, Kartik *et al.* Maternal overweight programs insulin and adiponectin signaling in the offspring. **Endocrinology**, v. 151, n. 6, p. 2577–2589, jun. 2010.

SMALL, Lewin *et al.* Modeling insulin resistance in rodents by alterations in diet: what have high-fat and high-calorie diets revealed? **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 314, p. 251–265, 2018.

SYLOW, Lykke *et al.* The many actions of insulin in skeletal muscle, the paramount tissue determining glycemia. **Cell Metabolism**, v. 33, n. 4, p. 758–780, 2021.

TSAI, Ti An *et al.* Maternal resveratrol treatment re-programs and maternal high-fat diet-induced retroperitoneal adiposity in male offspring. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 8, 2020.

WALLE, Thomas *et al.* High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 32, n. 12, p. 1377–1382, dez. 2004.

WALLE, Thomas. Bioavailability of resveratrol. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1215, n. 1, p. 9–15, 2011.

WELLS, Jonathan C. K. and disease ' Historical cohort studies and the early origins of disease hypothesis : making sense of the evidence Proceedings of the Nutrition Society Proceedings of the Nutrition Society. n. February, p. 179–188, 2009.

YARIBEYGI, Habib *et al.* Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 6, p. 8152–8161, 2019.

ZHANG, Pengjie *et al.* Sirt3 negatively regulates Glut4 in skeletal muscle insulin resistance in old male offspring rats fed with maternal high fat diet. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 104, 1 jun. 2022.

ZOU, Tiande *et al.* Resveratrol supplementation of high-fat diet-fed pregnant mice promotes brown and beige adipocyte development and prevents obesity in male offspring. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 5, p. 1547–1562, 1 mar. 2017.

12. Anexo

Comitê de ética



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, 02 de julho de 2021

Ofício nº 40/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Prof. Diogo Antonio Alves de Vasconcelo
 Centro de Ciencias da Saúde
 Departamento de Nutrição
 processo nº0020/2021

Certificamos que a proposta intitulada " Os efeitos do resveratrol durante o período gestacional e lactação sobre a via de sinalização da insulina no tecido adiposo branco e músculo esquelético em ratos adultos submetidos à obesidade materna." registrado com o nº0020/2021 sob a responsabilidade da Prof. Diogo Antonio Alves de Vasconcelo 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 29/06/2021

Finalidade	(<input type="checkbox"/> Ensino (<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica)
Vigência da autorização	Julho/2021 a Março/2025
Espécie/linhagem/raça	Rattus Noverständicus Albinus, linhagem Wistar (Ratos heterogenico)
Nº de animais	Fêmeas (n=16)/ Filhotes Machos da Prole (n=136)/ Machos para acasalamento (n=8) total de animais = 152
Peso/Idade	Fêmeas (90-120 dias; 200-250g); Machos para acasalamento (90-120 dias; 200-250g); Machos da prole (90 dias; 400-450g)
Sexo	(16) Fêmeas (136) Machos
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de experimentação do Departamento de Nutrição/UFPE

Atenciosamente

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

13. Apêndice A – Revisão Sistemática



Maternal obesogenic diet causes insulin resistance by modulating insulin signaling pathways in peripheral tissues of offspring: a systematic review

Carolina Ramos de Mendonça^{e,*}, Lígia Cristina Monteiro Galindo^b,
Bruna Karoline Alves de Melo Silva^d, Brenda Hilary Avelino de Vasconcelos^c,
Vitor Carlos de Araújo Bandeira^d, Sandro Massao Hirabara^e, Beatrice Morio^f,
Diogo Antonio Alves de Vasconcelos^{a,c,d}

^a Department of Nutrition, Center of Health Sciences, Federal University of Pernambuco, 55670-901 Recife, Brazil

^b Department of Anatomy, Center of Health Sciences, Federal University of Pernambuco, 55670-901, Recife, PE, Brazil

^c Postgraduate Program in Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 55670-901, Recife, PE, Brazil

^d Multicenter Postgraduate Program in Physiological Sciences – UFPE/SBFIs, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil

^e Interdisciplinary Postgraduate Program in Health Sciences, Cruzeiro do Sul University, SP, Brazil

^f CarMeN Laboratory, UMR INSERM U1060/INRAE U1397, Université Lyon 1, F-69310 Pierre Bénite, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Developmental plasticity
Insulin resistance
Maternal Obesogenic Diet
Peripheral tissues

ABSTRACT

Overweight and obesity during critical periods, gestation and/or lactation, can harm offspring metabolic health. Maternal obesogenic diets may program offspring long-term, impairing physiology and increasing risk for insulin resistance. A key mechanism is the reduced expression/activity of insulin signaling proteins in peripheral glucose-metabolizing tissues. This systematic review examined the impact of maternal obesogenic diets on insulin resistance in the offspring of rats, through modulation of insulin signaling proteins in skeletal muscle, liver, and white adipose tissue. Searches in LILACS, PubMed, Web of Science, Scopus, and Sigle via Operaj Gray yielded 2212 studies; 43 met inclusion criteria, following a PROSPERO-registered protocol. Findings showed reduced expression and activity of IRS-1, PI3K, AKT and GLUTs in peripheral tissues, alongside increased body weight, glucose intolerance, and insulin resistance. Thus, maternal obesogenic diets impair insulin signaling and related metabolic outcomes in offspring.

1. Introduction

The global rise in overweight and obesity poses serious risks to maternal and offspring health [1,2]. Human studies have consistently linked maternal obesity to a higher risk of metabolic disorders in the offspring [3,4], while animal models demonstrate that unbalanced maternal diets during gestation and lactation contribute to obesity and metabolic dysfunction later in life [5,6], likely through developmental plasticity [7].

This concept refers to the ability of a single genotype to produce

different phenotypes in response to environmental cues, such as an obesogenic intrauterine environment, which may induce long-term molecular changes affecting metabolic gene expression [7–9].

Insulin resistance, a hallmark of metabolic disorders, results from impaired insulin action in peripheral tissues—mainly skeletal muscle, liver, and white adipose tissue [10]. Insulin signaling begins with the binding of insulin to its receptor, triggering a cascade that involves the activation of key intracellular components such as IRS, PI3K, and AKT. Disruptions at various points in this pathway—particularly reduced expression or phosphorylation of these proteins—can compromise

Abbreviations: IR β , beta subunit of the insulin receptor; p-IR β , phosphorylated beta subunit of the insulin receptor; IRS-1, Insulin Receptor Substrate-1; p-IRS-1, Phosphorylated Insulin Receptor Substrate-1; PI3K (p85 α), regulatory subunit p85 α of phosphoinositide 3-kinase; PI3K (p110 β), catalytic subunit p110 β of phosphoinositide 3-kinase; AKT, Protein Kinase B; p-AKT (Thr308), AKT phosphorylated at threonine 308; p-AKT (Ser473), AKT phosphorylated at serine 473; AMPK, AMP-activated protein kinase; p-AMPK, phosphorylated AMPK; GLUT-4, Glucose Transporter Type 4; GLUT-2, Glucose Transporter Type 2; GSK-3 β , Glycogen Synthase Kinase 3 beta; GSK-3 α , Glycogen Synthase Kinase 3 alpha; p-GSK, phosphorylated GSK-3 α/β ; FOXO1, Forkhead box protein O1; p-FOXO1, phosphorylated FOXO1.

* Corresponding author.

E-mail address: carolina.ramosmendonca@ufpe.br (C. Ramos de Mendonça).

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2025.123947>

Received 26 May 2025; Received in revised form 16 August 2025; Accepted 26 August 2025

Available online 29 August 2025

0024-3205/© 2025 Elsevier Inc. All rights reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

insulin signaling efficiency and impair glucose metabolism [6,10,11]. Particularly, studies indicate that decreased phosphorylation of AKT at Ser473 may serve as a marker of insulin resistance in diet-induced obesity models [12,13].

This condition is further associated with hyperglycemia, elevated lipolysis, impaired glucose uptake, and diminished glycogen synthesis, promoting obesity overtime [14]. However, no previous review has systematically examined the impact of maternal obesogenic diets on insulin signaling in a tissue-specific manner, despite the distinct metabolic roles of each tissue. Therefore, this systematic review aimed to examine whether a maternal obesogenic diet induces insulin resistance in skeletal muscle, liver, and white adipose tissue of rodent offspring, leading to long-term metabolic disturbances.

2. Materials and methods

2.1. Type of study

This systematic review was registered in the PROSPERO database (CRD42023443576) and conducted in accordance with the guidelines of the Systematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) [15]. Reporting followed the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews (PRISMA) checklist [16].

2.2. Eligibility criteria

Prior to conducting the search and study selection, predefined eligibility criteria were established for the inclusion of studies. These criteria were based on the PICO framework (Population, Intervention, Comparison, and Outcomes) as recommended by the Cochrane Collaboration (Table 1). Following full-text assessment, data extraction was performed (Tables 2–4). Only articles in English were included.

2.3. Data acquisition and study selection

The search and selection of articles were conducted from March to September 2024, updated in October 2024, by two independent reviewers (CRM and BKAM). In the first phase, studies were screened by title and abstract from the databases outlined below. In the second phase, full texts were assessed for inclusion following eligibility criteria (Table 1). Discrepancies were resolved by a third reviewer (DAAV). The search strategy used terms such as “maternal obesity,” “maternal

Table 1
Eligibility criteria for inclusion of studies.

	Inclusion criteria	Exclusion criteria
Population	Offspring of rats and mice	Animals other than rats/mice, genetically modified animals or animals with some disorder.
Intervention	Offspring of rodents exposed to maternal obesogenic diets administered before and/or during pregnancy and/or lactation	Any additional interventions/concurrent exposures alongside maternal obesogenic diet affecting rodent offspring, or direct exposure of offspring to an obesogenic diet after the lactation period.
Comparison	Offspring of rats exposed to a standard/regular maternal diet	Offspring of rats exposed to a maternal diet other than standard/regular
Outcome	Primary: activation and/or expression of insulin signaling pathway proteins in the skeletal muscle, white adipose tissue and liver. Secondary: Body weight (g), BMI (g/cm^2) and/or Lee index ($\sqrt{\text{body weight}} / \text{length in cm}$), glucose tolerance and insulin resistance.	Activation and/or expression of insulin pathway proteins in tissue types other than skeletal muscle, white adipose tissue and liver.

overnutrition,” “maternal high-fat,” “maternal high-sugar,” “pregnancy obesity,” “lactational obesity,” “diet-induced obesity,” “maternal overfeeding,” “insulin protein,” and “offspring,” adapted for each database:

2.3.1. Web of science:

(((((TS = (maternal obesity))) OR TS = (maternal high-fat)) OR TS = (pregnancy obesity)) OR TS = (lactational obesity)) OR TS = (maternal overnutrition)) OR TS = (maternal overfeeding)) OR TS = (diet-induced obesity)) OR TS = (maternal high-sugar)) AND TS = (insulin protein)) AND TS = (offspring)

2.3.2. Scopus:

ALL: (“maternal obesity”) Or (“maternal high-fat”) Or (“pregnancy obesity”) Or (“lactational obesity”) Or (“maternal overnutrition”) Or (“maternal high-sugar”) Or (“maternal overfeeding”) Or (“diet-induced obesity”) And (insulin protein) And (offspring) AND NOT (review).

2.3.3. PubMed:

ALL (((((maternal obesity) OR (maternal high-fat)) OR (pregnancy obesity)) OR (lactational obesity)) OR (maternal overnutrition)) OR (maternal high sugar)) OR (maternal overfeeding)) OR (diet-induced obesity)) AND (insulin protein) AND (offspring).

2.3.4. LILACS:

Maternal obesity [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Maternal overnutrition [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Maternal high-fat [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Pregnancy obesity [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Lactational obesity [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Diet-induced obesity [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Maternal overfeeding [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words]; Maternal high-sugar [Words] and insulin protein* [Words] and offspring [Words].

2.3.5. Sige via open gray:

(maternal obesity OR maternal high-fat) AND insulin protein; (pregnancy obesity OR lactational obesity) AND insulin protein; (maternal overnutrition OR maternal high-sugar) AND insulin; (maternal overfeeding OR diet-induced obesity) AND insulin protein.

2.4. Risk of bias

The risk of bias was assessed using SYRCLE’s tool for animal studies and presented via RobVis tool [61]. (Fig. 1) [16,17]. A summary of the risk of bias is shown in (Fig. 2). Questions about Random sequence (D1), allocation concealment (D2), binding of participants (D3), binding of outcomes (D4), incomplete outcomes (D5), selective reporting (D6), other bias (D7), were answered.

Each item was classified as “yes” (indicating low risk of bias) or “no” (indicating high risk of bias). When a methodological procedure was not described by the authors, it was considered not performed and marked as “no.” This decision aimed to avoid overestimating the quality of the evidence and reflects a conservative interpretation of methodological rigor.

3. Results

The initial search across the databases identified 2212 studies. After screening, 67 articles were selected for full-text review, with 21 duplicates removed, resulting in 46 fully assessed articles. Following application of the inclusion and exclusion criteria, 3 articles were excluded: 1 due to language barriers and 2 for administering obesogenic diets directly to the offspring postnatally. Thus, 43 studies were included in this review (Fig. 3). Reviewer agreement was good, with a Kappa index of 0.7.

Table 2
Characteristics of the study.

Authors, year	Population	Diet	Diet period	Age (postnatal day)	Sex
Caluwaerts et al. 2007 [49]	Wistar rats	Hypercaloric	Four weeks pre-mating, pregnancy until the 2nd day postpartum	14, 21, 56, and 98	Males and females
Cerf et al. 2006 [29]	Wistar rats	Hyperlipidic	Pregnancy	21	-
			Pregnancy and 1st week lactation.	-	
			Pregnancy and 2nd week lactation.	-	
			Pregnancy and 3rd week lactation.	-	
			Pregnancy and lactation.	-	
Los rios et al. 2018 [45]	Wistar rats	Hyperlipidic	Lactation	-	
Karbaschi et al. 2016 [33]	Wistar rats	Hyperlipidic	Lactation	21	-
Karbaschi et al. 2017 [32]	Wistar rats	Hyperlipidic	Four weeks pre-mating, pregnancy and lactation	70	Males
Resende et al. 2013 [26]	Wistar rats	Hyperlipidica	Four weeks pre-mating, pregnancy and lactation	70	Males
Gomes et al. 2018 [45]	Wistar rats	Hypercaloric	Lactation	90 and 180	Males
Lecoutre et al. 2016 [41]	Wistar rats	Hiperlipidic	Sixteen weeks pre-mating, pregnancy and lactation	273	Males and females
Nivoit et al. 2009 [53]	Wistar rats	Hypercaloric	Sixty days pre-mating, pregnancy and lactation	365	Males and females
Shankar et al. 2010 [55]	Sprague-Dawley	Hypercaloric liquid diet	Three weeks pre-mating and pregnancy	21	Males
Huang et al. 2017 [43]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic	Eight weeks pre-mating, pregnancy and lactation	21	-
Hou et al. 2015 [19]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic	Pregnancy and lactation	21 and 56	Males
Adamu et al. 2017 [31]	Sprague-dawley	Hyperlipidic	Pregnancy and lactation	56	Males
Adamu et al. 2016 [42]	Sprague-dawley	Hyperlipidic	Pregnancy and lactation	56	Males
Cuthbert et al. 2017 [56]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic and hyperglycidic (sucrose)	Pregnancy	70	Males
Guriec et al. 2023 [35]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic	Six weeks pre-mating, pregnancy and lactation	70	Males
Segovia et al. 2017 [23]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic	Ten days pre-nating, pregnancy and lactation	150	Males and females
Latouche et al. 2014 [25]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic	Three weeks pre-mating, pregnancy and lactation	365	Males
Zhang et al. 2022 [46]	Sprague-Dawley	Hyperlipidic	Five days after the beginning of pregnancy and lactation	600	Males
Nguyen et al. 2019 [11]	C57BL/6	Hyperlipidic	Six weeks pre-mating, pregnancy and lactation	20	Males
Zhang et al. 2022 [36]	C57BL/6	Hyperlipidic	Four weeks pre-mating, pregnancy and lactation	21	Males
Litzenburger et al. 2020 [37]	C57BL/6	Hyperlipidic	Since weaning until pregnancy and lactation	21, 70, and 120	Males and females
Fernandez-Twinn et al. 2017 [48]	C57BL/6	Hypercaloric	From three weeks pre-mating through the second pregnancy	56	Males
Almeida Faria et al. 2017 [50]	C57BL/6	Hypercaloric	Six weeks pre-mating, pregnancy and lactation	56	Males
Fernandez-twinn et al. 2014 [6]	C57BL/6	Hypercaloric	Six weeks pre-mating before 1st pregnancy until the second pregnancy and lactation	56	Males
Nicholas et al. 2020 [54]	C57BL/6	Hypercaloric	From six weeks pre-mating through the second pregnancy and lactation	56	Males and females
Zhang et al. 2021 [27]	C57BL/6	Hyperlipidic	Three weeks pre-mating, pregnancy and lactation	56	Males and females
Lu et al. 2024 [34]	C57BL/6	Hyperlipidic	Four weeks pre-mating and pregnancy	56	Males and females
Martin-Gronert et al. 2010 [51]	C57BL/6	Hypercaloric	Six weeks pre-mating, pregnancy and lactation	90	Males
Shelley et al. 2009 [52]	C57BL/6	Hypercaloric	Six weeks pre-mating, pregnancy and lactation	90	Males and females
Gregorio et al. 2010 [38]	C57BL/6	Hyperlipidic	Pregnancy	90	Males
			Lactation	-	
			Pregnancy and lactation	-	

(continued on next page)

Table 2 (continued)

Authors, year	Population	Diet	Diet period	Age (postnatal day)	Sex
Volpato et al. 2012 [24]	C57BL/6	Hyperlipidic	Pregnancy and lactation	90	Males
Paulsen et al. 2019 [58]	C57BL/6	Hyperlipidic + water 20 % sucrose	Diet until the rats reached 25 % your initial weight and during pregnancy and lactation	98	Males and females
Khalifa et al. 2013 [28]	C57BL/6	Hyperlipidic	Twelve days after the beginning of pregnancy until lactation	147	Males and females
Bringhenti et al. 2016 [40]	C57BL/6	Hyperlipidic	Two months pre-mating, pregnancy and lactation	182	Males
Dumolti et al. 2022 [57]	C57BL/6	Western Diet + water with sucrose 20 %	Diet until the rats reached 25 % your initial weight, and during pregnancy and lactation	270	Males and females
Costa et al. 2020 [20]	Swiss mice	Hyperlipidic	Pregnancy and lactation	28	Males
Benatti et al. 2014 [39]	Swiss mice	Hyperlipidic	Two weeks pre-mating, pregnancy and lactation	28	Males
Melo et al. 2014 [22]	Swiss mice	Hyperlipidic	Three weeks pre-mating, pregnancy and lactation	28	Males
Fante et al. 2016 [18]	Swiss mice	Hyperlipidic	Three weeks, and during pregnancy and lactation	28 and 82	Males
Ashino et al. 2012 [21]	Swiss mice	Hyperlipidic	One week pre-mating, pregnancy and lactation	82	Males
Masuyama et al. 2012 [30]	ICR mice	Hyperlipidic	Four weeks pre-mating and pregnancy	14, 84, and 168	Males and females
Masuyama et al. 2014 [44]	ICR mice	Hyperlipidic pregnancy, Hyperlipidic lactation, Hyperlipidic pregnancy and lactation	Four weeks pre-mating, pregnancy and lactation	14, 84, and 168	Males and females

3.1. Characteristics of the study

Based on study characteristics, the following data were extracted: author, year, type and duration of diet, age at assessment, animal strain, and sex (Table 2).

Characteristics of the Maternal Diet and Exposure Period:

A high-fat diet was used in 30 studies (69.8 %) [11,18–46], a high-caloric diet in 9 (20.9 %) [6,47–54], a liquid high-caloric diet in 1 (2.3 %) [55], a high-fat/high-carbohydrate diet in 1 (2.3 %) [56], a Westernized diet with 20 % sucrose in water in 1 (2.3 %) [57], and a hyperlipidic diet with 20 % sucrose in water in 1 (2.3 %) [58].

In terms of diet duration, 22 studies (51.2 %) applied the diet during pre-mating period, gestation, and lactation [11,18,21–23,25,27,32,33,35–37,39–41,43,44,47–51], 3 (6.9 %) during pre-mating and gestation [30,34,55], 5 (11.6 %) during gestation and lactation [19,20,24,31,42], 1 (2.3 %) gestation only [56], and 3 (6.9 %) lactation only [26,45,47]. Two studies (4.7 %) continued the diet until animals reached 25 % of initial weight and throughout gestation and lactation [57,58], 3 (6.9 %) maintained the diet from pre-mating through two reproductive cycles [6,48,54], 2 (4.7 %) applied the diet at distinct time points [29,38], and 2 (4.7 %) started the diet shortly after gestation onset and continued through lactation [28,46].

Animal Strain, Sex, and Age:

Regarding animal strains, 17 studies (39.5 %) used C57BL/6 mice [6,11,24,27,28,34,36–38,40,48,50–52,54,57,58], 10 (23.3 %) used Sprague-Dawley rats [19,23,25,31,35,42,43,46,55,56], 9 (20.9 %) used Wistar rats [26,29,32,33,41,45,47,49,53], 5 (11.6 %) used Swiss mice [18,20–22,39], and 2 (4.7 %) used ICR mice [30,44]. In relation to the sex of the animals, 15 studies (34.9 %) included both sexes [23,27,28,30,34,37,41,42,46,49,52–54,57,58], 25 (58.1 %) used only males [6,11,18–22,24–26,31–33,35,36,38–40,42,47,48,50,51,55,56], and 3 (6.9 %) did not report sex [29,43,45].

Offspring age at evaluation ranged from 14 days [30,44,49] to 20 months (600 days) [46].

3.2. Molecular long-term effects of maternal obesogenic diet on insulin signaling proteins

Regarding the effects of maternal obesogenic diet on the insulin signaling pathway, among the 43 studies analyzed, 22 (51.2 %) assessed protein expression/activity, all using the western blotting technique, in skeletal muscle, liver and/or white adipose tissue, skeletal muscle and liver (Table 3).

3.2.1. Skeletal muscle

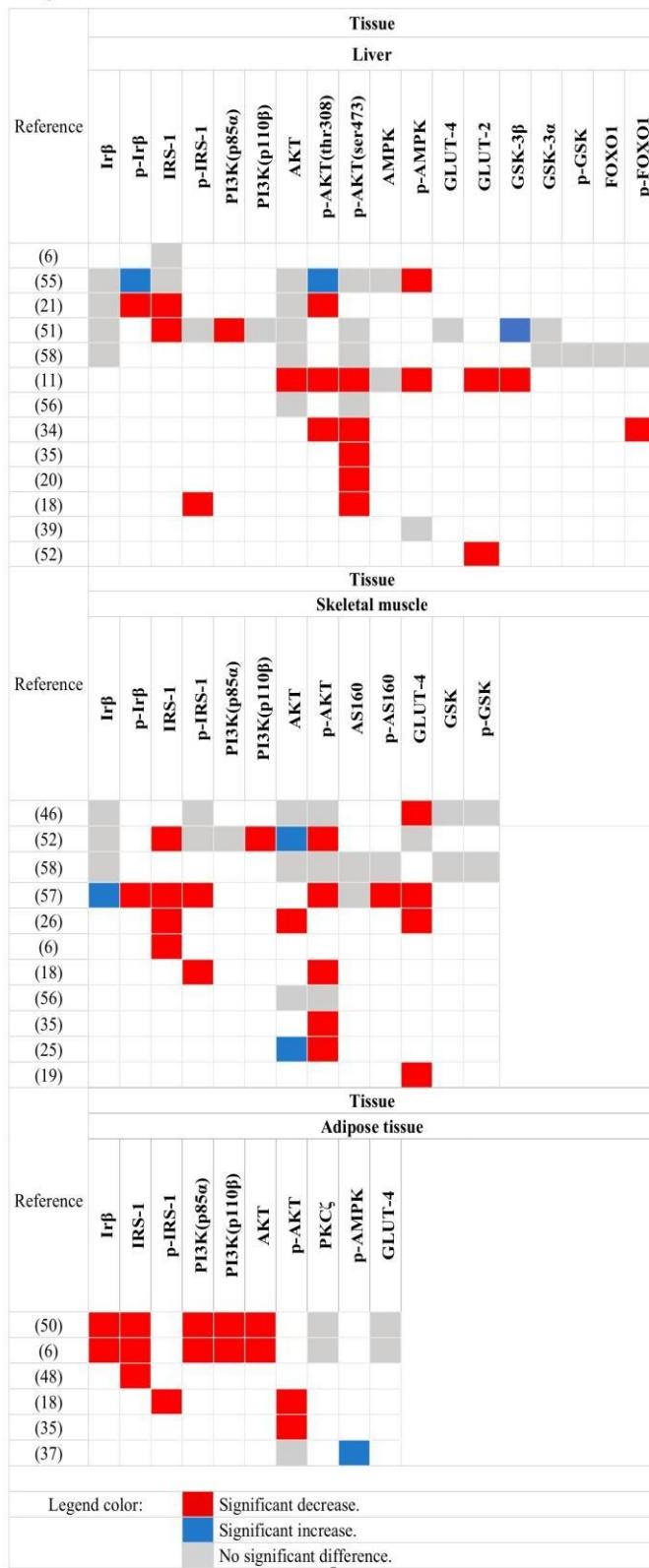
In skeletal muscle, 11 studies investigated insulin signaling: 3 (27.3 %) focused solely on protein expression [6,19,26], 2 (18.2 %) examined only activity [18,35], and 6 (54.5 %) addressed both aspects [25,46,52,56–58]. Overall, the majority of studies investigating protein expression reported a downregulation of at least one of the analyzed proteins, including IRS, PI3K(p110 β), GLUT-4, and AKT [6,19,26,46,52,57]. Similarly, most studies evaluating protein activity demonstrated reduced activity of at least one of the proteins investigated, such as IR β (Tyr974), p-IRS-1 (Tyr608), p-AKT (Ser473, Thr308), and p-AS160 (Tyr642) [18,25,35,52,57].

3.2.2. Liver

Regarding the liver, 13 studies evaluated insulin signaling: 2 (15.4 %) examined expression only [6,38], 5 (38.5 %) assessed solely activity [18,20,34,35,39], and 6 (46.1 %) analyzed both [11,21,51,55,56,58]. In contrast to the muscle tissue, most studies did not report significant changes in the expression of the proteins evaluated. Proteins commonly assessed in these studies include IR, IRS-1, PI3K, AKT, AMPK [6,11,21,51,55,56,58]. However, with respect to protein activity, most studies reported a decrease in the phosphorylation of at least one of the evaluated proteins, such as p-IR, p-IRS-1, p-IRS-2, p-AKT (Ser473 and Thr308), p-AMPK and p-FOXO1 [11,18,20,21,34,35,55].

Table 3

Heatmap of insulin signaling pathway modulation in target tissues of rodents exposed to maternal obesogenic diet.



Graphical representation of the effects of maternal exposure to an obesogenic diet on the expression

and/or activation of proteins related to the insulin signaling pathway in rodents. Analyses were stratified by tissue (skeletal muscle, adipose tissue, liver).

3.2.3. White adipose tissue

In white adipose tissue, six studies assessed insulin signaling: three (50 %) investigated only expression [6,48,50] and three (50 %) examined activity exclusively [18,35,37]. The majority of studies evaluating protein expression identified a reduction in the expression of at least one of the analyzed proteins, including IR β , IRS-1, PI3K (p110 β , p85 α), AKT1, and AKT2 [6,48,50]. As for activity, one study found reduced p-AKT (Ser473) [35], another showed elevated p-AMPK α [37], and a third reported increased p-IRS-1 activity at 28 days of age, followed by a reduction at 82 days [18].

3.3. Long-term effects of maternal obesogenic diet on physiological outcomes

For the secondary outcomes, 41 studies (95.3 %) assessed parameters such as body weight, blood glucose, insulin levels, glucose and insulin tolerance tests, and insulin resistance indices (HOMA-IR and QUICKI) (Table 4).

3.3.1. Body weight, glucose, and insulin levels

Regarding body weight, among 37 studies, 3 (8.1 %) reported a decrease in offspring exposed to maternal obesogenic diets [32,33,43], 27 (72.9 %) reported an increase [11,18,19,21–24,26,27,29–31,34–36,38–42,44–47,49,53,56], and 7 (18.9 %) found no difference [6,25,37,50,51,54,55]. Of 20 studies evaluating blood glucose, 4 (20 %) reported an increase [26,28,29,34], 15 (75 %) reported no significant difference [19,21,23,25,32,33,41,46,47,50,51,53–56], and 1 (5 %) showed a transient decrease at 21 days followed by an increase at 9 weeks [35]. Among 29 studies on insulin levels, 20 (68.9 %) observed an increase [6,11,21,24–28,31,35,36,40–42,45–48,55,58], 8 (27.6 %) found no difference [19,23,32,33,49,53,54,56], and 1 (3.4 %) reported a decrease [29].

3.3.2. Glucose homeostasis and insulin sensitivity

Glucose tolerance tests were conducted in 30 studies: 25 (83.3 %) showed elevated glucose curves [11,19,23,27,28,30–32,34–36,38–44,46,47,49,53,57,58], 4 (13.3 %) reported no difference [6,18,24,54], and 1 (3.3 %) reported a reduction [33]. All 13 studies performing insulin tolerance tests reported insulin resistance [18,22,28,30,34,35,39,43,45–47,57,58]. Of the 16 studies assessing HOMA-IR, 11 (68.8 %) reported an increase [24,26–28,30,34,42,44,47,56], 4 (25 %) no difference [25,33,35,49], and 1 (6.3 %) a decrease [46]. Two studies evaluated QUICKI: one found no difference [56] and one reported a reduction [11]. Gregorio et al. [38] showed that a maternal high-fat diet during gestation increased HOMA-IR in offspring, while exposure during lactation or both periods decreased HOMA-IR.

4. Discussion

The central question is whether maternal obesity induces insulin resistance in peripheral tissues and disrupts long-term glucose homeostasis in the offspring. If so, what are the underlying mechanisms? Does it reduce the activity or expression of insulin signaling proteins—or both—in skeletal muscle, liver, and adipose tissue? Findings indicate that a maternal obesogenic diet leads to glucose intolerance and insulin resistance in the offspring, associated with increased body weight and hyperinsulinemia, despite unchanged fasting glucose. These effects involve downregulation of key insulin signaling proteins (IRS-1, p-IRS1, PI3K[p85 α], PI3K[p110 β], AKT, p-AKT, p-AMPK, GLUT-4 and GLUT-2), affecting expression in muscle and white adipose tissue, and activity in muscle, liver, and white adipose tissue. Glucose and insulin tolerance

tests, along with HOMA and QUICKI indices, confirmed impaired insulin sensitivity.

As previously noted, most studies reported downregulation of insulin signaling proteins in skeletal muscle, liver, and white adipose tissue. In skeletal muscle—the primary site of glucose metabolism—both the expression and activity of insulin signaling proteins were generally reduced (Table 3) [6,18,19,25,26,35,46,52,57]. However, some proteins, such as AKT, AKT2, IR β , and p-AKT (Ser473), were found to be upregulated in three studies [25,52,57]. For instance, Latouche et al. (2014) observed increased AKT expression alongside reduced phosphorylation (p-AKT), suggesting a compensatory mechanism attempting to counteract impaired AKT activation and contributing to insulin resistance [25]. Similarly, Shelley et al. (2009) reported increased AKT2 levels, potentially reflecting a protective response to maternal obesity [52]. Dumolt et al. (2022) reported a similar compensatory response, with increased expression of the insulin receptor subunit IR β in the face of reduced levels of other signaling proteins, such as IRS-1 [57]. However, this upregulation did not restore pathway function, as autoprophosphorylation of the receptor at Tyr974, critical for IRS-1 recruitment, was diminished [57]. Notably, pathway preservation was observed in female offspring exposed to the same maternal obesogenic diet, characterized by increased insulin-stimulated AKT phosphorylation, supporting sex-specific protective mechanisms previously reported [34,37,57].

GLUT-4, essential for glucose uptake in skeletal muscle [10], was evaluated in five studies [19,26,46,52,57], comprising 45.4 % of the total 11 studies that investigated skeletal muscle. Four (80 %) reported reduced levels, along with elevated insulin and glucose concentrations and increased HOMA index values [19,26,46,57], supporting a strong association between GLUT-4 downregulation and insulin resistance [10].

Concerning the liver, unlike in muscle tissue, most studies reported reduced activity but not expression of insulin signaling proteins [11,18,20,21,34,35,38,51,55]. Despite this, hepatic insulin sensitivity appeared partially preserved, likely due to elevated insulin levels [10]. Shankar et al. (2010), for instance, observed increased levels of p-Tyr-IR β and p-AKT (Thr308) in animals exposed to a maternal hypercaloric liquid diet, suggesting that hyperinsulinemia enhanced insulin signaling through increased phosphorylation of IR β and AKT [55]. Whereas Martin-Gronert et al. (2010) found reductions in IRS-1 and PI3K(p85 α) proteins and an increase in GSK-3 β in three-month-old mice exposed to a maternal hypercaloric diet [51]. The increase in GSK-3 β was attributed to insulin resistance and obesity, as GSK-3 β inactivates glycogen synthase, reducing ability to store glucose as glycogen in liver [51].

Meanwhile, regarding white adipose tissue, studies reported reductions in both expression or activity of insulin signaling proteins, indicating insulin resistance [6,18,35,48,50]. However, some findings were conflicting; for example, Fante et al. (2016) observed decreased p-AKT levels alongside increased IRS-1 in adipose tissue. They suggested that maternal high-fat diet impaired insulin-stimulated p-AKT despite normal IRS-1 levels, reflecting a possible compensatory mechanism [18]. Conversely, Litzenburger et al. (2020) reported no differences in p-AKT levels, which may be due to differences in dietary fat composition. Fante et al. used a saturated fat-rich diet, whereas Litzenburger used an unsaturated fat-rich diet potentially beneficial to offspring metabolism [18,37]. Sex-specific differences in p-AKT activation were also noted, with females showing higher initial activation than males, reversing later in life, indicating that maternal obesity may differentially regulate the AKT pathway by sex and contribute to insulin sensitivity disparities [37].

The expression of proteins may be modulated by a maternal obesogenic diet through epigenetic mechanisms. Fernandez-Twinn et al. (2014) found reduced expression of IR β , IRS-1, and PI3K (p110 β , p85 α)

Table 4
Heatmap of the effects of maternal obesogenic diet on metabolic parameters in rodents.

Reference	Body weight	Circulating glucose levels	Circulating insulin levels	GTT	ITT	HOMA-IR	QUICK
Nguyen et al. 2019 (11)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Red
Shankar et al. 2010 (55)	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue
Hou et al. 2015 (19)	Blue	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue
Litzenburger et al. 2020 (37)	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue
Benatti et al. 2014 (39)	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Red	Red
Fernandez-Twinn et al. 2017 (48)	White	Blue	Blue	White	White	White	White
Fante et al. 2016 (18)	Blue	White	Grey	Red	Red	Red	Red
Almeida Faria et al. 2017 (50)	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Fernandez-twinn et al. 2014 (6)	Grey	White	Blue	Grey	Blue	Blue	Blue
Lu et al. 2024 (34)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Cuthbert et al. 2017 (56)	Blue	Grey	Grey	Blue	Blue	Grey	Grey
Guriec et al. 2023 (35)	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Blue
Ashino et al. 2012 (21)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Martin-Gronert et al. 2010 (51)	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Gregorio et al. 2010 (38)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Resende et al. 2013 (26)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Paulsen et al. 2019 (58)	White	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Dumolt et al. 2022 (57)	White	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Latouche et al. 2014 (25)	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Grey	Blue
Zhang et al. 2022 (36)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Red
Gomes et al. 2018 (47)	Blue	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Karbaschi et al. 2016 (33)	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Caluwaerts et al. 2007 (49)	Blue	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Melo et al. 2014 (22)	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Blue	Blue
Segovia et al. 2017 (23)	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Volpato et al. 2012 (24)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Zhang et al. 2021 (27)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Khalyfa et al. 2013 (28)	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Blue	Blue
Cerf et al. 2006 (29)	Blue	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Masuyama et al. 2012 (30)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Adamu et al. 2017 (31)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Los rios et al. 2018 (45)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Karbaschi et al. 2017 (32)	Red	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue
Zhang et al. 2022 (46)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Nivoit et al. 2009 (53)	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Bringhenti et al. 2016 (40)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Lecoutre et al. 2016 (41)	Blue	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Nicholas et al. 2020 (54)	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Adamu et al. 2016 (42)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Huang et al. 2017 (43)	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
Masuyama et al. 2014 (44)	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue

Legend color:	Red	Significant decrease.
	Blue	Significant increase.
	Grey	No significant difference.

Graphical representation of the effects of maternal exposure to an obesogenic diet on key metabolic parameters in adult rodents. BW: body weight; GTT: glucose tolerance test; ITT: insulin tolerance test; HOMA-IR: HOMA index; QUICK: quantitative insulin sensitivity check.

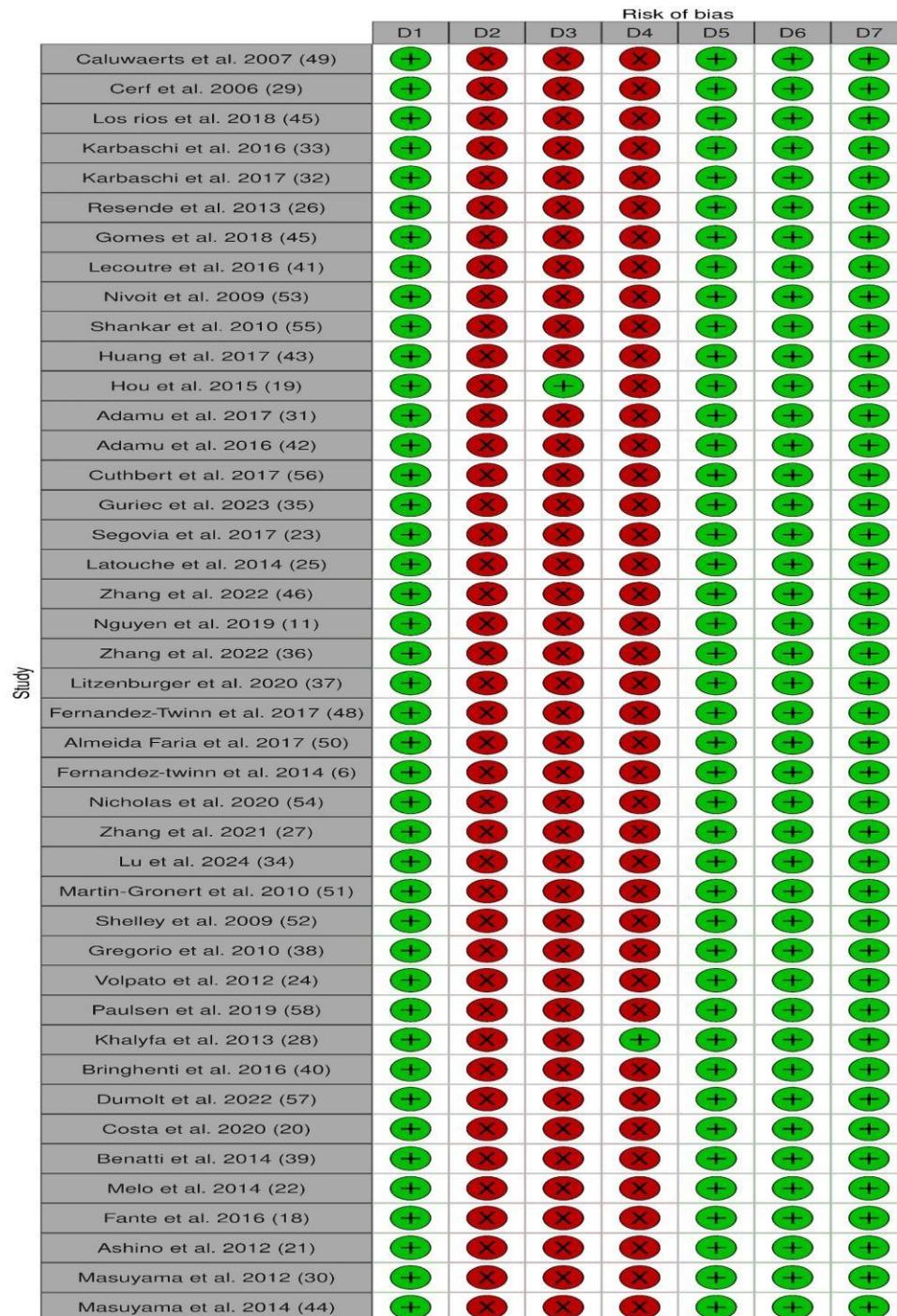


Fig. 1. Risk of bias according to the SYRCLE toll (Software RobVis). The color green indicates low risk of bias, while red indicates high risk.

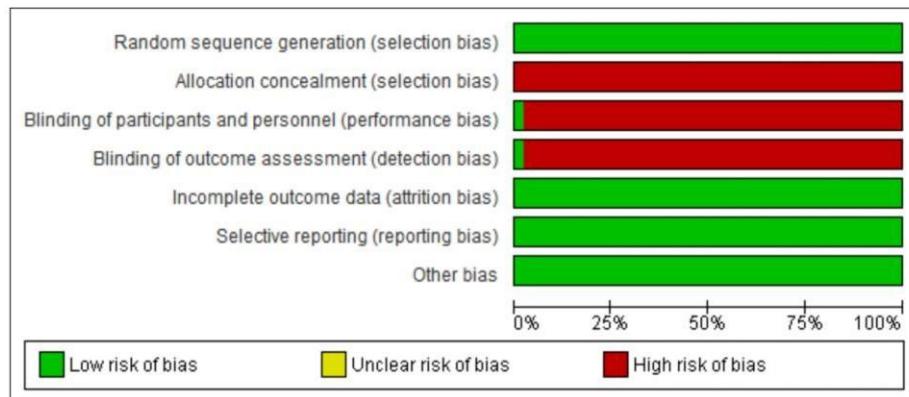


Fig. 2. Risk of bias summary: review authors' judgements about each risk of bias item for the studies analyzed.

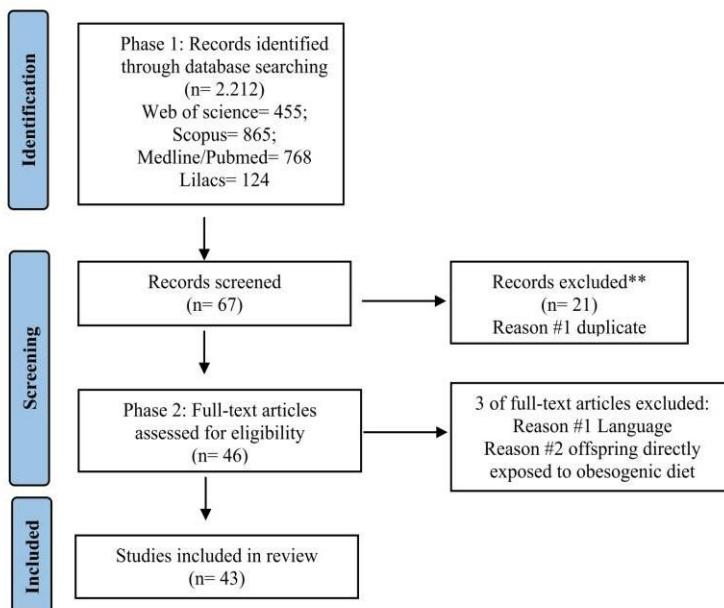


Fig. 3. PRISMA flow diagram of study selection process applied in the present study.

in white adipose tissue of eight-week-old male offspring prior to obesity-related phenotypes, suggesting insulin resistance [6]. This study demonstrated that the downregulation of IRS-1 was mediated by the upregulation of microRNA-126.

Overall, p-AKT was the most frequently studied protein [11,18,20,21,25,34,35,49,50,53–57,60]. This occurs because AKT is a key protein mediating most of insulin's metabolic actions, serving as a critical step in the development of insulin resistance [10,60]. Additionally, studies evaluating this protein in models of diet-induced obesity often report a reduction in p-AKT (ser473) activity [12,13]. This finding was corroborated by our review, as the majority of studies reported a decrease in p-Akt (ser473) activity [11,18,20,21,25,34,35,52,57].

Nevertheless, according to the study by Paulsen, the absence of changes in insulin signaling protein expression or activity does not

necessarily indicate the absence of insulin resistance. Their findings showed no differences in insulin signaling proteins in the skeletal muscle and liver of animals exposed to maternal obesogenic diets [58]. However, hyperinsulinemia and alterations in the insulin tolerance test were observed, indicating functional insulin resistance, meaning that despite increased insulin levels, there was no corresponding response from insulin signaling proteins [58].

In summary, this review indicates that a maternal obesogenic diet predominantly reduces the activity, in all studied tissues, and expression, in skeletal muscle and white adipose tissue, of insulin signaling proteins in offspring, aligning with physiological alterations such as increased body weight, elevated serum insulin, and glucose intolerance. However, some findings remain inconclusive. Three studies reported reductions in insulin signaling proteins without accompanying physiological changes [37,50,51], possibly due to limited outcome measures

focused on serum glucose and body weight. Notably, most studies found no significant changes in glucose levels, potentially explained by compensatory hyperinsulinemia or methodological limitations [21,23,25,41,46,55].

Regarding body weight, most studies reported increased body mass, although some observed reductions [32,33,43] or no significant differences [6,25,37,50,51,54,55]. Appetite regulation appears to be altered early in animals exposed to maternal obesogenic diets during critical periods such as gestation and lactation, resulting in either reduced [32,33,43] or increased food intake [22]. Increased body weight has been linked to hyperphagia, disrupted hypothalamic insulin signaling, altered expression of orexigenic peptides, and leptin dysregulation [22]. Melo et al. (2014) attributed weight gain to hyperphagia driven by hypothalamic insulin resistance, which may impair energy homeostasis if occurring early in life. Conversely, some animals exhibited reduced food intake, leading to decreased body weight and leptin levels [33].

These findings hold translational relevance for maternal and child health [31,42]. A better understanding of how maternal obesogenic diets influence fetal metabolic development may support early-life nutritional strategies aimed at reducing the risk of obesity and insulin resistance later in life, and help inform public health policies focused on preventing metabolic diseases across generations [31,42].

5. Conclusion

Based on the studies included in this systematic review, maternal obesogenic diet induces long-term metabolic disturbances in the

offspring resulting in impaired insulin signaling protein expression (skeletal muscle, and white adipose tissue) and activity (in all tissues studied). p-Akt emerging as the primary molecular marker of insulin resistance induced by a maternal obesogenic diet. These molecular and biological alterations contribute are reflected in physiological outcomes such as increased body weight and disrupted glucose metabolism, characterizing a process of developmental plasticity (Fig. 4).

Variations in the expression/activity in proteins affected may reflect heterogeneity in diet composition, exposure duration, animal age, sex, and methodological approaches. Further research is needed to clarify the epigenetic basis and long-term metabolic consequences of these findings.

The evidence presented here underscores the importance of early-life nutritional interventions and highlights potential molecular targets for future research and clinical strategies aimed at preventing metabolic diseases.

CRediT authorship contribution statement

Carolina Ramos de Mendonça: Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Lígia Cristina Monteiro Galindo:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Methodology. **Bruna Karoline Alves de Melo Silva:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Methodology, Data curation. **Brenda Hilary Avelino de Vasconcelos:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Methodology. **Vitor Carlos de Araújo Bandeira:** Writing –

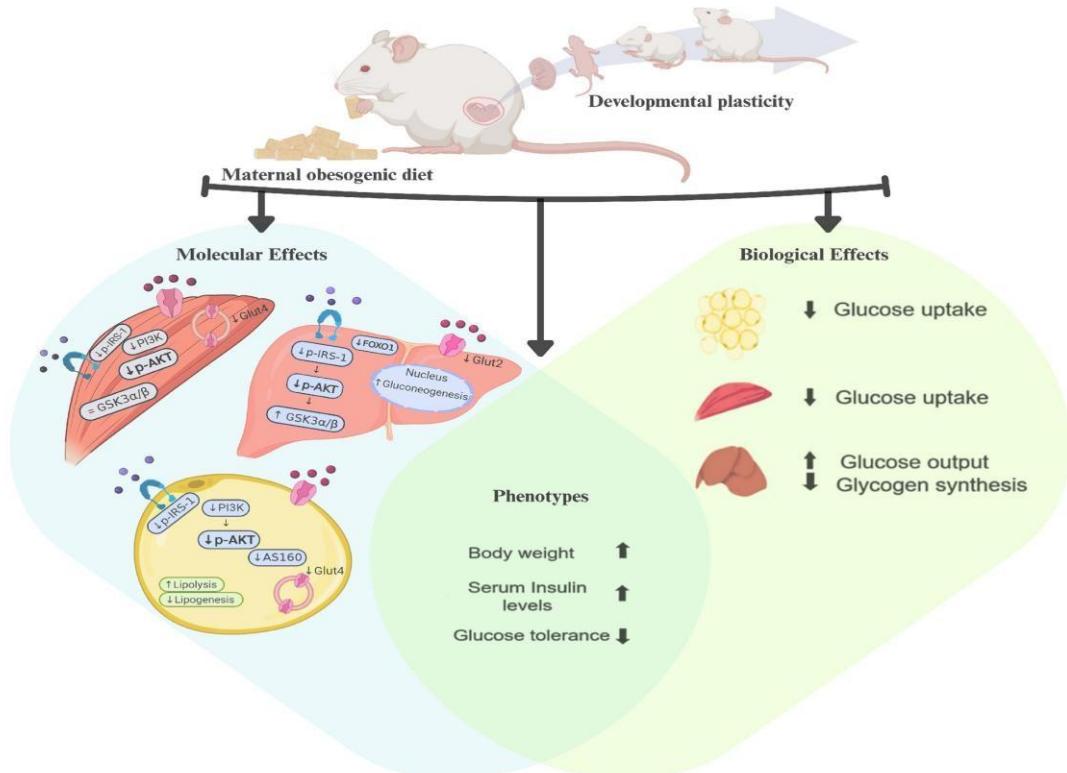


Fig. 4. Maternal obesogenic diet and insulin resistance in the offspring: Maternal obesogenic diet metabolically induces changes in the offspring, contributing to long-term insulin resistance through reduced expression (skeletal muscle and white adipose tissue) or activation (skeletal muscle, liver and adipose tissue) of key insulin signaling proteins (IRS, PI3K, AKT, AS160, GLUTs) involved in glucose metabolism.

review & editing, Visualization, Validation. **Sandro Massao Hirabara:** Writing – review & editing, Visualization, Validation. **Beatrice Morio:** Writing – review & editing, Visualization, Validation. **Diogo Antonio Alves de Vasconcelos:** Writing – review & editing, Visualization, Validation, Supervision, Methodology, Investigation, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

No data was used for the research described in the article.

References

- [1] L. Poston, R. Caleyachetty, S. Cnattingius, C. Corvalán, R. Uauy, S. Herring, et al., Preconceptual and maternal obesity: epidemiology and health consequences, in: *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, Vol. 4, Lancet Publishing Group, 2016, pp. 1025–1036.
- [2] W. Perng, E. Oken, D. Dabelea, Developmental overnutrition and obesity and type 2 diabetes in offspring, 2019, pp. 1779–1788.
- [3] M. Juonala, P. Jääskeläinen, M.A. Sabin, J.S.A. Viikari, M. Kähönen, T. Lehtimäki, et al., Higher maternal body mass index is associated with an increased risk for later type 2 diabetes in offspring, *J. Pediatr.* 162 (5) (2013).
- [4] P.M. Catalano, L. Presley, J. Minium, S.H. De Mouzon, Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero, *Diabetes Care* 32 (6) (2009) 1076–1080.
- [5] A.M. Samuelsson, P.A. Matthews, M. Argenton, M.R. Christie, J.M. McConnell, E.H. J.M. Jansen, et al., Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming, *Hypertension* 51 (2) (2008) 383–392.
- [6] D.S. Fernandez-Twinn, M.Z. Alfaradihi, M.S. Martin-Gronert, D.E. Duque-Guinalaeas, A. Piekarz, D. Ferland-McCollough, et al., Downregulation of IRS-1 in adipose tissue of offspring of obese mice is programmed cell autonomously through post-transcriptional mechanisms, *Mol. Metab.* [Internet] 3 (3) (2014) 325–333. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2014.01.007>.
- [7] M. Hanson, K.M. Godfrey, K.A. Lillycrop, G.C. Burdge, P.D. Gluckman, Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease: Theoretical considerations and epigenetic mechanisms, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 106 (2011) 272–280.
- [8] M.A. Hanson, P.D. Gluckman, Later health and disease: physiology or pathophysiology? *Physiol. Rev.* [Internet] 94 (2014) 1027–1076. Available from: www.prv.org/.
- [9] N. Panera, C. Mandato, A. Crudele, S. Bertrando, P. Vajro, A. Alisi, Genetics, epigenetics and transgenerational transmission of obesity in children, in: *Frontiers in Endocrinology*, Vol. 13, Frontiers Media S.A., 2022.
- [10] D.E. James, J. Stockli, M.J. Birnbaum, The aetiology and molecular landscape of insulin resistance, in: *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Research, Vol. 22, 2021, pp. 751–771.
- [11] L.T. Nguyen, H. Chen, A. Zaky, C. Pollock, S. Saad, SIRT1 overexpression attenuates offspring metabolic and liver disorders as a result of maternal high-fat feeding, *J. Physiol.* 597 (2) (2019 Jan 15) 467–480.
- [12] M. Aurélio, R. Vinolo, H.G. Rodrigues, W.T. Festuccia, A.R. Crisma, V.S. Alves, et al., Tributyrin attenuates obesity-associated inflammation and insulin resistance in high-fat fed mice, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* [Internet] 303 (2012) 272–282. Available from: <http://www.apjendocrinology.org>.
- [13] A.R. Martins, A.R. Crisma, L.N. Masi, C.L. Amaral, G.N. Marzuca-Nassr, L.H. M. Bonfim, et al., Attenuation of obesity and insulin resistance by fish oil supplementation is associated with improved skeletal muscle mitochondrial function in mice fed a high-fat diet, *J. Nutr. Biochem.* 55 (2018 May 1) 76–88.
- [14] M.C. Petersen, G.I. Shulman, Mechanisms of insulin action and insulin resistance, *Physiol. Rev.* 98 (4) (2018) 2133–2223.
- [15] C.R. Hooijmans, M.M. Rovers, R.B.M. De Vries, M. Leenaars, M. Ritskes-Hoitinga, M.W. Langendam, SYRCLE's risk of bias tool for animal studies, *BMC Med. Res. Methodol.* 14 (1) (2014 Mar 26).
- [16] R.B.M. de Vries, C.R. Hooijmans, M.W. Langendam, J. van Luijk, M. Leenaars, M. Ritskes-Hoitinga, et al., A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies, *Evid. Based Preclin. Med.* 2 (1) (2015 Aug 1)–9.
- [17] C.R. Hooijmans, M.M. Rovers, R.B.M. De Vries, M. Leenaars, M. Ritskes-hoitinga, M.W. Langendam, SYRCLE's risk of bias tool for animal studies, *BMC Med. Res. Methodol.* [Internet] 14 (1) (2014) 1–9. Available from: BMC Medical Research Methodology.
- [18] T. De Fante, L.A. Simino, A. Regnato, T.B. Payolla, D.C.G. Vitoréli, M. De Souza, et al., Diet-induced maternal obesity alters insulin signalling in male mice offspring rechallenged with a high-fat diet in adulthood, *PLoS One* 11 (8) (2016 Aug 1).
- [19] M. Hou, Z. Chu, T. Liu, H. Lv, L. Sun, B. Wang, et al., A high-fat maternal diet decreases adiponectin receptor-1 expression in offspring, *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 28 (2) (2015 Jan 1) 216–221.
- [20] S.O. Costa, C.M. Souza, P.G. Lanza, J.O. Sartori, L.M. Ignacio-Souza, T. Candreva, et al., Maternal high fat diet consumption reduces liver alpha7 nicotinic cholinergic receptor expression and impairs insulin signalling in the offspring, *Sci. Rep.* 10 (1) (2020 Dec 1).
- [21] N.G. Ashino, K.N. Saito, F.D. Souza, F.S. Nakutz, E.A. Roman, L.A. Veloso, et al., Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver, *J. Nutr. Biochem.* 23 (4) (2012 Apr) 341–348.
- [22] A.M. Melo, R.O. Benatti, L.M. Ignacio-Souza, C. Okino, A.S. Torsoni, M. Milanski, et al., Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high fat diet during pregnancy and lactation, *Metabolism* 63 (5) (2014) 682–692.
- [23] S.A. Segovia, M.H. Vickers, C. Gray, X.D. Zhang, C.M. Reynolds, Conjugated linoleic acid supplementation improves maternal high fat diet-induced programming of metabolic dysfunction in adult male rat offspring, */631/443/319/1642/393/692/4017/14/1/38/39/38/77/38/90/82/80/article*, *Sci. Rep.* 7 (1) (2017 Dec 1).
- [24] A.M. Volpatto, A. Schultz, E. Magalhães-Da-Costa, M.L.D.G. Correia, M.B. Águila, C. A. Mandarim-De-Lacerda, Maternal high-fat diet programs for metabolic disturbances in offspring despite leptin sensitivity, *Neuroendocrinology* 96 (4) (2012 Dec) 272–284.
- [25] C. Latouche, S.E. Heywood, S.L. Henry, M. Zieman, R. Lazarus, A. El-Osta, et al., Maternal overnutrition programs changes in the expression of skeletal muscle genes that are associated with insulin resistance and defects of oxidative phosphorylation in adult male rat offspring, *J. Nutr.* 144 (3) (2014 Mar 1) 237–244.
- [26] A.C. Resende, A.F. Emiliano, V.S.C. Cordeiro, G.F. de Bem, L.C.R.M. de Cavalho, P. R.B. de Oliveira, et al., Grape skin extract protects against programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal high-fat diet during lactation, *J. Nutr. Biochem.* 24 (12) (2013 Dec) 2119–2126.
- [27] Q. Zhang, X. Xiao, J. Zheng, M. Li, M. Yu, F. Ping, et al., Improvement in glucose metabolism in adult male offspring of maternal mice fed diets supplemented with inulin via regulation of the hepatic long noncoding RNA profile, *FASEB J.* 35 (11) (2021 Nov 1).
- [28] A. Khalifa, A. Carreras, F. Hakim, J.M. Cunningham, Y. Wang, D. Gozal, Effects of late gestational high-fat diet on body weight, metabolic regulation and adipokine expression in offspring, *Int. J. Obes.* 37 (11) (2013 Nov) 1481–1489.
- [29] M.E. Cerf, C.J. Muller, D.F. Du Toit, J. Louw, S.A. Wolfe-Coote, Hyperglycaemia and reduced glucokinase expression in weanling offspring from dams maintained on a high-fat diet, *Br. J. Nutr.* 95 (2) (2006 Feb) 391–396.
- [30] H. Masuyama, Y. Hiramatsu, Effects of a high-fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in adipocytokine gene expression, *Endocrinology* 153 (6) (2012 Jun) 2823–2830.
- [31] H.A. Adamu, M.U. Imam, D.J. Ooi, N.M. Esa, R. Rosli, M. Ismail, In utero exposure to germinated brown rice and its oryzanol-rich extract attenuated high fat diet-induced insulin resistance in F1 generation of rats, *BMC Complement. Altern. Med.* 17 (1) (2017 Jan 21).
- [32] R. Karbaschi, H. Zardooz, F. Khodagholi, L. Dargahi, M. Salimi, F. Rashidi, Maternal high-fat diet intensifies the metabolic response to stress in male rat offspring, *Nutr. Metab. (Lond.)* 14 (1) (2017) 1–12.
- [33] R. Karbaschi, F. Sadeghianmahallati, H. Zardooz, Maternal high-fat diet inversely affects insulin sensitivity in dams and young adult male rat offspring, *J. Zhejiang Univ. Sci B* 17 (9) (2016 Sep 1) 728–732.
- [34] Y. Lu, Y. Jia, J. Liu, Y. Xu, Y. Liu, et al., Progenies of gestational diabetes mellitus exhibit sex disparity in metabolism after respective therapies of insulin, glibenclamide, and metformin in dams during pregnancy, *Arch. Physiol. Biochem.* 130 (2) (2024) 183–195.
- [35] N. Guriee, C. Le Foll, J. Delarue, Long-chain n-3 PUFA given before and throughout gestation and lactation in rats prevent high-fat diet-induced insulin resistance in male offspring in a tissue-specific manner, *Br. J. Nutr.* 130 (7) (2023 Oct 14) 1121–1136.
- [36] L. Zhang, Z. Wang, H. Wu, Y. Gao, J. Zheng, J. Zhang, Maternal High-Fat Diet Impairs Placental Fatty Acid β-Oxidation and Metabolic Homeostasis in the Offspring, *Front. Nutr.* (2022 Apr 14) 9.
- [37] T. Litzenburger, E.K. Huber, K. Dinger, R. Wilke, C. Vohlen, J. Selle, et al., Maternal high-fat diet induces long-term obesity with sex-dependent metabolic programming of adipocyte differentiation, hypertrophy and dysfunction in the offspring, *Clin. Sci.* 134 (7) (2020 Apr 1) 921–939.
- [38] B.M. Gregorio, V. Souza-Mello, J.J. Carvalho, C.A. Mandarim-De-Lacerda, M. B. Aguila, Maternal high fat intake predisposes nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 offspring, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 203 (5) (2010) 495.e1–495.e8.
- [39] R.O. Benatti, A.M. Melo, F.O. Borges, L.M. Ignacio-Souza, L.A.P. Simino, M. Milanski, et al., Maternal high-fat diet consumption modulates hepatic lipid metabolism and microRNA-122 (miR-122) and microRNA-370 (miR-370) expression in offspring, *Br. J. Nutr.* 111 (12) (2014 Jun 28) 2112–2122.
- [40] I. Bringhenti, F. Ornellas, C.A. Mandarim-De-Lacerda, M.B. Aguila, The insulin-signaling pathway of the pancreatic islet is impaired in adult mice offspring of mothers fed a high-fat diet, *Nutrition* 32 (10) (2016 Oct 1) 1138–1143.
- [41] S. Leconte, B. Deracinois, C. Laborie, D. Eberlé, C. Guinez, P.E. Panchenko, et al., Depot- and sex-specific effects of maternal obesity in offspring's adipose tissue, *J. Endocrinol.* 230 (1) (2016) 39–53.

- [42] H.A. Adamu, M.U. Imam, D.J. Ooi, N.M. Esa, R. Rosli, M. Ismail, Perinatal exposure to germinated brown rice and its gamma amino-butyric acid-rich extract prevents high fat diet-induced insulin resistance in first generation rat offspring, *Food Nutr. Res.* 60 (2016 Feb 2).
- [43] Y. Huang, T. Ye, C. Liu, F. Fang, Y. Chen, Y. Dong, Maternal high-fat diet during pregnancy and lactation affects hepatic lipid metabolism in early life of offspring rat, *J. Biosci.* 42 (2) (2017 Jun 1) 311–319.
- [44] H. Masuyama, Y. Hiramatsu, Additive effects of maternal high fat diet during lactation on mouse offspring, *PLoS One* 9 (3) (2014 Mar 24).
- [45] E.A. De Los Ríos, X. Ruiz-Herrera, V. Tinoco-Pantoja, F. López-Barrera, G.M. De La Escalera, C. Clapp, et al., Impaired prolactin actions mediate altered offspring metabolism induced by maternal high-fat feeding during lactation, *FASEB J.* 32 (6) (2018 Jun 1) 3457–3470.
- [46] P. Zhang, Y. Liu, D. Zhu, X. Chen, Y. Zhang, X. Zhou, et al., Sirt3 negatively regulates Glut4 in skeletal muscle insulin resistance in old male offspring rats fed with maternal high fat diet, *J. Nutr. Biochem.* (2022 Jun 1) 104.
- [47] R.M. Gomes, F.G. Bueno, C.R. Schamber, J.C.P. de Mello, J.C. de Oliveira, F. A. Francisco, et al., Maternal diet induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance, *J. Nutr. Biochem.* 61 (2018 Nov 1) 24–32.
- [48] D.S. Fernandez-Twinn, G. Gascoin, B. Musial, S. Carr, D. Duque-Guimaraes, H. L. Blackmore, et al., Exercise rescues obese mothers' insulin sensitivity, placental hypoxia and male offspring insulin sensitivity, *Sci. Rep.* 7 (2017 Mar 14).
- [49] S. Calhuwaerts, S. Lambin, R. van Bree, H. Peeters, I. Vergote, J. Verhaeghe, Diet-induced obesity in gravid rats engenders early hyperadiposity in the offspring, *Metabolism* 56 (10) (2007 Oct) 1431–1438.
- [50] J. De Almeida Faria, D. Duque-Guimaraes, A.A.M. Carpenter, E. Loche, S. E. Ozanne, A post-weaning obesogenic diet exacerbates the detrimental effects of maternal obesity on offspring insulin signaling in adipose tissue, *Sci. Rep.* 7 (2017 Mar 24).
- [51] M.S. Martin-Gronert, D.S. Fernandez-Twinn, L. Poston, S.E. Ozanne, Altered hepatic insulin signalling in male offspring of obese mice, *J. Dev. Orig. Health Dis.* 1 (3) (2010) 184–191.
- [52] P. Shelley, M.S. Martin-Gronert, A. Rowleson, L. Poston, S.J.R. Heales, I. P. Hargreaves, et al., Altered skeletal muscle insulin signaling and mitochondrial complex II-III linked activity in adult offspring of obese mice, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* [Internet] 297 (2009) 675–681. Available from: www.ajpregu.org.
- [53] P. Nivoit, C. Morens, F.A. Van Assche, E. Jansen, L. Poston, C. Remacle, et al., Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance, *Diabetologia* 52 (6) (2009 Jun) 1133–1142.
- [54] L.M. Nicholas, M. Nagao, L.C. Kusinski, D.S. Fernandez-Twinn, L. Eliasson, S. E. Ozanne, Exposure to maternal obesity programs sex differences in pancreatic islets of the offspring in mice, *Diabetologia* 63 (2) (2020 Feb 1) 324–337.
- [55] K. Shankar, P. Kang, A. Harrell, Y. Zhong, J.C. Marecki, M.J.J. Ronis, et al., Maternal overweight programs insulin and adiponectin signaling in the offspring, *Endocrinology* 151 (6) (2010 Jun) 2577–2589.
- [56] C.E. Cuthbert, J.E. Foster, D.D. Randath, A maternal high-fat, high-sucrose diet alters insulin sensitivity and expression of insulin signalling and lipid metabolism genes and proteins in male rat offspring: effect of folic acid supplementation, *Br. J. Nutr.* 118 (8) (2017 Oct 1) 580–588.
- [57] J. Dumolt, T.L. Powell, T. Jansson, F.J. Rosario, Normalization of maternal adiponectin in obese pregnant mice prevents programming of impaired glucose metabolism in adult offspring, *FASEB J.* 36 (7) (2022 Jul 1).
- [58] M.E. Paulsen, F.J. Rosario, S.R. Wesolowski, T.L. Powell, T. Jansson, Normalizing adiponectin levels in obese pregnant mice prevents adverse metabolic outcomes in offspring, *FASEB J.* 33 (2) (2019) 2899–2909.
- [59] M. Sharma, C.S. Dey, AKT isoforms AS160 GLUT4: the defining axis of insulin resistance, in: *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, Vol. 22, Springer, 2021, pp. 973–986.
- [60] L.A. McGuinness, J.P.T. Higgins, Risk of bias VISualization (robvis): an R package and Shiny web app for visualizing risk-of-bias assessments, *Res. Synth. Methods* 11 (4) (2020) 735–743, <https://doi.org/10.1002/jrsm.1411>.

14. Apêndice B – Revisão da literatura submetida

Molecular and Cellular Endocrinology

Home Main Menu Submit a Manuscript About Help

← Revisions Being Processed for Author

Page: 1 of 1 (1 total revisions being processed) Results per page 10 ▾

Action	Manuscript Number	Title	Date Submission	Status Date	Current Status
Action Links	MCE-D-25-00068R1	Exploring Recent Insights on Intermittent Fasting in Regulating Glucocorticoid Levels and Diet-Induced Metabolic Disorders with Focus on NAFLD and Hepatic Outcomes	Jun 11, 2025	Aug 18, 2025	Under Review

Page: 1 of 1 (1 total revisions being processed) Results per page 10 ▾

15. Apêndice C – Tabela de valores individuais

A – Tabela de valores individuais dos resultados *In vivo*

Tabela A1 – Referente gráfico 1A, de peso corporal materno durante a gestação

Dieta Controle						
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
1^a semana	236,90	261,25	264,95	303,98	231,12	321,74
2^a semana	273,00	283,21	294,06	338,10	270,96	372,59
3^a semana	299,30	291,49	252,95	406,94	234,16	318,12

Dieta obesogênica						
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
1^a semana	250,69	269,53	225,36	287,88	320,07	336,42
2^a semana	281,40	284,64	324,79	291,30	326,52	348,50
3^a semana	345,35	300,00	354,23	316,81	373,31	428,15

Dieta obesogênica + resveratrol					
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
1^a semana	209,01	236,22	293,80	253,04	260,46
2^a semana	227,51	267,12	314,84	273,33	273,68
3^a semana	249,00	297,39	371,84	340,05	302,49

Tabela A2 – Referente gráfico 1B, de peso corporal materno ao desmame

Desmame		
DC _{Mat}	DC _{Mat}	DC _{Mat}
261,77	274,22	240,72*
238,75	250,54	264,16
283,75	302,57	265,11
304,88	251,54	260,15
209,85	302,02	263,9
270,38	261,52	

(*) Identificado como *outlier* pelo programa *Graphpad software*.

Tabela A3 – Referente gráfico 2A, de consumo alimentar materno durante a gestação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC _{Mat}					
Média-Peso(g)	242,77	329,73	266,43	268,32	305,91	269,73
1 ^a semana	3,91	5,97	5,33	6,17	7,71	7,63
2 ^a semana	4,33	5,99	5,93	6,86	7,83	7
3 ^a semana	8,3	7,51	5,5	5,57	8,75	5,37

Dieta Obesogênica					
	DO _{Mat}				
Média-Peso(g)	256,28	264,52	281,59	339,96	337,76
1 ^a semana	3,49	1,99	2,75	3,83	3

2^a semana	2,94	1,85	3,13	4,26	2,26
3^a semana	4,47	2,18	3,79	4,67	3,24

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	228,50	266,91	250,36	285,89	278,87
1^a semana	2,74	3,71	2,01	6,51	0,89
2^a semana	1,53	2,42	1,35	3,48	3,95
3^a semana	1,83	3,39	2,33	4,07	3,68

Tabela A4 – Referente gráfico 2B, do consumo de leite condensado materno durante a gestação relativo ao peso do animal

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	256,28	264,52	281,59	339,96	337,76
1^a semana	2,2	2,4	7,00	1,25	2,81
2^a semana	4,7	2,4	4,45	1,74	2,29
3^a semana	2	3,7	3,30	1,97	1,63

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	228,50	266,91	250,36	285,89	278,87
1^a semana	6,63	2,78	6,66	3,78	5,46
2^a semana	5,63	3,85	6,93	4,20	1,38
3^a semana	3,49	1,37	5,73	2,82	0,97

Tabela A5 – Referente gráfico 3A, de consumo alimentar materno durante a lactação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	261,77	238,75	283,75	304,88	209,85	270,38
1^a semana	8,7	9,7	11,9	13,7	8,3	10,4
2^a semana	15	13,4	15,6	15,3	11,5	14,9
3^a semana	22,7	21	18,4	17,5	17,8	18,7

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	274,22	250,54	302,57	251,54	302,02
1^a semana	4,7	6,7	4,28	6,72	5,16
2^a semana	8	9,8	8,49	12,09	7,48
3^a semana	16,7	15,5	4,59	4,34	1,29

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	264,16	265,11	260,15	263,90	240,72*
1^a semana	8,62	8,18	5,29	6,66	6,46
2^a semana	10,18	11,97	6,89	9,14	9,45
3^a semana	15,65	18,42	7,06	11,46	14,53

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Tabela A6 – Referente gráfico 3B, do consumo de leite condensado materno durante a lactação relativo ao peso do animal

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	274,22	250,54	302,57	251,54	302,02
1^a semana	4,1	4,1	3,24	1,18	1,45
2^a semana	5,5	5,9	5,93	1,53	4,56
3^a semana	3,10	5,9	16,5	13,22	14,32

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	264,16	265,11	260,15	263,90	240,72*
1^a semana	7,55	9,35	8,53	4,44	1,69
2^a semana	8,51	1,93	12,48	8,53	6,30
3^a semana	10,84	4,19	15,95	10,24	8,76

(*) Identificado como *outlier* pelo programa Graphpad software.

Tabela A8 – Referente gráfico 4A, de consumo calórico materno durante a gestação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	242,77	329,73	266,43	268,32	305,91	269,73
1^a semana	27,46	19,2	22,2	27,75	14,07	21,46
2^a semana	25,21	21,33	24,69	28,19	15,59	21,53
3^a semana	19,34	19,82	20,07	31,51	29,88	27,04

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	256,28	264,52	281,59	339,96	337,76
1^a semana	21,09	15,68	33,8	19,49	21,24
2^a semana	26,94	15,09	27,07	22,81	16,56
3^a semana	24,43	20,74	25,99	25,24	18,36

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	228,50	266,91	250,36	285,89	278,87
1^a semana	32,6	23,99	29,74	38,49	21,35
2^a semana	24,47	22,29	27,96	27,68	20,39
3^a semana	18,74	18,1	28,02	25,55	17,97

Tabela A9 – Referente gráfico 4B, de consumo calórico materno durante a lactação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	261,77	238,75	283,75	304,88	209,85	270,38
1^a semana	37,4	42,78	49,5	29,72	31,36	34,81
2^a semana	53,53	56,22	55,2	41,54	53,91	48,38
3^a semana	67,19	66,35	63,07	64,05	81,61	75,53

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	274,22	250,54	302,57	251,54	302,02
1^a semana	32,14	40,36	27,73	30,86	25,48
2^a semana	50,06	58,63	53,42	53,6	44,25
3^a semana	77,36	81,8	72,08	60,42	51,74

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	264,16	265,11	260,15	263,90	240,72*
1^a semana	59,26	63,33	51,72	41,27	31,5
2^a semana	68,66	54,49	68,32	64,53	58,53
3^a semana	98,23	87,76	80,25	79,41	86,98

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Tabela A10 – Referente gráfico 5A, de consumo carboidrato materno (dieta + leite condensado) durante a gestação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	242,77	329,73	266,43	268,32	305,91	269,73
1^a semana	4,32	3,02	3,5	4,37	2,22	3,38
2^a semana	3,97	3,36	3,89	4,44	2,46	3,39
3^a semana	3,05	3,12	3,16	4,96	4,71	4,26

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	256,28	264,52	281,59	339,96	337,76
1^a semana	2,7	2,16	5,04	2,35	2,85
2^a semana	3,83	2,09	3,8	2,8	2,24
3^a semana	3,02	2,97	3,46	3,11	2,3

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	228,50	266,91	250,36	285,89	278,87
1^a semana	4,83	3,14	4,53	4,89	3,39
2^a semana	3,76	3,17	4,4	3,82	2,47
3^a semana	2,72	2,22	4,16	3,31	2,13

Tabela A11 – Referente gráfico 5B, de consumo de carboidrato materno (dieta + leite condensado) durante a lactação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	261,77	238,75	283,75	304,88	209,85	270,38
1^a semana	5,89	6,74	7,8	4,68	4,94	5,48
2^a semana	8,43	8,85	8,69	6,54	8,49	7,62
3^a semana	10,58	10,45	9,93	10,09	12,85	11,9

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	274,22	250,54	302,57	251,54	302,02
1^a semana	4,27	5,17	3,63	3,55	3,03
2^a semana	6,48	7,49	6,93	6,06	5,63
3^a semana	8,94	9,98	11,06	9,14	8,43

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	264,16	265,11	260,15	263,90	240,72*
1^a semana	7,88	8,68	7,27	5,33	3,72
2^a semana	9,08	6,24	9,85	8,65	7,55
3^a semana	12,73	10,27	11,82	10,59	11,1

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Tabela A12 – Referente gráfico 6A, de consumo proteína materno (dieta + leite condensado) durante a gestação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	242,77	329,73	266,43	268,32	305,91	269,73
1^a semana	1,3	0,91	1,05	1,32	0,67	1,02
2^a semana	1,2	1,01	1,17	1,34	0,74	1,02
3^a semana	0,92	0,94	0,95	1,5	1,42	1,28

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	256,28	264,52	281,59	339,96	337,76
1^a semana	0,81	0,55	1,06	0,79	0,77
2^a semana	0,9	0,52	0,92	0,91	0,59
3^a semana	0,97	0,69	0,95	1	0,72

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	228,50	266,91	250,36	285,89	278,87
1^a semana	1,03	0,89	0,9	1,48	0,6
2^a semana	0,73	0,75	0,8	0,97	0,83
3^a semana	0,61	0,72	0,88	0,96	0,74

Tabela A13 – Referente gráfico 6B, de consumo de proteína materno (dieta + leite condensado) durante a lactação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	261,77	238,75	283,75	304,88	209,85	270,38
1^a semana	1,78	2,03	2,35	1,41	1,49	1,65
2^a semana	2,54	2,67	2,62	1,97	2,56	2,3
3^a semana	3,19	3,15	3	3,04	3,88	3,59

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	274,22	250,54	302,57	251,54	302,02
1^a semana	1,17	1,54	1,03	1,31	1,05
2^a semana	1,89	2,24	2,01	2,31	1,7
3^a semana	3,27	3,29	2,15	1,84	1,38

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	264,16	265,11	260,15	263,90	240,72*
1^a semana	2,17	2,23	1,76	1,56	1,31
2^a semana	2,53	2,32	2,25	2,34	2,22
3^a semana	3,7	3,67	2,55	2,89	3,33

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Tabela A14 – Referente gráfico 7A, de consumo lipídeo materno (dieta + leite condensado) durante a gestação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	242,77	329,73	266,43	268,32	305,91	269,73
1^a semana	0,55	0,38	0,44	0,56	0,28	0,43
2^a semana	0,5	0,43	0,49	0,56	0,31	0,43
3^a semana	0,39	0,4	0,4	0,63	0,6	0,54

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	256,28	264,52	281,59	339,96	337,76
1^a semana	0,78	0,54	1,04	0,77	0,75
2^a semana	0,88	0,51	0,9	0,88	0,58
3^a semana	0,94	0,67	0,92	0,97	0,7

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	228,50	266,91	250,36	285,89	278,87
1^a semana	1,01	0,87	0,88	1,44	0,59
2^a semana	0,72	0,73	0,79	0,94	0,8
3^a semana	0,6	0,7	0,86	0,93	0,72

Tabela A15 – Referente gráfico 7B, de consumo de lipídeo materno (dieta + leite condensado) durante a lactação relativo ao peso do animal

	Dieta Controle					
	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}	DC_{Mat}
Média-Peso(g)	261,77	238,75	283,75	304,88	209,85	270,38
1^a semana	0,75	0,86	0,99	0,59	0,63	0,7
2^a semana	1,07	1,12	1,1	0,83	1,08	0,97
3^a semana	1,34	1,33	1,26	1,28	1,63	1,51

	Dieta Obesogênica				
	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat}
Média-Peso(g)	274,22	250,54	302,57	251,54	302,02
1^a semana	0,99	1,35	1,3	1,27	1,12
2^a semana	1,76	1,89	1,83	2,24	1,48
3^a semana	3,06	3	1,06	0,91	0,36

	Dieta obesogênica + resveratrol				
	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}	DO_{Mat+Res}
Média-Peso(g)	264,16	265,11	260,15	263,90	240,72*
1^a semana	2,11	2,17	1,72	1,52	1,26
2^a semana	2,45	2,24	2,2	2,27	2,15
3^a semana	3,59	3,54	2,5	2,81	3,23

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Tabela A16 – Referente ao gráfico 8 A e B, de peso do tecido adiposo retroperitoneal relativo e absoluto

Peso relativo (g/g*100)						
DC_{Mat}	0,015	0,006	0,008	0,014	0,013	0,015
DO_{Mat}	0,019	0,012	0,021	0,02	0,038	0,019
DO_{Mat+Res}	0,006	0,044	0,016	0,035	0,011	0,006

Peso absoluto (mg)						
DC_{Mat}	0,0042	0,0014	0,0023	0,0048	0,0027	0,0039
DO_{Mat}	0,0029	0,0054	0,0059	0,01	0,0027	0,0054
DO_{Mat+Res}	0,00174	0,01245	0,00413	0,01041	0,0028	

Tabela A17 – Referente ao gráfico 9A de peso corporal diário do 7º ao 21º dia pós-natal da prole

DC_{Mat} – Peso Corporal							
14,17	14,16	18	16,94	15,59	15,13	15,37	18,25
16,2	16,06	20	18,75	16,44	15,13	17,37	20,09
18,06	18,31	22,69	20,42	18,55	17,04	19,29	22,8
19,47	19,9	24,51	22,91	20,37	18,73	20,9	24,9
20,86	21,87	27,24	23,83	22,18	20,64	21,47	26,92
22,51	23,34	28,01	24,49	24,96	23,55	23,74	28,26
24,11	25,38	29,58	26,4	26,19	25,32	24,26	30,1
26,04	26,87	30,85	28,43	28,61	27,69	25,89	31,98
27,6	27,94	33,1	30,85	30,02	28,33	27,53	34,19
29,05	30,04	33,61	30,49	32,2	29,72	29	36,23
30,72	32,43	36,32	31,22	32,8	31,92	32,5	40,14
31,76	32,57	37,53	32,64	35,06	33,46	35,49	43,3
33,76	34,53	40,34	33,98	37,2	35,87	36,67	47,5
37,15	36,47	42,69	35,21	39,47	38,68	41,15	52,43

DO_{Mat} – Peso Corporal (7º ao 21º dia)							
14,83	12,49	18,5	18,82	16,3	15,1	15,9	14,71
17,01	14,29	21,38	20,59	17,32	17,01	17,82	18,24
19,09	16,35	24,18	22,61	22,18	19,66	20,34	20,94
21,6	18,36	26,48	24,69	24,59	21,86	22,37	22,79
23,77	20,69	29,88	27,26	26,8	24,13	24,57	25,79
26,45	23,15	33,28	29,63	32,02	26,43	26,9	27,05
29,1	25,79	36,14	32,3	34,78	29,2	29,3	30,47
31,55	28,61	38,52	33,35	37,06	30,77	31,05	33,31
35,25	33,22	41,98	33,6	39,28	32,29	33,04	32,27
36,02	35,36	43,33	33,81	40,17	35,05	35,74	31,2
36,35	35,73	42,73	34,76	41,07	38,6	38,44	39,8
38,27	36,65	43,2	36,21	43,04	40,85	41,43	43,2
39,5	37,95	46,02	38,52	45,35	44,75	45,63	47,85
40,47	39,5	47,19	40,26	49,35	48,35	50,08	52,24

DO_{Mat+Res} – Peso Corporal (7º ao 21º dia)							
12,55	13,12	14,09	16,13	16,59	15,92	17,5	18,3
14,68	15,94	15,63	19,29	19,93	17,8	19,48	20,14
17,56	17,32	16,85	21,52	22,06	19,93	20,82	22,48
18,7	19,87	18,84	24,24	24,49	21,56	22,48	24,59
20,74	22,28	21,71	26,2	26,12	24,02	24,4	27,09
24,78	23,85	23,27	29,15	29,35	25,77	26,83	29,44
27,02	26,32	25,11	30,14	30,42	27,97	29,26	30,97
29,49	28,65	27,71	33,73	34,43	31,11	32,83	33,13
31,75	30,99	30,31	35,53	34,49	33,44	34,99	35,6
32,84	32,85	32,45	36,89	37,33	35,55	35,88	36,68
33,94	35,75	34,26	38,67	39,82	36,97	37,58	39,38
37,81	36,3	37,4	42,38	42,27	39,85	40,87	41,64
42,15	40,79	40	46,03	45,01	42,05	43,67	45,47
46,48	45,64	43,46	50,12	49,93	43,8	45,79	48,7

Tabela A18 – Referente ao gráfico 9B de ganho de peso corporal diário do 7º ao 21º dia pós-natal da prole.

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat+Res}
263,62	300,78	229,99
254,09	319,65	225,05
267,58	289,29	273,8
248,48	357,5	297,09
282,91	354,62	317,5
262,83	255,57	297,39
256,85	274,13	284,45
268,24	292,08	257,77

Tabela A19 – Referente ao gráfico 10A de peso corporal semanal após a lactação da prole.

DC_{Mat} – Peso Corporal Semanal							
72,67	68,85	79,4	66,56	68,63	57,04	84,15	103,26
112,08	103,79	121,58	103,46	123,17	100,03	122,5	150,5
167,16	150,65	185,35	160,5	172,88	150,27	176	200,5
214,52	195,68	218,54	194,92	172,88	150,27	220,5	250
254,94	231,78	258,45	234,76	184,98	221,93	259,5	289
276,2	260,59	285,15	258,15	276,18	242,11	274,41	318
297,86	275,19	302,42	276,24	303,2	264,53	289,33	337,22
321,05	293,58	325,49	296,46	321,84	283,9	309,5	357,5
330,7	311,27	340,44	302,19	332,68	303,14	324	356,5
336,29	322,94	346,98	315,04	351,54	319,87	341	371,5

DO_{Mat} – Peso Corporal (7º ao 21º dia)							
78,67	79,1	84,15	74,59	95,1	78,48	92,31	77,9
138,76	140,54	143,8	120,67	151,82	130,68	144,86	127
167,52	172,5	199,81	169,26	215,8	181,5	200,5	180,5
217,95	223,7	246,34	207,54	269,56	223,5	242	236

255,96	267,15	296,01	261,67	307,03	259,5	278	275
294,29	302,78	310,9	290,75	344,5	275,5	309,5	312
317,4	335,6	325,8	371,4	393	318,62	377,64	328,4
333,5	356,8	345,46	399,05	417	325,39	371,46	352,68
351,75	374,31	363,5	416,31	428,6	332,16	365,28	370,3
379,45	398,75	373,44	432,09	449,72	334,05	366,44	369,98

DO_{Mat+Res} – Peso Corporal (7º ao 21º dia)							
89,54	79,32	86,23	87,77	74,44	83,27	76,23	79,44
128,84	113,91	128,54	134,57	124,49	119,46	120,03	127,76
168,14	148,51	158,48	168,73	177,63	174,47	174,23	179
217,18	204,72	221,21	234,36	226,58	219,43	210,35	220,75
247,42	234,72	265,8	272,38	272,96	273,2	259,02	248,62
263,25	250,29	298,39	311,75	311,17	309,3	290,22	276,5
277,52	267,62	314,3	331,6	339,45	334,47	317,85	295,5
289,79	260,91	336,15	354,24	362,68	357,75	332,41	307,5
301,57	301,43	350,7	367,66	374,45	377,67	344,16	317,68
319,53	304,37	360,03	384,86	391,94	380,66	360,68	337,21

Tabela A20 – Referente ao gráfico 10B de ganho de peso corporal semanal após a lactação da prole.

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat+Res}
26,64	27,19	38,75
24,41	28,75	36,31
27	30,13	32,77
19,96	22,85	39,14
26,8	39,09	37,83
25,98	38,57	30,15
30,43	39,11	29,15
37,77	38,17	34,5

Tabela A21 – Referente ao gráfico 11 A e B, de peso do tecido adiposo retroperitoneal e epididimal relativo da prole aos 90 dias.

Tecido adiposo retroperitoneal (g/el*1000)						
DC_{Mat}	17,32	20,84	13,42	7,91	23,47	8,96
DO_{Mat}	19,78	34,33	30,58	19,63	13,86	21,15
DO_{Mat+Res}	13,22	15,93	23,78	24,63	35,44	26,89

Tecido adiposo epididimal (g/el*1000)						
DC_{Mat}	17,77	16,86	14,55	16,036	11,534	7,839
DO_{Mat}	13,19	23,13	13,18	8,89	9,92	18,25
DO_{Mat+Res}	5,22	7,65	13,17	7,05	19,51	16,54

El= Eixo longitudinal

Tabela A22 – Referente ao gráfico 12 da área do adipócito do tecido adiposo retroperitoneal e a figura 2 da faixa da área dos adipócitos do tecido adiposo retroperitoneal.

Distribuição de frequência das áreas dos adipócitos (μm^2).

VM	Int t	Int f	Int t	Int f	DC	DO	DOR	DC.1	DO.1	DOR.1
20	0	40	>0	<=40	0	0	0	0%	0%	0%
60	40	80	>40	<=80	15	1	1	2%	0%	0%
100	80	120	>80	<=120	27	4	9	4%	1%	1%
140	120	160	>120	<=160	48	14	15	7%	2%	2%
180	160	200	>160	<=200	56	18	32	8%	3%	4%
220	200	240	>200	<=240	66	44	42	9%	6%	6%
260	240	280	>240	<=280	63	44	66	9%	6%	9%
300	280	320	>280	<=320	65	64	55	9%	9%	8%
340	320	360	>320	<=360	52	63	82	7%	9%	11%
380	360	400	>360	<=400	52	57	45	7%	8%	6%
420	400	440	>400	<=440	40	55	47	6%	8%	7%
460	440	480	>440	<=480	24	49	64	3%	7%	9%
500	480	520	>480	<=520	18	41	36	3%	6%	5%
540	520	560	>520	<=560	8	34	30	1%	5%	4%
580	560	600	>560	<=600	12	35	14	2%	5%	2%
620	600	640	>600	<=640	12	25	28	2%	3%	4%
660	640	680	>640	<=680	4	20	19	1%	3%	3%
700	680	720	>680	<=720	2	14	27	0%	2%	4%

740	720	760	>720	<=760	2	5	20	0%	1%	3%
780	760	800	>760	<=800	0	8	24	0%	1%	3%
820	800	840	>800	<=840	4	7	16	1%	1%	2%
860	840	880	>840	<=880	1	4	11	0%	1%	2%
900	880	920	>880	<=920	3	9	11	0%	1%	2%
940	920	960	>920	<=960	3	6	7	0%	1%	1%
980	960	1000	>960	<=1000	3	8	6	0%	1%	1%
1020	1000	1040	>1000	<=1040	3	5	8	0%	1%	1%
1060	1040	1080	>1040	<=1080	2	5	8	0%	1%	1%
1100	1080	1120	>1080	<=1120	2	6	5	0%	1%	1%
1140	1120	1160	>1120	<=1160	7	5	1	1%	1%	0%
1180	1160	1200	>1160	<=1200	6	3	7	1%	0%	1%
1220	1200	1240	>1200	<=1240	6	8	2	1%	1%	0%
1260	1240	1280	>1240	<=1280	6	5	2	1%	1%	0%
1300	1280	1320	>1280	<=1320	11	5	2	2%	1%	0%
1340	1320	1360	>1320	<=1360	12	1	0	2%	0%	0%
1380	1360	1400	>1360	<=1400	5	6	1	1%	1%	0%
1420	1400	1440	>1400	<=1440	4	3	0	1%	0%	0%
1460	1440	1480	>1440	<=1480	6	0	0	1%	0%	0%
1500	1480	1520	>1480	<=1520	4	2	2	1%	0%	0%
1540	1520	1560	>1520	<=1560	8	4	1	1%	1%	0%
1580	1560	1600	>1560	<=1600	8	0	0	1%	0%	0%
1620	1600	1640	>1600	<=1640	12	2	2	2%	0%	0%
1660	1640	1680	>1640	<=1680	8	3	0	1%	0%	0%
1700	1680	1720	>1680	<=1720	5	2	0	1%	0%	0%
1740	1720	1760	>1720	<=1760	6	2	1	1%	0%	0%
1780	1760	1800	>1760	<=1800	4	2	0	1%	0%	0%
1820	1800	1840	>1800	<=1840	2	0	0	0%	0%	0%
1860	1840	1880	>1840	<=1880	3	4	0	0%	1%	0%
1900	1880	1920	>1880	<=1920	6	3	0	1%	0%	0%
1940	1920	1960	>1920	<=1960	4	5	0	1%	1%	0%
1980	1960	2000	>1960	<=2000	3	1	0	0%	0%	0%
2020	2000	2040	>2000	<=2040	2	0	0	0%	0%	0%
2060	2040	2080	>2040	<=2080	1	4	1	0%	1%	0%
2100	2080	2120	>2080	<=2120	4	3	0	1%	0%	0%
2140	2120	2160	>2120	<=2160	5	1	0	1%	0%	0%
2180	2160	2200	>2160	<=2200	2	1	0	0%	0%	0%

VM: Valor médio do intervalo de classe; Int t/Int f: Limites de intervalo inferior e superior (μm^2). DC, DO, DOR: Número de adipócitos por intervalo para cada grupo (DC_{Mat}, DO_{Mat}, DO_{Mat+Res}) DC.1, DO.1, DOR.1: Frequências relativas de adipócitos em cada intervalo (proporção do total por grupo).

Os dados foram obtidos a partir da segmentação de imagens histológicas do tecido adiposo (n = 900 campos por grupo). As frequências foram calculadas em intervalos de 40 μm^2 .

Tabela A23 – Referente ao gráfico 13 do teste de tolerância a glicose aos 60 e 90 dias, gráficos A, B, C e D

Valores individuais referente ao gráfico A do teste de tolerância a glicose aos 60 dias

DC_{Mat}								
0	103	100	104	104	125	127	114	118
15	315	241	234	233	422	221	231	405
30	278	196	190	219	361	221	326	328
45	193	161	175	191	234	214	278	233
60	170	126	151	166	240	169	224	168
90	118	108	126	143	152	135	137	129
120	114	116	114	124	104	118	141	141

DO_{Mat}									
0	110	126	126	159	113	125	120	116	103
15	343	318	384	386	171	377	375	449	358
30	272	284	348	272	138	345	344	453	311
45	233	259	333	218	134	263	274	352	256
60	148	200	207	165	133	194	213	301	178
90	136	147	143	132	115	130	165	183	134
120	115	145	124	119	109	133	159	167	126

DO_{Mat+Res}									
0	112	122	118	116	115	103	108	109	
15	299	355	304	294	375	355	198	296	
30	234	246	282	256	337	333	158	353	
45	170	161	193	187	292	263	131	208	
60	148	144	162	140	218	190	119	154	
90	130	123	138	124	153	133	112	118	
120	126	123	112	112	123	121	107	108	

Valores individuais referente ao gráfico B da área sob a curva aos 60 dias

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat+Res}
21638	22680	20505
17535	24945	21120
18653	23790	22035
20310	15570	20475
27713	25973	27263
20415	34448	25118
24645	24563	15758
25140	27728	22298

Valores individuais referente ao gráfico C do teste de tolerância a glicose aos 90 dias

DC_{Mat}									
0	92	111	107	86	116	110	106	104	
15	263	334	160	376	235	237	279	404	
30	236	286	213	338	270	272	277	364	
45	200	222	140	315	259	296	237	302	
60	173	188	134	263	196	175	201	245	
90	148	132	122	162	138	136	144	195	
120	121	114	118	105	115	136	118	105	

DO_{Mat}									
0	101	101	106	114	112	96	95	92	
15	382	473	428	369	372	449	263	309	
30	355	365	358	319	377	345	299	286	
45	248	347	267	228	305	284	241	236	
60	186	284	194	212	234	201	181	187	
90	134	192	150	137	164	153	141	145	
120	168	139	100	125	132	140	116	124	

DO_{Mat+Res}									
0	109	104	105	102	106	101	104	107	120
15	324	310	394	361	407	390	417	450	494
30	108	291	399	343	383	302	413	442	483
45	270	206	399	253	321	252	313	346	383
60	210	192	205	198	239	237	269	333	359
90	152	143	132	139	165	181	207	194	274
120	138	116	112	131	139	173	155	176	209

Valores individuais referente ao gráfico D da área sob a curva aos 90 dias

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
21323	26258	22703
23363	32768	23235
16943	26955	25710
28433	25350	29873
22605	28815	28275
22958	28103	32513
23303	22800	35325
29768	23573	28920

Tabela A24 – Referente a tabela 5 de peso relativo úmido e seco dos músculos sóleo e extensor longo dos dedos.

Valores individuais do peso relativo úmido do músculo sóleo

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,44	0,44	0,46
0,48	0,41	0,48
0,47	0,39	0,46
0,44	0,42	0,49
0,42	0,41	0,3*
0,51	0,43	0,34*
0,46	0,48	0,5
0,5	0,56*	0,49

(*) Identificado como outlier pelo programa Graphpad software.

Valores individuais do peso relativo úmido do músculo EDL

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,44	0,46	0,41
0,45	0,41	0,45
0,44	0,4	0,43
0,38	0,37	0,42
0,45	0,46	0,37
0,44	0,43	0,37
0,4	0,44	0,44
0,4	0,48	0,41

Valores individuais do peso relativo seco do músculo sóleo

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,12	0,13	0,12
0,12	0,11	0,14
0,13	0,1	0,12
0,11	0,12	0,12
0,11	0,11	0,08
0,14	0,12	0,09
0,12	0,12	0,13
0,12	0,11	0,12

Valores individuais do peso relativo seco do músculo EDL

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,12	0,13	0,11
0,12	0,12	0,12
0,11	0,11	0,11
0,1	0,1	0,11
0,12	0,12	0,1
0,12	0,11	0,1
0,1	0,11	0,12
0,1	0,12	0,11

Tabela A25 – Referente ao gráfico 14 de expressão de mRNA de AKT, AMPK e citrato sintase no músculo sóleo

Valores individuais referentes ao gráfico A de expressão do mRNA AKT

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,74264	0,33155	0,69649
0,80464	0,69205	0,70242
1,36435	0,73092	0,30754
0,57356	0,73895	1,09811
1,07005	0,91224	0,69999
2,08127	0,58895	0,88672
1,48419		0,95741

Valores individuais referentes ao gráfico B de expressão do mRNA AMPK

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,49974	0,20964	0,65492
0,90472	1,08322	0,70719
1,42462	0,73981	1,37586
0,81778	0,80691	0,76462
1,15511	0,89374	1,05338
0,82135	0,86148	1,29866

Valores individuais referentes ao gráfico C de expressão do mRNA citrato sintase

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
4,85885	0,60928	9,19546
2,02343	2,12789	6,05006
0,00951	1,27441	3,65513
0,0751	0,95208	8,32027
1,35446	2,84759	1,73897
	2,06881	

Tabela A26 – Referente ao gráfico 15 de expressão das Proteínas IRS-1, AKT, GSK-3β e RP-S6 no músculo sóleo

Valores individuais referentes ao gráfico A de expressão da proteína IRS-1

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,866	0,308	0,892
0,459	2,324	1,497
1,673	2,090	1,213
0,735	0,623	0,732
1,464	1,970	1,195
0,799	0,799	0,492

Valores individuais referentes ao gráfico B de expressão da proteína AKT

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,196	0,602	1,503
0,885	0,695	0,872
0,745	0,539	0,992
1,174	0,816	0,694
1,256	0,916	1,108
1,153	0,727	0,630

Valores individuais referentes ao gráfico c de expressão da proteína gsk-3β

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,977	0,595	0,981
1,788	1,224	1,025
1,119	0,640	1,684
0,348	0,530	2,940
1,499	0,636	1,891
1,152	1,474	4,159

Valores individuais referentes ao gráfico D de expressão da proteína RP-S6

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,464	0,857	1,379
1,438	0,928	3,079
1,027	0,816	2,351
0,953	0,777	2,492
1,046	0,624	0,667

Tabela A27 – Referente ao gráfico 16 de expressão das Proteínas IRS-1, AKT, GSK-3 β e RP-S6 no músculo EDL

Valores individuais referentes ao gráfico A de expressão da proteína IRS-1

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,170	0,784	1,167
1,147	0,297	1,515
0,681	0,983	0,410
0,895	0,379	0,373
1,104	1,807	2,075
	1,401	0,669

Valores individuais referentes ao gráfico B de expressão da proteína AKT

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,003	0,492	0,197
1,23	0,478	0,795
0,767	0,252	0,813
0,520872	0,864015	1,034955
1,613859	0,831245	0,558428
0,86527	0,505306	1,162054

Valores individuais referentes ao gráfico C de expressão da proteína GSK-3 β

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
1,239568	1,939559	2,232444
1,605881	2,232858	2,794078
0,878028	1,368005	1,019906
0,330351	0,627903	0,511903
1,52084	1,134098	0,952754
1,148808	0,556465	0,447329

Valores individuais referentes ao gráfico C de expressão da proteína RP-S6

DC_{Mat}	DO_{Mat}	DO_{Mat-Res}
0,691	1,453	1,752
1,027	1,533	1,398
1,327	0,503	1,916
0,954	0,439	0,894
0,611	0,712	0,751
0,588	1,229	1,106
1,799	0,621	0,666

B – Tabela de valores individuais dos resultados *In vitro*

Tabela B1 – Referente ao gráfico 1 de razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂

BSA		
Ctrl	R50	R100
1,625	0,907	0,566
0,266	1,340	0,667
0,126	0,071	0,030
1,635	2,467	1,307
1,348	1,950	0,955
0,571	0,674	0,603

BSA+		
Ctrl	R50	R100
3,592	1,953	2,404
5,666	4,052	1,233
0,180	0,218	0,059
3,045	2,846	1,208
2,048	3,970	0,914
1,065	1,029	0,619

Palmitato		
Ctrl	R50	R100
0,326	0,476	0,321
0,231	0,620	1,761
0,019	0,012	0,023
0,841	0,457	0,219
0,671	1,126	2,340
0,500	0,668	0,108

Palmitato +		
Ctrl	R50	R100
0,540	1,507	0,895
0,276	2,512	0,403
0,013	0,058	0,023
1,172	0,494	0,582
0,893	3,640	0,422
0,614	0,353	0,262

Tabela B2 – Referente ao gráfico 2 (A e B) de efeito da insulina sobre a razão p-AKT/AKT em miotubos C₂C₁₂

BSA+		
2,209	2,152	4,244*
21*	3,024	1,848
1,421	3,061	1,953
1,862	1,153	0,924
1,519	2,035	0,956
1,863	1,527	1,027

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Palmitato +		
1,655	3,166	0,228
1,191	4,052	0,971
1,392	4,603	2,656
1,331	1,080	0,180
1,227	3,233	2,412

Tabela B3 – Referente ao gráfico 3 de razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂

BSA		
Ctrl	R50	R100
4,962	4,918	3,117
0,468	1,510	1,108
2,219	1,581	0,983
0,322	0,576	1,153
0,449	0,261	0,231
2,363	3,119	1,255

BSA+		
Ctrl	R50	R100
2,625	4,345	1,486
0,579	1,137	0,476
3,093	1,154	0,398
0,623	0,649	0,953
0,102	0,158	0,210
0,866	2,392	1,074

Palmitato		
Ctrl	R50	R100
0,308	0,656	0,521
0,391	0,447	0,730
0,397	0,653	1,443
1,027	1,171	0,889
0,388	0,405	0,376
0,225	0,866	0,121

Palmitato +		
Ctrl	R50	R100
0,431	2,871	0,725
0,212	0,360	0,387
0,191	0,796	0,964
1,443	1,076	0,954
0,205	0,212	0,482
0,649	1,367	1,062

Tabela B4 – Referente ao gráfico 4 (A e B) de efeito da insulina sobre a razão p-AMPK/AMPK em miotubos C₂C₁₂

BSA+		
1,889	1,132	2,098
0,808	1,328	2,328
0,717	1,37	2,467
0,516	0,888	1,210
4,386	1,652	1,097
2,726	1,303	1,168

Palmitato +		
0,715	0,228	0,718
1,840	1,240	1,884
2,080	0,820	1,497
0,711	1,087	0,931
1,889	1,911	0,779
0,347	0,633	0,113

Tabela B5 – Referente ao gráfico 5 de razão p-GSK-3β/GSK-3β em miotubos C₂C₁₂

BSA		
Ctrl	R50	R100
0,294	0,382	0,644
0,380	0,916	0,858
0,465	1,450	1,072
0,307	0,676	0,561
1,441*	3,077	2,187

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

BSA+		
Ctrl	R50	R100
0,316	0,792	1,317
0,709	1,478	1,039
1,101	2,163	0,762
0,695	1,480	0,237
0,506	3,190	3,554

Palmitato		
Ctrl	R50	R100
0,913	0,378	0,406
0,866	4,672	5,186
0,818	1,910	1,979
0,708	0,562	1,017
2,450*	3,680	2,851

(*) Identificado como outlier pelo programa *Graphpad software*.

Palmitato +		
Ctrl	R50	R100
0,531	0,663	0,310
5,748	1,372	1,689
1,210	2,144	1,175
0,525	0,730	0,661
4,569	4,427	3,729

Tabela B6 – Referente ao gráfico 6 (A e B) de efeito da insulina sobre a razão p-GSK-3 β /GSK-3 β em miotubos C₂C₁₂

BSA+		
1,074	2,074	2,044
1,864	1,291	1,613
2,364	1,491	0,711
2,263	2,190	0,423
0,351	1,036	1,624

Palmitato +		
0,581	1,754	0,762
0,580	0,293	0,325
1,478	1,122	0,593
0,741	1,296	0,650
1,864	1,202	1,307