

UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

**PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

DISSERTAÇÃO

**EFEITO DO CONSUMO MATERNO DE DIETA HIPERLIPÍDICA
SOBRE A FUNÇÃO CARDÍACA DA PROLE JOVEM**

SUELEN GUEDES ZECA

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

**PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**EFEITO DO CONSUMO MATERNO DE DIETA HIPERLIPÍDICA
SOBRE A FUNÇÃO CARDÍACA DA PROLE JOVEM**

SUELEN GUEDES ZECA

Sob a orientação da Professora

NORMA APARECIDA DOS SANTOS ALMEIDA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2015

612.397

Z42e

T

Zeca, Suelen Guedes, 1989-

Efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a função cardíaca da prole jovem / Suelen Guedes Zeca. – 2015.

87 f.: il.

Orientador: Norma Aparecida dos Santos Almeida.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2015.

Bibliografia: f. 61-87.

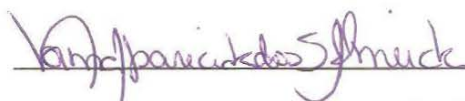
1. Lipídios – Distúrbios do metabolismo - Teses. 2. Lipídios na nutrição – Teses. 3. Coração - Doenças - Teses. 4. Influências pré-natais – Teses. 5. Obesidade – Teses. 6. Rato como animal de laboratório – Teses. I. Almeida, Norma Aparecida dos Santos, 1976- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

SUELEN GUEDES ZECA

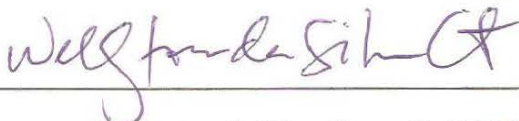
Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, área de concentração em Fisiologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 27/02/2015.



Norma Aparecida dos Santos Almeida. Ph.D. UFRRJ

(Orientadora)



Wellington da Silva Côrtes. Ph.D. UFRRJ



Luciane Claudia Barcellos dos Santos Souza. Dr. UFRJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Sergio, minha fonte de força e inspiração, o melhor pai que já existiu nesse mundo e um anjo da guarda excepcional desde 2006. Te amo pra sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha mãe Marinalva por esse momento. Se eu cheguei até aqui, foi graças aos valores e à criação que você e meu pai sempre me deram. Essa conquista é nossa! Muito obrigada pela dedicação diária e amor incondicional, você é maravilhosa.

Agradeço também à minha irmãzinha Suzy, que sempre esteve presente nos maiores momentos da minha vida. Obrigada por ser minha metade, tão diferente e tão essencial.

Agradeço ao Jorge e à sogrinha Cida por me acolherem na família como se eu fizesse parte dela desde que nasci. Cada segundo com vocês é especial. Obrigada por cada história compartilhada, por cada sorriso, pela cumplicidade e por todo o carinho.

Vó Nevinha, obrigada pelos beijos e abraços que sempre me dão a sensação boa de voltar a ser criança. Tios Célio, Jaci e José, obrigada pelo apoio constante. Tia Preta, tio Cícero, Fátima, Solom, Raquel e Doda, obrigada por entenderem minhas ausências em algumas confraternizações e aniversários, todo o esforço realmente vale a pena.

A todos os primos e primas, obrigada pelos momentos de risos altos e lembranças boas. Amo vocês. Agradeço em especial ao Dudu, que me ensinou, da forma mais dolorosa, como a vida passa rápido. Muito obrigada por me fazer enxergar o quanto meus problemas são pequenos e por permitir que fizesse parte de seus últimos sorrisos. Nunca te esquecerei.

Aos maiores presentes que a UFRRJ me deu. Bianca, muito obrigada pelo ombro e pelas palavras de conforto, pelas brincadeiras e companheirismo. Ao William, obrigada pelos conselhos, pela paciência, por me fazer entender estatística e por estar sempre ao meu lado. Raphael, Danilo, Joice, Renata, Jaque, Felipe... Obrigada por fazerem parte da minha vida!

À minha mãe científica Norma Almeida, por me ensinar tudo que sei fazer no laboratório e no meio acadêmico, desde usar uma pipeta e formatar um gráfico até fazer experimentos moleculares e escrever uma dissertação. Obrigada também pelas muitas risadas e momentos de lazer entre congressos e deveres cotidianos.

Aos meus irmãos científicos Débora, Natália, Tainá, Matheus e Luis, pela ajuda em muitas etapas desse projeto. Obrigada pelos ouvidos amigos, pelo apoio, pelas risadas, pela companhia durante o dia ou à noite, por cuidarem de mim e por aguentarem minhas variações repentinas de humor. Sem vocês o mestrado teria sido menos leve e agradável.

A todos os mestres do DCF, por terem me ensinado a amar a área das Ciências Fisiológicas desde o primeiro período da graduação em Medicina Veterinária.

Aos alunos do DCF Bruno, Fonkas, Raquel N, Raquel T, Iracema, Robertinho, Verônica, Fernando, Raoni, Claudinho... Agradeço também aos funcionários Franklin Rezende e Antonio Vicente Conrado. Obrigada pela atenção e por estarem sempre disposto a ajudar. Cada um de vocês contribuiu um pouco na minha formação profissional e pessoal.

À Guil, que me acolheu em sua casa quando fui fazer as disciplinas na USP de Ribeirão Preto. Obrigada pelas conversas e gargalhadas intermináveis, pela cumplicidade, pelos conselhos e dicas na área profissional e pessoal. Você foi incrível!

Agradeço também à Nay e ao Procópio, pela ótima companhia durante o Simpósio na USP. Meus dias passaram voando e foram muito mais agradáveis na companhia de vocês.

Às professoras Carmem Pazos-Moura, Isis Hara e Tania Ortiga-Carvalho pela ajuda intelectual e científica que contribuiu imensamente para meu crescimento e formação profissional. Muito obrigada!

Aos professores Ísis Hara, Carmem Pazos-Moura, Luciano Fernandes, João Pedro Werneck, Celso Caruso e aos pós-graduandos Ruy, Diego, Anderson Porto, Ju Franco, Isalira e Gabriela. Seja me ensinando algo, emprestando equipamentos, trabalhando comigo ou dando apoio moral, vocês foram fundamentais.

Às amigas do LEM, Lorraine, Guínever, Camila C., Milla, Bartira, Lary, Aline C., Luana, Aline F., Luella, Ju Pena, e aos amigos Klauss, Guilherme e George. Muito obrigada por tornarem a universidade e o ambiente de trabalho um lugar sempre tão agradável.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo imenso e contínuo aprendizado.

À este Programa de Pós-Graduação, que me concedeu a oportunidade de crescer em todas as áreas da minha vida, muito além do que jamais havia imaginado.

Às instituições de fomento CNPq e FAPERJ.

Aos membros da banca, obrigada por aceitarem o convite.

RESUMO

ZECA, Suelen. **Efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a função cardíaca da prole jovem.** 2015. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Inúmeras desordens metabólicas apresentam relação com a obesidade e tais alterações podem levar a disfunções cardiometabólicas. Estudos clínicos e epidemiológicos sugerem que insultos ambientais, hormonais ou nutricionais em períodos críticos de desenvolvimento podem acarretar o surgimento de doenças crônicas na vida adulta. Esse conceito é denominado programação metabólica. O consumo materno de dietas obesogênicas pode programar a prole para obesidade e alterações cardiometabólicas a longo prazo. Dados anteriores do nosso grupo mostraram que, ao desmame, filhotes machos de ratas em dieta hiperlipídica são obesos, hiperleptinêmicos, apresentam excesso de hormônios tireoideanos (HT) na circulação e de catecolaminas na adrenal. Sabendo que tais hormônios modulam o sistema cardiovascular, neste trabalho investigamos se o consumo materno de dieta hiperlipídica altera a expressão ventricular dos receptores para HT ($TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$ e do β_1 - adrenérgico (β_1 -AR), ao desmame, e a função cardíaca e pressão arterial da prole jovem de ambos os sexos. Para isso, ratas Wistar consumiram dieta controle (9% lipídeos, grupo C) ou hiperlipídica (29% lipídeos, grupo DH) por 7 semanas consecutivas antes do acasalamento, e durante a gestação e lactação. Ao desmame, parte das proles foram eutanasiadas por punção cardíaca. Sangue, tecidos adiposos brancos, tecido adiposo marrom, coração, pulmões e fígado foram coletados e pesados, os ventrículos foram homogeneizados para análise da expressão proteica dos receptores β_1 -AR, $TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$ pelo Western Blotting e a leptina sérica foi avaliada através de radioimunoensaio. Os demais filhotes foram mantidos em biotério com acesso *ad libitum* a dieta normolipídica até a realização de análises funcionais aos 30 dias de idade. Observamos que matrizes DH apresentaram menor ingestão alimentar e não desenvolveram obesidade nas semanas anteriores ao acasalamento. Durante a lactação, a prole DH apresentou maior massa corporal a partir do 6º (machos) ou 9º (fêmeas) dia de vida. Ao desmame, a prole DH apresentou maior massa corporal, adiposidade e hiperleptinemia. Houve aumento da massa ventricular de machos e fêmeas da prole DH e, no entanto, o aumento na massa atrial foi observado somente nas fêmeas. A análise da massa pulmonar e hepática, medida indireta de avaliação da congestão dos órgãos quando há insuficiência cardíaca, revelou que somente os machos da prole DH apresentavam aumento na massa pulmonar, enquanto a massa hepática aumentou em ambos os sexos. A expressão ventricular do β_1 -AR foi superior nas fêmeas da prole DH, enquanto a expressão do $TR\alpha_1$ estava maior somente nos machos. Não observamos alterações na expressão do $TR\beta_1$ entre as proles. Aos 30 dias, a prole DH não apresentou variação no peso corporal em relação a prole C. Ao analisar a função cardíaca, a prole fêmea apresentou prejuízo na função sistólica (diminuição da fração de ejeção e aumento do volume sistólico final) e os machos, embora apresentassem diminuição na fração de ejeção, parecem compensar a disfunção sistólica com hipertrofia. Nenhuma alteração foi observada na frequência cardíaca, condução elétrica, tônus simpático do coração ou pressão arterial da prole DH. Nossos resultados demonstram que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove alterações precoces na função cardíaca de ratos independente do sexo do filhote, no entanto os resultados sugerem que machos e fêmeas apresentam mecanismos diferenciados no estabelecimento das disfunções.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica, programação metabólica, função cardíaca.

ABSTRACT

ZECA, Suelen. **Effect of maternal high-fat diet on cardiac function of juvenile offspring**. 2015. 87 p. Dissertation (Master in Physiological Sciences). Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Many metabolic disorders are linked to obesity and these changes can lead to cardiometabolic issues. Clinical and epidemiological data suggest that environmental, hormonal or nutritional insults in critical periods of development may cause chronic diseases in adulthood. This concept is called metabolic programming. Maternal consumption of obesogenic diets can result in offspring obesity and cardiometabolic long-term diseases. Previous data from our group showed that, at weaning, male offspring from high-fat (HF) rats are obese, hyperleptinemics, with excess thyroid hormone (TH) and increased adrenal catecholamines. Knowing that such hormones modulate the cardiovascular system, this study investigated whether maternal consumption of HF diet alters the ventricular expression of TH receptors ($TR\alpha_1$ and $TR\beta_1$) and β_1 -adrenergic receptor (β_1 -AR), at weaning, and analyze the cardiac function and blood pressure in young offspring of both sexes. Therefore, Wistar female rats consumed control (9% lipids, group C) or high-fat diet (29% lipids, HF group) for 7 consecutive weeks before mating, pregnancy and lactation. At weaning, part of the offspring was euthanized by cardiac puncture. Blood, white adipose tissue, brown adipose tissue, heart, lungs and liver were collected and weighted. The ventricular expression of β_1 -AR, $TR\alpha_1$ and $TR\beta_1$ were analyzed by Western blotting and the serum leptin was measured by RIA analysis. Another part of the puppies were kept in cages with *ad libitum* access to control diet until the functional analysis at 30 days of age. We observed that HF matrices had lower food intake and the same body weight than C matrices in the weeks before mating. During lactation, HF offspring showed higher body mass from the 6th (male) or 9th (female) day of life. At weaning, HF offspring had a higher body weight, adiposity and hyperleptinemia. There was an increase in ventricle weight of male and female HF offspring, but the atrial weight increased only in female HF offspring. Analysis of lung and liver weight are indirect measures for evaluating if there is congestion in these organs, in consequence of heart failure. This measure revealed that only in male HF there was an increase in lung weight, while the liver weight increased in both sexes. The ventricular expression of β_1 -AR was higher in female HF offspring while $TR\alpha_1$ expression was increased only in male HF. The ventricular expression of $TR\beta_1$ was not significantly changed. At 30 days, C and HF offspring showed the same body weight. By analyzing cardiac function, the female HF offspring showed impaired systolic function (lower ejection fraction and higher end-systolic volume). Male HF also had lower ejection fraction but appear to compensate the systolic dysfunction with ventricular hypertrophy. There were no alteration in heart rate, electrical conduction, sympathetic tone neither blood pressure in the HF offspring. Taken together, the results suggest that the maternal consumption of high-fat diet promotes early changes in cardiac function in rats regardless of the offspring sex, but male and female seem to have different mechanisms for the establishment of such dysfunction.

Key-words: high-fat diet, metabolic programming, cardiac function.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Composição da dieta hiperlipídica purificada 5400 cal/kg (Prag Soluções®).....20

Tabela 2: Condições padronizadas para a realização da técnica de *Western Blotting*. ¹Santa Cruz Biotechnology®; ²Invitrogen®23

Tabela 3: Parâmetros eletrocardiográficos das proles C e DH. FC = frequência cardíaca. bpm= batimentos por segundo. ms= milissegundos. Dados expressos como média ± erro padrão, n= número de animais. Teste two-way ANOVA, seguida de pós teste Sidak.....45

Tabela 4: Valores das pressões arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) dos filhotes de 30 dias de idade, machos e fêmeas das proles C e DH. Dados expressos como média ± erro padrão, n= número de animais. Teste two-way ANOVA, seguida de pós teste Sidak.....48

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Representação esquemática da separação das proles a serem analisadas. As matrizes em dieta controle originaram a prole denominada Controle (C), enquanto as matrizes em dieta hiperlipídica originaram a prole Dieta Hiperlipídica (DH).....18
- Figura 2:** Representação esquemática do desenho experimental, adaptado de FRANCO e colaboradores (2012). Ratas Wistar de 60 dias foram submetidas à dieta normolipídica (Grupo C) ou dieta hiperlipídica (Grupo DH) por 7 semanas antes do acasalamento e durante toda a gestação e lactação das ninhadas. Os filhotes machos e fêmeas foram separados ao desmame e parte das proles foi mantida em biotério, com acesso *ad libitum* à ração normolipídica. Aos 30 dias de idade, os filhotes foram submetidos a avaliações funcionais do sistema cardiovascular.....19
- Figura 3:** Representação esquemática da etapa de obtenção das matrizes. Ratas Wistar de 60 dias foram divididas em grupos e receberam dieta normolipídica (Grupo C) ou hiperlipídica (Grupo DH) por sete semanas antes do acasalamento e durante toda a gestação e lactação das ninhadas.....21
- Figura 4:** Representação esquemática do desenho experimental após desmame. Os filhotes machos e fêmeas foram separados. Uma parte dos filhotes foi eutanasiada aos 21 dias, enquanto o restante foi mantido em biotério, com acesso *ad libitum* à ração normolipídica (proles C e DH). Aos 30 dias de idade, os filhotes machos e fêmeas de ambas as proles foram submetidos a avaliações funcionais do sistema cardiovascular.....23
- Figura 5:** A) Representação de um registro obtido de um rato controle aos 30 dias de idade. B) Imagem ampliada do interior da região marcada em vermelho na figura A, onde é possível a visualização da onda P (seta vermelha) e da onda T (seta preta), referentes a despolarização atrial e a repolarização ventricular, respectivamente. O segmento PR (traço vermelho) indica o período entre a despolarização atrial e a ventricular (complexo QRS, conjunto de deflexões positivas e negativas de grande amplitude) e o intervalo QT (traço preto), que compreende o período da duração do potencial de ação ventricular.....25

Figura 6: Evolução do ganho de massa corporal (g) das matrizes dos grupos C e DH ao longo das semanas antes do acasalamento. Ratas Wistar foram separadas nos grupos C (n=24) e DH (n=25). O * indica que na 6ª semana após o início do fornecimento de dieta hiperlipídica, as matrizes DH apresentaram cerca de 4% mais massa corporal em relação às matrizes C. Dados expressos como média ± erro padrão da média, * = p<0,05. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Sidak.....27

Figura 7: Ingestão alimentar (g/animal/dia) das matrizes dos grupos C e DH ao longo das semanas antes do acasalamento. Ratas Wistar foram separadas nos grupos C (n=24) e DH (n=25). O * indica que durante as semanas que antecederam o coito, as matrizes DH apresentaram menor ingestão de ração quando comparadas às matrizes C, em cerca de 30% nas duas primeiras semanas e 35% nas semanas subsequentes. Dados expressos como média ± erro padrão da média, * = p<0,05. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Sidak.....28

Figura 8: Evolução da massa corporal (g) dos filhotes machos e fêmeas das proles C e DH, durante todo o período de lactação. O * indica que a prole macho DH (n=29) apresentou maior massa corporal a partir do 6º dia de idade em relação à prole macho C (n=47); o + indica que a prole fêmea DH (n=31) apresentou maior massa corporal do que a prole fêmea C (n=47) a partir do 9º dia de idade; o # indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram leve diferença de massa corporal a partir do 18º dia de idade, sendo os machos DH mais pesados. Dados expressos como média ± erro padrão, sendo diferença estatística quando p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....30

Figura 9: Massa do reservatório de tecido adiposo retroperitoneal (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior quantidade de tecido adiposo retroperitoneal em relação aos respectivos controles; o + indica que os filhotes machos da prole DH apresentaram maior quantidade deste tecido adiposo quando comparados aos filhotes fêmeas da mesma prole. Machos C (n = 12), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....31

Figura 10: Massa do tecido adiposo perigonadal (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa deste tecido adiposo em relação aos respectivos controles; o + indica que os filhotes machos da prole DH apresentaram maior quantidade de tecido adiposo perigonadal quando comparados aos filhotes fêmeas da mesma prole. Machos C (n = 14), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....31

Figura 11: Massa do tecido adiposo inguinal (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa deste tecido adiposo em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 13), machos DH (n = 7), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....32

Figura 12: Massa do tecido adiposo marrom (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa deste tecido adiposo em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 14), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....33

Figura 13: Massa do coração (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que os filhotes machos e fêmeas da prole DH apresentam maior massa cardíaca, quando comparado aos filhotes da prole C. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....33

Figura 14: Massa do átrio (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram maior massa atrial em relação à prole C. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....34

Figura 15: Massa do ventrículo (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa ventricular em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....35

Figura 16: Massa do pulmão (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que somente os filhotes machos da prole DH apresentaram maior massa do pulmão em relação aos machos da prole C. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....36

Figura 17: Massa do fígado (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa do tecido hepático em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....36

Figura 18: Concentração de leptina sérica (ng/mL) dos filhotes machos e fêmeas das proles C e DH, aos 21 dias de idade. O * indica que os filhotes machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior quantidade de leptina no sangue, quando comparado aos seus respectivos controles. Machos C (n = 8), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 14) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....37

Figura 19: A) Expressão proteica do receptor β 1-adrenérgico (β 1-AR) dos filhotes machos das proles C (n = 7) e DH (n = 7). B) Expressão proteica do receptor β 1-adrenérgico (β 1-AR) dos filhotes fêmeas das proles C (n = 6) e DH (n = 6). O * indica que a expressão proteica do β 1AR é maior nos filhotes fêmeas da prole DH do que na prole C. Dados expressos como média ± erro padrão, teste-t student, p<0,05. Imagens acima dos gráficos são referentes à membrana de PVDF que originou os dados.....38

Figura 20: A) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoidiano, isoforma alfa 1 ($TR\alpha_1$) dos filhotes machos das proles C (n = 6) e DH (n = 6). O * indica que a expressão proteica do $TR\alpha_1$ é maior nos machos da prole DH do que na prole C. B) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoidiano, isoforma alfa 1 ($TR\alpha_1$) dos filhotes fêmeas das proles C (n = 5) e DH (n = 6). Dados expressos como média ± erro padrão, teste t student, p<0,05. Imagens acima dos gráficos são referentes à membrana de PVDF que originou os dados.....39

Figura 21: A) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoidiano, isoforma beta 1 ($TR\beta_1$) dos filhotes machos das proles C (n = 7) e DH (n = 7). B) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoidiano, isoforma beta 1 ($TR\beta_1$) dos filhotes fêmeas das proles C (n = 7) e DH (n = 7). Dados expressos como média ± erro padrão, teste-t student, p<0,05. Imagens acima dos gráficos são referentes à membrana de PVDF que originou os dados.....39

Figura 22: Massa corporal (g) dos filhotes machos e fêmeas das proles C e DH, aos 30 dias de idade. O + indica que os filhotes machos da prole C apresentaram menor peso corporal quando comparado aos filhotes fêmeas do mesmo grupo. Machos C (n = 15), machos DH (n = 9), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n= 10). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.....40

Figura 23: Análises referentes à geometria cardíaca do ventrículo esquerdo (VE). A) Espessura do septo intraventricular em diástole (mm) de machos e fêmeas das proles C e DH. B) Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole (mm) de machos e fêmeas das proles C e DH. C) Massa do VE (mg) dos filhotes jovens machos e fêmeas das proles C e DH. O * indica que os machos da prole DH apresentaram massa do VE 28% maior quando comparados com os machos C. Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=8), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Tukey.....42

Figura 24: A) Área interna do ventrículo direito (VD) em diástole (mm²). B) Área interna do ventrículo esquerdo (VE) em diástole (mm²). O * indica que os filhotes machos da prole DH apresentaram área do VE 10% maior quando comparados com os filhotes machos da prole C. C) Volume diastólico final do VE (uL) de filhotes machos e fêmeas das proles C e DH. Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=8), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média ± erro padrão, teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Tukey.....43

Figura 25: Valores referentes à função sistólica de ratos jovens, após avaliação das imagens do ECO pelo método de Simpson. A) Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%) de filhotes machos e fêmeas das proles C e DH. O * indica que a fração de ejeção estava reduzida nos filhotes machos e fêmeas da prole DH. O + indica que os machos da prole C apresentam menor fração de ejeção quando comparadas com as fêmeas da prole C; B) Volume de ejeção do VE (µL) de machos e fêmeas das proles C e DH. C) Percentual de encurtamento da área do VE (%) de machos e fêmeas das proles C e DH. D) Volume sistólico final do VE (uL) de filhotes machos e fêmeas das proles C e DH. O * indica que as fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 33% no volume sistólico final do VE quando comparadas às fêmeas da prole C. Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=8), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Tukey.....44

Figura 26: Análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca das proles C e DH, machos e fêmeas, aos 30 dias de idade. A) Análise espectral na faixa de baixa frequência (LF); B) Análise espectral na faixa de alta frequência (HF); C) Relação dos espectros de baixa e alta frequência (LF/HF). Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=10), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Tukey.....46

LISTA DE ABREVIACOES

μ g: micrograma

μ l: microlitro

A: ampere

Ac: anticorpo

AgRP: peptídeo relacionado ao gene agouti

Akt: proteína quinase serina/treonina

ANOVA: análise de variância

APJ: receptor para apelina

apo: apolipoproteína

ARC: núcleo arqueado

AT-1: receptor para angiotensina II isoforma 1

ATP: trifosfato de adenosina

CART: transcrição regulada por cocaína e anfetamina

cm: centímetro

coA: coenzima A

DEXA: *dual energy X-ray absorptiometry*

DMH: núcleo hipotalâmico dorsomedial

DMV: núcleo dorsal motor do vago

DNA c: fita de DNA complementar

DNA: cido desoxirribonucleico

DOHaD: *developmental origins of health and disease*

ECG: eletrocardiograma

ECL: *enhanced chemiluminescence*

ECO: ecocardiograma

EDTA: cido etilenodiaminotetracético

ERK: *extracellular signal-related kinase*

ET-1: endotelina -1

g: grama

Gs: proteína G excitatória

HDL: *high density lipoprotein*

HF: *high frequency*

HHT: eixo hipotálamo-hipófise-tireóide

HT: hormônios tireoidianos

Hz: herz

IBCCF: Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

icv: intracerebroventricular

IL: interleucina

IMC: índice de massa corpórea

IRS: substrato do receptor de insulina

kcal: quilocalorias

kDa: quilo Dalton

LDL: *low density lipoprotein*

LF: *low frequency*

LHA: área hipotalâmica lateral

MAPK: *mitogen activated protein kinase*

mg: miligramas

MgCl₂: cloreto de magnésio

MHz: mega herz

mM: milimolar

mTOR: *mammalian target of rapamycin*

MyBP-c: proteína C ligadora de miosina

NaCl 0,9%: Cloreto de sódio a 0,9%

NADPH: fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida

NO: óxido nítrico

NOS: óxido nítrico sintase

NPY: neuropeptídeo Y
NTS: núcleo do trato solitário
ObR: receptor para leptina
°C: graus celsius
OMS: Organização Mundial da Saúde
PA: pressão arterial
PAD: pressão arterial diastólica
PAM: pressão arterial média
PAS: pressão arterial sistólica
PI3K: proteína fosfatidilinositol 3 quinase
PKA: proteína quinase A
PKC: proteína quinase C
PLB: fosfolamban
POF: Pesquisa de Orçamento Familiar
POMC: proopiomelanocortina
PVDF: polivinilideno
PVN: núcleo paraventricular
RIA: radioimunoensaio
RNAm: RNA mensageiro
RNS: espécies reativas de nitrogênio
ROS: espécies reativas de oxigênio
RyR: receptor para rianodina
SDS: dodecil sulfato de sódio
SERCA-2: bomba de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático
SHP2: proteína tirosina fosfatase-2 contendo o domínio SH2
T₃: triiodotironina
T₄: tiroxina
TAM: tecido adiposo marrom
TBS: tampão Tris-SDS

TBS-T: tampão Tris-SDS acrescido de Tween
TNF- α : fator de necrose tumoral- α
TpI: subunidade inibitória da troponina
TRH: hormônio liberador de tireotrofina
TR α_1 : isoforma α_1 do receptor de hormônio tireoideano
TR β_1 : isoforma β_1 do receptor de hormônio tireoideano
UFRJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro
V: volts
VE: ventrículo esquerdo
VFC: variabilidade da frequência cardíaca
VLDL: *very low density lipoprotein*
VMH: núcleo hipotalâmico ventromedial
 α -MHC: isoforma α da cadeia pesada de miosina
 β 1AR: receptor β 1- adrenérgico
 β -MHC: isoforma β da cadeia pesada de miosina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Obesidade: epidemia do século XXI.....	3
2.1.1. Cenário mundial da obesidade.....	3
2.2. Obesidade e o sistema cardiovascular.....	4
2.3. Leptina e o sistema cardiovascular.....	6
2.4. Programação metabólica.....	9
2.4.1. Modelos de programação metabólica.....	10
2.4.2. Programação por modificação da dieta materna.....	13
3. OBJETIVOS.....	17
3.1. Objetivo Geral.....	17
3.2. Objetivos específicos.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Animais.....	18
4.2. Desenho experimental.....	18
4.3. Fase 1: Aquisição das matrizes, evolução da massa corporal e ingestão alimentar.....	19
4.4. Fase 2: Acompanhamento da prole do nascimento ao desmame.....	21
4.4.1. Evolução da massa corporal dos filhotes até o desmame.....	21
4.4.2. Avaliação do peso dos tecidos adiposos brancos e marrom, pulmão e fígado aos 21 dias.....	21
4.4.3. Dosagem de leptina sérica.....	22
4.4.4. Análise da expressão proteica dos receptores β 1-adrenérgicos, TR α ₁ e TR β ₁	22

4.5.	Fase 3: Avaliação funcional da prole aos 30 dias de idade.....	23
4.5.1.	Ecocardiograma.....	24
4.5.2.	Avaliação eletrocardiográfica.....	24
4.5.3.	Variabilidade da frequência cardíaca.....	25
4.5.4.	Avaliação da pressão arterial.....	26
4.6.	Análise estatística.....	26
5.	RESULTADOS.....	27
5.1.	Fase 1: Aquisição das matrizes, evolução da massa corporal e ingestão alimentar.....	27
5.2.	Fase 2: Acompanhamento da prole do nascimento ao desmame.....	28
5.2.1.	Evolução da massa corporal dos filhotes até o desmame.....	29
5.2.2.	Avaliação do peso dos tecidos adiposos brancos e marrom, pulmão e fígado aos 21 dias.....	30
5.2.3.	Dosagem de leptina sérica.....	36
5.2.4.	Análise da expressão proteica dos receptores β_1 -adrenérgicos, $TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$	37
5.3.	Fase 3: Avaliação funcional da prole aos 30 dias de idade.....	40
5.3.1.	Ecocardiograma.....	41
5.3.2.	Avaliação eletrocardiográfica.....	45
5.3.3.	Variabilidade da frequência cardíaca.....	46
5.3.4.	Avaliação da pressão arterial.....	47
6.	DISCUSSÃO.....	49
7.	CONCLUSÃO.....	60
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

A maior disponibilidade de alimentos altamente calóricos associada ao menor gasto energético (sedentarismo) tem causado mudanças no perfil corporal da população mundial. O alto índice de desnutrição tem sido rapidamente substituído por grande prevalência de obesidade, incluindo adultos e infantes.

Nesse contexto, o alto índice de massa corpórea em mulheres momentos antes da gestação e/ou um excesso no ganho de peso gestacional têm sido frequentemente associados a um aumento no risco de complicações obstétricas. Além disso, a obesidade materna também tem sido associada ao maior risco de defeitos congênitos, disfunções metabólicas, obesidade e maiores chances de desenvolvimento de complicações cardiovasculares na prole.

Estudos clínicos e epidemiológicos sugerem forte correlação entre eventos ocorridos durante as fases iniciais de desenvolvimento e o surgimento de doenças crônicas na vida adulta. A gestação e a lactação são períodos de intenso crescimento, replicação e diferenciação celular e por isso são considerados períodos críticos de desenvolvimento. Insultos ambientais, hormonais ou nutricionais durante a vida intrauterina e neonatal, podem resultar em distúrbios permanentes na idade adulta, sendo esse conceito denominado programação metabólica ou plasticidade do desenvolvimento. Neste contexto, o estudo do impacto da obesidade materna sobre o desenvolvimento de doenças crônicas torna-se muito relevante.

O desenvolvimento de modelos experimentais de programação possibilitou grande avanço na determinação de mecanismos fisiológicos e moleculares envolvidos na origem de diversas doenças metabólicas crônicas características da idade adulta. Evidências de estudos em roedores, coelhos e babuínos sugerem que as funções cardiovasculares e metabólicas da prole são comprometidas de forma persistente quando expostas à obesidade materna. Algumas das consequências já observadas e descritas são: aumento de adiposidade, intolerância a glicose, resistência à insulina, resistência aos efeitos anorexigênicos da leptina e aumento da atividade simpática.

Há indícios de que filhotes machos e fêmeas sofram os efeitos da programação metabólica de forma distinta. A maioria dos estudos em animais, no entanto, leva em conta somente a prole macho, devido a maior facilidade no manejo diário e menores flutuações hormonais ao longo do experimento. Pouco se conhece acerca das consequências da programação em filhotes de ambos os sexos, principalmente filhotes jovens.

Dados da literatura mostram correlação entre o fornecimento de dieta hiperlipídica às matrizes e o desenvolvimento de fibrose cardíaca em fetos de ambos os sexos, hipertrofia cardíaca em machos aos dois meses de idade, hipertensão na prole macho e fêmea aos 30 e 90 dias de idade e disfunção endotelial na prole macho aos sete meses de idade. Um estudo recente do nosso grupo mostrou que filhotes machos apresentam, ao desmame, maior conteúdo de catecolaminas na adrenal e aumento dos níveis séricos de T3 total e T4 livre. Sabendo que tais hormônios são importantes reguladores da função cardiovascular e que o aumento sérico destes está ligado a disfunções cardiovasculares, o presente trabalho visa

investigar possíveis impactos precoces na função cardíaca da prole de ratas em dieta hiperlipídica, e se os filhotes machos e fêmeas respondem de forma diferente às mesmas condições adversas durante os períodos críticos de programação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Obesidade: A Epidemia do Século XXI

A obesidade e o sobrepeso são definidos como o acúmulo de tecido adiposo de forma anormal ou excessiva, que representa um risco para a saúde do indivíduo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2015). O tecido adiposo é um órgão que, além de adipócitos, é composto por outros tipos celulares, como fibroblastos, pré-adipócitos, células endoteliais e do sistema imune (CRISTANCHO & LAZAR, 2011). Além da capacidade de reservatório energético, o órgão também apresenta outras propriedades metabólicas e endócrinas importantes na homeostase energética. O aumento de massa adiposa resulta em incremento dos níveis séricos de adipocitocinas, como leptina e resistina, e redução de adiponectina (AHIMA et al., 2005), substâncias que exercem suas ações de forma autócrina, parácrina e endócrina (MARSEGLIA et al., 2015).

2.1.1. Cenário mundial da obesidade

Com o aumento das redes de *fast food* e alterações no estilo de vida urbano, observou-se mudanças no perfil corporal da população mundial. A maior disponibilidade de alimentos altamente calóricos para a população, associado ao menor gasto energético (sedentarismo) pode ser a causa primária do aumento dos índices da obesidade mundial, bem como aumento de co-morbidades associadas a esta patologia (GRUNDY, 1998; BELL et. al., 2005). Mudanças ambientais, idade, fatores genéticos e efeitos hormonais também influenciam a susceptibilidade de cada indivíduo ao ganho ou perda de peso (ROSSNER, 2002).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), desde 1997, indica a obesidade como um problema de saúde pública. O último relatório da Federação Mundial de Obesidade, em 2012, mostrou que existem cerca de 475 milhões de adultos obesos, sendo quase o dobro o número de indivíduos em sobrepeso, indicando que cerca de 1,5 bilhões de adultos no mundo encontram-se fora do peso ideal. Dentre os jovens, mais de 200 milhões de crianças encontram-se em sobrepeso, o que faz desta geração a primeira a possuir menor estimativa de vida do que seus pais (INTERNATIONAL OBESITY TASKFORCE, 2012).

Nos Estados Unidos da América, um dos países com maiores índices de sobrepeso e obesidade, a prevalência de indivíduos obesos é alta: um terço dos adultos e 17% de crianças são obesos (OGDEN et al., 2012b). No entanto, graças aos programas públicos de conscientização dos riscos da obesidade no país, tais níveis permanecem inalterados desde 2003-04 (FLEGAL et al., 2012; OGDEN et al., 2012a; OGDEN et al., 2014).

Já no Brasil, os dados do IBGE não são confortantes: o peso dos brasileiros vem aumentando nos últimos anos, em todas as regiões. Em 2008-09, o excesso de peso atingia

uma em cada três crianças de cinco a nove anos, sendo os meninos os mais afetados. Dentre a população de adolescentes, o excesso de peso atingia 21,5% e a obesidade foi verificada em um quarto dos casos em ambos os sexos, demonstrando que o sobrepeso aumentou seis vezes em homens e três em mulheres dos 10 aos 19 anos, em 34 anos (1974-75 até 2008-09). A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) também observou aumento contínuo do excesso de peso e obesidade na população de 20 anos ou mais. O sobrepeso quase triplicou entre homens (de 18,5% em 1974-75 para 50,1% em 2008-09) e aumentou em menor proporção entre as mulheres (de 28,7% para 48%, neste mesmo período). Com esses dados, percebemos que a obesidade no Brasil cresceu mais de quatro e duas vezes entre homens e mulheres, respectivamente (PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES, 2010).

2.2. Obesidade e o Sistema Cardiovascular

A síndrome metabólica é caracterizada por uma associação de fatores que levam ao surgimento de doenças cardiovasculares, e a obesidade é um desses fatores. Uma gama de desordens metabólicas tem sido relacionada com a obesidade (CROWLEY et al., 2002; WALLS et al., 2012; KALIL & HAYNES, 2012; KONSTANTINIDES et al., 2006). Grande parte dessas alterações pode levar a disfunções cardiometabólicas, como dislipidemias, resistência à insulina, diabetes mellitus, mudanças no metabolismo glicídico e hiperinsulinemia (ROMERO-CORRAL et al., 2010; KONSTANTINIDES et al., 2006; HU et al., 2003).

As dislipidemias mais frequentes em indivíduos obesos são caracterizadas pelo aumento dos níveis séricos de triglicerídeos e ácidos graxos livres, acompanhado de redução dos níveis do colesterol HDL (*high density lipoprotein*) com disfunção das proteínas que compõem o HDL e concentração sérica normal ou levemente elevada do colesterol LDL (*low density lipoprotein*) (FRANSSEN et al., 2011). A concentração plasmática de apolipoproteína (apo) B também está aumentada na obesidade, em parte devido à superprodução hepática de lipoproteínas que contém a apo B (FRANSSEN et al., 2011; WANG & PENG, 2011). Partículas remanescentes de quilomícrons e VLDL (*very low density lipoprotein*) estão envolvidos no desenvolvimento da aterosclerose (CASTRO & ERKELENS, 1998) e, nesse contexto, diversos trabalhos propõem associação entre os níveis de colesterol e lipoproteínas ricas em triglicerídeos com a presença de aterosclerose coronária (PATZSCH et al., 1992; ENGELBERG, 1983; SIMONS et al., 1987; GRUNDY, 2002), cerebral (RYU et al., 1992) e periférica (SENTI et al., 1992). Ademais, o consumo de uma única refeição rica em lipídeos (VOGEL et al., 1997) ou infusão de lipoproteínas artificiais ricas em triglicerídeos (LUNDMAN et al., 1997) são capazes de reduzir a reatividade vascular de modo endotélio-dependente e -independente. Esse fenômeno pode ser atribuído ao aumento dos níveis de ácidos graxos livres gerados pela ação da lipoproteína lipase, pois levam ao comprometimento da vasodilatação dependente do endotélio (STEINBERG et al., 1997). Outros mecanismos pelos quais a obesidade pode levar à aterosclerose compreendem a ativação pós-prandial de leucócitos residentes que liberam diversos mediadores inflamatórios e aumentam o risco de acúmulo e ruptura das placas de ateroma (KLOP et al., 2012; VAN DER WAL et al., 1999), geração de estresse oxidativo e produção de citocinas (VAN OOSTROM et al., 2004; ALIPOUR et al., 2008).

Uma das características principais na patogênese da síndrome metabólica é a resistência insulínica (CERSOSIMO & DE FRONZO, 2006; REAVEN, 1998) e a obesidade, sendo o aumento da adiposidade visceral apontado como a causa primária do desenvolvimento dessa resistência (DE FRONZO & FERRANNINI, 1991; HAFNER et al., 1988). A resistência insulínica é caracterizada pela hiperinsulinemia compensatória, que é a maior disfunção metabólica associada ao estágio inicial do diabetes mellitus, ou diabetes do tipo 2. O aumento da concentração plasmática de insulina pode levar a disfunções metabólicas em diversos tecidos, dentre eles os vasos sanguíneos e o coração (RUIGE et al., 1998). Sendo assim, a resistência insulínica é uma das causas da disfunção endotelial associada à síndrome metabólica (FORNONI & RAIJ, 2005), visto que promove redução do óxido nítrico (NO) derivado do endotélio (CERSOSIMO & DE FRONZO, 2006; ROBERTS et al., 2000). Alterações da função vasomotora observadas em indivíduos diabéticos podem ser causadas por diversos fatores que limitam a disponibilidade do NO, dentre eles: (1) a redução da síntese de NO, por redução da expressão proteica da enzima NO sintase endotelial (BOURGOIN et al., 2008); (2) a redução da liberação do NO e (3) o consumo exagerado de NO em tecidos que apresentam alta quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), que são geralmente produzidos por perturbações celulares no metabolismo glicídico e lipídico (CERSOSIMO & DE FRONZO, 2006; ERDEI et al., 2006; GALILI et al., 2007; ROBERTS et al., 2005, 2006).

Além das ações no metabolismo da glicose, a insulina tem importantes ações hemodinâmicas. Estudos em humanos, cães e ratos mostraram que a insulina gera vasodilatação periférica e promove o recrutamento capilar, de forma a aumentar o aporte sanguíneo em tecidos específicos (BARON & CLARK, 1997; LIANG et al., 1982; PITRE et al., 1996; RATTIGAN et al., 1997). Esses efeitos são mediados pelo NO (STEINBERG et al., 1994) e são considerados fisiologicamente fundamentais na ação da insulina sobre o metabolismo da glicose, ao aumentar o aporte de glicose a tecidos menos perfundidos anteriormente, como o músculo esquelético (BARON & CLARK, 1997). Quando há resistência à insulina em indivíduos obesos ou diabéticos, tal vasodilatação é comprometida (BARON, 1996; VINCENT et al., 2003).

No coração, a cascata de sinalização da insulina é responsável pelo controle da preferência cardíaca ao substrato energético glicídico. A insulina é capaz de estimular a captação de glicose no miocárdio, acelerar a glicólise, promover a oxidação da glicose e a síntese de glicogênio (ABEL et al., 1999; SOLTYS et al., 2002; DEPRE et al., 1998; BELKE et al., 2001; LAUGHLIN et al., 1992). No diabetes, há alteração na preferência de substratos e, ao invés do carboidrato, o coração usa ácidos graxos de forma excessiva (HAFNER et al., 2000). Modelos de animais diabéticos tem apresentado hipertrofia do ventrículo esquerdo (HAFNER et al., 2000), devido à sobrecarga de pressão, associada ao maior uso de ácidos graxos não esterificados, acúmulo de triglicerídeos e aumento da produção de compostos tóxicos intermediários que, juntamente com a hiperglicemia, contribuem para o aumento da formação de ROS (RITCHIE & DELBRIDGE, 2006), desacoplamento mitocondrial, redução da síntese de ATP e consequente apoptose celular (BERTRAND et al., 2008). Esse processo é conhecido como lipotoxicidade (BORISOV et al., 2008).

A hipertensão possui forte correlação com a obesidade, mais precisamente o aumento da adiposidade visceral (KANAI et al., 1990; MATHIEU et al., 2009) e estima-se que 65 a 78% dos casos de hipertensão possam ser atribuídos à obesidade (GARRISON et al., 1987). A descoberta de que o tecido adiposo, além do fígado, é fonte de angiotensinogênio tem

contribuído para afirmar que o sistema renina-angiotensina está relacionado com a hipertensão em indivíduos obesos (RUBIO-RUÍZ et al., 2014). A renina produzida pelos rins permite transformação do angiotensinogênio em angiotensina I e, após ação da enzima conversora de angiotensina, há formação da angiotensina II, um potente vasoconstritor (SKEGGS et al., 1954). O receptor para angiotensina II do tipo AT-1 está expresso em adipócitos, e sua cascata de sinalização é importante na diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos (PAUSOVA, 2006). No entanto, ao interferir na diferenciação de pré-adipócitos, a angiotensina II pode contribuir para a formação de adipócitos maiores e com disfunções. Esses adipócitos passam a produzir maior expressão de angiotensinogênio, de leptina, de espécies reativas de oxigênio e de citocinas pró-inflamatórias (FURUKAWA et al., 2004), indicando um ciclo vicioso entre o tecido adiposo e a hipertensão associada à obesidade (DESPRES & LEMIEUX, 2006; GUO et al., 2004).

Além disso, os reservatórios adiposos com adipócitos maiores são infiltrados por macrófagos, e ambos os tipos celulares se comunicam. A liberação de ácidos graxos livres pelos adipócitos leva a produção do fator de necrose tumoral α (TNF- α) pelos macrófagos, que, por sua vez, induzem a produção de interleucina-6 (IL-6) nas células adiposas (SUGANAMI et al., 2005). A presença de IL-6 parece ser um dos mecanismos pelos quais a hipertensão se instala, visto que LEE e colaboradores (2004) observaram menor resposta hipertensora em camundongos *knockout* para IL-6.

Indivíduos obesos apresentam alta expressão do RNA mensageiro (RNAm) para leptina no tecido adiposo, bem como hiperleptinemia, condição que tem sido associada ao maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (WALLACE et al., 2001). Apesar da alta concentração sérica de leptina não há redução da adiposidade, provavelmente devido à resistência hipotalâmica aos efeitos anorexigênicos deste hormônio. A resistência a leptina tem sido atribuída a múltiplos fatores, incluindo problemas no transporte da leptina pela barreira hemato-encefálica (BANKS et al., 2002), redução do conteúdo hipotalâmico de proteínas que realizam retro-alimentação negativa na via de sinalização da leptina, inflamação crônica, estresse oxidativo no retículo endoplasmático e autofagia (MYERS et al., 2012; JUNG & KIM, 2013).

2.3. Leptina e o Sistema Cardiovascular

A leptina (do grego *leptos*, que significa magro) é uma proteína de 16 kDa, 167 resíduos de aminoácidos e foi identificada em 1995 como produto do gene *ob*, em camundongos (FRIEDMAN, 2009). Embora sua maior produção ocorra no tecido adiposo branco, a leptina também é produzida e secretada por diversos órgãos (LIMA & CURI, 2012).

O receptor da leptina (ObR) foi identificado como um receptor da família da classe I das citocinas, expresso em vários núcleos cerebrais e tecidos periféricos (TARTAGLIA et al., 1995). O RNAm do ObR apresenta diversos *splicings* alternativos (ObRa-f), sendo o ObR-b a isoforma mais longa, a única que apresenta um domínio citoplasmático de 302 aminoácidos, incluindo diversas áreas de interação com outras proteínas (LEE et al., 1996).

A leptina tem sua ação clássica no sistema nervoso central, onde é responsável pela regulação da ingestão alimentar e do balanço energético corporal. Ela age diretamente sobre duas populações de neurônios no núcleo arqueado hipotalâmico: (1) os neurônios que co-expressam proopiomelanocortina (POMC) e *cocaine-amphetamine regulated transcript* (CART) e (2) neurônios que co-expressam o peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP) e neuropeptídeo Y (NPY) (FRIEDMAN, 2000; XU et al., 2011). Este hormônio estimula a expressão de POMC/CART (fatores anorexigênicos) e inibe a expressão de AgRP/NPY (fatores orexigênicos), garantindo assim a redução do consumo alimentar e o aumento do gasto energético (LIMA & CURI, 2012). Dessa forma, a leptina age sobre a homeostase energética.

SATOH e colaboradores (1997a) demonstraram que a leptina age em neurônios localizados no núcleo hipotalâmico ventro-medial (VMH), estimulando o aumento da ação do sistema nervoso simpático no organismo (SATOH et al., 1997b; 1999). A ativação simpática no coração leva à fosforilação de proteínas que aumentam a força de contração, a velocidade de relaxamento e a frequência cardíaca (ZHAO et al., 1994; SIMMERMAN & JONES, 1998; XIAO, 2000), além de aumentar o risco de hipertensão arterial (BRAVO et al., 2006). A leptina também influencia a atividade parassimpática, inibindo-a de forma (1) direta: a interação deste hormônio sobre o receptor ObR-b leva à hiperpolarização dos neurônios no núcleo dorsal motor do vago (DMV) (WILLIAMS et al., 2007; LI et al., 2007); (2) e indireta, por ação estimulatória em neurônios glutamatérgicos do núcleo do trato solitário, que realizam sinapses inibitórias com neurônios no DMV (WILLIAMS et al., 2007).

Além dos efeitos indiretos sobre o sistema cardiovascular, a leptina também apresenta efeitos diretos. PURDHAM e colaboradores (2004) observaram que cardiomiócitos expressam os receptores para leptina Ob-Ra, Ob-Rb e Ob-Re, apresentando diferentes padrões de expressão entre as câmaras cardíacas e de acordo com o gênero. Além disso, foi demonstrado que há expressão do RNAm da própria leptina em cardiomiócitos, sugerindo que este hormônio pode agir de forma parácrina e autócrina no coração (PURDHAM et al., 2004).

Em cultura de cardiomiócitos, a leptina é capaz de promover hiperplasia tanto pela via IRS/PI3K/Akt (substrato do receptor de insulina/ proteína fosfatidilinositol 3 quinase/ proteína quinase serina/treonina), quanto pela SHP2/MAPK (proteína tirosina fosfatase-2 contendo o domínio SH2/ proteína quinase ativada por mitógeno), principalmente pela ativação da ERK1/2 (do inglês, “extracellular signal-related kinase”) (TAJMIR et al., 2004). Também foi descrito que a leptina leva à hipertrofia cardíaca *in vitro*, possivelmente via ativação da MAPK (RAJAPUROHITAM et al., 2003, 2006), e, *in vivo*, a hipertrofia teve correlação direta com a *up-regulation* do receptor ObR-b (MATSUI et al., 2012). Além disso, o tratamento com anticorpo contra o ObR ou a administração de um oligodesoxinucleotídeo *antisense* diretamente contra o RNAm da leptina, em ratos submetidos a ligação da artéria coronária, foi capaz de atenuar a hipertrofia, a disfunção ventricular esquerda (PURDHAM et al., 2008) e reduzir a severidade da insuficiência cardíaca (MORO et al., 2011), indicando a participação da leptina no remodelamento cardíaco.

O remodelamento cardíaco compreende mudanças fenotípicas nos miócitos e na matriz extracelular, resultando muitas vezes em fibrose cardíaca (HAYDEN et al., 2006; PANCHAL et al., 2011; SCHRAM & SWEENEY, 2011). MARTÍNEZ-MARTÍNEZ e colaboradores (2014) observaram que a leptina produzida no coração pode participar de alterações cardíacas associadas à obesidade ao induzir a produção de colágeno via aumento no

estresse oxidativo mediado pela ativação da mTOR (do inglês, “mammalian target of rapamycin”), com participação da galectina-3. O aumento do estresse oxidativo mediado pela alta concentração de leptina pode prejudicar a contratilidade dos cardiomiócitos (REN et al., 2010) por aumento da atividade da óxido nítrico sintase (NOS) (NICKOLA et al., 2000).

O metabolismo cardíaco também é modulado pela leptina. A leptina é capaz de diminuir a sensibilidade da carnitina-palmitoiltransferase-I em relação à enzima malonil-CoA em animais alimentados com dieta hiperlipídica, estimulando a oxidação de ácidos graxos, via ativação da IRS/PI3K/Akt, e exercendo importante papel na adaptação do metabolismo cardíaco em diferentes situações de oferta nutricional (GUZMAN-RUIZ et al., 2010). Além disso, foi demonstrado que camundongos geneticamente modificados que superexpressam acetil coA- sintase somente no coração, apresentando um fenótipo de severa lipotoxicidade cardíaca, quando são tratados com adeno-vírus contendo DNAc para leptina possuem a função sistólica preservada, sugerindo que a leptina também possa exercer papel cardioprotetor contra o acúmulo de lipídeos (LEE et al., 2004).

Corroborando com esses dados, acúmulo de triglicerídeos, lipotoxicidade cardíaca e consequente disfunção miocárdica tem sido observados em modelos experimentais de obesidade, inclusive em camundongos *ob/ob* e *db/db*, que não possuem a via de sinalização da leptina funcional (CHRISTOFFERSEN et al., 2003; VAN DER BERGH et al., 2008; CARLEY & SEVERSON, 2005; BELKE & SEVERSON, 2012). De forma semelhante, o acúmulo intramiocárdico de triglicerídeos é comum em pacientes obesos com insuficiência cardíaca não isquêmica (SHARMA et al., 2004).

Além das ações sobre o coração, a leptina também exerce efeitos sobre os vasos sanguíneos, diretamente sobre as células endoteliais e musculares. Já foi descrito que a leptina é capaz de induzir proliferação, diferenciação e ativação de células hematopoiéticas (GAINSFORD et al., 1996), promover angiogênese (BOULOUMIÉ et al., 1998; SIERRA-HONIGMANN et al., 1998) e aumentar respostas pró-inflamatórias (LOFFREDA et al., 1998). A atividade da NADPH oxidase de fagócitos é aumentada em indivíduos obesos, estando positivamente correlacionada com o nível sérico de leptina. Essa ação estimulatória da leptina sobre a NADPH oxidase parece ser via PI3K e proteína quinase C (PKC), e prejudica a função endotelial por aumentar a degradação de NO devido ao aumento do estresse oxidativo (BOULOUMIE et al., 1999; FORTUÑO et al., 2010). A leptina também estimula a produção de endotelina-1 (ET-1) (JUAN et al., 2008), e o excesso do hormônio promove calcificação vascular (LIU et al., 2014; PARHAMI et al., 2001), agregação plaquetária e trombose arterial (KONSTANTINIDES et al., 2006).

A hiperleptinemia promove o estresse oxidativo sistêmico e intrarrenal, reduz a bioatividade do NO, estimula a reabsorção de sódio (BELTOWSKI et al., 2004; KONUKOGLU et al., 2006), diminui a vasodilatação dependente do endotélio (KUNDSON et al., 2008) e potencializa os efeitos da angiotensina II na pressão arterial (WANG et al., 2013).

Na obesidade, os níveis séricos de leptina estão aumentados e, como altas concentrações deste hormônio representam um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, é plausível que a hiperleptinemia seja uma das principais causas de incidência de doenças cardiovasculares em indivíduos obesos (WALLACE et al., 2001).

2.4. Programação Metabólica

Diversos pesquisadores nos anos 60 e 70 começaram a observar que, em diferentes espécies de mamíferos (como ratos, camundongos, porquinho-da-índia e suínos), a redução de calorias ingeridas ou o menor aporte de proteínas fornecido para a fêmea durante a gestação e a lactação afetava o crescimento e a capacidade cognitiva da prole (ROEDER & CHOW, 1972; McCANCE, 1976). No entanto, a teoria da origem do desenvolvimento da saúde e doença (teoria conhecida pela sigla DOHaD, do inglês “developmental origins of health and disease”) só foi popularizada no início da década de 90, com as observações epidemiológicas de David Barker. O pesquisador dizia que o modelo de doença degenerativa em adultos, além de incluir a interação genética e ambiental na vida adulta, também deveria levar em conta a programação que o indivíduo sofreu durante a vida fetal e a infância (BARKER, 1990).

O conceito atual de programação do indivíduo sugere que alterações de origem ambiental, hormonal ou nutricional durante momentos anteriores à concepção, e durante a gestação e lactação poderiam modular individualmente o desenvolvimento, gerando distúrbios estruturais e funcionais que podem se tornar permanentes e predispor o indivíduo a maiores riscos de desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas na fase adulta. Esses períodos compreendem os períodos críticos de programação (LUCAS, 1994), pois são fases de intenso crescimento, replicação e diferenciação celular, onde há formação e maturação da maioria dos órgãos e sistemas (SIMMONS, 2005).

Com base em estudos epidemiológicos surgiu a hipótese do ‘fenótipo poupador’ (em inglês, *thrifty phenotype*) (HALES & BARKER, 1992), proposto especificamente para indivíduos onde o baixo peso ao nascimento foi caracterizado por adaptações precoces a um ambiente intrauterino adverso, para otimizar o uso do suprimento escasso de nutrientes e garantir a sobrevivência. Essas adaptações favoreciam o desenvolvimento de certos órgãos, em detrimento de outros, levando a alterações permanentes no metabolismo dos tecidos. O desenvolvimento comprometido durante a gestação e a lactação em consequência da desnutrição materna foi capaz de alterar de forma irremediável o número de células, sendo o tecido afetado de acordo com o tempo que o insulto permaneceu (McCANCE, 1976; WIDDOWSON, 1976).

Diversos estudos epidemiológicos mostram estreita relação entre o baixo peso ao nascimento e o desenvolvimento da síndrome metabólica, bem como de seus componentes na idade adulta: diabetes do tipo 2, resistência à insulina, adiposidade abdominal, obesidade, dislipidemias, doenças cardiovasculares (como hipertensão) e maior risco de infarto do miocárdio (HALES & BARKER, 1992; PHILLIPS, 1998; FORSEN et al., 1999; GODFREY & BARKER, 2001; GLUCKMAN & HANSON, 2004; LAITINEN et al., 2004). SICHIERI e colaboradores (2000) mostraram que mulheres que apresentavam baixa estatura, um sinal de subnutrição na infância, possuíam maior risco de desenvolver obesidade e adiposidade abdominal sem que esse fato estivesse relacionado à quantidade ou ao valor nutricional do alimento ingerido na fase adulta.

Além disso, a susceptibilidade a doenças crônicas na vida adulta é diferente entre machos e fêmeas. No contexto DOHaD, a exposição às mesmas condições intrauterinas e neonatais podem alterar permanentemente e de forma diferente a fisiologia de machos e fêmeas em termos do tempo do insulto, início e severidade das consequências, muitas vezes

com longa latência (GABORY et al., 2009; BALE, 2011; VAN ABEELLEN et al., 2011; WADDELL & McCARTHY, 2012; BARKER, 1992; WALKER & HO, 2012). Sendo assim, é importante o estudo de ambos os sexos no contexto da programação metabólica.

2.4.1. Modelos de programação metabólica

Insultos de natureza ambiental podem programar os filhotes para alterações na fase adulta. Dentre eles, um dos insultos mais estudados é a exposição à fumaça do cigarro ou à nicotina. A exposição ao fumo durante a gestação tem sido relacionada ao menor peso ao nascimento, maior prevalência de morte súbita em neonatos e complicações no crescimento da criança, incluindo redução da massa corporal, comprimento e circunferência craniana aos três meses de idade (HEGAARD et al., 2006; FENERCIOGLU et al., 2009). Quando a exposição à fumaça de cigarro ocorre durante a lactação, há redução do conteúdo de lipídeos totais no leite durante os primeiros seis meses de lactação e menor concentração de interleucina-1 no colostro quando comparado com mães não fumantes (ZANARDO et al., 2005).

O componente mais estudado do cigarro é a nicotina, uma substância alcaloide produzida pelas folhas da erva do tabaco. Quando inalada, a nicotina é rapidamente transportada através da barreira hemato-encefálica e através das membranas celulares (ROSEMBERG, 2002). A nicotina é capaz de atravessar a placenta durante a gestação (DI FRANZA & LEW, 1995) e também atingir o leite materno durante a lactação (LAUBERG et al., 2004), podendo programar a prole para obesidade na fase adulta (GAO et al., 2005; HOLLOWAY et al., 2005; SOMM et al., 2008).

WILLIAMS & KANAGASABAI (1984) mostraram que a exposição fetal à nicotina aumentou a adiposidade fetal no penúltimo dia da gestação. Em roedores, a exposição *in utero* à nicotina até o 10º dia de lactação programa a prole para maior peso corporal aos 35 dias de idade (NEWMAN et al., 1999). Nos filhotes machos, esse efeito foi transitório, enquanto que nas fêmeas o maior peso corporal persistiu até a fase adulta (CHEN & KELLY, 2005). Quando as matrizes foram expostas à nicotina momentos antes do acasalamento e durante a gestação e a lactação, além do maior peso corporal e adiposidade na fase adulta (GAO et al., 2005), a prole também apresentou resistência à insulina, intolerância à glicose e ao frio, redução da atividade física espontânea e aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (BRUIN et al., 2007; SOMM et al., 2008, 2009). Além de alterações metabólicas, a prole de ratas expostas à nicotina também apresentou hiperleptinemia e hipotireoidismo primário neonatal que posteriormente levou ao sobrepeso, maior adiposidade visceral, hipertrofia de adipócitos, resistência à insulina e à leptina e hipotireoidismo secundário na fase adulta (OLIVEIRA et al., 2009; DE OLIVEIRA et al., 2010).

Outra situação de alteração do ambiente intrauterino é a redução da oxigenação fetal (OKAMURA et al., 1992; ROSS, 2011; GREENBERGER, 1985; SOOTHILL et al., 1995). Sob tal condição, os animais sofrem remodelamento do sistema cardiovascular, podendo apresentar crescimento hipertrófico na aorta, disfunção ventricular esquerda e hiperinervação simpática em artérias periféricas (CAMM et al., 2010; ROUWET et al., 2002) na fase adulta. KANE e colaboradores (2013) submeteram ratas gestantes a concentrações de normóxia

(21%) ou hipóxia leve (13%) em câmara, entre os dias 6 e 20 de gestação. Foi observado que, aos quatro meses de idade, a prole macho submetida à condição de hipóxia fetal apresentou aumento da estimulação simpática cardíaca e da resposta baroreflexa, e esses efeitos foram revertidos quando a matriz foi suplementada com vitamina C durante o mesmo período de exposição à hipóxia.

Dentre os trabalhos que promovem mudanças hormonais do ambiente intrauterino, os glicocorticoides tem sido bastante estudados. Durante a gestação normal, o feto é protegido da exposição ao excesso de glicocorticoides materno pela barreira placentária (BURTON & WADDELL, 1994; HOLMES et al., 2006; LINDSAY et al., 1996; MARK et al., 2009). No entanto, glicocorticoides sintéticos, como a dexametasona, não são reconhecidos pela barreira placentária e possuem livre acesso ao feto em desenvolvimento, o que promove restrição do crescimento fetal e predispõe o indivíduo ao aumento da pressão sistólica (BENEDIKTSSON et al., 1993; ZULKAFI et al., 2013), intolerância à glicose (NYIRENDA et al., 1998) e complicações cognitivas e comportamentais (HOLMES et al., 2006; KLEINHAUS et al., 2010) na fase adulta.

A obesidade materna e o ganho de peso excessivo durante a gestação constituem a causa mais comum de risco obstétrico e tem implicações diretas não somente em termos de morbidade e mortalidade materna e perinatal (HESLEHURST et al., 2008; NELSON et al., 2010, POSTON et al., 2011), como também em perspectivas de saúde pública a longo-prazo, ao aumentar o risco do desenvolvimento de obesidade na próxima geração (MINGRONE et al., 2008; OKEN et al., 2009; NORMAN & REYNOLDS, 2011).

Diversos trabalhos sugerem correlação entre a exposição à obesidade materna nos períodos intrauterinos e perinatal e a obesidade com aumento do risco de doenças cardiovasculares em crianças (DRAKE & REYNOLDS, 2010; POSTON, 2012; O'REILLY & REYNOLDS, 2013).

Essas observações têm sido confirmadas por modelos de programação em animais, como primatas não humanos e roedores. FAN e colaboradores (2013) forneceram dieta hiperlipídica a macacas japonesas (*Macaca fuscata*) durante a gestação e a lactação, desmamando os filhotes aos 8 meses de idade. Cinco meses após o desmame, os filhotes apresentaram crescimento anormal da camada íntima arterial e prejuízo na vasodilatação arterial (FAN et al., 2013). Em modelo de obesidade materna em camundongos, induzida por dieta rica em açúcares e lipídeos, foi observado o surgimento de disfunções cardíacas (redução da velocidade de relaxamento e sobrecarga simpática) sem alteração do peso corporal ou dislipidemias na prole macho aos três meses de idade (BLACKMORE et al., 2014).

No entanto, outro trabalho utilizando o modelo de obesidade materna em camundongos, observou aumento do consumo energético e aumento do peso corporal (mais proeminente nos filhotes machos), aumento de adiposidade visceral e das concentrações séricas de triglicerídeos, leptina e insulina, hipertensão com aumento da reatividade vascular a noradrenalina e menor relaxamento induzido pela acetilcolina, além de menor atividade locomotora noturna (SAMUELSSON et al., 2008). A hipertensão associada ao aumento da adiposidade visceral e à hiperleptinemia também foi descrita em outros modelos, sugerindo que a hipertensão possa ser efeito da ação central da leptina nos centros hipotalâmicos relacionados ao sistema nervoso simpático (RAHMOUNI et al., 2005).

Em ratos jovens programados pela obesidade materna SAMUELSSON e colaboradores (2010) não observaram alterações no peso corporal. No entanto, foi observado aumento do componente autonômico simpático na regulação da pressão arterial e da resposta hipertensora aos 30 dias de idade. Essas alterações permaneceram até a fase adulta, aos 90 dias de idade, e foram acompanhadas por maior sensibilidade ao reflexo baroreceptor (SAMUELSSON et al., 2010). Esses dados sugerem que a obesidade materna e suas 'perturbações' metabólicas influenciam diretamente o desenvolvimento da hipertensão na prole, independente da obesidade do filhote.

Em outros trabalhos, no entanto, foi observado aumento de peso corporal e adiposidade na prole de ratas obesas (KHAN et al., 2004; TAYLOR et al., 2004; SRINIVASAN et al., 2006; NIVOIT et al., 2009; FRANCO et al., 2012). NIVOIT e colaboradores (2009) observaram aumento progressivo do peso corporal dos filhotes e, ao desmame, machos e fêmeas apresentaram maior peso corporal que a prole controle, e hiperfagia. Aos 3 meses, os filhotes machos apresentaram intolerância a glicose e aos 10 meses apresentaram hiperinsulinemia. Ao final do 12º mês, machos e fêmeas da prole de ratas obesas apresentaram aumento na adiposidade (NIVOIT et al., 2009). O fornecimento de dieta hiperlipídica em ratas da linhagem Sprague-Dawley não alterou o peso ou tamanho dos fetos (SRINIVASAN et al., 2006). No entanto, aos 30 dias os filhotes da prole de ratas obesas eram mais pesados que os filhotes controle. Aos 40 dias apresentaram hiperinsulinemia, que caracteriza o estágio inicial da diabetes do tipo 2, confirmado pela hiperglicemia e resistência insulínica aos 3 meses de idade, que progrediu para instalação da obesidade e dislipidemias, aos 4 meses (SRINIVASAN et al., 2006).

A obesidade materna também é capaz de comprometer a função vasodilatadora dependente do endotélio de grandes artérias na prole adulta de ambos os sexos e provocar hipertensão arterial aos 6 meses de idade (KHAN et al., 2004; TAYLOR et al., 2004). Interessantemente, respostas adaptativas previnem o comprometimento vasoativo e a redução da frequência cardíaca na prole de ratas submetidas à dieta hiperlipídica caso o filhote permaneça sobre a mesma dieta materna após o desmame, porém o mesmo não ocorre com o desenvolvimento da hipertensão (KHAN et al., 2004).

Um dos hormônios mais estudados na programação por insulto hormonal é a leptina, presente em alta concentração em indivíduos obesos. A concentração sérica de leptina em roedores, normalmente, possui variações desde a lactação até a vida adulta, sendo alta nos primeiros dias de lactação e reduzindo até chegar valores baixos uma semana após o desmame (ELIAS et al., 1998; YURA et al., 2005; KIRK et al., 2009). O tempo e a duração precisa do pico variam entre o 8º e 21º dia de lactação, dependendo da metodologia adotada e de acordo com a espécie em estudo, sendo relacionado com o desenvolvimento dos centros orexigênicos e anorexigênicos que influenciam na sensibilidade da leptina durante toda a vida (YURA et al., 2005).

Um achado comum entre a maioria dos trabalhos de programação neonatal pela hiperleptinemia é a resistência hipotalâmica à leptina (TOSTE et al., 2006b; TREVENZOLI et al., 2007; FÉRÉZOU-VIALA et al., 2007; VICKERS et al., 2008; FRANCO et al., 2012; SAMUELSSON et al., 2013). TREVENZOLI e colaboradores (2007) demonstraram que ratos tratados com injeções diárias de leptina recombinante, do 1º ao 10º dia de lactação, apresentaram aumento do peso corporal, adiposidade, aumento da frequência cardíaca e do conteúdo de catecolaminas na adrenal aos 150 dias de idade. No entanto, poucos são os

estudos sobre os efeitos da hiperleptinemia na prole jovem. SAMUELSSON e colaboradores (2013) observaram que o tratamento com leptina entre o 9º e o 15º dia de lactação acarretou em resistência central a este hormônio nos núcleos relacionados ao comportamento alimentar, tanto aos 30 quanto aos 90 dias de idade, e foi acompanhado pela ausência da redução do consumo alimentar e do peso corporal. Além das alterações observadas na homeostase energética, os animais desenvolveram hipertensão precoce, aumento do tônus simpático sobre o coração, remodelamento cardíaco e alterações da função sistólica em filhotes fêmeas aos 30 dias de idade, persistindo até a fase adulta. Além disso, também foi observado comprometimento da contratilidade cardíaca nos filhotes machos na fase adulta. Esses dados indicam alterações de forma sexo-específico em filhotes submetidos à hiperleptinemia neonatal (SAMUELSSON et al., 2013).

Outra forma de alterar a disponibilidade de nutrientes aos filhotes no período neonatal consiste em reduzir o número de filhotes da ninhada, para estimular a superalimentação dos filhotes. HABBOUT e colaboradores (2013) reduziram para três o número de filhotes em ninhadas de camundongos da linhagem C57BL/6 ao nascimento, mantendo durante toda a lactação, recebendo ração padrão pós-desmame. Ao desmame (21 dias de idade), os animais apresentaram aumento na expressão de diversos genes relacionados à composição da matriz extracelular, aumento na expressão cardíaca do RNAm para apelina e da expressão proteica do seu receptor, APJ. A apelina é uma adipocitocina que possui potente atividade inotrópica (BERRY et al., 2004), e também participa na formação dos cardiomiócitos e desenvolvimento cardíaco (SCOTT et al., 2007). Aos sete meses de idade, os filhotes de ninhadas reduzidas apresentaram maior adiposidade, hipercolesterolemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia. No miocárdio, foi observado aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase, indicando aumento do estresse oxidativo (HABBOUT et al., 2013). Esses animais também apresentaram fração de ejeção e percentual de encurtamento do ventrículo esquerdo reduzidos, com aumento da deposição de colágeno, possível resistência ventricular à leptina e hipertensão arterial (HABBOUT et al., 2013).

2.4.2. Programação por modificação da dieta materna

BARKER e colaboradores demonstraram relação entre baixo peso ao nascimento e aumento do risco de hipertensão, obesidade, resistência insulínica e dislipidemias da prole na vida adulta (BARKER et al., 1989, 1990; OSMOND et al., 1990). A partir dessas observações iniciais, a importância da nutrição materna, em particular o efeito da subnutrição materna gerando bebês com baixo peso ao nascimento, foram intensamente estudados em casos de exposição à fome. Os casos mais estudados foram aqueles que ocorreram durante a Grande Fome do Inverno Holandês (em inglês, *Dutch Hunger Winter*), entre 1944-1945 (RAVELLI et al., 1976, 1999; ROSEBOOM et al., 1999, 2001). Na experimentação animal, existem diversos trabalhos que investigam o efeito do consumo materno de dieta pobre em proteínas durante a gestação e a lactação na vida adulta da prole (EDWARDS & McMILLEN, 2002; MICKE et al., 2010; TODD et al., 2009; SNOECK et al., 1990; DESAI et al., 1996; BELLINGER et al., 2004; FERNANDEZ-TWINN et al., 2005; RODFORD et al., 2008).

Em vacas, a redução da quantidade de proteína consumida entre o início e o meio da gestação leva ao crescimento pós-natal acelerado nos bezerros machos, do desmame em

diante, enquanto os filhotes fêmeas apresentam crescimento reduzido pós-natal a partir do início da idade reprodutiva (MICKE et al., 2010). Em ovelhas, uma condição de subnutrição materna global antes e pouco depois da concepção, gerou filhotes mais pesados aos 10 meses de idade (idade pós-puberdade), com intolerância à glicose e leve aumento da insulina sérica, mais aparente na prole fêmea (TODD et al., 2009). Outro modelo de desnutrição materna em ovelhas, desta vez com redução global de nutrientes durante os 60 dias antes da concepção, resultou em aumento da pressão arterial em fetos de ambos os sexos ao final da gestação e esse efeito da restrição antes da concepção não é revertido pela disponibilidade de nutrientes durante a gestação (EDWARDS & McMILLEN, 2002).

Em roedores, a alimentação de ratas gestantes com dieta isocalórica pobre em proteína (5 a 8% de caseína) gera filhotes 15 a 20% mais leves que os filhotes do grupo controle ao nascimento (SNOECK et al., 1990; DESAI et al., 1996). A manutenção da dieta pobre em caseína durante a lactação aumenta ainda mais a diferença de peso corporal, além de limitar permanentemente o crescimento do filhote (DESAI et al., 1996). Tais filhotes apresentaram maior preferência por dietas hiperlipídicas em detrimento das dietas ricas em proteínas e carboidratos, aos 3 meses de idade e, apesar do maior consumo de dieta hiperlipídica por filhotes machos e fêmeas, somente as fêmeas apresentaram aumento do consumo energético e maior adiposidade (BELLINGER et al., 2004). Além disso, outros trabalhos indicam que uma dieta materna pobre em proteínas pode levar a alterações no teste de tolerância à glicose em filhotes machos e fêmeas em idade senil (PETRY et al., 2001; FERNANDEZ-TWINN et al., 2005), redução da resposta vasodilatadora do endotélio em vasos de resistência, em filhotes machos e fêmeas aos 120 dias de idade, com remodelamento vascular observado pela redução de músculo liso arterial (RODFORD et al., 2008).

Além da mudança do ambiente intrauterino como importante fator de programação metabólica, alguns trabalhos têm proposto a participação do *status* nutricional e fisiológico paterno no momento da concepção. Estudos em humanos demonstraram que o aumento do índice de massa corporal (IMC) paterno está associado à redução da motilidade espermática (HAMMOUD et al., 2009), maiores incidências de anormalidades espermáticas (KORT et al., 2006) e fragmentação do DNA (CHAVARRO et al., 2011). Em camundongos, já foram observados aumento na expressão de diversos genes relacionados com a biossíntese hepática de lipídeos e colesterol da prole ao desmame em resposta a dieta paterna pobre em proteínas (CARONE et al., 2010), e redução da concentração sérica de glicose na prole macho e fêmea na 10ª semana de idade em resposta ao jejum paterno antes do acasalamento (ANDERSON et al., 2006). Nesse contexto, WATKINS & SINCLAIR (2014) forneceram dieta pobre em proteínas a camundongos durante sete semanas antes do acasalamento e observaram que somente os filhotes machos da prole apresentaram maior peso ao nascimento, que persistiu até o final do desmame. Na fase adulta, os filhotes machos apresentaram menores valores de pressões sistólica, diastólica e média, aumento da frequência cardíaca, intolerância à glicose e menor resposta vasoconstritora à fenilefrina, enquanto as fêmeas apresentaram apenas intolerância à glicose e disfunção vasoconstritora. Esses dados indicam que a nutrição paterna também é relevante no desenvolvimento de doenças crônicas a longo-prazo.

A manipulação da dieta materna também pode ocorrer no sentido oposto à restrição de nutrientes ao feto. A administração de dietas somente hiperlipídicas (LIANG et al., 2009; GUBERMAN et al., 2013; GHOSH et al., 2001; BRINGHENTI et al., 2013), hiperglicídicas (SAMUELSSON et al., 2013b) ou ricas em açúcar e lipídeos (SAMUELSSON et al., 2008; FERNANDEZ-TWINN et al., 2012) promove a exposição da prole ao ambiente com excesso

de nutrientes e pode programá-la para obesidade tardia (LIANG et al., 2009; BRINGHENTI et al., 2013; SAMUELSSON et al., 2013b).

Em camundongos, o fornecimento materno de dieta hiperlipídica antes do acasalamento e durante a gestação e lactação não promove alteração de peso ao nascimento (LIANG et al., 2009; ELAHI et al., 2009; BRINGHENTI et al., 2013). No entanto, os filhotes apresentam maior peso corporal, hiperinsulinemia, hiperglicemia, intolerância à glicose na fase adulta, tanto filhotes fêmeas (LIANG et al., 2009) quanto machos (BRINGHENTI et al., 2013). Além disso, os animais podem apresentar na fase adulta hipercolesterolemia (ELAHI et al., 2009) e hipertensão arterial (LIANG et al., 2009; ELAHI et al., 2009; BRINGHENTI et al., 2013).

O consumo materno de dieta rica em açúcares (*high-sucrose*) antes da concepção e durante a gestação e lactação, em camundongos, levou à hiperfagia da prole macho e fêmea aos 30 dias de idade, mas somente a prole fêmea apresentou maior peso corporal, observado na 6ª semana de idade. Aos 3 meses, a prole fêmea mostrou aumento de adiposidade e intolerância a glicose. Além disso, a prole macho e fêmea apresentou aumento da atividade simpática cardíaca, maior conteúdo renal de noradrenalina e hipertensão arterial aos 3 meses de idade (SAMUELSSON et al., 2013b).

Já o consumo materno de dietas ricas em lipídeos e açúcares, em camundongos, pode levar a consequências mais devastadoras. Já foram observados aumento da concentração sérica de insulina acompanhado de resistência insulínica, aumento do estresse oxidativo cardíaco e hipertrofia cardíaca em filhotes machos aos 2 meses de idade, sem alteração da massa corporal (FERNANDEZ-TWINN et al., 2012). Aos 3 meses de idade, a prole macho e fêmea apresentou dislipidemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia, comprometimento da vasodilatação e hipertensão que se estendeu até os 6 meses de idade, sendo os machos mais prejudicados (SAMUELSSON et al., 2008). Adicionalmente, BLACKMORE e colaboradores (2014) observaram que a exposição à obesidade materna pelo fornecimento de dieta rica em açúcar e lipídeos não alterou a massa corporal dos filhotes, mas provocou hipertrofia ventricular esquerda (observada na 3ª e 8ª semanas de idade). Aos três meses de idade, embora a hipertrofia não tenha sido mais observada, houve redução da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo e da velocidade de relaxamento, bem como na predominância de respostas simpáticas no coração (BLACKMORE et al., 2014). Esses dados sugerem que o desenvolvimento de doenças cardiovasculares ocorre na prole de matrizes obesas mesmo que não seja observada alteração de peso corporal dos filhotes.

Dentre os modelos de programação por modificação da dieta materna descritos, nosso grupo estuda a prole de ratas da linhagem Wistar submetidas à dieta hiperlipídica, por 8 semanas antes da concepção e durante toda a gestação e lactação. Já foi descrito que, ao desmame, a prole macho desenvolve obesidade, hiperleptinemia e comprometimento da ativação da via de sinalização da leptina no núcleo arqueado indicando resistência central ao hormônio (FRANCO et al., 2012). Essas alterações foram acompanhadas por aumento do conteúdo de catecolaminas na medula adrenal e aumento dos níveis séricos de T3 total e T4 livre (FRANCO et al., 2012), importantes hormônios reguladores do sistema cardiovascular.

O sistema simpato-adrenérgico é um componente de adaptação fisiológica à situações adversas, agindo sobre diversos órgãos e sistemas. É um sistema fundamental para a modulação da função cardiovascular, e seus efeitos são mediados por receptores do tipo α - e

β -adrenérgicos (SKOMEDAL et al, 1997). No coração, a isoforma β_1 -adrenérgica (β_1 -AR) é a mais abundante (BUXTON & BRUNTON, 1985).

A análise funcional de camundongos *knockout* para o receptor β_1 -AR indica a importância da isoforma no desenvolvimento cardíaco, bem como no inotropismo e cronotropismo positivos observados após liberação de catecolaminas (ROHRER et al., 1996). O β_1 -AR é acoplado à proteína G estimulatória (Gs) e ativa a proteína quinase A (PKA), que promove amplificação da sinalização adrenérgica por meio da ativação de canais de cálcio tipo L e receptores de rianodina (RyR), a fosfolamban (PLB), a subunidade inibitória da troponina (T_{PI}) e a proteína C ligadora de miosina (MyBP-C). A fosforilação dessas proteínas leva ao aumento da força de contração, aumento da velocidade de relaxamento e aumento da frequência cardíaca (ZHAO et al., 1994; SIMMERMAN & JONES, 1998; XIAO, 2000).

A superexpressão do β_1 -AR pode acarretar em hipertrofia dos cardiomiócitos, fibrose miocárdica, comprometimento da contratilidade, fração de ejeção e função sistólica, podendo levar à insuficiência cardíaca (ENGELHARDT et al., 1999, 2002; KUDEJ et al., 1997; LEOPOLDO et al., 2010; WOO & XIAO, 2012). Além disso, a estimulação crônica do β_1 -AR ativa a apoptose de cardiomiócitos (AKHTER et al., 1997). Muitas dessas alterações são observadas em pacientes obesos e em modelos de obesidade por fornecimento de dieta obesogênica ou programação metabólica (RIDER et al., 2012; LEOPOLDO et al., 2010; SAMUELSSON et al., 2010).

Os hormônios tireoideanos (HT) promovem diversos efeitos sobre o sistema cardiovascular (KLEIN, 1990). No coração, esses efeitos são mediados pelos receptores nucleares TR α_1 e TR β_1 , sendo a isoforma α_1 predominantemente expressa (SWANSON et al., 2003). A ação do HT sobre seus receptores nucleares estimulam o incremento da expressão gênica da cadeia pesada de miosina do tipo alfa (α -MHC) em detrimento da isoforma beta (β -MHC) (GUSTAFSON et al., 1986), aumento da expressão dos canais de Ca⁺² do tipo-L e do receptor RyR e SERCA-2 (bomba de Ca⁺² do retículo sarcoplasmático) (KLEIN & OJAMAA, 2001). A triiodotironina (T₃) torna as células cardíacas mais responsivas à ação de catecolaminas, por estimular a síntese de receptores β_1 - adrenérgicos (KLEIN & OJAMAA, 2001), agindo indiretamente sobre a fosforilação dos canais de cálcio tipo L, RyR e PLB. Desta forma o HT promove aumento nas velocidades de contração e de relaxamento do miocárdio, aumenta a força desenvolvida durante a contração e conseqüentemente aumento do débito cardíaco (KLEIN & OJAMAA, 2001).

Sabendo da importância de tais hormônios para o correto funcionamento do sistema cardiovascular e, principalmente, do coração, o objetivo deste estudo é avaliar a análise da expressão cardíaca de TR α_1 , TR β_1 e β_1 -AR na prole ao desmame e observar se há desenvolvimento precoce de alterações na função cardíaca e na pressão arterial na prole aos 30 dias de idade. Além disso, o trabalho também visa demonstrar se o consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de promover alterações de forma sexo-específica na prole.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Investigar o efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a função cardíaca da prole jovem de ratos machos e fêmeas, avaliando a expressão ventricular de receptores para HT e catecolaminas ao desmame e o desenvolvimento precoce de alterações na função cardíaca e na pressão arterial da prole aos 30 dias de idade.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a evolução da massa corporal e a ingestão alimentar das matrizes durante as semanas que antecedem o acasalamento;
- Avaliar a evolução da massa corporal das proles do nascimento ao desmame (21 dias de idade);
- Avaliar a massa dos seguintes órgãos das proles ao desmame: dos reservatórios de tecido adiposo branco visceral (retroperitoneal e perigonadal), do tecido adiposo branco subcutâneo inguinal, e do tecido adiposo marrom, do coração (átrios e ventrículos), pulmões, e fígado;
- Dosar a leptina sérica das proles ao desmame (21 dias de idade);
- Avaliar o padrão de expressão dos receptores β 1-adrenérgico (β 1AR), e das isoformas alfa e beta do receptor tireoideano ($TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$, respectivamente) no ventrículo das proles aos desmame;
- Avaliar a massa corporal da prole jovem aos 30 dias de idade;
- Avaliar a função cardíaca através de análises ecocardiográficas, eletrocardiográficas na prole jovem;
- Avaliar a variabilidade da frequência cardíaca;
- Avaliar a pressão arterial sistólica, diastólica e média da prole jovem.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Todos os animais destinados ao desenvolvimento deste projeto foram acondicionados em biotério com temperatura (23 ± 2 °C) e fotoperíodo (7:00-19:00h) controlados, recebendo ração e água *ad libitum* durante todo o período experimental. O cuidado com os animais seguiu os princípios do *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, após a devida aprovação pelo Comitê de Ética Institucional (Protocolo IBCCF- 114, UFRJ).

4.2. Desenho Experimental

O desenho experimental utilizado no experimento foi descrito anteriormente por FRANCO e colaboradores (2012). Ratas Wistar obtidas no Biotério Central da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pesando entre 200-230 g e com 60 dias de idade, foram divididas nos seguintes grupos experimentais: (1) Grupo Controle (C), que recebeu dieta normolipídica; e (2) Grupo Dieta Hiperlipídica (DH), que recebeu dieta hiperlipídica.

Ao final da sétima semana, as matrizes de ambos os grupos foram acasaladas com machos não-obesos e permaneceram sob as respectivas dietas durante todo o período de gestação e lactação das ninhadas.

Os filhotes das matrizes que receberam ração normolipídica formaram a prole Controle (C) e os filhotes das matrizes que receberam ração hiperlipídica deram origem à prole Dieta Hiperlipídica (DH). Ao nascimento, foram selecionados seis filhotes por ninhada, mantendo a mesma proporção de 3 machos e 3 fêmeas, quando possível, conforme a figura 1.

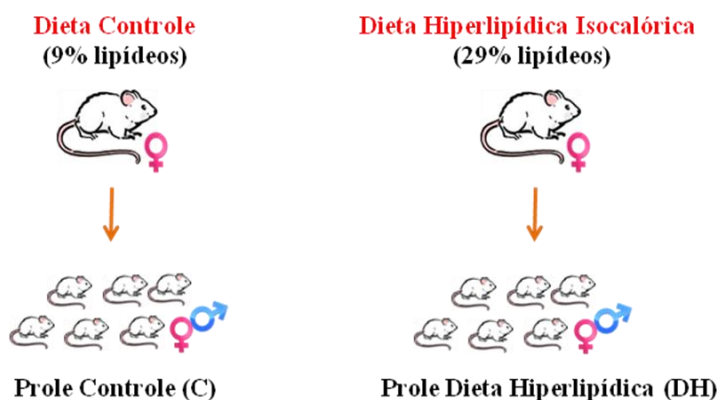


Figura 1: Representação esquemática da separação das proles a serem analisadas. As matrizes em dieta controle originaram a prole denominada Controle (C), enquanto as matrizes em dieta hiperlipídica originaram a prole Dieta Hiperlipídica (DH).

Ao desmame, todos os filhotes foram pesados. Em seguida, em cada ninhada, um ou dois filhotes de cada sexo foram anestesiados e eutanasiados por punção cardíaca. O sangue retirado foi centrifugado a 3000 x g por 15 minutos, a 4°C, e armazenado para posterior dosagem de leptina sérica.

O coração foi retirado, átrios e ventrículos foram separados e pesados individualmente. Em seguida, foram armazenados a -80°C para posteriores análises moleculares. Outros órgãos também foram retirados e pesados, dentre eles os tecidos adiposos brancos retroperitoneal, inguinal e perigonadal; tecido adiposo marrom; pulmões e fígado. A tíbia foi dissecada e seu comprimento foi mensurado. A razão entre a massa dos órgãos em miligramas (mg) e o comprimento da tíbia em centímetros (cm) foi utilizada para normalização das massas entre os diferentes grupos experimentais. A razão entre a massa do coração e o comprimento da tíbia foi utilizada como índice de hipertrofia cardíaca.

O restante das proles C e DH foi separado em gaiolas de acordo com o sexo e recebeu somente ração normolipídica. Aos 30 dias de idade, os animais foram submetidos às análises funcionais: ecocardiograma (ECO), eletrocardiograma (ECG) e medida de pressão através do método de *tail-cuff*. O desenho experimental está representado na figura 2.

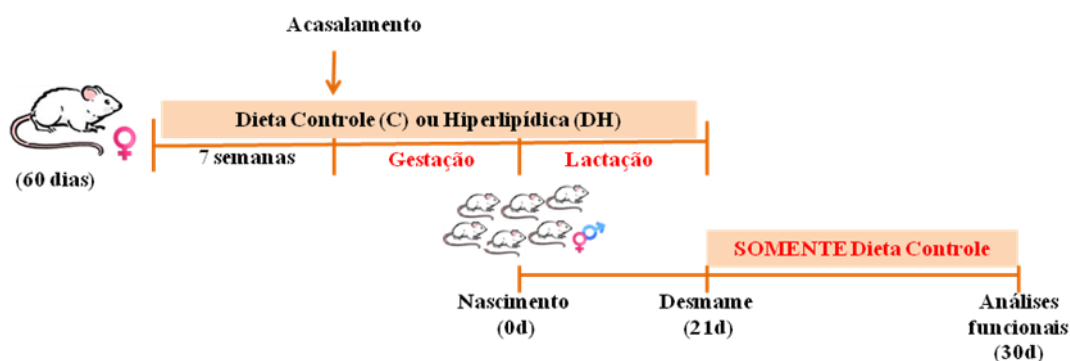


Figura 2: Representação esquemática do desenho experimental, adaptado de FRANCO e colaboradores (2012). Ratas Wistar de 60 dias foram submetidas à dieta normolipídica (Grupo C) ou dieta hiperlipídica (Grupo DH) por 7 semanas antes do acasalamento e durante toda a gestação e lactação das ninhadas. Os filhotes machos e fêmeas foram separados ao desmame e parte das proles foi mantida em biotério, com acesso *ad libitum* à ração normolipídica. Aos 30 dias de idade, os filhotes foram submetidos a avaliações funcionais do sistema cardiovascular.

4.3. Fase 1: Aquisição das Matrizes, Evolução da Massa Corporal e Ingestão Alimentar

Para aquisição das matrizes, foram adquiridas 49 ratas da linhagem Wistar do Biotério Central. Estas foram alocadas em gaiolas individuais e distribuídas aleatoriamente em dois grupos:

- 1- Grupo Controle (C): 24 fêmeas que receberam dieta normolipídica e;
- 2- Grupo Dieta Hiperlipídica (DH): 25 fêmeas que receberam dieta hiperlipídica.

A ração hiperlipídica foi preparada no próprio laboratório e as proporções e ingredientes estão descritos na tabela 1.

A evolução da massa corporal dos grupos C e DH foram avaliadas semanalmente e a ingestão alimentar foi mensurada duas vezes por semana até a sétima semana. Ao final da sétima semana, as matrizes foram acasaladas com machos não-obesos, na proporção de duas fêmeas para um macho. A confirmação da concepção ocorreu após visualização do *plug* vaginal, e a fêmea foi considerada grávida e separada do macho. As matrizes C e DH permaneceram com as respectivas dietas durante todo o período de gestação e lactação, conforme ilustrado na figura 3.

Tabela 1: Composição da dieta hiperlipídica purificada 5400 cal/kg (Prag Soluções®).

Produto	(p/p)	Calorias	Calorias (%)
Amido de milho	13,05	522	9,67
Caseína	18,70	748	13,85
Amido Dextranizado	13,20	528	9,78
Sacarose	10,00	400	7,41
Óleo de soja	4,00	360	6,67
Celulose Microcristalina	5,00	0	0,00
MIX Mineral AIN 93 G	3,50	0	0,00
MIX Vitaminas AIN 93	1,00	40	0,74
L-Cistina	0,30	12	0,22
Cloreto de Colina	0,25	0	0,00
Banha	31,00	2790	51,66
Total	100,0	5400	100,0

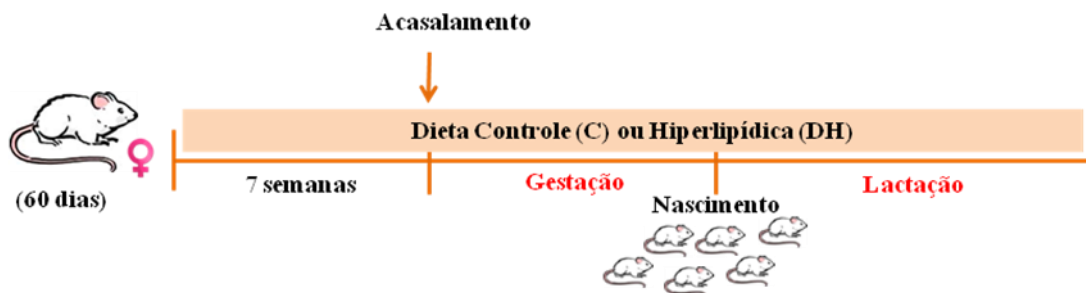


Figura 3: Representação esquemática da etapa de obtenção das matrizes. Ratas Wistar de 60 dias foram divididas em grupos e receberam dieta normolipídica (Grupo C) ou hiperlipídica (Grupo DH) por sete semanas antes do acasalamento e durante toda a gestação e lactação das ninhadas.

4.4. Fase 2: Acompanhamento da Prole do Nascimento ao Desmame

4.4.1. Evolução da massa corporal dos filhotes até o desmame

Ao nascimento, foram selecionados seis filhotes por ninhada, mantendo a mesma proporção e machos e fêmeas. Dessa forma, cada ninhada possuía três filhotes fêmeas e três filhotes machos sempre que possível.

A evolução da massa corporal de cada filhote foi avaliada a cada três dias, do nascimento (dia zero) até o desmame (dia 21).

4.4.2. Avaliação do peso dos tecidos adiposos brancos e marrom, coração, pulmão e fígado aos 21 dias

Ao desmame, todos os filhotes foram pesados e, em cada ninhada, um filhote de cada sexo foi anestesiado com uma solução de cloridrato de dextrocetamina (Ketamin®, Cristália) e cloridrato de xilasina (Xilasin®, Syntec), por via intraperitoneal, nas doses de 50-100 mg/kg e 1-5 mg/kg, respectivamente. Logo em seguida, os filhotes foram eutanasiados por punção cardíaca. O sangue retirado foi centrifugado a $3000 \times g$ por 15 minutos, a 4°C, e armazenado a -20°C para posterior dosagem de leptina sérica.

O coração dos filhotes foi retirado e lavado em salina (NaCl 0,9%) para a remoção de sangue e coágulos. Em seguida, átrios e ventrículos foram separados, pesados e armazenados a -80°C para posteriores análises moleculares. O ápice cardíaco foi armazenado em -80°C para posterior análise da expressão proteica dos receptores β_1 -adrenérgico (β_1 -AR) e das isoformas alfa e beta dos receptores de hormônio tireoideano ($TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$, respectivamente). Outros órgãos também foram retirados e pesados: tecidos adiposos branco retroperitoneal, inguinal e perigonadal; tecido adiposo marrom; pulmões e fígado. A tíbia foi dissecada e seu comprimento foi mensurado. A razão entre a massa dos órgãos em miligramas (mg) e o comprimento da tíbia em centímetros (cm) foi utilizada para normalização das massas entre os diferentes grupos experimentais. A razão entre a massa do coração e o comprimento da tíbia foi utilizada como índice de hipertrofia cardíaca.

4.4.3. Dosagem de leptina sérica

A dosagem de leptina sérica das proles foi realizada através da técnica de Radioimuniensaio (RIA), utilizando o kit comercial *RIA kit Rat Leptin Millipore*[®] (Cat. #RL-83R).

4.4.4. Análise da expressão proteica dos receptores β 1-adrenérgico, TR α ₁ e TR β ₁

Para análise da expressão proteica foi utilizado um protocolo adaptado ao descrito por TOLMACHOV e colaboradores (2006). A extração de proteína total foi obtida após homogeneização de cerca de 70 mg do ápice cardíaco em 250 μ L de solução gelada de tampão Hepes 50 mM, contendo MgCl₂ (1 mM), EDTA (10 mM), 1% de Triton X e 10% do Coquetel de inibidores de proteases (Complete, Roche[®], Germany), pH 6,4. A homogeneização foi feita com auxílio do homogeneizador *potter*, até que não houvessem fragmentos visíveis. O homogenato foi posteriormente centrifugado a 16100 \times g por 30 minutos, a 4°C, e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C. A concentração proteica de cada amostra foi determinada utilizando o Pierce[®] BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific[®]).

Cada poço recebeu 20 μ g de proteína do extrato total para fracionamento em gel de poliacrilamida 15% contendo 10% de SDS, a 150 V, durante cerca de uma hora e meia a três horas, em sistema úmido (Biorad[®]) com o tampão Tris (25 mM), Glicina (250 mM) e 0,1% SDS, pH 8,3. Após a eletroforese, as amostras foram transferidas para uma membrana de PVDF (*Polyvinylidene Difluoride*), em sistema úmido (Biorad[®]) com o tampão Tris (48 mM), Glicina (39 mM) e 20% Metanol, pH 8,3, a 0,25 A durante uma hora e trinta minutos.

Em seguida, a membrana contendo as amostras proteicas foi bloqueada em tampão Tris (20 mM), NaCl (137 mM) e Tween (0,1%) (Tampão TBS-T) contendo 5% de leite desnatado (Molico[®]), durante duas horas, a 25°C. Após o bloqueio, a membrana foi incubada *overnight* em temperatura de 4°C, na presença de anticorpo policlonal para B1AR, TR α e TR β . Todos os anticorpos primários foram diluídos em TBS-T contendo 5% de leite desnatado (Molico[®]), e as diluições padronizadas estão descritas na tabela 2. Após sete lavagens, de cinco minutos cada, com TBS-T, a membrana foi incubada a 25°C durante três horas, na presença do anticorpo secundário específico para cada anticorpo primário (Tabela 2) diluído em tampão TBS-T acrescido de 5% de leite desnatado (Molico[®]). Posteriormente, a membrana foi lavada novamente com TBS-T por sete vezes, de cinco minutos cada lavagem.

A revelação foi realizada utilizando-se o método de luminescência não radioativa de detecção de antígenos específicos imobilizados com o reagente ECL (do inglês, “enhanced chemiluminescence”) (Western Blotting System, Amersham Biosciences[®]) ou pelo SuperSignal[®] West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Prod #34095, Thermo Scientific[®]), quando necessário, segundo protocolo do fabricante. Os híbridos foram fotografados pelo aparelho ImageQuant[™] LAS 4000 versão 1.2 (GE HealthCare[®], Buckinghamshire, UK) e a

análise densitométrica utilizando-se o Software ImageQuant TL versão 8.1 (GE HealthCare®, Buckinghamshire, UK).

A membrana foi posteriormente corada com Ponceau (0,5% vermelho de Ponceau e 1% de ácido acético), a fim de utilizar o carregamento de proteínas como controle interno, em seguida foi digitalizada e suas bandas analisadas.

Tabela 2: Condições padronizadas para a realização da técnica de *Western Blotting*. ¹Santa Cruz Biotechnology®; ²Invitrogen®.

Anticorpo primário	Diluição Padronizada (1° Ac)	Anticorpo secundário e diluição
$\beta 1$ -AR ¹	1:1.000	Anti-rabbit HRP ¹ 1:20.000
TR α_1 ¹	1:200	Anti-goat HRP ² 1:7.000
TR β_1 ¹	1:200	Anti-goat HRP ² 1:7.000

4.5. Fase 3: Avaliação Funcional da Prole aos 30 Dias de Idade

Após o desmame, os filhotes das proles C e DH que permaneceram no biotério foram sexados, separados em gaiolas contendo de 3 a 4 animais e receberam somente dieta normolipídica. Aos 30 dias de idade, os animais foram submetidos a análises ecocardiográficas, eletrocardiográficas e a pressão arterial foi aferida, através do método de *tail-cuff* (Figura 4).



Figura 4: Representação esquemática do desenho experimental após desmame. Os filhotes machos e fêmeas foram separados. Uma parte dos filhotes foi eutanasiada aos 21 dias, enquanto o restante foi mantido em biotério, com acesso *ad libitum* à ração normolipídica (proles C e DH). Aos 30 dias de idade, os filhotes machos e fêmeas de ambas as proles foram submetidos a avaliações funcionais do sistema cardiovascular.

4.5.1. Ecocardiograma (ECO)

Aos 30 dias de idade, durante o fotoperíodo claro (entre 08 e 12 h), os animais das proles C e DH foram submetidos à anestesia inalatória de isoflurano (Isoforine[®], Cristália), na concentração de 4% e em fluxo de 1L/min de oxigênio. Após o estabelecimento de um bom plano anestésico, verificados pela ausência de reflexos motores e protetores, os animais foram tricotomizados na região torácica ventral e posteriormente examinados com o aparelho *Vevo 770[®] High-Resolution Imaging System* (Visual Sonics, Canadá), com transdutor de 30 MHz.

A análise da geometria cardíaca foi realizada a partir do modo M bidimensional, para mensuração das dimensões do septo intraventricular em diástole (mm), a dimensão da parede posterior do VE em sístole (mm), massa do VE (mg) e também foram obtidas as áreas interna dos ventrículos direito e esquerdo em diástole (mm²), ao nível dos músculos papilares e o valor do volume diastólico final do ventrículo esquerdo (μL).

Além disso, através do Método de Simpson foi possível avaliar a função sistólica do ventrículo esquerdo. As medidas da fração de ejeção (%), da porcentagem de encurtamento da área do VE (%) e do volume de ejeção (μL) foram obtidas, além do volume sistólico final (μL). Todos os parâmetros avaliados estão de acordo com os padrões da Sociedade Européia de Cardiologia (LANG et al., 2006).

4.5.2. Avaliação eletrocardiográfica

Após a realização do ecocardiograma, enquanto os animais ainda estavam anestesiados, fios condutores de eletricidade foram implantados no espaço subcutâneo do animal, próximo às regiões axilares direita e esquerda, e na virilha esquerda, a fim de servir como eletrodos.

Os registros eletrocardiográficos foram realizados em animais não anestesiados e em fotoperíodo escuro (entre 23 e 05 h), com o objetivo de evitar o efeito de anestésicos sobre a eletrofisiologia cardíaca e de avaliar o animal durante sua fase ativa.

Os eletrodos foram conectados a um amplificador diferencial e os registros foram adquiridos digitalmente (amostragem de 1000 pontos por segundo) usando uma interface analógica-digital da AD Instruments[®] conectados ao amplificador PowerLab 4/30 (Dunedin, NZ) e com auxílio do software *LabChart Pro[®]* versão 7.2 da mesma firma (adaptado de PEREIRA-JUNIOR et al., 2006). Os impulsos elétricos foram adquiridos em frequência entre 1000 - 0,3 Hz e amplitude com resolução de 16 bits. Após a conexão dos eletrodos, os 5 minutos iniciais foram descartados devido à estabilização do animal. Registros de 3 minutos foram analisados com a finalidade de obter os seguintes parâmetros: frequência cardíaca e duração das ondas P e T, do complexo QRS e dos intervalos PR e QT, utilizando-se o software *LabChart Pro[®]* versão 7.2 (AD Instruments[®], Dunedin, NZ).

A Figura 5-A representa o registro de um rato controle aos 30 dias de idade. A primeira deflexão é positiva e representa a despolarização do átrio (onda P, seta vermelha, figura 5-B), seguida por um longo intervalo (segmento PR, traço vermelho, figura 5-B). O segmento PR corresponde ao retardo do impulso elétrico dos átrios para os ventrículos, promovido pelo nodo átrio-ventricular. A soma entre a duração da onda p e o segmento PR corresponde ao intervalo PR. Em seguida, ocorrem deflexões positivas e negativas (complexo QRS), que representa a despolarização ventricular. A última deflexão positiva observada corresponde à onda T (seta preta, figura 5-B), que representa a repolarização ventricular. O intervalo QT (traço preto, figura 5-B) indica a duração do potencial de ação ventricular (adaptado de ALMEIDA et al., 2009). O registro foi obtido na Derivação I.

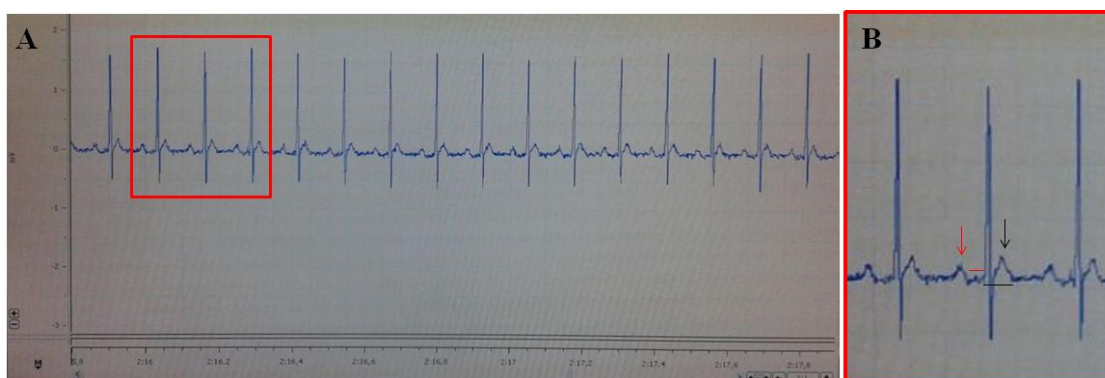


Figura 5: A) Representação de um registro obtido de um rato controle aos 30 dias de idade. B) Imagem ampliada do interior da região marcada em vermelho na figura A, onde é possível a visualização da onda P (seta vermelha) e da onda T (seta preta), referentes a despolarização atrial e a repolarização ventricular, respectivamente. O segmento PR (traço vermelho) indica o período entre a despolarização atrial e a ventricular (complexo QRS, conjunto de deflexões positivas e negativas de grande amplitude) e o intervalo QT (traço preto), que compreende o período da duração do potencial de ação ventricular.

4.5.3. Variabilidade da frequência cardíaca (VFC)

Durante o eletrocardiograma, foram realizados registros de 6 minutos com o objetivo de analisar a variabilidade da frequência cardíaca. Após a detecção dos picos da onda R e ajuste do valor mínimo de amplitude, foram produzidos tacogramas que continham todas as flutuações do intervalo R-R durante os 360 segundos analisados, utilizando-se o software *LabChart Pro*[®] versão 7.2 (AD Instruments[®], Dunedin, NZ).

O processamento dos sinais de variabilidade de frequência cardíaca foi realizado com o auxílio do software *Acqknowledge* (Biopac Systems Inc., EUA). Para a análise espectral da VFC, no domínio da frequência, os tacogramas foram redimensionados para intervalos iguais e a tendência linear foi removida. O espectro de potência foi obtido com uma decomposição baseada no método de Fourier (periodograma de Welch, 512 pontos, 50% de sobreposição e janela Hamming). Dessa forma, três bandas de frequência foram determinadas: a de muito

baixa frequência (VLF: 0,02 a 0,2 Hz), a de baixa frequência (LF: 0,2 a 0,75 Hz) e de alta frequência (HF: 0,75 a 3,5 Hz) e a potência foi estimada como a integral da área sob a curva de dispersão do espectro de frequência (MARTINS et al., 2011).

4.5.4. Avaliação da pressão arterial

Após a realização do eletrocardiograma, a pressão arterial dos animais foi aferida pelo método de plestimografia de cauda (*tail-cuff*), escolhido por ser um método não invasivo. O animal foi contido em caixa de acrílico cilíndrica vazada (para permitir a respiração do animal e a externalização somente da cauda) e inserido em uma caixa escura. O *cuff* e o sensor foram inseridos na cauda do animal e, a cada minuto, era insuflado e desinsuflado automaticamente, detectando o aparecimento e o desaparecimento da onda de pulso na artéria caudal, determinando assim as medidas dos parâmetros. Após 10 minutos de adaptação à caixa, as pressões arteriais sistólica, diastólica e média foram mensuradas por quatro vezes, sendo considerada a média dessas medidas a pressão do animal. Foi utilizado o plestimógrafo *LE 5002 Storage Pressure Meter*[®] (Panlab - Harvard Apparatus, Barcelona, Espanha).

4.6. Análise Estatística

Para avaliar se os dados seguem a distribuição normal, foi feito o teste de normalidade Shapiro - Wilk com o Software *Past* versão 3.4 (disponível em <http://folk.uio.no/ohammer/past/>).

Para a identificação de dados com grande dispersão (*outliers*), foi feito o teste de Grubbs. Em seguida, foram utilizados teste t de Student não-pareado (até dois grupos) e ANOVA bi-variada (mais de dois grupos, duas variáveis) quando os dados apresentaram distribuição normal, seguido de pós teste de Sidak (pesos) ou Tukey (análises funcionais). Os testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis (mais de 2 grupos) e Mann-Whitney (até dois grupos) foram realizados para os valores que não apresentaram distribuição normal. Estas análises estatísticas foram realizadas com o Software *GraphPad Prism*[®] versão 6 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA).

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média, sendo diferença significativa quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1. Fase 1: Aquisição das Matrizes, Evolução da Massa Corporal e Ingestão Alimentar

Para investigar se o consumo de dieta hiperlipídica alteraria a massa corporal ou a ingestão alimentar das fêmeas, as ratas e a diferença entre a quantidade inicial e final de ração fornecida foram pesadas duas vezes na semana.

Ao avaliar a massa corporal, observamos que as fêmeas C e DH não apresentaram alterações significativas na massa corporal durante as cinco primeiras semanas de tratamento. Na penúltima semana antes do acasalamento, as matrizes DH apresentaram leve aumento de massa corporal, cerca de 4%, quando comparadas ao grupo C (Grupo C= $263,5 \pm 2,7$ g; Grupo DH= $274,8 \pm 2,7$ g). No entanto, essa diferença não perdurou para a semana seguinte (7ª semana), a última semana antes do acasalamento das matrizes (Figura 6).

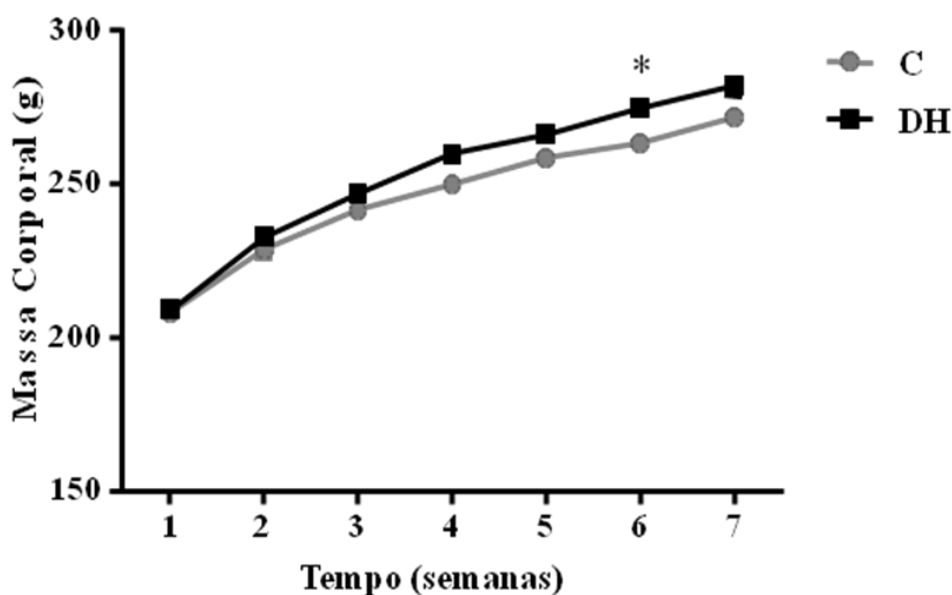


Figura 6: Evolução do ganho de massa corporal (g) das matrizes dos grupos C e DH ao longo das semanas antes do acasalamento. Ratas Wistar foram separadas nos grupos C (n=24) e DH (n=25). O * indica que na 6ª semana após o início do fornecimento de dieta hiperlipídica, as matrizes DH apresentaram cerca de 4% mais massa corporal em relação às matrizes C. Dados expressos como média \pm erro padrão da média, * = $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Sidak.

Ao avaliar a ingestão alimentar das matrizes, observamos que nas duas primeiras semanas de fornecimento da dieta, o grupo DH apresentou redução em torno de 30% na

ingestão alimentar quando comparada à ingestão do grupo C (1ª semana: C= 21,7 ± 0,5 g/animal/dia; DH= 15,6 ± 0,5 g/animal/dia; 2ª semana: C= 22,5 ± 0,3 g/animal/dia; DH= 15,7 ± 0,4 g/animal/dia). Da terceira a sétima semana de tratamento, essa ingestão reduziu ainda mais, e as fêmeas DH apresentaram ingestão alimentar cerca de 35% menor em relação às matrizes do grupo C (3ª semana: C= 22,4 ± 0,4 g/animal/dia; DH= 14,7 ± 0,2 g/animal/dia; 4ª semana: C= 22,2 ± 0,4 g/animal/dia; DH= 14,5 ± 0,4 g/animal/dia; 5ª semana: C= 21,8 ± 0,4 g/animal/dia; DH= 14,4 ± 0,5 g/animal/dia; 6ª semana: C= 21,6 ± 0,3 g/animal/dia; DH= 14,1 ± 0,3 g/animal/dia) (Figura 7).

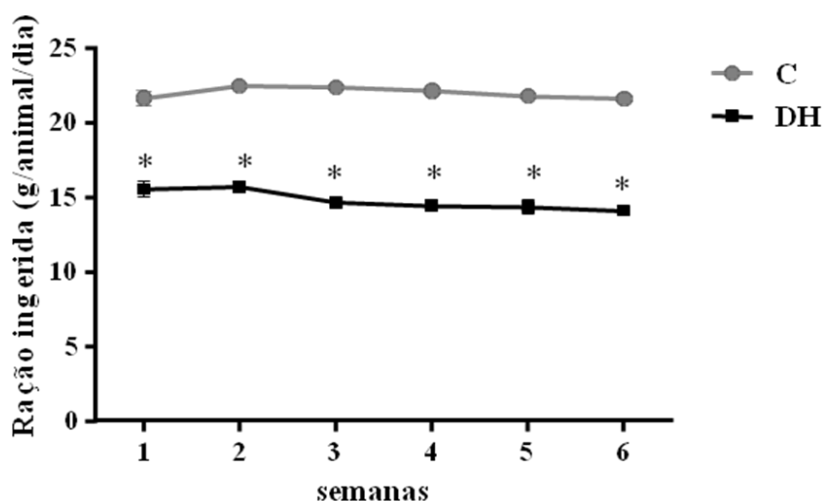


Figura 7: Ingestão alimentar (g/animal/dia) das matrizes dos grupos C e DH ao longo das semanas antes do acasalamento. Ratas Wistar foram separadas nos grupos C (n=24) e DH (n=25). O * indica que durante as semanas que antecederam o coito, as matrizes DH apresentaram menor ingestão de ração quando comparadas às matrizes C, em cerca de 30% nas duas primeiras semanas e 35% nas semanas subsequentes. Dados expressos como média ± erro padrão da média, * = p<0,05. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Sidak.

5.2. Fase 2: Acompanhamento da Prole do Nascimento ao Desmame

Ao nascimento, os filhotes das matrizes do grupo C formaram a prole C e os filhotes das matrizes do grupo DH formaram a prole DH, conforme ilustrado anteriormente na figura 1. Ao nascimento, a fim de evitar ninhadas de tamanhos heterogêneos, foram selecionados aleatoriamente seis filhotes por ninhada, tentando manter, quando possível, a mesma proporção entre machos e fêmeas.

Das 24 matrizes que iniciaram o tratamento no grupo C, somente 16 ninhadas foram obtidas, dando origem a um total de 96 filhotes, sendo 49 machos e 47 fêmeas. Durante a lactação, dois filhotes machos morreram ou foram descartados por apresentarem discrepância no crescimento em comparação ao restante da ninhada (baixo peso). Dessa forma, ao desmame existiam 47 filhotes machos e 47 filhotes fêmeas, advindos das matrizes do grupo C.

Em relação às 25 matrizes do grupo DH, somente 10 ninhadas foram obtidas, dando origem ao número total de 60 filhotes, sendo 29 filhotes machos e 31 filhotes fêmeas. Não houve perda no grupo experimental durante a lactação, portanto, o número de filhotes ao desmame permaneceu inalterado.

Para a realização dos ensaios funcionais e moleculares, foi utilizado somente um filhote de cada sexo por ninhada. Dessa forma, ao desmame, foi priorizada a permanência de pelo menos um filhote macho e um filhote fêmea de cada ninhada para realização das análises funcionais. Um ou dois filhotes de cada sexo, por ninhada foram sacrificados aos 21 dias para coleta de sangue, pesagem de tecidos adiposos, do coração, pulmão e fígado, restando, no mínimo, um filhote macho e um filhote fêmea de cada ninhada em biotério, até os 30 dias de idade. Sendo assim, o número máximo de animais em cada experimento funcional foi de 16 filhotes machos e 16 filhotes fêmeas, na prole C, e 10 filhote machos e 10 fêmeas da prole DH.

5.2.1. Evolução da massa corporal dos filhotes até o desmame

Para investigar se o consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de alterar o ganho de massa corporal dos filhotes, a cada três dias a massa corporal de todos os filhotes foi avaliada, desde o dia do nascimento até o desmame, aos 21 dias de idade. A evolução da massa corporal dos 94 filhotes da prole C (47 machos e 47 fêmeas) e dos 60 filhotes da prole DH (29 machos e 31 fêmeas) encontra-se na figura 8.

Observamos que os filhotes machos da prole DH apresentaram, a partir do 6º dia pós-natal, aumento de massa corporal quando comparado aos filhotes machos da prole C. Esse aumento foi de aproximadamente 15% no 6º e 9º dia, chegando até 23% no último dia da lactação (0 dia: Machos C= $6,7 \pm 0,1g$; DH= $6,7 \pm 0,1g$; 3º dia: C= $10,9 \pm 0,2g$; DH= $11,8 \pm 0,3g$; 6º dia: C= $16,3 \pm 0,3g$; DH= $18,8 \pm 0,4g$; 9º dia: C= $23,6 \pm 0,3g$; DH= $26,6 \pm 0,4g$; 12º dia: C= $30,2 \pm 0,4g$; DH= $36,5 \pm 0,3g$; 15º dia: C= $38,1 \pm 0,4g$; DH= $46,0 \pm 0,4g$; 18º dia: C= $46,0 \pm 0,5g$; DH= $56,1 \pm 0,4g$; 21º dia: C= $55,9 \pm 0,7g$; DH= $68,7 \pm 0,8g$). Os filhotes fêmeas da prole DH também apresentaram maior massa corporal quando comparados aos controles. O aumento foi aparente a partir do 9º dia pós-natal (13% mais pesadas do que a prole C) e se estendeu até o último dia da lactação, com 18% mais massa corporal do que as fêmeas da prole C (0 dia: Fêmeas C= $6,4 \pm 0,1g$; DH= $6,4 \pm 0,1g$; 3º dia: C= $10,6 \pm 0,2g$; DH= $11,3 \pm 0,3g$; 6º dia: C= $16,7 \pm 0,3g$; DH= $17,7 \pm 0,2g$; 9º dia: C= $22,7 \pm 0,3g$; DH= $25,7 \pm 0,3g$; 12º dia: C= $29,8 \pm 0,3g$; DH= $35,6 \pm 0,3g$; 15º dia: C= $37,4 \pm 0,5g$; DH= $44,4 \pm 0,4g$; 18º dia: C= $45,8 \pm 0,6g$; DH= $53,6 \pm 0,4g$; 21º dia: C= $54,9 \pm 0,7g$; DH= $65,0 \pm 0,5g$).

Em nenhum momento da lactação os filhotes machos e fêmeas da prole C apresentaram diferença significativa de massa corporal. No entanto, na prole DH, os filhotes machos apresentaram aumento de 5% de massa corporal ao 18º dia pós-natal, em relação às fêmeas, permanecendo mais pesados nessa mesma proporção, até o último dia de lactação.

Esses dados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica induz aumento de massa corporal na prole, e que, adicionalmente, os filhotes machos ganham mais massa corporal do que as fêmeas.

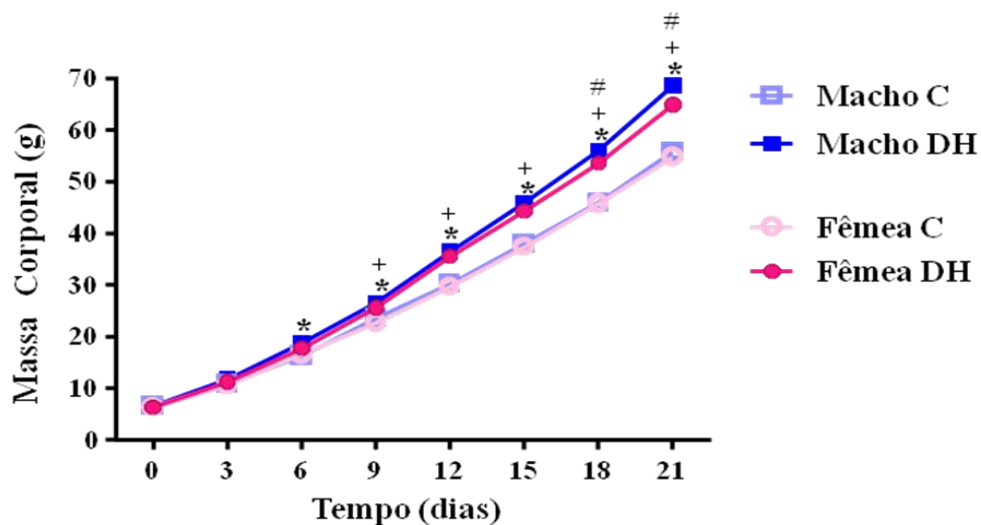


Figura 8: Evolução da massa corporal (g) dos filhotes machos e fêmeas das proles C e DH, durante todo o período de lactação. O * indica que a prole macho DH (n=29) apresentou maior massa corporal a partir do 6º dia de idade em relação à prole macho C (n=47); o + indica que a prole fêmea DH (n=31) apresentou maior massa corporal do que a prole fêmea C (n=47) a partir do 9º dia de idade; o # indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram leve diferença de massa corporal a partir do 18º dia de idade, sendo os machos DH mais pesados. Dados expressos como média ± erro padrão, sendo diferença estatística quando $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

5.2.2. Avaliação do peso dos tecidos adiposos brancos e marrom, coração, pulmão e fígado aos 21 dias

Aos 21 dias de idade, um animal de cada sexo, em cada ninhada, foi eutanasiado para coleta de sangue e tecidos. Para avaliar se o aumento de massa corporal ao desmame era advinda de maior adiposidade, foram pesados reservatórios de tecidos adiposos viscerais (tecidos adiposos brancos retroperitoneal e perigonadal) e de tecidos adiposos subcutâneos (tecido adiposo branco inguinal e tecido adiposo marrom).

Ao avaliarmos o reservatório de tecido adiposo branco retroperitoneal, vimos que os filhotes machos da prole DH apresentaram aumento desse reservatório em 1,51x, comparados aos filhotes machos da prole C. Quanto aos filhotes fêmeas, observamos que a prole DH apresentou maior acúmulo em relação à prole controle, 1,23x. Os filhotes machos e fêmeas da prole C não apresentaram diferenças entre si de quantidade de massa adiposa, porém os filhotes machos da prole DH apresentaram maior acúmulo desse reservatório adiposo quando comparado aos filhotes fêmeas, em 32% (Macho C= $0,008673 \pm 0,00055$ mg/cm; macho DH= $0,021810 \pm 0,00076$ mg/cm; fêmea C= $0,007296 \pm 0,00046$ mg/cm; fêmea DH= $0,016470 \pm 0,00048$ mg/cm) (Figura 9).

Outro reservatório de tecido adiposo visceral avaliado foi o perigonadal (Figura 10). Observamos que os machos da prole DH apresentaram aumento de 1,27x em relação aos machos controles. As fêmeas da prole DH também apresentaram aumento, de 1,32x, em relação às fêmeas da prole C. Não foram observadas alterações significativas de massa adiposa no tecido perigonadal entre machos e fêmeas da prole C. No entanto, os machos da

prole DH apresentaram maior acúmulo do tecido, em 44%, quando comparados às fêmeas da mesma prole (Macho C= $0,008387 \pm 0,00048$ mg/cm; macho DH= $0,01905 \pm 0,00108$ mg/cm; fêmea C= $0,005719 \pm 0,00056$ mg/cm; fêmea DH= $0,01327 \pm 0,00141$ mg/cm).

Esses dados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove maior acúmulo de massa adiposa no reservatório visceral e que, adicionalmente, o acúmulo de massa adiposa destes reservatórios é superior em filhotes machos, quando comparados aos filhotes fêmeas.

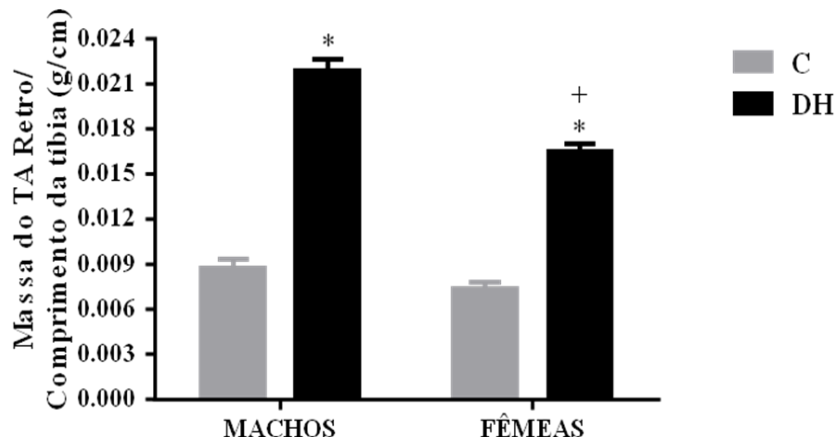


Figura 9: Massa do reservatório de tecido adiposo retroperitoneal (g) corrigida pelo comprimento da tibia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior quantidade de tecido adiposo retroperitoneal em relação aos respectivos controles; o + indica que os filhotes machos da prole DH apresentaram maior quantidade deste tecido adiposo quando comparados aos filhotes fêmeas da mesma prole. Machos C (n = 12), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

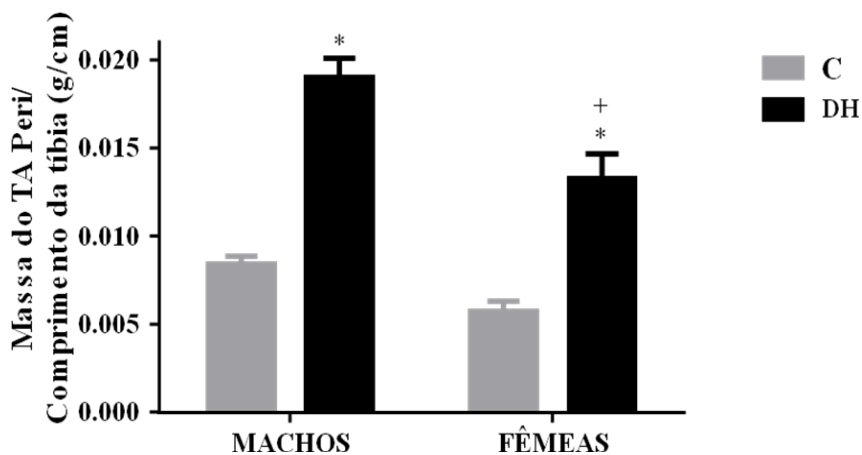


Figura 10: Massa do tecido adiposo perigonadal (g) corrigida pelo comprimento da tibia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa deste tecido adiposo em relação aos respectivos controles; o + indica que os filhotes machos da prole DH apresentaram maior quantidade de tecido adiposo perigonadal quando comparados aos filhotes fêmeas da mesma prole. Machos C (n = 14), machos DH (n = 8),

fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

A massa adiposa do compartimento subcutâneo também foi avaliada. O reservatório de tecido adiposo branco inguinal apresentou aumento de 1,11x em machos da prole DH quando comparados com a prole de machos C. De forma semelhante, as fêmeas da prole DH apresentaram 1,02x mais massa no reservatório inguinal do que as fêmeas da prole C. Os filhotes machos e fêmeas da prole C não apresentaram diferenças entre si, bem como os filhotes machos e fêmeas da prole DH não apresentaram diferenças. Dessa forma, não foram observadas alterações sexo-específico nesse reservatório adiposo (Macho C= 0,04326 ± 0,00273 mg/cm; macho DH= 0,09136 ± 0,0035 mg/cm; fêmea C= 0,04678 ± 0,00172 mg/cm; fêmea DH= 0,09440 ± 0,00268 mg/cm) (Figura 11).

Além dos tecidos adiposos brancos, o tecido adiposo marrom (TAM) também foi avaliado. Houve aumento de 27% na massa do TAM nos filhotes machos da prole DH em comparação aos machos da prole C, enquanto que os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 25% em relação às fêmeas C. Os filhotes machos e fêmeas da prole C não apresentaram diferenças significativas entre si e o mesmo ocorreu entre os filhotes machos e fêmeas da prole DH. Sendo assim, a alteração observada na massa do tecido adiposo marrom ocorre por causa da mudança na dieta materna, sem interferência do sexo do filhote (Macho C= 0,01369 ± 0,00053 mg/cm; macho DH= 0,01735 ± 0,00079 mg/cm; fêmea C= 0,01330 ± 0,00039 mg/cm; fêmea DH= 0,01664 ± 0,00021 mg/cm) (Figura 12).

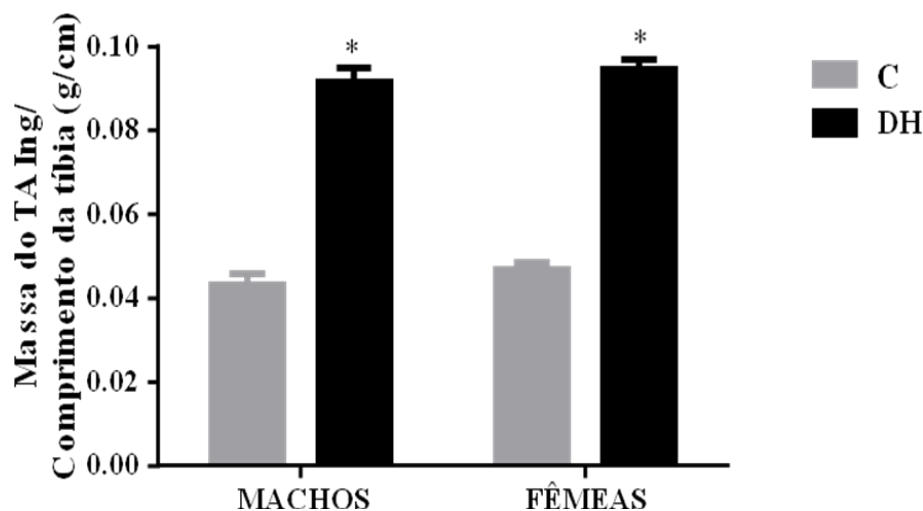


Figura 11: Massa do tecido adiposo inguinal (g) corrigida pelo comprimento da tibia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa deste tecido adiposo em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 13), machos DH (n = 7), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

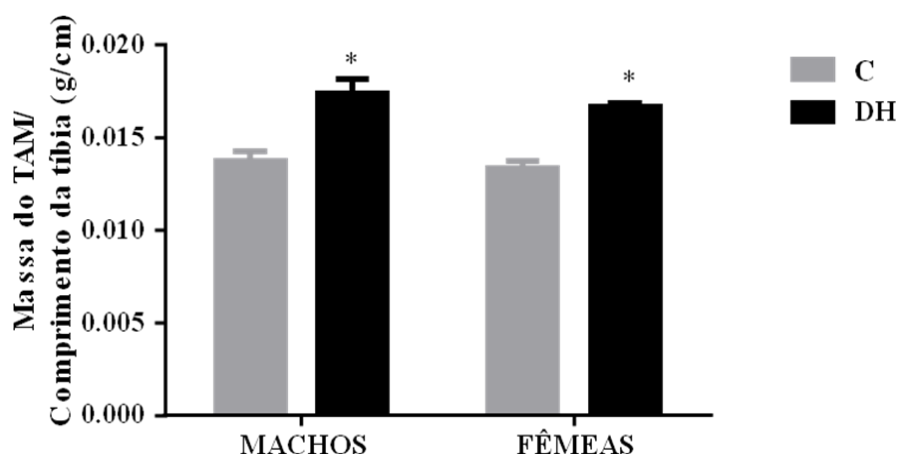


Figura 12: Massa do tecido adiposo marrom (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa deste tecido adiposo em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 14), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média ± erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

Ao investigar possíveis alterações que a dieta hiperlipídica materna possa exercer sobre o coração, o órgão foi retirado e pesado. A massa do coração (mg) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm) foi utilizada como índice de hipertrofia cardíaca. Observamos que, em relação à massa total do coração, os filhotes machos da prole DH possuíam massa superior aos filhotes machos da prole C (23,4%) e que, os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram aumento idêntico de 23,4% na massa total do coração ao comparar com as fêmeas C (Macho C = $0,0141 \pm 0,00038$ mg/cm; macho DH = $0,01741 \pm 0,00057$ mg/cm; fêmea C = $0,01310 \pm 0,00018$ mg/cm; fêmea DH = $0,01617 \pm 0,00045$ mg/cm) (Figura 13). Alterações sexo-específicas entre os filhotes da prole C e os filhotes da prole DH não foram observadas.

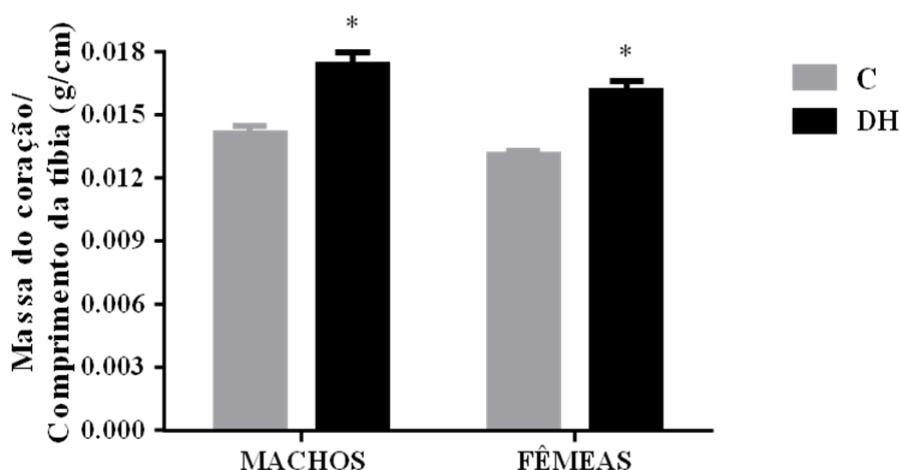


Figura 13: Massa do coração (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que os filhotes machos e fêmeas da prole DH apresentam maior massa cardíaca, quando comparado aos filhotes da prole C. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média ± erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

Ao pesar separadamente as câmaras cardíacas, evidenciamos que os machos das proles C e DH não apresentaram diferenças significativas na massa atrial. Ao compararmos os filhotes fêmeas, entretanto, vimos que os filhotes da prole DH apresentaram aumento de massa do átrio em 25%. Não foram observadas diferenças entre os filhotes machos e fêmeas da prole C. Apesar do aumento da massa atrial dos filhotes fêmeas da prole DH, não houveram diferenças significativas entre os filhotes machos e fêmeas neste parâmetro. Tais dados indicam que a alteração na massa atrial decorrente da alteração da dieta hiperlipídica afeta somente a prole fêmea, sendo portanto uma alteração sexo-específica (Macho C= $0,0008857 \pm 0,0000065$ mg/cm; macho DH= $0,00097 \pm 0,0000062$ mg/cm; fêmea C= $0,0008165 \pm 0,0000022$ mg/cm; fêmea DH= $0,001023 \pm 0,0000051$ mg/cm) (Figura 14).

A massa total do ventrículo foi maior em machos da prole DH, 24,3%, quando comparados à prole C. Já as fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 23,7% em comparação às fêmeas da prole C. Machos e fêmeas da prole C não apresentaram diferenças significativas entre si, bem como os filhotes da prole DH, indicando que a dieta hiperlipídica materna altera a massa total do ventrículo da prole independente do sexo do filhote (Macho C= $0,01322 \pm 0,00034$ mg/cm; macho DH= $0,01643 \pm 0,00055$ mg/cm; fêmea C= $0,01225 \pm 0,00017$ mg/cm; fêmea DH= $0,01515 \pm 0,00044$ mg/cm) (Figura 15).

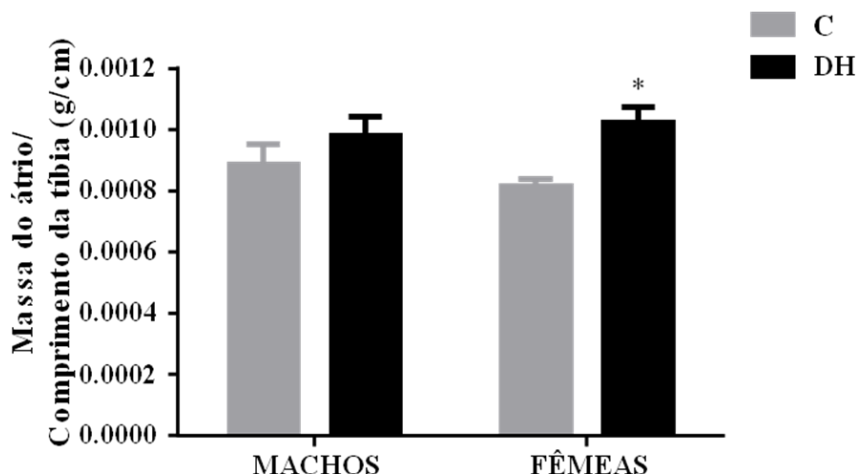


Figura 14: Massa do átrio (g) corrigida pelo comprimento da tibia (cm). O * indica que os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram maior massa atrial em relação à prole C. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

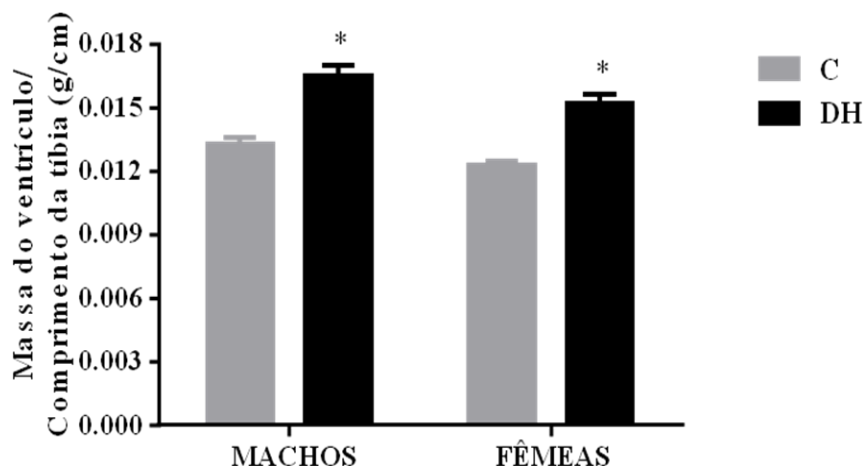


Figura 15: Massa do ventrículo (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa ventricular em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

A análise da massa dos pulmões e do fígado pode ser utilizada como parâmetro indireto de avaliação da congestão pulmonar e hepática, respectivamente, em casos de insuficiência cardíaca (KIRIAZIS et al., 2002). Dessa forma, para avaliar se existe congestão no pulmão devido às alterações de massa cardíaca encontrada, a massa do pulmão também foi mensurada. Somente os machos da prole DH apresentaram aumento de massa pulmonar quando comparados aos filhotes machos da prole C, em 11% (Figura 16). As fêmeas das proles C e DH não apresentaram alterações na massa pulmonar, e diferenças significativas não foram observadas entre machos e fêmeas de mesma prole (C ou DH) (Macho C = $0,02649 \pm 0,00066$ mg/cm; macho DH = $0,02951 \pm 0,00093$ mg/cm; fêmea C = $0,02479 \pm 0,00056$ mg/cm; fêmea DH = $0,02732 \pm 0,00086$ mg/cm). Esse dado indica que esse parâmetro foi alterado pelo consumo materno de dieta hiperlipídica, e de forma sexo-específico.

Ao investigarmos se existe congestão no fígado devido às alterações de massa cardíaca encontrada, observamos que os machos da prole DH apresentaram aumento de 22% na massa hepática ao comparar com os controles, e que as fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 26% em relação às fêmeas da prole C. Machos e fêmeas da prole C não apresentaram diferença entre si e, apesar do percentual de aumento de massa do fígado ser levemente inferior nos machos em relação às fêmeas da prole DH, diferenças estatisticamente significativas não foram observadas (Macho C = $0,1113 \pm 0,00274$ mg/cm; macho DH = $0,1360 \pm 0,00627$ mg/cm; fêmea C = $0,1067 \pm 0,00299$ mg/cm; fêmea DH = $0,1350 \pm 0,00316$ mg/cm) (Figura 17).

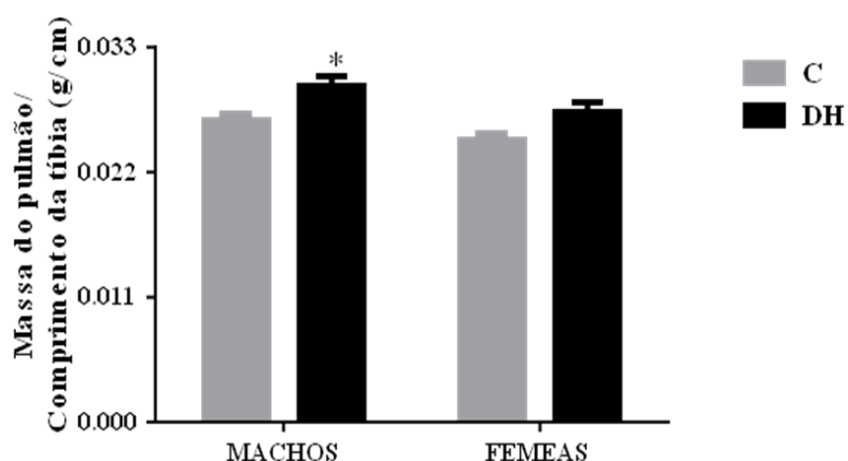


Figura 16: Massa do pulmão (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que somente os filhotes machos da prole DH apresentaram maior massa do pulmão em relação aos machos da prole C. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

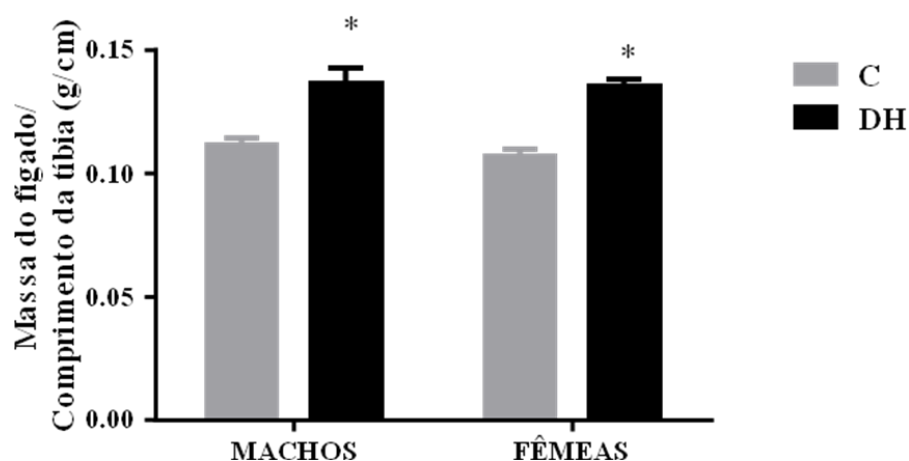


Figura 17: Massa do fígado (g) corrigida pelo comprimento da tíbia (cm). O * indica que machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior massa do tecido hepático em relação aos respectivos controles. Machos C (n = 13), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 16) e fêmeas DH (n = 9). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

5.2.3. Dosagem de leptina sérica

Para verificar se o aumento de tecido adiposo branco refletia sobre a concentração sérica de leptina, foi feito RIA a partir do soro coletado de ambas as proles aos 21 dias (Figura 18). Os filhotes machos da prole DH apresentaram aumento de 53% na concentração de

leptina sérica quando comparados aos filhotes da prole C, enquanto as fêmeas apresentaram aumento de 74% quando comparadas as fêmeas da prole C, caracterizando hiperleptinemia na prole DH. Não foram observadas diferenças significativas na concentração de leptina sérica entre filhotes machos e fêmeas da prole C, nem entre os filhotes de ambos os sexos da prole DH (Macho C= $4,38 \pm 0,61$ ng/mL; macho DH= $6,71 \pm 0,62$ ng/mL; fêmea C= $4,09 \pm 0,22$ ng/mL; fêmea DH= $7,13 \pm 0,19$ ng/mL). A variação intraensaio foi de 0,51.

Dessa forma, observamos que o aumento do hormônio na corrente sanguínea foi alterado de acordo com a manipulação da dieta materna, de forma independente do sexo do filhote.

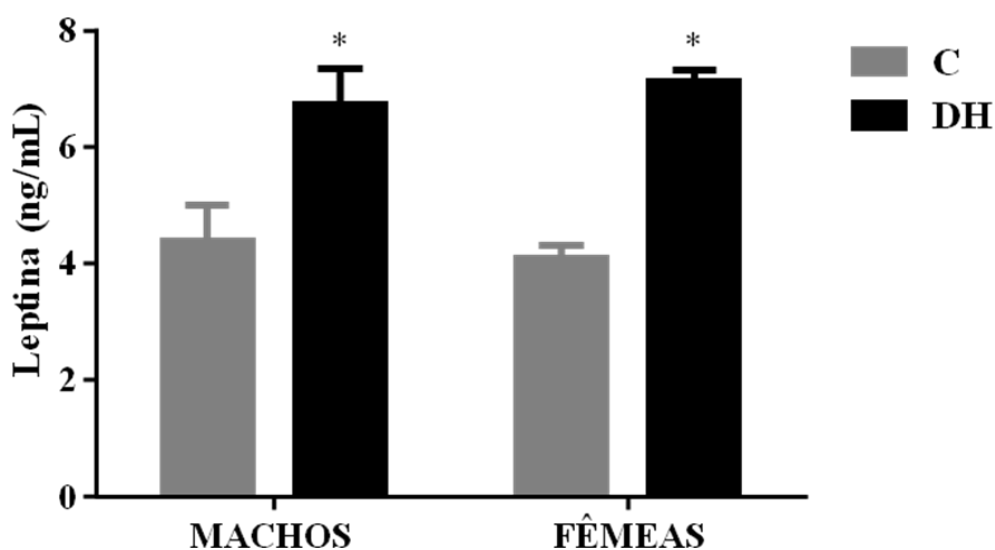


Figura 18: Concentração de leptina sérica (ng/mL) dos filhotes machos e fêmeas das proles C e DH, aos 21 dias de idade. O * indica que os filhotes machos e fêmeas da prole DH apresentaram maior quantidade de leptina no sangue, quando comparado aos seus respectivos controles. Machos C (n = 8), machos DH (n = 8), fêmeas C (n = 14) e fêmeas DH (n= 9). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

5.2.4. Análise da expressão proteica dos receptores $\beta 1$ -AR, $TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$

Tendo em vista que dados anteriores indicavam que os filhotes machos da prole DH apresentavam, ao desmame, maior conteúdo de catecolaminas adrenais e aumento dos níveis séricos de T_3 total e T_4 livre, fomos investigar como estaria a expressão ventricular de receptores relacionados ao sistema simpato-adrenérgico e aos hormônios tireoideanos. Dessa forma, foram realizadas análises da expressão proteica dos seguintes receptores: $\beta 1$ -AR, $TR\alpha_1$ e $TR\beta_1$, a partir de amostras do ventrículo coletado aos 21 dias de idade de um filhote de cada sexo, das proles C e DH.

Ao avaliar a expressão do receptor β_1 -adrenérgico, observamos que os filhotes machos da prole DH não apresentaram alteração na expressão cardíaca deste receptor em relação aos filhotes da prole C (Figura 19-A). Entretanto, os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram expressão cardíaca de β_1 -AR 93% superior quando comparados aos filhotes fêmeas da prole C (Macho C= $1,00 \pm 0,07$; macho DH= $1,19 \pm 0,09$; fêmea C= $1,00 \pm 0,26$; fêmea DH= $1,93 \pm 0,18$) (Figura 19-B). Dessa forma, a expressão ventricular do receptor β_1 -AR foi fortemente modulada pela manipulação da dieta materna nos filhotes fêmeas.

Ao avaliar a expressão de receptores para HT, percebemos que os filhotes machos da prole DH possuíam aumento expressivo, de 1,85x, na expressão proteica da isoforma α_1 do receptor para hormônio tireoideano ($TR\alpha_1$) quando comparados aos filhotes machos da prole C (Figura 20-A). Os filhotes fêmeas das proles C e DH não apresentaram qualquer diferença entre si na expressão proteica do $TR\alpha_1$ (Macho C= $1,00 \pm 0,20$; macho DH= $2,85 \pm 0,05$; fêmea C= $1,00 \pm 0,15$; fêmea DH= $0,55 \pm 0,17$) (Figura 20-B). O consumo materno de dieta hiperlipídica, portanto, foi capaz de alterar a expressão ventricular do $TR\alpha_1$ apenas na prole macho.

Em relação à isoforma β_1 do receptor para hormônio tireoideano ($TR\beta_1$), não observamos alteração na expressão proteica entre os machos da prole C e DH (Figura 21-A). A expressão proteica do $TR\beta_1$ também não teve sua expressão alterada nos filhotes fêmeas da prole C e DH (Macho C= $1,00 \pm 0,07$; macho DH= $1,00 \pm 0,22$; fêmea C= $1,00 \pm 0,10$; fêmea DH= $1,03 \pm 0,16$) (Figura 21-B), sugerindo que esse receptor não foi modulado pelo tipo de dieta materna no ventrículo da prole.

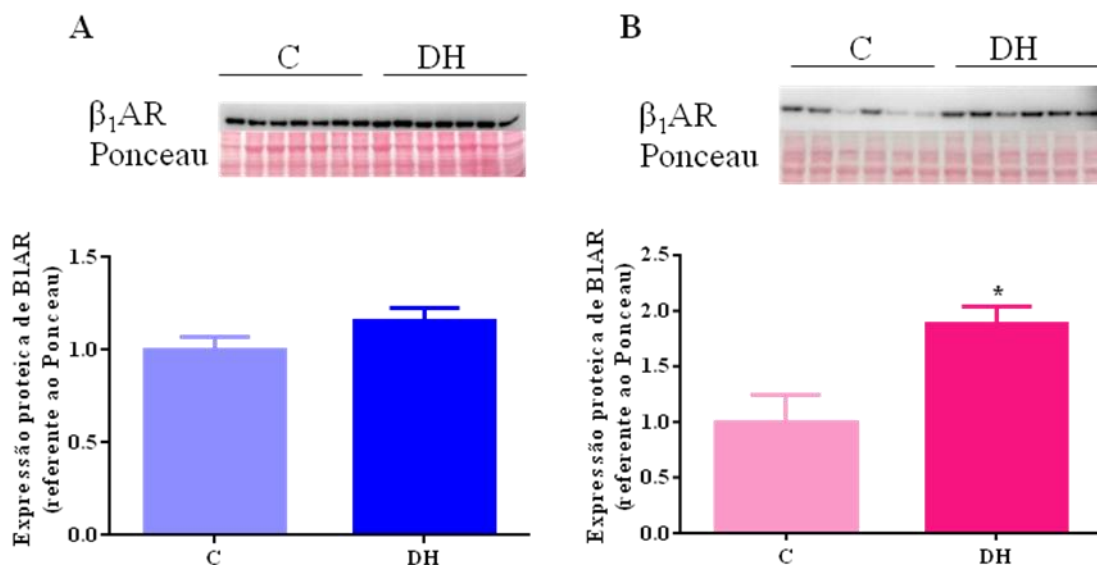


Figura 19: A) Expressão proteica do receptor β_1 -adrenérgico (β_1 -AR) dos filhotes machos das proles C (n = 7) e DH (n = 7). B) Expressão proteica do receptor β_1 -adrenérgico (β_1 -AR) dos filhotes fêmeas das proles C (n = 6) e DH (n = 6). O * indica que a expressão proteica do β_1 AR é maior nos filhotes fêmeas da prole DH do que na prole C. Dados expressos como média \pm erro padrão, teste-t student, $p < 0,05$. Imagens acima dos gráficos são referentes à membrana de PVDF que originou os dados.

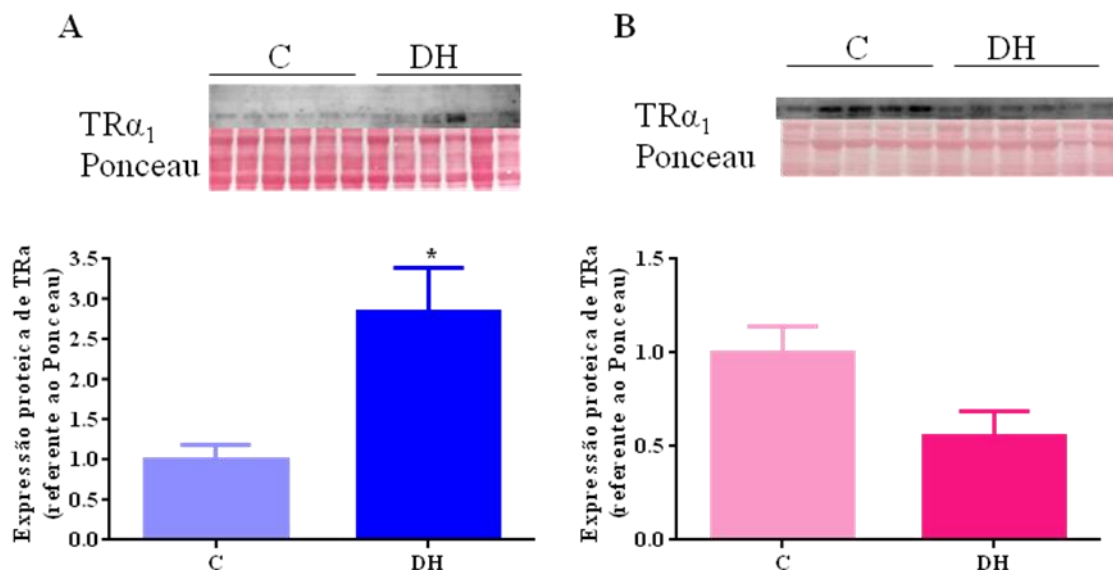


Figura 20: A) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoideano, isoforma alfa 1 (TR α_1) dos filhotes machos das proles C (n = 6) e DH (n = 6). O * indica que a expressão proteica do TR α_1 é maior nos machos da prole DH do que na prole C. B) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoideano, isoforma alfa 1 (TR α_1) dos filhotes fêmeas das proles C (n = 5) e DH (n = 6). Dados expressos como média \pm erro padrão, teste t student, $p < 0,05$. Imagens acima dos gráficos são referentes à membrana de PVDF que originou os dados.

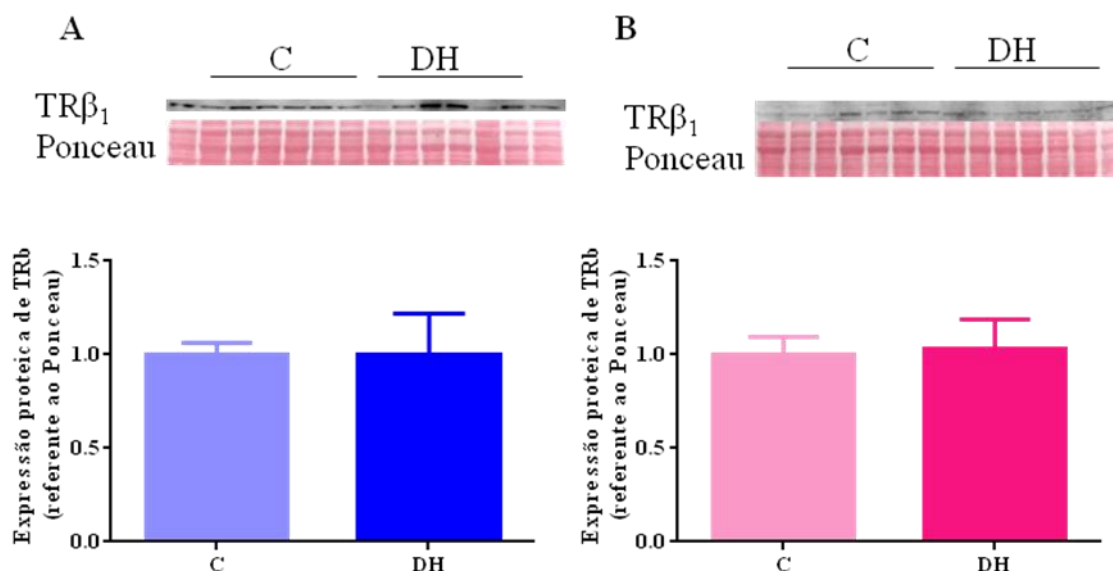


Figura 21: A) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoideano, isoforma beta 1 (TR β_1) dos filhotes machos das proles C (n = 7) e DH (n = 7). B) Expressão proteica do receptor para hormônio tireoideano, isoforma beta 1 (TR β_1) dos filhotes fêmeas das proles C (n = 7) e DH (n = 7). Dados expressos como média \pm erro padrão, teste-t student, $p < 0,05$. Imagens acima dos gráficos são referentes à membrana de PVDF que originou os dados.

5.3. Fase 3: Avaliação Funcional da Prole aos 30 Dias de Idade

Ao compararmos a massa corporal da prole aos 30 dias de idade, observamos que os filhotes machos da prole DH não apresentaram diferenças significativas quando comparados aos filhotes da prole C. As fêmeas das proles C e DH também não apresentaram diferenças na massa corporal entre si. As fêmeas da prole C apresentaram cerca de 10% mais massa corporal do que os machos da mesma prole, enquanto que nenhuma alteração foi observada quanto ao ganho de massa corporal dos filhotes machos e fêmeas da prole DH (Macho C= $96,6 \pm 1,9$ g; macho DH= $107 \pm 4,8$ g; fêmea C= $109 \pm 2,7$ g; fêmea DH= $108 \pm 2,3$ g) (Figura 22). Dessa forma, a evolução de peso corporal não foi alterada pelo consumo de dieta hiperlipídica materna, e nem foi alterada de forma sexo-específica.

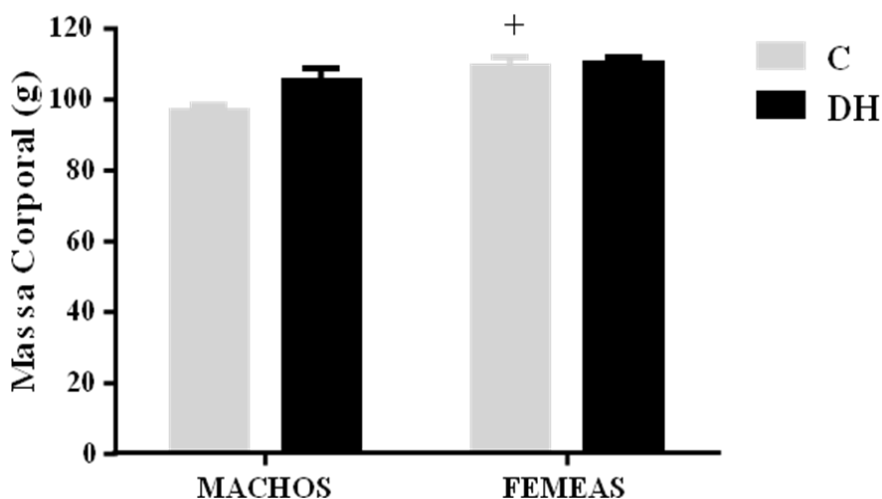


Figura 22: Massa corporal (g) dos filhotes machos e fêmeas das proles C e DH, aos 30 dias de idade. O + indica que os filhotes machos da prole C apresentaram menor peso corporal quando comparado aos filhotes fêmeas do mesmo grupo. Machos C (n = 15), machos DH (n = 9), fêmeas C (n = 15) e fêmeas DH (n = 10). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Sidak.

A fim de investigar se o consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de provocar modificações na função cardíaca da prole, os animais foram submetidos a análises ecocardiográficas e eletrocardiográficas, além da aferição da pressão arterial pelo método não invasivo de *tail cuff*. Tais análises funcionais foram realizadas com a parcela das proles C e DH que foi mantida em biotério com acesso *ad libitum* à água e ração normolipídica, após o desmame. Sendo assim, o número máximo de animais por experimento foi de 30 filhotes da prole C (15 machos e 15 fêmeas) e 19 filhotes da prole DH (9 machos e 10 fêmeas).

5.3.1. Ecocardiograma

Os parâmetros analisados no ecocardiograma referentes à geometria cardíaca foram: a espessura do septo intraventricular em diástole (mm), a dimensão da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole (mm), a massa do ventrículo esquerdo (mg) e as áreas internas do ventrículo direito e esquerdo em diástole (mm²).

Quanto à espessura do septo intraventricular, os filhotes machos das proles C e DH não apresentaram diferenças entre si. O mesmo foi observado entre as fêmeas das proles C e DH. Alterações da espessura do septo intraventricular também não foram observadas entre os filhotes machos e fêmeas das proles C e DH (Macho C= 1,1 ± 0,05 mm; macho DH= 1,2 ± 0,07 mm; fêmea C= 1,1 ± 0,03 mm; fêmea DH= 1,2 ± 0,06 mm) (Figura 23-A).

Ao avaliarmos a dimensão da parede posterior do VE em sístole observamos que filhotes machos não apresentavam diferenças significativas entre si. As fêmeas das proles C e DH também não apresentaram diferenças em tal parâmetro. Ao analisar machos e fêmeas da mesma prole, tanto para a prole C quanto para a prole DH, não foram observadas quaisquer alterações significativas (Macho C= 1,4 ± 0,07 mm; macho DH= 1,6 ± 0,07 mm; fêmea C= 1,5 ± 0,1 mm; fêmea DH= 1,6 ± 0,1 mm) (Figura 23-B).

A análise ecocardiográfica, além de possibilitar a avaliação da função sistólica do ventrículo esquerdo, também permite avaliar a massa da câmara. Ao estudar a massa do ventrículo esquerdo nas imagens ecocardiográficas, os jovens machos da prole DH apresentaram aumento de 28% em comparação com os machos da prole C. Os filhotes fêmeas não apresentaram diferenças de massa ventricular entre as proles C e DH. Diferenças significativas também não foram observadas entre machos e fêmeas da mesma prole, sendo esta a prole C ou a DH (Macho C= 346,6 ± 18,6 mg; macho DH= 443,3 ± 22,1 mg; fêmea C= 398,9 ± 16,3 mg; fêmea DH= 454,8 ± 33,3 mg) (Figura 23-C).

As áreas internas dos ventrículos direito (mm²) e esquerdo (mm²) em diástole e o volume diastólico final (µL) também foram avaliados. Ao investigar a área que os ventrículos apresentam em diástole, vimos que a área do ventrículo direito não é alterada entre os filhotes machos, nem entre os filhotes fêmeas ao comparar as proles C e DH (Macho C= 24,4 ± 1,2 mm²; macho DH= 27,0 ± 0,5 mm²; fêmea C= 24,1 ± 0,8 mm²; fêmea DH= 25,9 ± 0,5 mm²). Tal parâmetro não apresentou alterações entre machos e fêmeas da mesma prole, sendo a prole C ou a DH (Figura 24-A).

Quanto à análise da área do ventrículo esquerdo, os filhotes machos da prole DH apresentaram área aumentada em 10% em relação aos machos da prole C, enquanto os filhotes fêmeas das proles C e DH não apresentaram diferenças entre si. A área do VE em diástole também não apresentou alterações entre machos e fêmeas da prole C, nem entre machos e fêmeas da prole DH (Macho C= 23,0 ± 0,9 mm²; macho DH= 25,4 ± 0,4 mm²; fêmea C= 24,2 ± 0,3 mm²; fêmea DH= 24,7 ± 0,7 mm²) (Figura 24-B).

De acordo com os dados referentes à geometria cardíaca, observamos que o consumo materno de dieta hiperlipídica provocou alterações na estrutura cardíaca nos machos jovens da prole DH, que apresentaram maior massa ventricular e aumento da área do VE em diástole, sugerindo hipertrofia ventricular excêntrica.

O volume diastólico final do ventrículo esquerdo foi analisado pelo método de Simpson. Não foram observadas alterações estatisticamente diferentes entre os filhotes machos das proles C e DH, nem tampouco entre as fêmeas das proles C e DH. Ao comparar os jovens machos e fêmeas da mesma prole entre si, não foram observadas alterações entre as proles estudadas (Macho C= $205 \pm 15,1 \mu\text{L}$; macho DH= $209 \pm 9,1 \mu\text{L}$; fêmea C= $210 \pm 7,3 \mu\text{L}$; fêmea DH= $208 \pm 9,6 \mu\text{L}$) (Figura 24-C). Tais dados indicam que o volume diastólico final não foi alterado pela dieta materna e nem pelo sexo do filhote.

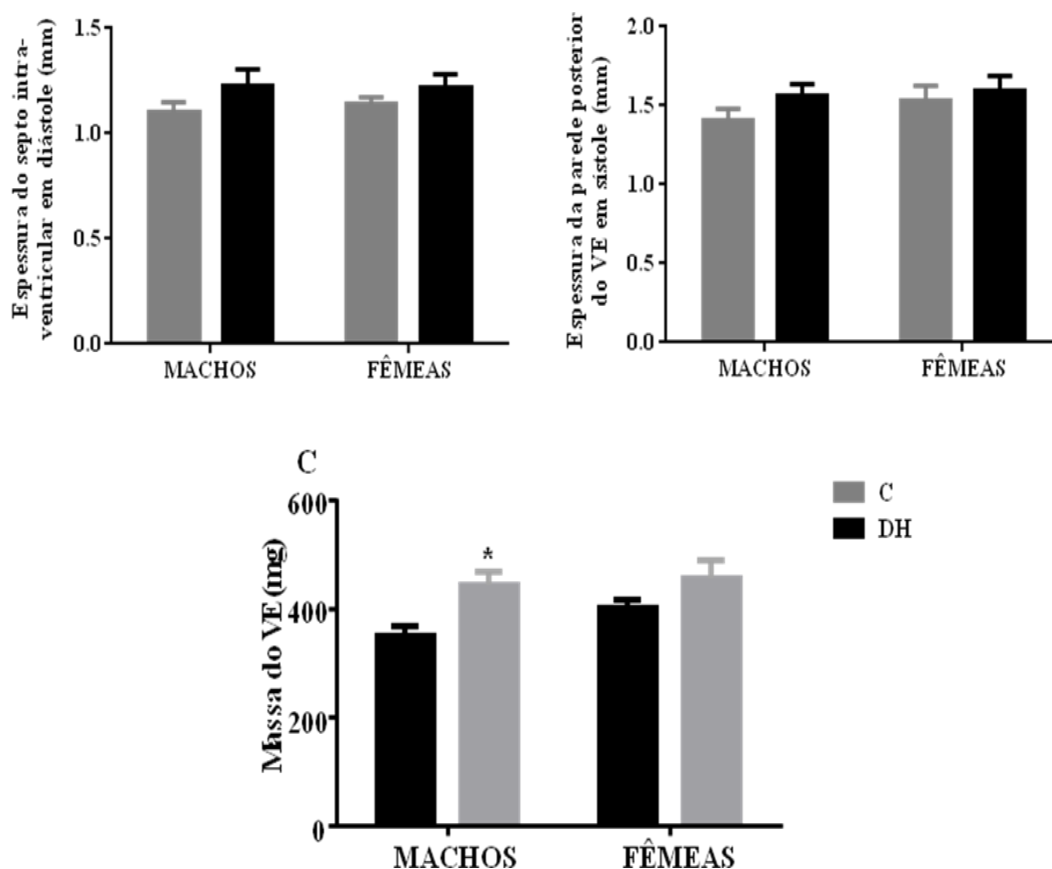


Figura 23: Análises referentes à geometria cardíaca do ventrículo esquerdo (VE). A) Espessura do septo intraventricular em diástole (mm) de machos e fêmeas das proles C e DH. B) Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo em sístole (mm) de machos e fêmeas das proles C e DH. C) Massa do VE (mg) dos filhotes jovens machos e fêmeas das proles C e DH. O * indica que os machos da prole DH apresentaram massa do VE 28% maior quando comparados com os machos C. Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=8), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA seguido de pós-teste Tukey.

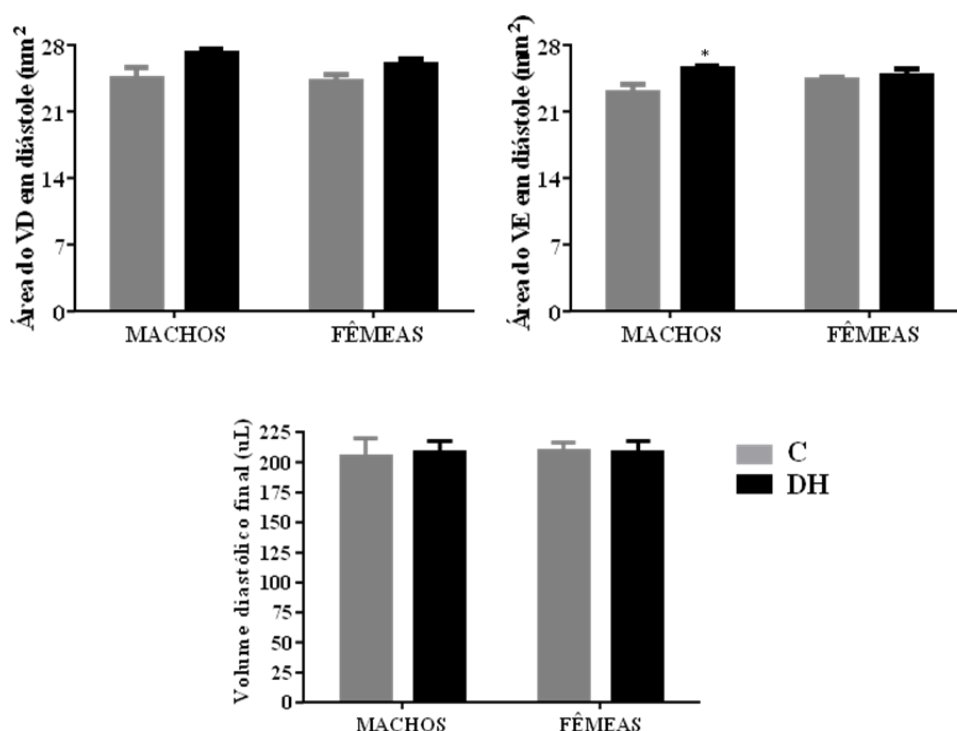


Figura 24: A) Área interna do ventrículo direito (VD) em diástole (mm²). B) Área interna do ventrículo esquerdo (VE) em diástole (mm²). O * indica que os filhotes machos da prole DH apresentaram área do VE 10% maior quando comparados com os filhotes machos da prole C. C) Volume diastólico final do VE (uL) de filhotes machos e fêmeas das proles C e DH. Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=8), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média ± erro padrão, teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Tukey.

A função sistólica do ventrículo esquerdo foi avaliada a partir de análises no modo bidimensional do ECO, utilizando o método de Simpson. Os parâmetros obtidos da função sistólica do VE foram: a fração de ejeção (%), o volume de ejeção (μL), o percentual de encurtamento da área (%) e o volume sistólico final (μL).

Ao analisar a fração de ejeção dos machos jovens da prole DH, observamos que estes apresentaram fração de ejeção 5% reduzida quando comparada aos machos da prole C. Os filhotes fêmeas da prole DH também apresentaram redução da fração de ejeção do VE, em média de 9%. Ao comparar filhotes machos e fêmeas da mesma prole, observamos que na prole C, os filhotes fêmeas possuem maior fração de ejeção que os filhotes machos (4%). Ao comparar os machos e fêmeas da prole DH, não foi observada diferença significativa na fração de ejeção (Macho C= 68,7 ± 1,3%; macho DH= 63,8 ± 0,5%; fêmea C= 73,0 ± 1,1%; fêmea DH= 64,0 ± 0,9%) (Figura 25-A). O consumo materno de dieta hiperlipídica causou prejuízos na fração de ejeção da prole de ambos os sexos, sendo as fêmeas mais afetadas.

Ao analisarmos o volume de sangue ejetado pelo VE dos filhotes machos não houveram diferenças estatísticas entre as proles C e DH. Nos filhotes fêmeas, o mesmo foi observado: os valores do volume de sangue ejetado foram semelhantes entre as proles C e DH. Filhotes machos e fêmeas da prole C não apresentaram diferenças significativas nesse parâmetro. Alterações entre machos e fêmeas da prole DH também não foram observadas (Macho C= 141,5 ± 11,4 μL; macho DH= 133,5 ± 5,9 μL; fêmea C= 153,7 ± 6,9 μL; fêmea

DH= 133,3 ± 6,2 μL) (Figura 25-B), indicando que tal parâmetro não é afetado pela dieta materna ou pelo sexo do filhote.

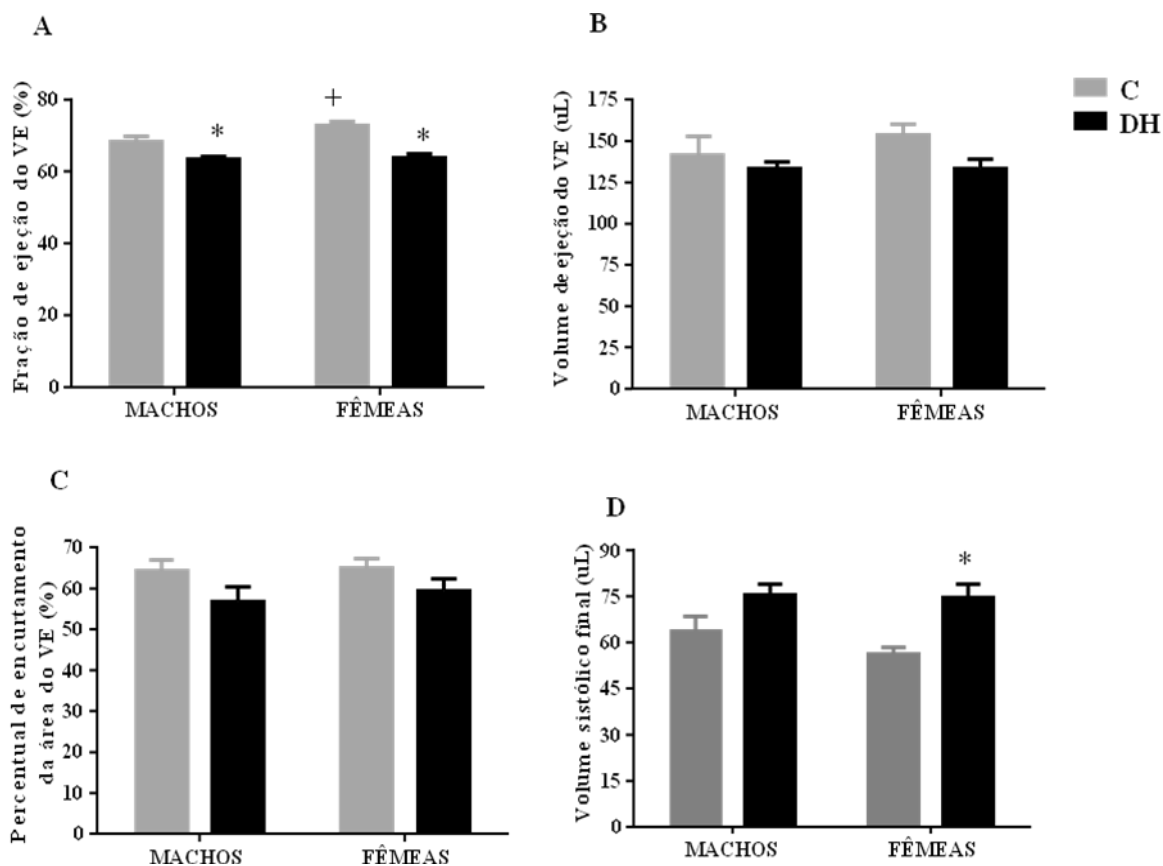


Figura 25: Valores referentes à função sistólica de ratos jovens, após avaliação das imagens do ECO pelo método de Simpson. A) Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%) de filhotes machos e fêmeas das proles C e DH. O * indica que a fração de ejeção estava reduzida nos filhotes machos e fêmeas da prole DH. O + indica que os machos da prole C apresentam menor fração de ejeção quando comparadas com as fêmeas da prole C; B) Volume de ejeção do VE (μL) de machos e fêmeas das proles C e DH. C) Percentual de encurtamento da área do VE (%) de machos e fêmeas das proles C e DH. D) Volume sistólico final do VE (μL) de filhotes machos e fêmeas das proles C e DH. O * indica que as fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 33% no volume sistólico final do VE quando comparadas às fêmeas da prole C. Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=8), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média ± erro padrão, p<0,05. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Tukey.

O percentual de encurtamento do ventrículo esquerdo também foi avaliado. Em relação aos filhotes machos, não observamos diferenças estatísticas entre as proles C e DH. Em relação aos filhotes fêmeas da prole DH, observamos que as diferenças não foram significativamente diferente. Ao compararmos filhotes machos e fêmeas de ambas as proles, nenhuma alteração foi observada (Macho C= 64,5 ± 4,8%; macho DH= 57,0 ± 3,4%; fêmea C= 65,0 ± 2,2%; fêmea DH= 59,5 ± 3,0%) (Figura 25-C).

Ao analisarmos o volume sistólico final, observamos que os filhotes machos das proles C e DH não apresentaram alterações. No entanto, as fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 33% no volume sistólico em relação às fêmeas da prole C. Ao comparar jovens

machos e fêmeas da mesma prole, não observamos alterações tanto na prole C quanto na prole DH (Macho C= $63,8 \pm 4,8 \mu\text{L}$; macho DH= $75,8 \pm 3,4 \mu\text{L}$; fêmea C= $56,3 \pm 2,2 \mu\text{L}$; fêmea DH= $74,9 \pm 4,2 \mu\text{L}$) (Figura 25-D).

Os dados ecocardiográficos realizados, aos 30 dias de idade da prole, indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove prejuízo da função sistólica, sobretudo na prole fêmea.

5.3.2. Avaliação eletrocardiográfica

Além da frequência cardíaca foram realizadas avaliações temporais do registro eletrocardiográfico. Avaliamos a duração das ondas P e T, do complexo QRS e dos intervalos PR e QT.

Observamos que os machos jovens da prole DH não apresentaram diferença estatística em nenhum dos parâmetros eletrocardiográficos analisados, em relação aos machos da prole C. As fêmeas das proles C e DH também não apresentaram diferenças entre si nos parâmetros avaliados. Ao comparar os jovens machos e fêmeas da mesma prole entre si, tanto a prole C quanto a DH não apresentaram diferenças significativas aos 30 dias de idade nos parâmetros analisados (Tabela 3).

Dessa forma, observamos que o consumo materno de dieta hiperlipídica não foi capaz de promover quaisquer alterações na frequência cardíaca e na condução elétrica do coração de ratos jovens, independente do sexo do filhote.

Tabela 3: Parâmetros eletrocardiográficos das proles C e DH. FC = frequência cardíaca. bpm= batimentos por segundo. ms= milissegundos. Dados expressos como média \pm erro padrão, n= número de animais. Teste two-way ANOVA, seguida de pós teste Sidak.

Parâmetro	MACHOS		FÊMEAS	
	C (n = 9)	DH (n = 7)	C (n = 10)	DH (n = 6)
FC (bpm)	$475,6 \pm 8,2$	$473,4 \pm 7,8$	$487,8 \pm 7,6$	$486,8 \pm 14,2$
Onda P (ms)	$15,7 \pm 0,4$	$16,0 \pm 0,3$	$16,4 \pm 0,6$	$16,0 \pm 0,4$
Intervalo PR (ms)	$41,6 \pm 0,5$	$41,7 \pm 0,6$	$41,1 \pm 0,6$	$42,9 \pm 0,7$
Complexo QRS (ms)	$12,7 \pm 0,7$	$12,5 \pm 0,6$	$11,8 \pm 0,4$	$11,7 \pm 0,6$
Intervalo QT (ms)	$40,7 \pm 1,0$	$37,9 \pm 1,9$	$40,1 \pm 1,2$	$40,6 \pm 1,4$
Onda T (ms)	$27,7 \pm 0,6$	$26,0 \pm 1,7$	$28,1 \pm 1,4$	$28,9 \pm 1,6$

5.3.3. Variabilidade da frequência cardíaca

A fim de avaliar se o consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de alterar a modulação autonômica sobre o coração, foi realizada a análise da variabilidade da frequência cardíaca. A análise espectral nos permitiu analisar ondas de baixa frequência (LF: 0,2 a 0,75 Hz) e de alta frequência (HF: 0,75 a 3,5 Hz), correspondentes às atividades simpática e parassimpática, respectivamente. A razão LF/HF foi utilizada para análise do balanço simpato-vagal sobre o coração, visto que a razão representa o balanço autonômico (VANDERLEI et al., 2009).

Observamos que os machos jovens da prole DH não apresentaram diferença estatística na análise de ondas de baixa frequência, ao comparar com a prole C. As fêmeas das proles C e DH também não apresentaram diferenças entre si nas ondas LF. Ao comparar os jovens machos e fêmeas da mesma prole entre si, tanto a prole C quanto a DH não apresentaram diferenças significativas entre si aos 30 dias de idade (Macho C= $0,48 \pm 0,04$; macho DH= $0,38 \pm 0,04$; fêmea C= $0,40 \pm 0,04$; fêmea DH= $0,47 \pm 0,07$) (Figura 26-A), indicando que não há alteração na modulação simpática no coração.

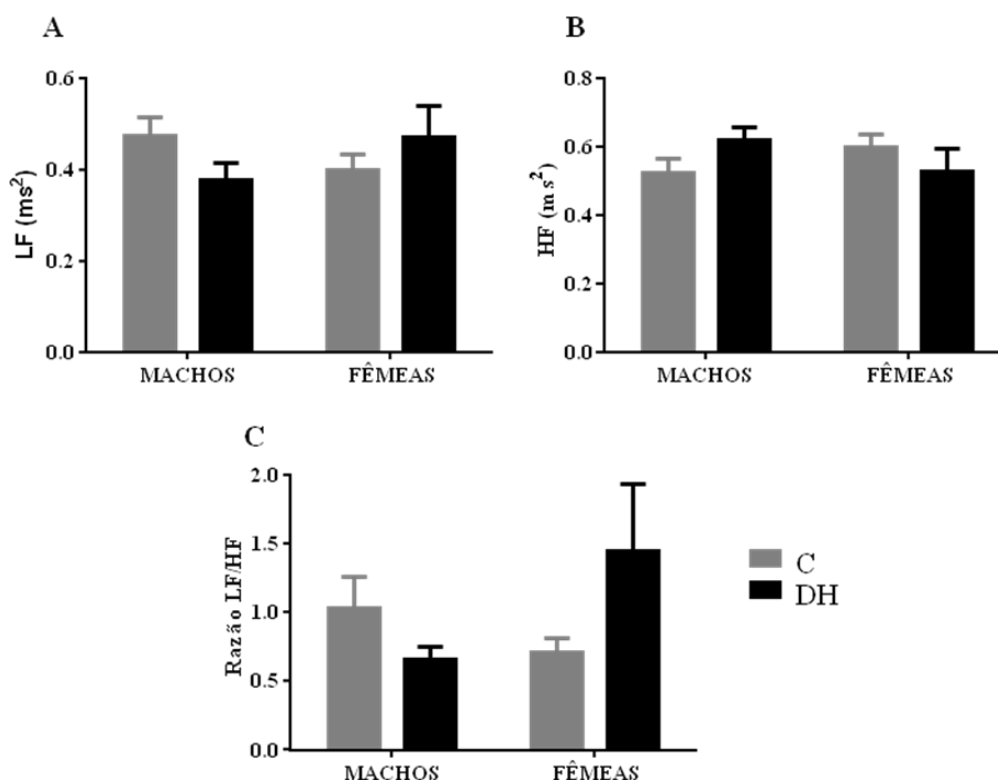


Figura 26: Análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca das proles C e DH, machos e fêmeas, aos 30 dias de idade. A) Análise espectral na faixa de baixa frequência (LF); B) Análise espectral na faixa de alta frequência (HF); C) Relação dos espectros de baixa e alta frequência (LF/HF). Machos C (n= 9), machos DH (n=9), fêmeas C (n=10), fêmeas DH (n=10). Dados expressos como média \pm erro padrão, $p < 0,05$. Teste two-way ANOVA, seguido de pós-teste Tukey.

Ao analisar o componente parassimpático da análise espectral, os machos jovens da prole DH não apresentaram diferença estatística na análise de ondas de alta frequência, ao comparar com a prole C. O mesmo foi observado com as fêmeas de ambas as proles. Ao comparar os jovens machos e fêmeas da mesma prole entre si, tanto a prole C quanto a DH não apresentaram diferenças significativas (Macho C= $0,52 \pm 0,04$; macho DH= $0,62 \pm 0,04$; fêmea C= $0,60 \pm 0,04$; fêmea DH= $0,53 \pm 0,07$) (Figura 26-B), indicando que não há alteração na modulação parassimpática no coração.

Dessa forma, observamos que o consumo materno de dieta hiperlipídica não foi capaz de alterar o espectro de ondas de baixa ou alta frequência no coração da prole, nem a razão entre os espectros (Macho C= $1,04 \pm 0,23$; macho DH= $0,66 \pm 0,10$; fêmea C= $0,72 \pm 0,10$; fêmea DH= $1,46 \pm 0,48$) (Figura 26-C).

5.3.4. Avaliação da pressão arterial

Para investigar se o consumo materno de dieta hiperlipídica poderia causar alteração na pressão arterial (PA), foi realizado o método de *tail cuff* para aferição da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e pressão arterial média (PAM).

Ao analisar a PAS, os filhotes machos da prole DH não apresentaram alterações quando comparados aos machos da prole C. O mesmo foi observado quando comparamos as fêmeas C e DH. Ao compararmos machos e fêmeas da mesma prole, os valores de pressão não apresentaram diferenças estatísticas (Tabela 4).

Ao avaliar a pressão arterial diastólica da prole DH, os filhotes machos e fêmeas apresentavam valores semelhantes ao comparar com seus respectivos controles. Alterações entre machos e fêmeas da mesma prole, tanto a C quanto a DH, também não foram observadas (Tabela 4).

A pressão arterial média também foi obtida a partir da plestimografia de cauda. Observamos que machos da prole C e DH apresentaram valores semelhantes, e, da mesma forma que as fêmeas da prole C e DH não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Ao comparar machos e fêmeas da prole C, nenhuma alteração foi observada. Na prole DH, machos e fêmeas eram estatisticamente semelhantes nos valores de PAM (Tabela 4).

Dessa forma, nossos dados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica não foi capaz de alterar os valores de pressão arterial sistólica, diastólica ou média, de ratos jovens da linhagem Wistar aos 30 dias de idade, independente do sexo.

Tabela 4: Valores das pressões arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) dos filhotes de 30 dias de idade, machos e fêmeas das proles C e DH. Dados expressos como média \pm erro padrão, n= número de animais. Teste two-way ANOVA, seguida de pós teste Sidak.

Parâmetro	MACHOS		FÊMEAS	
	C (n = 12)	DH (n = 9)	C (n = 11)	DH (n = 10)
PAS	119,6 \pm 1,9	121,5 \pm 2,6	117,2 \pm 2,2	116,6 \pm 2,6
PAD	81,4 \pm 2,7	80,4 \pm 2,8	83,2 \pm 1,6	83,4 \pm 2,8
PAM	94,0 \pm 2,3	93,5 \pm 2,4	93,8 \pm 1,4	94,2 \pm 2,6

6 DISCUSSÃO

Neste estudo investigamos as consequências do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a função cardíaca de ratos jovens da linhagem Wistar, de ambos os sexos. Os resultados evidenciaram que, ao desmame (21 dias de idade), a alteração na dieta materna promoveu aumento de massa corporal e de alguns órgãos específicos, maior adiposidade e hiperleptinemia na prole. Além disso, nossos resultados sugerem que possa haver maior sensibilidade cardíaca aos hormônios tireoideanos e às catecolaminas na prole, com perfil diferenciado entre filhotes machos e fêmeas: (1) observamos aumento do conteúdo de TR α_1 no ventrículo da prole macho e nenhuma alteração deste mesmo receptor no ventrículo das fêmeas da prole DH, sugerindo que a sensibilidade ao hormônio tireoideano é maior no ventrículo dos machos e (2) o aumento na expressão ventricular do receptor β_1 -adrenérgico foi observado na prole fêmea, sem nenhuma alteração na expressão deste receptor nos machos da prole DH, sugerindo maior sensibilidade ventricular às catecolaminas nas fêmeas.

A partir do desmame, os filhotes são mantidos em dieta normolipídica. No 30º dia, não é observada alteração na massa corporal entre a prole C e DH. No entanto, análises ecocardiográficas demonstram que há alterações distintas entre machos e fêmeas da prole DH. Enquanto os machos jovens apresentam alterações na estrutura do ventrículo esquerdo (evidenciada por aumento de massa e da área interna do VE na diástole), com leve redução na fração de ejeção; as fêmeas jovens, embora não apresentem alterações na geometria cardíaca, apresentam alterações na função sistólica (evidenciada pela redução da fração de ejeção e aumento do volume sistólico final). Não observamos quaisquer alterações na frequência cardíaca, condução elétrica do coração e na pressão arterial na prole jovem DH. Tais achados sugerem que o consumo materno de dieta hiperlipídica provoca o desenvolvimento precoce de alterações na função cardíaca, sobretudo nas fêmeas, ao passo que nos machos há o desenvolvimento de hipertrofia compensatória que impede o surgimento dessa disfunção.

O aumento de indivíduos que apresentam sintomas relativos à síndrome metabólica e obesidade é resultado de uma complexa interação entre variáveis ambientais, genéticas e psicológicas que ocorrem durante a vida (BEN-SHLOMO & KUN, 2002). Dessa forma, entendendo melhor os determinantes precoces da obesidade pode ser possível contê-la na população (WROTNIK et al., 2008).

O período da gestação é considerado uma janela de programação, devido à intensa replicação celular e desenvolvimento de órgãos e sistemas (SIMMONS, 2005). O conceito de que doenças crônicas podem ser programadas no início da vida tem sido comprovado em diversos experimentos que modificam, no microambiente uterino, o desenvolvimento fetal a partir da exposição do indivíduo ao fumo materno (LISBOA et al., 2012), diabetes gestacional (LÓPES-SOLDADO & HERRERA, 2003) e à obesidade materna (LUCILLA et al., 2012; SAMUELSSON et al.; 2008), por exemplo.

Existem diversas formas de se reproduzir, em laboratório, a obesidade da sociedade ocidental e a forma mais utilizada se dá pelo fornecimento de dietas específicas. As dietas mais comuns para essa finalidade são aquelas ricas em lipídeos (*high-fat*) e/ou carboidratos simples (*high-sucrose/ high-glucose/ high-fructose*), além da ‘dieta de cafeteria’. Essa última se

aproxima mais às condições alimentares humanas (BAYOL et al., 2005), porém a variedade de fontes de macronutrientes dificulta a interpretação do efeito isolado de cada componente nas consequências a longo prazo que venham a ocorrer na prole.

A fim de evitar essa dúvida, foi selecionada uma ração rica em lipídios, em sua maioria gordura animal saturada, para isolar o efeito deste componente. As dietas hiperlipídicas mais utilizadas possuem quantidade alta de lipídios, superiores a 40%, além de serem hipercalóricas em relação às rações padrão (BALLAL et al., 2010; COLE et al., 2011; SAMUELSSON et al., 2013b). Tais composições são mais visadas porque quanto maior o conteúdo lipídico na ração, mais rápido é o desenvolvimento da obesidade. DE WIT e colaboradores (2011) mostraram que os lipídeos na dieta possuem pronunciado efeito dose-dependente sobre o transcriptoma intestinal, modificando a expressão nos genes relacionados com o metabolismo de lipídios principalmente no intestino delgado, o que pode contribuir para o desenvolvimento mais intenso da obesidade quando as rações possuem alto teor de lipídeos em sua composição.

Para fugir das consequências deletérias do consumo da dieta hiperlipídica com alto teor energético advindo de gorduras, a dieta formulada e utilizada neste estudo é isocalórica e possui uma quantidade moderada de lipídios, apenas 20% a mais do que as rações normolipídicas. Sob essas condições, as matrizes alimentadas com dieta hiperlipídica não desenvolveram diferenças superiores a 5% de massa corporal nas semanas anteriores ao acasalamento, corroborando com publicações prévias do nosso grupo que utilizaram o mesmo modelo experimental (FRANCO et al., 2012).

Embora não hajam alterações na massa corporal, FRANCO e colaboradores (2012) observaram, através de análise DEXA (do inglês, “dual energy X-ray absorptiometry”), aumento da adiposidade nas matrizes em dieta hiperlipídica. Este fato também foi descrito por WOODS e colaboradores (2003) que submeteram ratos a dieta hiperlipídica.

Observamos que as matrizes em dieta hiperlipídica apresentaram redução considerável de 30 a 35% na ingestão alimentar. Tal fato já foi descrito anteriormente em ratos machos por WOODS e colaboradores (2003) e pode ser explicado pelo maior efeito de saciedade de dietas com maior teor lipídico, por causa da digestão mais lenta deste nutriente em comparação com dietas ricas em carboidratos, por exemplo, tornando as dietas *high-fat* mais eficientes em relação às calorias ingeridas (UHLEY & JEN, 1989; BLE-CASTILLO et al., 2012). Além disso, o consumo crônico de uma dieta *high-fat* leva a alterações adaptativas no trato gastrointestinal para favorecer uma melhor digestão e absorção de lipídios da dieta (DUCA et al., 2013), alterações essas que vão desde o aumento da captação e redução da excreção de gorduras até maior expressão de enzimas e hipertrofia da mucosa intestinal (SINGH et al., 1972; BALINT et al., 1980; COVASA, 2010), aumentando a eficiência energética e possibilitando uma menor ingestão alimentar sem que o fornecimento ideal de nutrientes seja alterado.

Em relação aos filhotes machos e fêmeas, ao nascimento não haviam alterações significativas de massa corporal entre a prole C e DH, corroborando com dados na literatura (FRANCO et al., 2012; DESAI et al., 2014; AINGE et al., 2011). A diferença de massa corporal entre as proles C e DH ocorre entre o final da primeira semana de lactação nos filhotes machos (prole DH apresentou aumento de 15-23%) e no início da segunda semana nos filhotes fêmeas (prole DH apresentou aumento de 13-17%). Além disso, os filhotes

machos da prole DH apresentaram massa corporal 5% superior em relação às fêmeas do mesmo grupo, a partir do 18º dia pós-natal.

KIRK e colaboradores (2009) já haviam demonstrado que o leite de ratas obesas da linhagem Sprague Dawley, em dieta rica em lipídeos e açúcares, apresentava maiores níveis de colesterol, ácidos graxos livres (com maior relação de ácidos graxos do tipo ômega 6 do que ômega 3), triglicerídeos e glicose entre o 9º e 11º dia de lactação.

Trabalho anterior do nosso grupo, utilizando o mesmo protocolo de obtenção das matrizes mostrou que a diferença de massa corporal entre animais machos das proles estudadas ocorre pela modificação na composição do leite com o fornecimento de dieta *high-fat* para as matrizes. No 11º dia de lactação, o leite das ratas do grupo DH apresentou maior concentração de lactose, triglicerídeos e colesterol, quando comparado ao leite das matrizes em dieta normolipídica, sem alterações na concentração de leptina. Esse aumento na taxa de colesterol e triglicerídeos permaneceu até o fim da lactação (FRANCO et al., 2012), sugerindo que a obesidade precoce dos animais programados pela dieta materna é uma consequência de alterações nas concentrações de macronutrientes no leite materno.

A curva de crescimento normal de ratos segue um padrão sigmoide e as diferenças na massa corporal entre machos e fêmeas começam a ser mais evidentes por volta dos 30 dias de idade (PAHL, 1969). No entanto, no nosso modelo experimental, os filhotes machos da prole DH apresentaram massa corporal 5% superior aos filhotes fêmeas a partir do 18º dia de idade. Sendo assim, a diferença observada no crescimento dos filhotes possui interação com a dieta materna e o sexo da prole.

Estudos em humanos indicam que, eventualmente, casos de restrição do crescimento fetal nas fases iniciais da gestação são acompanhados por aceleração no crescimento placentário e fetal no último trimestre da gestação, de forma a não alterar o peso do neonato ao nascimento (BLOISE et al., 2014). A restrição do crescimento intrauterino associado à aceleração do crescimento pode apresentar efeitos benéficos a curto prazo, mas possui efeitos adversos na função metabólica (ONG et al., 2000; IBANEZ et al., 2006, 2008), pressão arterial e função cardiovascular a longo prazo (HALES & OZANNE, 2003; ERIKSSON, 2006).

Evidências em macacos, ratos, suínos e ovelhas indicam que a obesidade materna retarda o crescimento placentário e fetal, levando ao aumento do risco de morbidade e mortalidade fetal (CASTRO & AVINA, 2002; WALLACE et al., 2003). Em macacos japoneses, o consumo materno de dieta hiperlipídica aumenta a concentração de citocinas inflamatórias e a expressão de receptores Toll-like 4 na placenta, independente do desenvolvimento de obesidade na matriz, e gera redução do fluxo sanguíneo no lado fetal da placenta. Além disso, uma condição de obesidade materna ou resistência insulínica podem exacerbar ainda mais a disfunção placentária (FRIAS et al., 2011).

Experimentos em roedores reforçam a idéia de que exista restrição do crescimento fetal durante o consumo materno de dieta hiperlipídica, pois é observado redução no peso das junções feto-placentárias (MARK et al., 2011). Dessa forma, é provável que, apesar de não apresentarem alterações da massa corporal ao nascimento, os filhotes da prole de ratas submetidas a dieta hiperlipídica apresentou algum grau de restrição do crescimento fetal e que, ao fornecer maiores níveis de lipídeos via leite materno, a curva de crescimento do

animal foi acelerada, e o estabelecimento da diferença de massa corporal entre machos e fêmeas antecipado.

Além do aumento de massa corporal, filhotes machos e fêmeas das matrizes DH apresentaram maiores reservas adiposas em todos os compartimentos avaliados, quando comparados aos filhotes das matrizes C. Esse fato tem sido descrito em outros trabalhos em ratos (WHITE et al., 2009; EMILIANO et al., 2011) e camundongos (ROTHER et al. 2012; TURDI et al., 2013), mostrando que o consumo materno de dieta hiperlipídica causa obesidade precoce na prole, mesmo que não haja o estabelecimento da obesidade materna (WOODS et al., 2003; FRANCO et al., 2012), sugerindo que o metabolismo da prole pode ser alterado pela ação direta da gordura saturada advinda do leite.

É bem estabelecido na literatura que a localização e o desenvolvimento dos depósitos de tecido adiposo durante a obesidade variam de acordo com o gênero e determinantes genéticos (VAGUE et al., 1974; BJORNTORP, 1996; BOUCHARD et al., 1993). Dessa forma, a obesidade abdominal é predominante no macho, enquanto a gordura subcutânea é mais desenvolvida em fêmeas (BJORNTORP, 1996). Além da localização, os depósitos de tecido adiposo visceral e subcutâneo também possuem distintas funções e ações metabólicas. Há maior produção de RNAm para leptina nos adipócitos subcutâneos (MONTAGUE et al., 1997) mas, por outro lado, o efeito lipolítico das catecolaminas é mais intenso nos adipócitos viscerais e acarreta maior mobilização de ácidos graxos livres pela lipólise a partir destes depósitos, ao comparar com depósitos subcutâneos (FONSECA-ALANIS et al., 2006). Também foi descrito que há maior taxa lipolítica basal em mulheres do que homens durante condições basais ou em curto período de jejum (MITTENDORFER et al., 2001). Tais informações sugerem que o acúmulo de tecido adiposo em reservatórios viscerais seja menor em fêmeas quando comparados aos reservatórios adiposos viscerais dos machos.

Em ratos, PUJOL e colaboradores (2003) demonstraram que os adipócitos do tecido perigonadal de fêmeas possuem maior capacidade lipolítica quando comparada aos machos e, conseqüentemente, fêmeas teriam maior taxa de *turnover* no tecido perigonadal, levando ao menor acúmulo de tecidos adiposos na região visceral. De forma coerente ao descrito na literatura, foi observado neste trabalho que os filhotes machos apresentaram maiores reservas de tecido adiposo no compartimento intracavitário (perigonadal e retroperitoneal) quando comparados aos filhotes fêmeas, indicando que, além da influência da dieta materna, o acúmulo de tecido adiposo nos compartimentos viscerais é influenciado pelo sexo do filhote. Apesar de dados na literatura indicarem que o acúmulo de tecido adiposo subcutâneo é superior em indivíduos do sexo feminino (BJORNTORP, 1996), o presente trabalho não demonstrou aumento na massa adiposa inguinal ao comparar machos e fêmeas da mesma prole. Dessa forma, tal efeito foi influenciado apenas pelo tipo de dieta materna.

O tecido adiposo marrom apresenta importante papel na homeostase nutricional, e nos estoques de tecido adiposo, em função da termogênese facultativa (LOWELL & FLIER, 1997). Camundongos geneticamente modificados que apresentam redução da quantidade de tecido adiposo marrom possuem intolerância à glicose, resistência insulínica (HAMANN et al., 1995) e aumento da susceptibilidade ao desenvolvimento de obesidade induzida por dietas (HAMANN et al., 1996). No presente trabalho, os filhotes da prole DH apresentaram aumento na quantidade de tecido adiposo marrom, independente do sexo do filhote.

A leptina é um hormônio produzido pelo gene *ob* e secretada principalmente pelo tecido adiposo branco. Por ser produzida no tecido adiposo, a concentração sérica de leptina possui correlação positiva com a adiposidade (MACÊDO et al., 2008). De fato, os filhotes machos e fêmeas das matrizes em dieta hiperlipídica que apresentaram maior acúmulo tecidos adiposos também eram hiperleptinêmicos quando comparados com os filhotes de matrizes em dieta padrão.

Além da ação no sistema nervoso central, a leptina também atua em tecidos periféricos, como placenta, adrenais, tireoide, coração e artérias (BJORBAEK & KANH, 2004). No coração, a leptina tem efeito hipertrófico em células cardíacas (RAJAPUROHITAM et al., 2003) e a produção intracardíaca do hormônio sugere ação autócrina e/ou parácrina nos cardiomiócitos (RAJAPUROHITAM et al., 2006). No presente estudo, utilizamos como indicativo de hipertrofia cardíaca o valor da massa do coração corrigida pelo comprimento da tíbia (YIN et al., 1982). Para confirmar a existência da hipertrofia cardíaca, nosso grupo pretende avaliar cortes histológicos do órgão. Observamos que os filhotes da prole DH apresentaram maior índice cardíaco quando comparado aos seus respectivos controles e que, analisando somente a massa do ventrículo, o índice seguia a mesma proporção. Ao levar em conta somente a massa atrial, entretanto, apenas os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram aumento em relação aos filhotes da prole C.

O tamanho atrial é influenciado pelo gênero, idade, índice de massa corporal ou obesidade, circunferência da cintura, triglicerídeos séricos, pressão arterial sistólica e possui correlação positiva com hipertrofia ventricular (GERDTS et al., 2002; TURKBAY et al., 2010), sendo de extrema relevância clínica na ocorrência de fibrilação atrial, infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca congestiva (BENJAMIN et al., 1995; GERDTS et al., 2002). Porém, são poucos os trabalhos acerca de alterações atriais em fêmeas. SASSON e colaboradores (1996) mostraram que o aumento do átrio esquerdo é frequente em indivíduos recém-obesos e normotensos, correlacionando-se com aumento da massa do ventrículo esquerdo, o que poderia refletir uma adaptação fisiológica do coração ao surgimento da obesidade. Em obesos hipertensos, além do aumento atrial esquerdo e hipertrofia ventricular esquerda, há prejuízo subclínico das funções sistólica e diastólica como precursor de disfunção cardíaca e insuficiência cardíaca (AJAYI et al., 2014).

As fêmeas da prole DH apresentaram aumento na massa atrial e também na ventricular aos 21 dias de idade. De acordo com os dados na literatura, tal aumento da massa atrial pode ser o início da resposta adaptativa do coração em função do surgimento da obesidade, que poderia ter levado às alterações na função sistólica observadas posteriormente, aos 30 dias de idade. No entanto, tal achado é comum em indivíduos hipertensos (AJAYI et al., 2014), fato que não foi observado neste modelo experimental. Além disso, o presente estudo avaliou a massa total dos átrios e não isoladamente.

Algumas disfunções ventriculares podem desenvolver aumento das pressões de enchimento ventricular, podendo levar a congestão hepática e pulmonar (BOCCHI et al., 2009). KIRIAZIS e colaboradores (2002) mostraram que a análise da massa dos pulmões e do fígado pode ser utilizada como parâmetro indireto de avaliação da congestão pulmonar e hepática, respectivamente, em consequência da insuficiência cardíaca (SCHMIDT-OTT & ASCHEIM, 2006).

Nossos resultados mostraram que somente filhotes machos da prole DH apresentaram aumento da massa pulmonar. Dados na literatura indicam que os machos desenvolvem maior grau de hipertrofia ventricular, pela falta da cardioproteção do estrogênio (HAINES et al., 2012) e, dessa forma, no nosso modelo os machos estariam mais propensos à congestão pulmonar do que as fêmeas. Por outro lado, trabalhos indicam que a condição de obesidade e diabetes materna aumentam a probabilidade de desenvolvimento de doenças pulmonares obstrutivas crônicas na prole (NOHR et al., 2012) e hipertensão pulmonar persistente (HERNANDEZ-DIAZ et al., 2007). Dessa forma, a alteração na massa pulmonar observada nos machos pode ser consequência de processos congestivos derivados tanto da hipertrofia cardíaca quanto de processos obstrutivos e fibróticos. Assim, somente a análise da massa pulmonar não é suficiente para que saibamos a origem das alterações observadas e por esse motivo, nosso grupo pretende avaliar cortes histológicos do órgão.

Quanto à massa de tecido hepático, foi observado que os filhotes de ambos os sexos da prole DH apresentaram maior massa do fígado, sendo esta uma consequência da dieta hiperlipídica materna, e não do gênero do filhote. RODRIGUES e colaboradores (2009), ao estudar um modelo de obesidade por redução do número de filhotes da ninhada, observaram que esses animais, ao desmame, apresentavam maior conteúdo de tecido adiposo, triglicerídeos, insulina, leptina e glicose séricas. Na vida adulta, esses ratos exibiram importantes alterações hepáticas, como maior massa do órgão, 79% mais conteúdo de glicogênio e 49% a mais triglicerídeos em relação aos animais controles, bem como microesteatose (RODRIGUES et al., 2009; CONCEIÇÃO et al., 2013). TREVENZOLI e colaboradores (2010) mostraram que ratos programados por hiperleptinemia neonatal apresentaram, na fase adulta, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, hipoadiponectinemia, maior concentração sérica de triglicerídeos e maior conteúdo hepático de glicogênio, além de microesteatose hepática.

Devido ao alto fornecimento de nutrientes derivados de lipídeos no leite materno (FRANCO et al., 2012) e ao acúmulo de tecido adiposo em todos os compartimentos avaliados, é possível que o maior peso hepático encontrado nos filhotes machos e fêmeas da prole DH seja devido a alterações no metabolismo da glicose e/ou lipídios, com consequente acúmulo precoce de glicogênio e/ou lipídeos no interior do órgão. Porém, vale ressaltar que os animais onde tais alterações foram observadas são adultos, com 150 e 180 dias de idade (RODRIGUES et al., 2009; CONCEIÇÃO et al., 2013; TREVENZOLI et al., 2010), enquanto neste trabalho os animais em estudo são filhotes de 21 dias. Dessa forma, nosso grupo pretende avaliar cortes histológicos do fígado dos filhotes machos e fêmeas ao desmame, para definir as causas do aumento na massa do órgão.

É bem descrito na literatura que a leptina estimula a produção de hormônios tireoideanos a nível hipotalâmico, hipofisário e na própria glândula (LEGRADI et al., 1997; ORTIGA-CARVALHO et al., 2002; NOWAK et al., 2002). Tem sido observado que animais programados por hiperleptinemia neonatal durante a lactação possuem aumento da função tireoideana na vida adulta (TEIXEIRA et al., 2003; TOSTE et al., 2006a). Trabalho anterior do nosso grupo com o mesmo modelo experimental mostrou que os filhotes machos da prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica apresentaram altas concentrações de T₃ total e T₄ livre ao desmame (FRANCO et al., 2012).

Os hormônios tireoideanos possuem enorme influência sobre a função cardíaca, exercendo suas ações principalmente pela via genômica. Consequentemente, deficiências ou

excesso de HT são responsáveis por alterações cardíacas (KLEIN & OJAMAA, 2001; VARGAS-URICOECHEA et al., 2014). O T₃, forma ativa dos HT, exerce sua função genômica a partir da sua ligação com receptores de hormônio tireoideano, que são fatores de transcrição (MULLUR et al., 2014).

A isoforma alfa-1 do TR (TR α_1) é predominantemente expressa no miocárdio e regula genes importantes relacionados à função contrátil, atividade marcapasso e de condução do impulso elétrico (GLOSS et al., 2001; LIN et al., 2013; FLAMANT & GAUTIER, 2013). Alguns desses genes são positivamente regulados, como o gene responsável por codificar a bomba de Ca²⁺-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA-2), o receptor β_1 -adrenérgico (β_1 -AR) e o gene codificador da isoforma alfa da cadeia pesada de miosina (α -MHC), enquanto outros são negativamente regulados, como os genes codificadores da fosfolamban (PLB) e o que codifica a isoforma beta da cadeia pesada de miosina (β -MHC) (BALKMAN et al., 1992; KLEIN & DANZI, 2007; DANZI et al., 2008).

No presente trabalho, observamos maior expressão proteica do receptor TR α_1 no ventrículo dos filhotes machos da prole DH, em relação aos seus controles ao desmame. Além disso, FRANCO e colaboradores (2012) descreveram que os machos da prole DH apresentam aumento das concentrações séricas de T₃ e T₄. Possivelmente, a maior concentração dos HT associada a maior expressão ventricular do TR α_1 promoveriam aumento nas velocidades de contração e relaxamento, aumento da força contrátil, aumento da frequência cardíaca e contribuiriam no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. Essas alterações aumentariam sobremaneira o trabalho cardíaco e favoreceriam o desenvolvimento de insuficiência cardíaca, e, conseqüentemente, congestão pulmonar e/ou hepática. Nesse contexto, as alterações observadas na massa pulmonar dos filhotes machos podem ter ocorrido por esse motivo.

Os filhotes fêmeas da prole DH não apresentaram alterações na expressão ventricular do TR α_1 , o que poderia descartar a influência dos HT nos resultados obtidos. No entanto, cabe salientar que ainda não analisamos as concentrações séricas dos HT na prole fêmea e, portanto, não podemos descartar a participação deste hormônio na hipertrofia observada.

A isoforma beta-1 do TR (TR β_1) é a isoforma menos expressa no coração e, assim como o TR α_1 , também possui papel na regulação de proteínas contráteis (GLOSS et al., 2001). Mutações específicas que inativam o TR β cardíaco levam a poucas alterações na função cardíaca de camundongos (SWANSON et al., 2003), mostrando menor contribuição nos efeitos hipertróficos cardíacos desta isoforma em comparação com o TR α_1 , possivelmente pela menor densidade de receptores da isoforma beta (FLAMANT & GAUTIER, 2013). Ao investigarmos alterações na expressão ventricular do receptor TR β_1 nos filhotes da prole DH, não vimos qualquer diferença entre os machos e as fêmeas. Este trabalho é o primeiro a investigar a expressão dos TRs em modelos de programação por consumo materno de dieta hiperlipídica.

Neste estudo, os filhotes machos da prole DH não apresentaram alterações na expressão ventricular do receptor β_1 -AR. Esse dado é interessante, uma vez que FRANCO e colaboradores (2012) demonstraram aumento na concentração sérica de HT. Conforme descrito na literatura, o T₃ estimula a expressão cardíaca de β_1 -AR no coração (KLEIN & DANZI, 2007). Uma possível explicação seria *down-regulation* desses receptores. Embora já tenha sido descrito aumento na expressão cardíaca do β_1 -AR (BLACKMORE et al., 2014),

diferenças quanto à espécie (ratos x camundongos) e idade (21 dias x 84 dias de idade) estudada podem explicar essa discrepância.

Quanto aos filhotes fêmeas da prole DH, estes apresentaram expressão ventricular do β 1-AR 93% superior em relação à prole C. Tal alteração poderia levar ao aumento na sensibilidade cardíaca ao sistema simpato-adrenérgico, aumentando a força de contração cardíaca e contribuindo para o aumento de massa observada no ventrículo. A superexpressão cardíaca do β 1-AR em camundongos promove cardiopatias, dilatações de câmaras cardíacas e disfunção sistólica (ENGELHARDT et al., 1999), e o tratamento de cardiomiócitos com drogas beta agonistas leva à apoptose celular (COMMUNAL et al., 1998). Dessa forma, o aumento da expressão proteica do β 1-AR pode comprometer a função cardíaca a longo prazo nos filhotes fêmeas.

Com base nos dados observados e na literatura, consideramos que os filhotes machos possuem, já ao desmame, alto risco de desenvolvimento de alterações na função cardíaca. O estabelecimento da obesidade, hiperleptinemia, e o aumento da expressão proteica de $TR\alpha_1$ associado ao excesso de HT favorecem o estabelecimento de maior força de contração pela maior expressão de proteínas relacionadas à maquinaria contrátil dos cardiomiócitos, o que acarretaria em maior trabalho cardíaco. Tais fatores contribuiriam para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, sugerida pelo aumento do índice de hipertrofia do órgão (KLEIN & OJAMAA, 2001), e a permanência desses fatores pode provocar disfunções cardíacas.

Nos filhotes fêmeas, os efeitos deletérios ao sistema cardiovascular poderiam ser mediados pelo aumento da expressão proteica do β 1-AR no ventrículo. Tal alteração, associada ao aparecimento da obesidade e hiperleptinemia poderia ter levado à hipertrofia observada, tanto em ventrículos quanto na massa cardíaca total. Além disso, alterações na massa atrial poderiam ser atribuídas a efeitos diretos da leptina sobre os cardiomiócitos atriais, visto que PURDHAM e colaboradores (2004) evidenciaram maior concentração de receptores para leptina no átrio, especialmente em fêmeas. Esses fatores poderiam contribuir para o surgimento de disfunções cardíacas precoces nos filhotes.

Embora os filhotes da prole DH apresentem alto risco de desenvolvimento de alterações na função cardíaca, nossos dados apontam que tais alterações também seriam causadas por mecanismos distintos entre machos e fêmeas.

Com a finalidade de investigar se a dieta hiperlipídica materna é capaz de alterar a função cardíaca da prole, foram realizadas análises ecocardiográficas e eletrocardiográficas, além do estudo da variabilidade da frequência cardíaca e a mensuração da pressão arterial. No entanto, tais experimentos não puderam ser realizados nos filhotes ao desmame. O estresse de manipulação dos animais para a execução dos experimentos poderiam causar interferências significativas nas análises do sistema cardiovascular, principalmente nas análises eletrocardiográficas, na análise espectral da variabilidade de frequência cardíaca e na plestimografia de cauda, visto que tais técnicas são realizadas com os animais não anestesiados. Além disso, tais manipulações seriam somadas ao estresse de separação materna das ninhadas e à separação dos filhotes machos e fêmeas. Por esses motivos, os filhotes das proles C e DH foram submetidos às análises funcionais aos 30 dias de idade.

Em humanos, a obesidade, o fumo materno e o não aleitamento materno têm sido associados com o aumento de peso corporal em adolescentes (OKEN, 2009; WANG et al., 2014). Ao avaliar a massa corporal dos filhotes jovens da prole C e DH, aos 30 dias de idade,

não foi observado diferença entre os machos e fêmeas da prole DH, em relação aos seus respectivos controles. Em modelos neonatais de hiperleptinemia em ratos, a literatura não mostra alterações da massa corporal entre os filhotes machos e fêmeas aos 30 dias de idade (YIM et al., 2012; SAMUELSSON et al., 2013b).

Em camundongos da linhagem C57BL/6J, o consumo de dieta rica em lipídeos e açúcares, desde antes da concepção até o final da lactação, foi capaz de alterar a massa corporal dos filhotes machos e fêmeas aos 30 dias de idade, e os filhotes desenvolveram obesidade (SAMUELSSON et al., 2008). No entanto, utilizando o mesmo modelo experimental, BLACKMORE e colaboradores (2014) não foram capazes de reproduzir os dados, e a prole macho não apresentou alteração de massa corporal aos 35 dias de idade. Tal fato deve-se possivelmente à necessidade de, no segundo trabalho, a prole da primeira gestação ter sido sacrificada para estudo dos animais durante o desmame e, portanto, os filhotes mantidos até os 35 dias de idade foram advindos da segunda gestação (BLACKMORE et al., 2014). Essa pequena mudança no protocolo experimental deixou as fêmeas expostas por mais tempo à dieta obesogênica, e tal mudança pode ser a responsável pela perda do fenótipo anteriormente observado por SAMUELSSON e colaboradores (2008) na prole jovem. Já o fornecimento de dieta rica somente em açúcares (*high-sucrose*) em camundongos leva a hiperfagia da prole macho e fêmea aos 30 dias de idade, mas o incremento na massa corporal é exclusiva na prole fêmea (SAMUELSSON et al., 2013a).

Em ratos, o fornecimento de dieta hiperlipídica (desde antes da concepção até o final da lactação) a ratas da linhagem Sprague-Dawley é capaz de gerar aumento na massa corporal dos seus filhotes aos 30 dias de idade (SRINIVASAN et al., 2006), fato que não ocorre quando a dieta fornecida para essa linhagem experimental é rica em lipídeos e açúcares (SAMUELSSON et al., 2010). No nosso modelo, a prole jovem de ratas Wistar submetidas a dieta hiperlipídica não apresentou alterações de massa corporal. Dessa forma, as diversas composições de dieta materna, a espécie e linhagem em estudo e o tempo de administração da dieta são os prováveis responsáveis pelas discrepâncias encontradas na literatura sobre o desenvolvimento da obesidade na prole jovem.

Ao investigarmos a função cardíaca através do ecocardiograma, observamos que os filhotes machos da prole DH apresentam aumento da área interna (10%) e da massa do VE (28%), sem alteração da espessura do septo intraventricular e da dimensão da parede posterior do VE em sístole. Tais dados sugerem que os filhotes machos da prole DH tenham desenvolvido hipertrofia ventricular excêntrica. Ao analisarmos a função sistólica da prole de machos jovens, observamos diminuição na fração de ejeção (5%), sem alterações no percentual de encurtamento, volume de ejeção ou volume sistólico final. Esses dados indicam que a redução na fração de ejeção não gera prejuízo na função sistólica, talvez pela hipertrofia observada.

Ao analisar a função cardíaca da prole fêmea, não foram observadas alterações referentes à geometria do coração. No entanto, a análise da função sistólica demonstrou redução da fração de ejeção (9%) sem alterações no percentual de encurtamento e no volume de ejeção e aumento do volume sistólico final (33%), indicando comprometimento da função sistólica.

Após o desmame, os filhotes de ambas as proles consumiram somente dieta normolipídica. Aos 30 dias de idade, os animais da prole DH não apresentaram variação no

peso corporal em relação aos filhotes controles. No entanto, ao analisar a função cardíaca através do ecocardiograma, a prole fêmea apresenta prejuízo na função sistólica enquanto os filhotes machos parecem compensar com a hipertrofia.

Poucos trabalhos investigam se o consumo materno de dieta obesogênica prejudica a função cardíaca da prole jovem. O único estudo descrito demonstra que, em camundongos, o consumo materno de dieta rica em lipídeos e açúcares não promoveu alterações na estrutura cardíaca da prole jovem do sexo masculino (BLACKMORE et al., 2014). Os dados observados nos machos da prole DH foram discrepantes a estes, mas cabe resaltar que existem diferenças entre as espécies estudadas e a composição da dieta consumida pela matriz.

Nenhum relato na literatura correlaciona o consumo materno de dieta obesogênica com a função cardíaca de filhotes jovens do sexo feminino. No nosso modelo, os filhotes da prole DH apresentam hiperleptinemia ao desmame e, nesse contexto, podem apresentar similaridades com modelos neonatais de hiperleptinemia. SAMUELSSON e colaboradores (2013b) demonstraram que a hiperleptinemia neonatal leva ao surgimento de hipertrofia ventricular e prejuízo na função sistólica somente em fêmeas aos 30 dias de idade. No nosso modelo, a hipertrofia não foi observada nas fêmeas jovens e a função sistólica foi mais prejudicada do que no modelo de hiperleptinemia neonatal. Tais discrepâncias podem ser justificadas pelo diferente desenho experimental, pela linhagem escolhida para o estudo (Wistar x Sprague-Dawley) e pelo aumento na massa corporal observado por SAMUELSSON e colaboradores (2013b), que não foi observado no nosso modelo.

Evidências epidemiológicas não demonstram alterações na duração de ondas e intervalos do eletrocardiograma fetal de mães com alto IMC (GRAATSMA et al., 2010). Dados experimentais acerca de alterações na condução elétrica da prole de fêmeas em dieta hiperlipídica não foram encontrados na literatura e, dessa forma, o presente trabalho é o primeiro a avaliar a duração das ondas e intervalos eletrocardiográficos na prole jovem. Aos 30 dias de idade, não foram observadas quaisquer alterações na frequência cardíaca e na condução elétrica dos filhotes machos e fêmeas de ratas submetidas à dieta hiperlipídica.

A hiperleptinemia no período neonatal pode ser capaz de induzir a resistência a este hormônio no ARC, que passaria a agir predominantemente no VMH, núcleo responsável por aumentar a atividade simpática no sistema cardiovascular (SATO et al., 1999). Os modelos experimentais de programação que envolvem hiperleptinemia neonatal e dietas maternas obesogênicas e avaliam a prole jovem encontrados na literatura demonstram aumento do tônus simpático (SAMUELSSON et al., 2013b; BLACKMORE et al., 2014; SAMUELSSON et al., 2010). No nosso modelo, a prole DH não apresentou qualquer alteração no tônus simpático, observado através da análise espectral da variabilidade da frequência cardíaca. No entanto, os modelos experimentais comparados são distintos. SAMUELSSON e colaboradores (2013b) não manipulam a dieta materna, e a hiperleptinemia neonatal é decorrente de injeções diárias durante a lactação e os filhotes jovens são obesos. Nos outros modelos descritos, há manipulação da dieta materna. No entanto, a composição destas não é semelhante à ração hiperlipídica utilizada no nosso modelo: ambos os trabalhos descritos utilizam dieta rica não somente em lipídeos, como também em açúcares simples e tal diferença na composição da dieta pode ter ocasionado divergências nos resultados observados com o nosso modelo, mesmo que os animais não tenham apresentado alterações de massa corporal (BLACKMORE et al., 2014; SAMUELSSON et al., 2010).

O aumento no tônus simpático também está relacionado ao surgimento da hipertensão arterial. Dessa forma, os mesmos trabalhos mencionados anteriormente observam incremento na pressão arterial da prole jovem, tanto em machos quanto em fêmeas (SAMUELSSON et al., 2013b; BLACKMORE et al., 2014; SAMUELSSON et al., 2010). No entanto, no nosso modelo experimental não foram observadas alterações entre as proles jovens C e DH nos valores de pressão arterial sistólica, diastólica ou média.

Os dados observados no nosso modelo acerca da variabilidade da frequência cardíaca e dos valores de pressão arterial demonstram que o consumo materno de dieta hiperlipídica não leva a alterações precoces no tônus simpático da prole.

Nossos dados demonstram que os animais da prole DH não apresentaram maior massa corporal em relação aos filhotes controles aos 30 dias de idade. As alterações moleculares sexo-específicas observadas ao desmame podem ter contribuído para o desenvolvimento de disfunções precoces na função sistólica, sem que haja a participação do tônus simpático. Tais alterações moleculares levariam ao desenvolvimento de mecanismos, que apesar de distintos, poderiam promover as mesmas disfunções cardíacas entre machos e fêmeas. No entanto, os machos desenvolveram uma resposta adaptativa através da hipertrofia e, com isso, a disfunção sistólica não foi evidente aos 30 dias de idade.

A associação entre eventos adversos que causam programação metabólica e o surgimento de doenças cardiovasculares a curto e longo prazo tem sido atribuída, entre outros fatores, à nutrição materna, sendo o consumo de alimentos ricos em lipídeos de grande importância, visto que a entrada de mulheres no mercado de trabalho muitas vezes implica em má nutrição das mesmas na idade reprodutiva. Dessa forma, o desenvolvimento de modelos experimentais para o estudo das consequências da nutrição materna a curto e longo prazo é importante para que sejam desvendados os mecanismos moleculares por trás da programação e, uma vez delineados, tais mecanismos podem ser a chave do desenvolvimento de novas terapêuticas para tratamento e prevenção das alterações cardiovasculares na prole.

7 CONCLUSÃO

O consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de promover aumento da massa corporal, adiposidade, hiperleptinemia e aumento da massa do coração em filhotes machos e fêmeas ao desmame. Esta dieta aumenta a expressão do $TR\alpha_1$ nos filhotes machos, o que não é observado nos filhotes fêmeas. Nestas, a dieta hiperlipídica materna promove aumento da expressão do β_1 -AR. Essas alterações sexo-específicas observadas, ao desmame, podem contribuir para o desenvolvimento de disfunções precoces na função cardíaca das fêmeas, sem que haja aumento do tônus simpático e aumento da massa corporal da prole. A prole macho, embora apresente um déficit na fração de ejeção, possui adaptações fisiológicas que impedem prejuízos na função cardíaca, indicando que as fêmeas apresentam maior predisposição à danos na função cardíaca na fase jovem.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, E. D.; KAULBACH, H. C.; TIAN, R.; HOPKINS, J. C.; DUFFY, J.; DOETSCHMAN, T.; MINNEMANN, T.; BOERS, M. E.; HADRO, E.; OBERSTE-BERGHAUS, C.; QUIST, W.; LOWELL, B. B.; INGWALL, J. S.; KAHN, B. B. Cardiac hypertrophy with preserved contractile function after selective deletion of GLUT4 from the heart. **J. Clin. Invest.**, v. 104, p. 1703–1714, 1999.

AHIMA, R. S. Central actions of adipocyte hormones. **Trends Endocrinol Metab**, v.16, p. 307-313, 2005.

AINGE, H.; THOMPSON, C.; OZANNE, S. E.; ROONEY, K. B. A systematic review on animal models of maternal high fat feeding and offspring glycaemic control. **International Journal of Obesity**, v. 35, p. 325–335, 2011.

AJAYI, E. A.; AJAYI, A. O.; AJAYI, I. A.; ADEGUN, P. T.; ADEOTI, O. A.; OMOTOYE, O. J. Echocardiographic left atrial and ventricular structural changes in nigerian obese hipertensive patients seen in clinical practice. **Journal of Cardiovascular Disease Research**, v. 5, n. 2, 2014.

AKHTER, S. A.; SKAER, C. A.; KYPSON, A. P.; MCDONALD, P. H.; PEPPEL, K. C.; GLOWER, D. D.; LEFKOWITZ, R. J.; KOCH, W. J. Restoration of beta-adrenergic signaling in failing cardiac ventricular myocytes via adenoviral-mediated gene transfer. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, n. 94, p. 12100–12105, 1997.

ALIPOUR, A.; ELTE, J. W.; VAN ZAAANEN, H. C.; RIETVELD, A. P.; CASTRO-CABEZAS, M. Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. **Atheroscler. Suppl**, n. 9, p. 39–44, 2008.

ALMEIDA, N. A. S.; CORDEIRO, A.; MACHADO, D. S.; SOUZA, L. L.; ORTIGA-CARVALHO, T. M.; CAMPOS-DE-CARVALHO, A. C.; WONDISFORD, F.; PAZOS-MOURA, C.C. Connexin40 mRNA is positively regulated by thyroid hormone acting in cardiac atria via thyroid hormone receptor. **Endocrinology**, v. 150, p. 546-554, 2009.

ANDERSON, L. M.; RIFFLE, L.; WILSON, R.; TRAVLOS, G. S.; LUBOMIRSKI, M. S.; ALVORD, W. G. Preconceptional fasting of fathers alters serum glucose in offspring of mice. **Nutrition**, v. 22, p. 327–331, 2006.

BALE, T. L. Sex differences in prenatal epigenetic programming of stress pathways. **Stress**, v. 14, p. 348-356, 2011.

BALINT, J. A.; FRIED, M. B.; IMAI, C. Ileal uptake of oleic acid: evidence for adaptive response to high fat feeding. **Am J Clin Nutr**, v. 33, n.11, p. 2276–80, 1980.

BALKMAN, C.; OJAMAA, K.; KLEIN, I. Time course of the in vivo effects of thyroid hormone on cardiac gene expression. **Endocrinology**, v. 130, p. 2001–2006, 1992.

BALLAL, K.; WILSON, C. R.; HARMANCEY, R.; TAEGTMEYER, H. Obesogenic high fat western diet induces oxidative stress and apoptosis in rat heart. **Mol Cell Biochem**, v. 344, p. 221–230, 2010.

BARKER D. J.; WINTER, P. D.; OSMOND, C.; MARGETTS, B.; SIMMONDS, S. J. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **Lancet**, v. 2, n. 8663, p. 577-80, Set-1989.

BARKER, D. J. The fetal origins of diseases of old age. **Eur. J. Clin. Nutr**, v. 46, s. 3, p. S3-S9, 1992.

BARKER, D. J. The fetal and infant origins of adult disease. **BMJ**, v. 301, p. 1111, Nov-1990.

BARON, A. D.; CLARK, M. G. Role of blood flow in the regulation of muscle glucose uptake. **Annu Rev Nutr**, v. 17, p. 487–499, 1997.

BARON, A. D. Insulin and the vasculature. Old actors, new roles. **J Investig Med**, v. 44, p. 406 – 412, 1996.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; STICKLAND, N. C. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **Journal of Physiology**, v. 567, n. 3, p. 951–961, 2005.

BELKE, D. D.; LARSEN, T. S.; GIBBS, E. M.; SEVERSON, D. L. Glucose metabolism in perfused mouse hearts overexpressing human GLUT-4 glucose transporter. **Am. J. Physiol.**, n. 280, p. E420–E427, 2001.

BELKE, D. D.; SEVERSON, D. L. Diabetes in mice with monogenic obesity: the db/db mouse and its use in the study of cardiac consequences. **Methods Mol Biol**, v. 933, p. 47–57, 2012.

BELL, C. G.; WALLEY, A. J.; FROGUEL, P. The genetics of human obesity. **Nat.Rev. Genet**, v. 6, p. 221–23, 2005.

BELLINGER, L.; LILLEY, C.; LANGLEY-EVANS, S. C. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. **Br J Nutr**, v. 92, p. 513–520, 2004.

BELTOWSKI, J.; WÓJCICKA, G.; MARCINIAK, A.; JAMROZ, A. Oxidative stress, nitric oxide production, and renal sodium handling in leptin-induced hypertension. **Life Sci**, v. 74, n. 24, p. 2987-3000, Abr-2004.

BENEDIKTSSON, R.; LINDSAY, R. S.; NOBLE, J.; SECKL, J. R.; EDWARDS, C. R. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. **Lancet**, v. 341, n. 8841, p. 339–341, 1993

BENJAMIN, E. J.; D'AGOSTINO, R. B.; BELANGER, A. J.; WOLF, P. A.; LEVY, D. Left atrial size and the risk of stroke and death: the Framingham Heart Study. **Circulation**, v.92, p.835–841, 1995.

BEN-SHLOMO, Y.; KUH, D. A life course approach to chronic disease epidemiology: conceptual models, empirical challenges and interdisciplinary perspectives. **Int J Epidemiol**, v.31, p.285–93, 2002.

BERRY, M. F.; PIROLI, T. J.; JAYASANKAR, V.; BURDICK, J.; MORINE, K. J.; GARDNER, T. J.; WOO, Y. J. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. **Circulation**, v. 110, p. 187–193, 2004.

BERTRAND, L.; HORMAN1, S.; BEAULOYE, C.; VANOVERSCHELDE, J-L. Insulin signalling in the heart. **Cardiovascular Research**, v. 79, p. 238–248, 2008.

BJORBAEK, C.; KAHN, B. B. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. **Recent Prog Horm Res**, v.59, p. 305–33, 2004.

BJORNTORP, P. The regulation of adipose tissue distribution in humans. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 20, p. 291–302, 1996.

BLACKMORE, H. L.; NIU, Y; FERNANDEZ-TWINN, D. S.; TARRY-ADKINS, J. L.; GIUSSANI, D. A.; OZANNE, S. E. Maternal Diet-induced Obesity Programs Cardiovascular Dysfunction in Adult Male Mouse Offspring Independent of Current Body Weight. **Endocrinology**, v. 155, p. 3970–3980, 2014.

BLE-CASTILLO, J. L.; APARICIO-TRAPALA, M. A.; JUÁREZ-ROJOP; I. E.; TORRES-LOPEZ, J. E.; MENDEZ, J. D.; AGUILAR-MARISCAL, H.;OLVERA-HERNÁNDEZ, V.; PALMA-CORDOVA, L. C.; DIAZ-ZAGOYA, J. C. Differential Effects of High-Carbohydrate and High-Fat Diet Composition on Metabolic Control and Insulin Resistance in Normal Rats. **Int J Environ Res Public Health**, v. 9, p. 1663-1676, 2012.

BLOISE, E.; FEUER, S. K.; RINAUDO, P. F. Comparative intrauterine development and placental function of ART concepti: implications for human reproductive medicine and animal breeding. **Hum Reprod Update**, v. 20, n. 6, p. 822-39, Nov-2014.

BOCCHI, E. A.; MARCONDES-BRAGA, F. G.; AYUB-FERREIRA, S. M.; ROHDE, L. E.; OLIVEIRA, W. A.; ALMEIDA, D. R.; COLS. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n.1 s.1, p. 1-71, 2009.

BORISOV, A. B.; USHAKOV, A. V.; ZAGORULKO, A. K.; NOVIKOV, N. Y.; SELIVANOVA, K. F.; EDWARDS, C. A.; RUSSELL, M. W. Intracardiac lipid accumulation, lipoatrophy of muscle cells and expansion of myocardial infarction in type 2 diabetic patients. **Micron**, v. 39, p.944– 951, 2008.

BOUCHARD, C.; DESPRES, J. P.; MAURIEGE, P. Genetic and nongenetic determinants of regional fat distribution. **Endocr Rev**, v. 14, p. 72–93, 1993.

BOULOUMIÉ, A.; DREXLER, H. C. A.; LAFONTAN, M.; BUSSE, R. Leptin, the product of Ob gene, promotes angiogenesis. **Circ. Res**, v. 83, p. 1059–1066, 1998.

BOURGOIN, F.; BACHELARD, H.; BADEAU, M.; MÉLANÇON, S.; PITRE, M.; LARIVIÉRE, R.; NADEAU, A. Endothelial and vascular dysfunctions and insulin resistance

in rats fed a high-fat, high-sucrose diet. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 295, p. H1044–H1055, 2008.

BRAVO, P. E.; MORSE, S.; BORNE, D. M.; AGUILAR, E. A.; REISIN, E. Leptin and hypertension in obesity. **Vascular Health and Risk Management**, v. 2, n. 2, p. 163–169, 2006.

BRINGHENTI, I.; MORAES-TEIXEIRA, J. A.; CUNHA, M. R.; ORNELLAS, F.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; AGUILA, M. B. Maternal obesity during the preconception and early life periods alters pancreatic development in early and adult life in male mouse offspring. **PLoS One**, v. 8, n. 1, p. e55711, 2013.

BRUIN, J. E.; KELLENBERGER, L. D.; GERSTEIN, H. C.; MORRISON, K.; HOLLOWAY, A. C. Fetal and neonatal nicotine exposure and postnatal glucose: identifying critical windows of exposure. **J. Endocrinol**, v. 194, p. 171–178, 2007.

BUROKER, N. E.; YOUNG, M. E.; WEI, C.; SERIKAWA, K.; GE, M.; NING, X. H.; PORTMAN, M. A. The dominant negative thyroid hormone receptor beta mutant {Delta} 337T alters PPAR {alpha} signaling in heart. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 292, p. e453–e460, 2007.

BURTON, P. J.; WADDELL, B. J. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase in the rat placenta: developmental changes and the effects of altered glucocorticoid exposure. **J Endocrinol.**, v. 143, n. 3, p. 505-13, 1994.

BUXTON, I. L.; BRUNTON, L. L. Direct analysis of beta-adrenergic receptor subtypes on intact adult ventricular myocytes of the rat. **Circ. Res.**, v. 56, p. 126–132, 1985.

CAMM, E.; HANSELL, J.; KANE, A.; HERRERA, E.; LEWIS, C.; WONG, S.; MORRELL, N. W.; GIUSSANI, D. A. Partial contributions of developmental hypoxia and undernutrition to prenatal alterations in somatic growth and cardiovascular structure and function. **Am J Obstet Gynecol**, v. 203, n. 495, p. e24–e34, 2010.

CARLEY, A. N.; SEVERSON, D. L. Fatty acid metabolism is enhanced in type 2 diabetic hearts. **Biochim Biophys Acta**, v. 1734, p. 112–126, 2005.

CARONE, B. R.; FAUQUIER, L.; HABIB, N.; SHEA, J. M.; HART, C. E.; LI, R.; BOCK, C.; LI, C.; GU, H.; ZAMORE, P. D.; MEISSNER, A.; WENG, Z.; HOFMANN, H. A.; FRIEDMAN, N.; RANDO, O. J. Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. **Cell**, n. 143, p. 1084–1096, 2010.

CASTRO-CABEZAS, M.; ERKELENS, D.W. The direct way from gut to vessel wall: Atheroinitiation. **Eur. J. Clin. Invest**, n. 28, p. 504–505, 1998.

CASTRO, L. C.; AVINA, R. L. Maternal obesity and pregnancy outcomes. **Curr. Opin. Obstet. Gynecol**, n. 14, p. 601–606, 2002.

CERSOSIMO, E.; DE FRONZO, R. A. Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to CV diseases. **Diabetes Metab Res Rev**, n. 22, p. 423–436, 2006.

CHAVARRO, J. E.; FURTADO, J.; TOTH, T. L.; FORD, J.; KELLER, M.; CAMPOS, H.; HAUSER, R. Trans-fatty acid levels in sperm are associated with sperm concentration among men from an infertility clinic. **Fertil Steril**, n. 95, p. 1794–1797, 2011.

CHEN, W. J.; KELLY, R. B. Effect of prenatal or perinatal nicotine exposure on neonatal thyroid status and offspring growth in rats. **Life Sci**, n. 76, p. 1249–1258, 2005.

CHRISTOFFERSEN, C.; BOLLANO, E.; LINDEGAARD, M. L.; BARTELS, E. D.; GOETZE, J. P.; ANDERSEN, C. B.; NIELSEN, L. B. Cardiac lipid accumulation associated with diastolic dysfunction in obese mice. **Endocrinology**, v. 144, p. 3483–3490, 2003.

COLE, M. A.; MURRAY, A. J.; COCHLIN, L. E.; HEATHER, L. C.; MCALEESE, S.; KNIGHT, N. S.; SUTTON, E.; JAMIL, A. A.; PARASSOL, N.; CLARKE, K. A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. **Basic Res Cardiol**, v. 106, p. 447–457, 2011.

COMMUNAL, C.; SINGH, K.; PIMENTAL, D. R.; COLUCCI, W. S. Norepinephrine stimulates apoptosis in adult rat ventricular myocytes by activation of the β -adrenergic receptor. **Circulation**, v. 98, p. 1329–1334, 1998.

CONCEIÇÃO, E. P. S.; MOURA, E. G.; TREVENZOLI, I. H.; PEIXOTO-SILVA, N.; PINHEIRO, C. R.; YOUNES-RAPOZO, V.; OLIVEIRA, E.; LISBOA, P. C. Neonatal overfeeding causes higher adrenal catecholamine content and basal secretion and liver dysfunction in adult rats. **Eur J Nutr**, v. 52, p. 1393–1404, 2013.

COVASA, M. Deficits in gastrointestinal responses controlling food intake and body weight. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 299, n. 6, p. 1423–39, 2010.

CRISTANCHO, A. G.; LAZAR, M. A. Forming functional fat: A growing understanding of adipocyte differentiation. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 12, p. 722–734, 2011.

CROWLEY, V. E.; YEO, G. S.; O'RAHILLY, S. Obesity therapy: altering the energy intake-and-expenditure balance sheet. **Nat Rev Drug Discov**, v. 1, n. 4, p. 276–86, 2002.

DANZI, S.; KLEIN, S.; KLEIN, I. Differential regulation of myosin heavy chain genes a and b in the rat atria and ventricles: role of antisense RNA. **Thyroid**, v.18, n. 7, p. 761–8, 2008.

DE WIT, N. J. W.; BOEKSCHOTEN, M. V.; BACHMAIR, E-M.; HOOIVELD, G. J. E. J.; DE GROOT, P. J.; RUBIO-ALIAGA, I.; DANIEL, H.; MÜLLER, M. Dose-Dependent Effects of Dietary Fat on Development of Obesity in Relation to Intestinal Differential Gene Expression in C57BL/6J Mice. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, p. e19145, 2011.

DE FRONZO, R. A.; FERRANNINI, E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes Care**, v. 14, p. 173–194, 1991.

DE OLIVEIRA, E.; MOURA, E. G.; SANTOS-SILVA, A. P.; PINHEIRO, C. R.; LIMA, N. S.; NOGUEIRA-NETO, J. F.; NUNES-FREITAS, A. L.; ABREU-VILLAÇA, Y.; PASSOS, M. C.; LISBOA, P. C. Neonatal nicotine exposure causes insulin and

leptinresistance and inhibits hypothalamic leptin signaling in adult rats offspring. **J. Endocrinol**, v. 206, p. 55–63, 2010.

DEPRE, C.; RIDER, M. H.; HUE, L. Mechanisms of control of heart glycolysis. **Eur. J. Biochem**, v. 258, p. 277–290, 1998.

DESAI M.; JELLYMAN, J. K.; HAN, G, M.; LANE, R. H.; ROSS, M. G. Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. **Am J Obstet Gynecol**, v. 211, p. 237.e1-237.e13, Set-2014.

DESAI, M.; CROWTHER, N. J.; LUCAS, A.; HALES, C. N. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. **Br.J.Nutr**, v. 76, p. 591–603, 1996.

DESPRES, J. P.; LEMIEUX, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**,v. 444, p. 881– 887, 2006.

DI FRANZA, J. R.; LEW, R. A. Effect of maternal cigarette smoking on pregnancy complications and sudden infant death syndrome. **J. Fam.Pract**, v. 40, p. 385–394, 1995.

DRAKE, A. J.; REYNOLDS, R. M. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. **Reproduction**, v. 140, p. 387–398, 2010.

DUCA, F. A.; SAKARA, Y.; COVASA, M. The modulatory role of high fat feeding on gastrointestinal signals in obesity. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, p. 1663–1677, 2013.

EDWARDS, L. J.; MC MILLEN, I. C. Periconceptional nutrition programs development of the cardiovascular system in the fetal sheep. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 283, p. R669 –R679, 2002.

ELAHI, M. M.; CAGAMPANG, F. R.; MUKHTAR, D.; ANTHONY, F. W.; OHRI, S. K.; HANSON, M. A. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. **Br J Nutr.**, v. 102, n. 4, p. 514–519, 2009.

ELIAS, C. F.; LEE, C.; KELLY, J.; ASCHKENASI, C.; AHIMA, R. S.; COUCEYRO, P. R.; KUHAR, M. J.; SAPER, C. B.; ELMQUIST, J. K. Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. **Neuron**, v. 21, p. 1375–1385, 1998.

EMILIANO, A. F.; DE CAVALHO, L. C. R. M.; CORDEIRO, V. S. C.; DA COSTA, C. A.; DE OLIVEIRA, P. B. R.; QUEIROZ, E. F.; MOREIRA, D. D. C.; BOAVENTURA, G. T.; DE MOURA, R. S.; RESENDE, A. C. Metabolic Disorders and Oxidative Stress Programming in Offspring of Rats Fed a High-fat Diet During Lactation: Effects of a Vinifera Grape Skin (ACH09) Extract. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 58, n. 3, p. 319-328, Set-2011.

ENGELBERG, H. Serum lipemia: An overlooked cause of tissue hypoxia. **Cardiology**, v. 70, p. 273–279, 1983.

ENGELHARDT, S.; HEIN, L.; WIESMAN, F.; LOHSE M. J. Progressive hypertrophy and heart failure in b1-adrenergic receptor transgenic mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 96, p. 7059 –7064, 1999.

ENGELHARDT, S.; HEIN, L.; KELLER, U.; KLÄMBT, K.; LOHSE, M. J. Inhibition of Na⁺-H⁺ Exchange Prevents Hypertrophy, Fibrosis, and Heart Failure in β 1-Adrenergic Receptor Transgenic Mice. **Circulation Research**, v. 90, p. 814-819, 2002.

ERDEI, N.; TOTH, A.; PASZTOR, E.; PAPP, Z.; EDES, I.; KOLLER, A.; BAGI, Z. High-fat diet-induced reduction in nitric oxide-dependent arteriolar dilation in rats: role of xanthine oxidase-derived superoxide anion. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 291, p. H2107–H2115, 2006.

ERIKSSON, J. G. Early growth, and coronary heart disease and type 2 diabetes: experiences from the Helsinki Birth Cohort Studies. **Int J Obes (Lond)**, v. 30, s. 4, p. S18–S22, 2006.

FAN, L.; LINDSLEY, S. R.; COMSTOCK, S. M.; TAKAHASHI, D. L.; EVANS, A. E.; HE, G. W.; THORNBURG, K. L.; GROVE, K. L. Maternal high-fat diet impacts endothelial function in nonhuman primate offspring. **Int J Obes (Lond)**, v. 37, n. 2, p. 254–262, 2013.

FENERCIOGLU, A. K.; TAMER, I.; KARATEKIN, G.; NUHOGLU, A. Impaired post natal growth of infants prenatally exposed to cigarette smoking. **Tohoku J.Exp.Med**, n. 218, p. 221–228, 2009.

FÉRÉZOU-VIALA, J.; ROY, A-F.; SÉROUGNE, C.; GRIPOIS, D.; PARQUET, M.; BAILLEUX, V.; GERTLER, A.; DELPLANQUE, B.; DJIANE, J.; RIOTTOT, M.; TAOUIS, M. Long-term consequences of maternal high-fat feeding on hypothalamic leptin sensitivity and diet-induced obesity in the offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 293, p. 1056–1062, 2007.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; BLACKMORE, H. L.; SIGGENS, L.; GIUSSANI, D. A.; CROSS, C. M.; FOO, R.; OZANNE, S. E. The programming of cardiac hypertrophy in the offspring by maternal obesity is associated with hyperinsulinemia, AKT, ERK, and mTOR activation. **Endocrinology**, v. 153, n. 12, p. 5961–5971, 2012.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; WAYMAN, A.; EKIZOGLU, S.; MARTIN, M. S.; HALES, C. N.; OZANNE, S. E. Maternal protein restriction leads to hyperinsulinemia and reduced insulin-signaling protein expression in 21-mo-old female rat offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 288, p. R368 –R373, 2005.

FLAMANT, F.; GAUTHIER, K. Thyroid hormone receptors: the challenge of elucidating isotype-specific functions and cell-specific response. **Biochim Biophys Acta**, v. 1830, p. 3900-3907, 2013.

FLEGAL, K. M.; CARROLL, M. D.; KIT, B. K.; OGDEN, C. L. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. **JAMA**, v.307, n.5, p.491-497, 2012.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**; v.50, n.2, p.216-229, 2006.

FORNONI, A.; RAIJ, L. Metabolic syndrome and endothelial dysfunction. **Curr Hypertens Rep**, v. 7, p. 88–95, 2005.

FORSEN, T.; ERIKSSON, J.G.; TUOMILEHTO, J.; OSMOND, C.; BARKER, D. J. Growth in utero and during childhood among women who develop coronary heart disease: longitudinal study. **BMJ**, v. 319, p. 1403–1407, 1999.

FORTUÑO, A.; BIDEGAIN, J.; BALTANÁS, A.; MORENO, M. U.; MONTERO, L.; LANDECHO, M. F.; BELOQUI, O.; DÍEZ, J.; ZALBA, G. Is leptin involved in phagocytic NADPH oxidase overactivity in obesity? Potential clinical implications. **J Hypertens**, v. 28, p.1944–1950, 2010.

FOX, K. A.; LONGO, M.; TAMAYO, E.; GAMBLE, P.; MAKHLOUF, M.; MATEUS, J. F.; SAADE, G. R. Sex-specific effects of nicotine exposure on developmental programming of blood pressure and vascular reactivity in the C57Bl/6J mouse. **Am J Obstet Gynecol**, v. 207, n. 3, p. 208.e1–208.e9, Set-2012.

FRANCO, J. G.; FERNANDES, T. P.; ROCHA, C. P. D.; CALVIÑO, C.; PAZOS-MOURA, C. C.; LISBOA, P. C.; MOURA, E. G.; TREVENZOLI, I. H. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning. **J Physiol**, v. 590, n.21, p. 5503–5518, 2012.

FRANSEN, R.; MONAJEMI, H.; STROES, E. S.; KASTELEIN, J. J. Obesity and dyslipidemia. **Med. Clin. North. Am.**, v. 95, p. 893–902, 2011.

FRIAS A. E.; MORGAN, T. K.; EVANS, A. E.; RASANEN, J.; OH, K. Y.; THORNBURG, K. L.; GROVE, K. L. Maternal high-fat diet disturbs uteroplacental hemodynamics and increases the frequency of stillbirth in a nonhuman primate model of excess nutrition. **Endocrinology**, v. 152, n. 6, p. 2456–2464, 2011.

FRIEDMAN, J. M. Leptin at 14 y of age: an ongoing story. **Am J Clin Nutr**, v. 89, n. 3, p. 973S-979S, Mar-2009.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **J Clin Invest**, n. 114, p.1752–1761, 2004.

GABORY, A.; ATTIG, L.; JUNIEN, C. Sexual dimorphism in environmental epigenetic programming. **Mol Cell Endocrinol**, v. 304, p. 8-18, 2009.

GAINSFORD, T.; WILLSON, T. A.; METCALF, D.; HANDMAN, E.; MCFARLANE, C.; NG, A.; NICOLA, N. A.; ALEXANDER, W. S.; HILTON, D. J. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hematopoietic cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 93, p. 14564–14568, 1996.

GALILI, O.; VERSARI, D.; SATTLER, K. J.; OLSON, M. L.; MANNHEIM, D.; MC CONNELL, J. P.; CHADE, A. R.; LERMAN, L. O.; LERMAN, A. Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, n. 292, p. H904–H911, 2007.

GAO, Y. J.; HOLLOWAY, A. C.; ZENG, Z. H.; LIM, G. E.; PETRIK, J. J.; FOSTER, W. G.; LEE, R. M. Prenatal exposure to nicotine causes postnatal obesity and altered perivascular adipose tissue function. **Obes. Res**, v. 13, p. 687–692, 2005.

GERDTS, E.; OIKARINEN, L.; PALMIERI, V.; OTTERSTAD, J. E.; WACHTELL, K.; BOMAN, K.; DAHLÖF, B.; DEVEREUX, R. B. Correlates of Left Atrial Size in Hypertensive Patients With Left Ventricular Hypertrophy The Losartan Intervention For Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) Study. **Hypertension**, v. 39, p. 739-743, 2002.

GHOSH, P.; BITSANIS, D.; GHEBREMESKEL, K.; CRAWFORD, M. A.; POSTON, L. Abnormal aortic fatty acid composition and small artery function in offspring of rats fed a high fat diet in pregnancy. **J Physiol**, n. 533, n. 3, p. 815–822, 2001.

GLOSS, B.; TROST, S.; BLUHM, W.; SWANSON, E.; CLARK, R.; WINKFEIN, R. Cardiac ion channel expression and contractile function in mice with deletion of thyroid hormone receptor alpha or beta. **Endocrinology**, v. 142, p. 544–550, 2001.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. **Science**, v. 305, n. 5691, p. 1733-6, Set-2004.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. Fetal programming and adult health. **Public Health Nutr**, v. 4, p. 611–624, 2001.

GRAATSMA, E. M.; MILLER, J.; MULDER, E. J.; HARMAN, C.; BASCHAT, A. A.; VISSER, G. H. Maternal body mass index does not affect performance of fetal electrocardiography. **Am J Perinatol**, v. 27, n. 7, 573-7, Ago-2010.

GREENBERGER, P. A. Pregnancy and Asthma. **Chest**, v. 87, s. 1, p. 85S–87S, 1985.

GRUNDY, S. M. Obesity, Metabolic Syndrome, and Coronary Atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, p. 2696-2698, 2002.

GRUNDY, S. M. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. **Am J Clin Nutr**, v. 67, n.3, p.563S-72S, 1998.

GUBERMAN, C.; JELLYMAN, J. K.; HAN, G.; ROSS, M. G.; DESAI, M. Maternal high-fat diet programs rat offspring hypertension and activates the adipose renin-angiotensin system. **Am J Obstet Gynecol**, v. 209, n. 3, p. 262.e261–e268, 2013.

GUO, K. Y.; HALO, P.; LEIBEL, R. L.; ZHANG, Y. Effects of obesity on the relationship of leptin mRNA expression and adipocyte size in anatomically distinct fat depots in mice. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 287, p. R112–R119, 2004.

GUSTAFSON, T. A.; MARKHAM, B. E.; MORKIN, E. Effects of thyroid hormone on alpha-actin and myosin heavy chain gene expression in cardiac and skeletal muscles of the rat: measurement of mRNA content using synthetic oligonucleotide probes. **Circulation Research**, v. 59, p. 194-201, 1986.

GUZMAN-RUIZ, R.; SOMOZA, R.; GIL-ORTEGA, M.; MERINO, M.; RUIZ-GAYO, M. Sensitivity of cardiac carnitine palmitoyltransferase to malonyl-CoA is regulated by leptin: similarities with a model of endogenous hyperleptinemia. **Endocrinology**, v. 151, p. 1010-1018, 2010.

HABBOU, A.; GUENANCIA, C.; LORIN, J.; RIGAL, E.; FASSOT, C.; ROCHETTE, L.; VERGELY, C. Postnatal Overfeeding Causes Early Shifts in Gene Expression in the Heart and Long-Term Alterations in Cardiometabolic and Oxidative Parameters. **PLoS ONE**, n. 8, n. 2, p. e56981, 2013.

HAFFNER, S. M.; FONG, D.; ZUDA, H. P. Hyperinsulinemia, upper body obesity and cardiovascular risk factors in non-diabetics. **Metabolism**, v. 37, p. 336–345, 1988.

HAFFNER, S. M.; MYKKÄNEN, L.; FESTA, A.; BURKE, J. P.; STERN, M. P. Insulin-resistant prediabetic subjects have more atherogenic risk factors than insulin-sensitive prediabetic subjects: implications for preventing coronary heart disease during the prediabetic state. **Circulation**, v. 101, p. 975–980, 2000.

HAINES, C. D.; HARVEY, P. A.; LEINWAND, L. A. Estrogens mediate cardiac hypertrophy in a stimulus-dependent manner. **Endocrinology**, v. 153, n. 9, p. 4480-90, Set-2012.

HALES, C. N.; OZANNE, S. E. For debate: fetal and early postnatal growth restriction lead to diabetes, the metabolic syndrome and renal failure. **Diabetologia**, v. 46, n. 7, p.1013–1019, 2003.

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

HAMANN, A.; BENECKE, H.; LE MARCHAND BRUSTEL, Y.; SUSULIC, V. S.; LOWELL, B. B.; FLIER, J. S. Characterization of insulin resistance and NIDDM in transgenic mice with reduced brown fat. **Diabetes**, v. 44, p.1266–73,1995.

HAMANN, A.; FLIER, J. S.; LOWELL, B. B. Decreased brown fat markedly enhances susceptibility to diet-induced obesity, diabetes and hyperlipidemia. **Endocrinology**, v. 137, p. 21–29, 1996.

HAMMOUD, A. O.; GIBSON, M.; STANFORD, J.; WHITE, G.; CARRELL, D. T.; PETERSON, M. In vitro fertilization availability and utilization in the United States: a study of demographic, social, and economic factors. **Fertil Steril**, v. 91, p. 1630–1635, 2009.

HAYDEN, M. R.; CHOWDHURY, N.; GOVINDARAJAN, G.; KARUPARTHI, P. R.; HABIBI, J.; SOWERS, J. R. Myocardial myocyte remodeling and fibrosis in the cardiometabolic syndrome. **J Cardiometab Syndr**, v. 1, p. 326–333, 2006.

HEGAARD, H. K.; KJAERGAARD, H.; MØLLER, L. F.; WACHMANN, H.; OTTESEN, B. The effects of environmental tobacco smoke during pregnancy on birth weight. **Acta Obstet. Gynecol. Scand**, v. 85, p. 675–681, 2006.

HERNANDEZ-DIAZ, S.; VAN-MARTER, L. J.; WERLER, M. M.; LOUIK, C.; MITCHELL, A. A. Risk factors for persistent pulmonary hypertension of the newborn. **Pediatrics**, v. 120, p. e272-82, 2007.

HESLEHURST, N.; SIMPSON, H.; ELLS, L. J.; RANKIN, J.; WILKINSON, J.; LANG, R.; BROWN, T. J.; SUMMERBELL, C. D. The impact of maternal BMI status on

pregnancy outcomes with immediate short-term obstetric resource implications: a meta-analysis. **Obes Rev**, v. 9, p. 635–683, 2008.

HOLLOWAY, A. C.; LIM, G. E.; PETRIK, J. J.; FOSTER, W. G.; MORRISON, K. M.; GERSTEIN, H. C. Fetal and neonatal exposure to nicotine in Wistar rats results in increased beta cell apoptosis at birth and postnatal endocrine and metabolic changes associated with type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 48, p. 2661–2666, 2005.

HOLMES, M. C.; ABRAHAMSEN, C. T.; FRENCH, K. L.; PATERSON, J. M.; MULLINS, J. J.; SECKL, J. R. The mother or the fetus? 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 null mice provide evidence for direct fetal programming of behavior by endogenous glucocorticoids. **J Neurosci.**, v. 26, n. 14, p. 3840–3844, 2006.

HU, F. B.; LI, T. Y.; COLDITZ, G. A.; WILLETT, W. C.; MANSON, J. E. Television Watching and Other Sedentary Behaviors in Relation to Risk of Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus in Women. **JAMA**, v. 289, n. 14, p. 1785-1791, 2003.

IBANEZ, L.; ONG, K.; DUNGER, D. B.; DE ZEGHER, F. Early development of adiposity and insulin resistance after catch-up weight gain in smallfor-gestational-age children. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 91, n. 6, p. 2153–2158, 2006.

IBANEZ, L.; SUAREZ, L.; LOPEZ-BERMEJO, A.; DIAZ, M.; VALLS, C.; DE ZEGHER, F. Early development of visceral fat excess after spontaneous catch-up growth in children with low birth weight. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 93, n. 3, p. 925–928, 2008.

INTERNATIONAL OBESITY TASKFORCE. The Global Epidemic. IASO/IOTB, 2010. Disponível em: <http://www.iaso.org/iotf/obesity/obesitytheglobalepidemic/> [Acessado em Jan 2015]

JUAN, C. C.; CHUANG, T. Y.; LIEN, C. C.; LIN, Y. J.; HUANG, S. W.; KWOK, C. F.; HO, L. T. Leptin increases endothelin type A receptor levels in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, v. 294, n. 3, p. E481-7, Mar-2008.

JUNG, C. H.; KIM, M. Molecular mechanisms of central leptin resistance in obesity. **Arch Pharm Res**, v. 36, p. 201-7, 2013.

KALIL, G. Z.; HAYNES, W. G. Sympathetic nervous system in obesity-related hypertension: mechanisms and clinical implications. **Hypertension Research**, v. 35, p. 4–16, 2012.

KANAI, H.; MATSUZAWA, Y.; KOTANI, K.; KENO, Y.; KOBATAKE, T.; NAGAI, Y.; FUJIOKA, S.; TOKUNAGA, K.; TARUI, S. Close correlation of intra-abdominal fat accumulation to hypertension in obese women. **Hypertension**, v. 16, p. 484-490, 1990.

KANE, A. D.; HERRERA, E. A.; CAMM, E. J.; GIUSSANI, D. A. Vitamin C prevents intrauterine programming of in vivo cardiovascular dysfunction in the rat. **Circ J**, v. 77, n. 10, p. 2604-11, 2013.

KIRIAZIS, H.; SATO, Y.; KADAMBI, V. J.; SCHMIDT, A. G.; GERST, M. J.; HOIT, B. D.; KRANIAS, E. G. Hypertrophy and functional alterations in hyperdynamic

phospholamban-knockout mouse hearts under chronic aortic stenosis. **Cardiovascular Research**, v. 53, p. 372–381, 2002.

KIRK, S. L.; SAMUELSSON, A-M.; ARGENTON, M.; DHONYE, H.; KALAMATIANOS, T.; POSTON, L.; TAYLOR, P. D.; COEN, C. W. Maternal Obesity Induced by Diet in Rats Permanently Influences Central Processes Regulating Food Intake in Offspring. **PLoS ONE**, v. 4, n. 6, p. e5870, 2009.

KLEIN, I.; OJAMAA, K. Mechanisms of disease: thyroid hormone and the cardiovascular system. **N Engl J Med**, v. 344, n. 7, p. 501-509, 2001.

KLEIN, I. Thyroid hormone and the cardiovascular system. **Am J Med**, v. 88, p. 631-7, 1990.

KLEIN, I.; DANZI, S. Thyroid disease and the heart. **Circulation**, v. 116, p. 1725–35, 2007.

KLEINHAUS, K.; STEINFELD, S.; BALABAN, J.; GOODMAN, L.; CRAFT, T. S.; MALASPINA, D.; MYERS, M. M.; MOORE, H. Effects of excessive glucocorticoid receptor stimulation during early gestation on psychomotor and social behavior in the rat. **Dev Psychobiol.**, v. 52, n. 2, p. 121–132, 2010.

KLOP, B.; PROCTOR, S. D.; MAMO, J. C.; BOTHAM, K.M.; CASTRO-CABEZAS, M. Understanding postprandial inflammation and its relationship to lifestyle behaviour and metabolic diseases. **Int. J. Vasc. Med**, v. 2012, ID.947417, 2012.

KONSTANTINIDES, S.; SCHAFER, K.; LOSKUTOFF, D. J. The Prothrombotic Effects of Leptin: Possible Implications for the Risk of Cardiovascular Disease in Obesity. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 947, n. 1, 2006.

KONUKOGLU, D.; SERIN, O.; TURHAN, M. S. Plasma leptin and its relationship with lipid peroxidation and nitric oxide in obese female patients with or without hypertension. **Arch Med Res**, v. 37, n. 5, p.602-6, Jul-2006.

KORT, H. I.; MASSEY, J. B.; ELSNER, C. W.; MITCHELL-LEEF, D.; SHAPIRO, D. B.; WITT, M. A.; ROUDEBUSH, W. E. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. **J Androl.**, v. 27, p. 450–452, 2006.

KUDEJ, R. K.; IWASE, M.; UECHI, M.; VATNER, D. E.; OKA, N.; ISHIKAWA, Y.; SHANNON, R. P.; BISHOP, S. P.; VATNER, S. F. Effects of chronic beta-adrenergic receptor stimulation in mice. **J Mol Cell Cardiol.**, v. 29, n. 10, p. 2735-46, Oct-1997.

KUNDSON, J. D.; PAYNE, G. A.; BORTBOUSE, L.; TUNE, J. D. Leptin and mechanisms of endothelial dysfunction and cardiovascular disease. **Curr Hypertens Rep**, v. 10, p. 434–439, 2008.

LAITINEN, J.; PIETILAINEN, K.; WADSWORTH, M.; SOVIO, U.; JÄRVELIN, M-R. Predictors of abdominal obesity among 31-yr-old men and women born in Northern Finland in 1966. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 58, p. 180–190, 2004.

LANG, R. M.; BIERIG, M.; DEVEREUX, R. B.; FLACHSKAMPF, F. A.; FOSTER, E.; PELLIKKA, P. A.; PICARD, M. H.; ROMAN, M. J.; SEWARD, J.; SHANEWISE, J.;

SOLOMON, S.; SPENCER, K. T.; ST JOHN SUTTON, M.; STEWART, W.; AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY' S NOMENCLATURE AND STANDARDS COMMITTEE; TASK FORCE ON CHAMBER QUANTIFICATION; AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY ECHOCARDIOGRAPHY COMMITTEE; AMERICAN HEART ASSOCIATION; EUROPEAN ASSOCIATION OF ECHOCARDIOGRAPHY; EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY. Recommendations for chamber quantification. **Eur J Echocardiogr**, v. 7, p. 79–108, 2006.

LAUGHLIN, M. R.; TAYLOR, J. F.; CHESNICK, A. S.; BALABAN, R. S. Regulation of glycogen metabolism in canine myocardium: effects of insulin and epinephrine in vivo. **Am. J. Physiol.**, v. 262, p. E875–883, 1992.

LAURBERG, P.; NØHR, S. B.; PEDERSEN, K. M.; FUGLSANG, E. J. Iodine nutrition in breastfed infants is impaired by maternal smoking. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, p. 181–187, 2004.

LEE, D. L.; LEITE, R.; FLEMING, C.; POLLOCK, J. S.; WEBB, R. C.; BRANDS, M. W. Hypertensive response to acute stress is attenuated in interleukin-6 knockout mice. **Hypertension**, v. 44, p. 259–263, 2004.

LEE, G. H.; PROENCA, R.; MONTEZ, J. M.; CARROLL, K. M.; DARVISHZADEH, J. G.; LEE, J. I.; FRIEDMAN, J. M. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. **Nature**, v. 379, p. 632-5, 1996.

LEE, Y.; NASEEM, R. H.; DUPLOMB, L.; PARK, B. H.; GARRY, D. J.; RICHARDSON, J. A.; SCHAFFER, J. E.; UNGER, R. H. Hyperleptinemia prevents lipotoxic cardiomyopathy in acyl CoA synthase transgenic mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 101, p. 13624–13629, 2004.

LEGRADI, G.; EMERSON, C. H.; AHIMA, R. S.; FLIER, J. S.; LECHAN, R. M. Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. **Endocrinology**, v. 138, p. 2569–2576, 1997.

LEOPOLDO, A. S.; SUGIZAKI, M. M.; LIMA-LEOPOLDO, A. P.; DO NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTTO, R. A.; DE CAMPOS, D. H.; OKOSHI, K.; PAI-SILVA, M. D.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity. **Can J Cardiol**, v. 26, n. 8, p. 423-429, 2010.

LI, T. L.; CHIOU, L. C.; LIN, Y. S.; HSIEH, J. R.; HWANG, L. L. Electrophysiological study on the effects of leptin in rat dorsal motor nucleus of the vagus. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 292, p. R2136–R2143, 2007.

LIANG, C.; OEST, M. E.; PRATER, M. R. Intrauterine exposure to high saturated fat diet elevates risk of adult-onset chronic diseases in C57BL/6 mice. **Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.**, v. 86, n. 5, p. 377–384, 2009.

LIANG, C. S.; DOHERTY, J. U.; FAILLACE, R.; MAEKAWA, K.; ARNOLD, S.; GAVRAS, H.; HOOD, W. B. Insulin infusion in conscious dogs: effects on systemic and coronary hemodynamics, regional blood flows, and plasma catecholamines. **J Clin Invest**, v. 69, p. 1321–1336, 1982.

LIMA, F. B.; CURI, R. Moléculas ativas produzidas por órgãos não endócrinos. In: AIRES, M. M. Fisiologia, 4ª edição. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, 2012.

LIN, J. Z.; SIEGLAFF, D. H.; YUAN, C.; SU, J.; ARUMANAYAGAM, A. S.; FIROUZBAKHT, S.; POMPA, J. J. C.; REYNOLDS, F. D.; ZHOU, X.; CVORO, A.; WEBB, P. Gene specific actions of thyroid hormone receptor sub-types. **PLOS ONE**, v. 8, p. e52407, 2013.

LIN, J. Z.; SIEGLAFF, D. H.; YUAN, C.; SU, J.; ARUMANAYAGAM, A. S.; FIROUZBAKHT, S.; POMPA, J. J. C.; REYNOLDS, F. D.; ZHOU, X.; CVORO, A.; WEBB, P. Gene specific actions of thyroid hormone receptor sub-types. **PLOS ONE**, v. 8, p. e52407, 2013.

LINDSAY, R. S.; LINDSAY, R. M.; EDWARDS, C. R.; SECKL, J. R. Inhibition of 11- β -hydroxysteroid dehydrogenase in pregnant rats and the programming of blood pressure in the offspring. **Hypertension**, v. 27, n. 6, p. 1200–1204, 1996.

LISBOA, P. C.; DE OLIVEIRA, E.; MOURA, E. G. Obesity and endocrine dysfunction programmed by maternal smoking in pregnancy and lactation. **Frontiers in Physiology**, v.3, n.437, 2012.

LIU, G. Y.; LIANG, Q. H.; CUI, R. R.; LIU, Y.; WU, S. S.; SHAN, P. F.; YUAN, L. Q.; LIAO, E. Y. Leptin Promotes the Osteoblastic Differentiation of Vascular Smooth Muscle Cells From Female Mice by Increasing RANKL Expression. **Endocrinology**, v. 155, p. 558 – 567, 2014.

LOFFREDA, S.; YANG, S. Q.; LIN, H. Z.; KARP, C. L.; BRENGMAN, M. L.; WANG, D. J.; KLEIN, A. S.; BULKLEY, G. B.; BAO, C.; NOBLE, P. W.; LANE, M. D. Leptin regulates proinflammatory immune responses. **FASEB J**, v. 12, p. 57–65, 1998.

LÓPEZ-SOLDADO, I.; HERRERA, E. Different Diabetogenic Response to Moderate Doses of Streptozotocin in Pregnant Rats, and Its Long-Term Consequences in the Offspring. **Experimental Diab Res**, v. 4, p. 107–118, 2003.

LOWELL, B. B.; FLIER, J. S. Brown adipose tissue, β 3-adrenergic receptors and obesity. **Annu. Rev. Med.**, v. 48, p. 307–16, 1997.

LUCAS, A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. **Arch Dis Child**, v. 71, p. 288-290, 1994.

LUCILLA, P.; TAYLOR, P. D.; NATHANIELSZ, P. Influences of maternal obesity on the health of the offspring: a review of animal models. In: Gillman, M. W.; Poston, L. eds. Maternal Obesity. New York, NY, **Cambridge University Press**, p. 100–114, 2012.

LUNDMAN, P.; ERIKSSON, M.; SCHENCK-GUSTAFSSON, K.; KARPE, F.; TORNVALL, P. Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men without risk factors for coronary heart disease. **Circulation**, v. 96, p. 3266–3268, 1997.

MACÊDO, G. S.; FERREIRA, C. L. P.; MENEGAZ, A.; ARANTES, V. C.; VELOSO, R. V.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M. P.; LATORRACA, M. Q.; GOMES-DA-SILVA, M. H. G. Correlation of serum leptin and

insulin levels of pregnant protein-restricted rats with predictive obesity variables. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 41, p. 519-525, 2008.

MARK P. J.; SISALA, C.; CONNOR, K.; PATELA, R.; LEWISA1, J. L.; VICKERS, M. H.; WADDELL, B. J.; SLOBODA, D. M. A maternal high-fat diet in rat pregnancy reduces growth of the fetus and the placental junctional zone, but not placental labyrinth zone growth. **Journal of the Developmental Origins of Health and Disease**, v. 2, p. 63–70, 2011.

MARK, P. J.; AUGUSTUS, S.; LEWIS, J. L.; HEWITT, D. P.; WADDELL, B. J. Changes in the placental glucocorticoid barrier during rat pregnancy: impact on placental corticosterone levels and regulation by progesterone. **Biol Reprod.**, v. 80, n. 6, p. 1209–15, 2009.

MARSEGLIA, L.; MANTI, S.; D'ANGELO, G.; NICOTERA, A.; PARISI, E.; DI ROSA, G.; GITTO, E.; ARRIGO, T. Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. **Int J Mol Sci**, v. 16, p. 378-400, 2015.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, E.; JURADO-LÓPEZ, R.; VALERO-MUNÓZ, M.; BARTOLOMÉ, M. V.; BALLESTEROS, S.; LUACES, M.; BRIONES, A. M.; LÓPEZ-ANDRÉS, N.; MIANA, M.; CACHOFEIRO, V. Leptin induces cardiac fibrosis through galectin-3, mTOR and oxidative stress: potential role in obesity. **J Hypertens**, v. 32, n. 5, p. 1104-14, Mai-2014.

MARTINS, C. D. D.; CHIANCA-JR, D. A.; FERNANDES, L. G. Cardiac autonomic balance in rats submitted to protein restriction after weaning. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 38, p. 89–93, 2011.

MATHIEU, P.; POIRIER, P.; PIBAROT, P.; LEMIEUX, I.; DESPRÉS, J-P. Visceral Obesity The Link Among Inflammation, Hypertension, and Cardiovascular Disease. **Hypertension**, v. 53, p. 577-584, 2009.

MATSUI, H.; YOKOYAMA, T.; TANAKA, C.; SUNAGA, H.; KOITABASHI, N.; TAKIZAWA, T.; ARAI, M.; KURABAYASHI, M. Pressure mediated hypertrophy and mechanical stretch up-regulate expression of the long form of leptin receptor (ObR-b) in rat cardiac myocytes. **BMC Cell Biol.**, v. 13, p. 37, Dez-2012.

MCCANCE, R. A. Critical periods of growth. **Proc. Nutr. Soc**, v. 35, p. 309–313, 1976.

MICKE, G. C.; SULLIVAN, T. M.; GATFORD, K. L.; OWENS, J. A.; PERRY, V. E. Nutrient intake in the bovine during early and mid-gestation causes sex-specific changes in progeny plasma IGF-I, liveweight, height and carcass traits. **Anim Reprod Sci.**, v. 121, p. 208 –217, 2010.

MINGRONE, G.; MANCO, M.; MORA, M. E.; GUIDONE, C.; IACONELLI, A.; GNIULI, D.; LECCESI, L.; CHIellini, C.; GHIRLANDA, G. Influence of maternal obesity on insulin sensitivity and secretion in offspring. **Diabetes Care**, v. 31, p. 1872–1876, 2008.

MITTENDORFER, B.; HOROWITZ, J. F.; KLEIN, S: Gender differences in lipid and glucose kinetics during short-term fasting. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 281, p. E1333–E1339, 2001.

MONTAGUE, C. T.; PRINS, J. B.; SANDERS, L.; DIGBY, J. E.; O'HAHILLY, S. Depot- and sex-specific differences in human leptin mRNA expression: implications for the control of regional fat distribution. **Diabetes**, v. 46, p. 342-7, 1997.

MOREIRA, A. S.; TEIXEIRA, M.; DA SILVEIRA OSSO, F.; PEREIRA, R. O.; DE OLIVEIRA SILVA-JUNIOR, G.; GARCIA DE SOUZA, E. P.; MANDARIM DE LACERDA, C. A.; MOURA, A. S. Left ventricular hypertrophy induced by overnutrition early in life. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.**, v. 19, n. 11, p. 805–810, 2009.

MORO, C.; GRAUZAM, S.; ORMEZZANO, O.; TOUFEKTSIAN, M. C.; TANGUY, S.; CALABRESE, P.; COLL, J. L.; BAK, I.; JUHASZ, B.; TOSAKI, A.; DE LEIRIS, J.; BOUCHER, F. Inhibition of cardiac leptin expression after infarction reduces subsequent dysfunction. **J Cell Mol Med.**, v. 15, n. 8, p. 1688-94, Ago-2011.

MULLUR, R.; LIU, Y. Y.; ANDBRENT, G. A. Thyroid hormone regulation of metabolism. **Physiol Rev**, v. 94, p. 355–382, 2014.

MYERS, M. G.; HEYMSFIELD, S. B.; HAFT, C.; KAHN, B. B.; LAUGHLIN, M.; LEIBEL, R. L.; TSCHÖP, M. H.; YANOVSKI, J. A. Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance. **Cell Metab**, v. 15, p. 150-6, 2012.

NELSON, S.M.; MATTHEWS, P.; POSTON, L. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome. **Hum Reprod Update**, v. 16, p. 255–275, 2010.

NEWMAN, M. B.; SHYTLE, R. D.; SANBERG, P. R. Locomotor behavioral effects of prenatal and postnatal nicotine exposure in rat offspring. **Behav.Pharmacol.**, v. 10, p. 699–706, 1999.

NICKOLA, M. W.; WOLD, L. E.; COLLIGAN, P. B.; WANG, G. J.; SAMSON, W. K.; REN, J. Leptin attenuates cardiac contraction in rat ventricular myocytes. Role of NO. **Hypertension**, v. 36, p. 501–5, 2000.

NOHR, E. A.; VILLAMOR, E.; VAETH, M.; OLSEN, J.; CNATTINGIUS, S. Mortality in infants of obese mothers: is risk modified by mode of delivery? **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 91, p. 363–371, 2012.

NORMAN, J.E.; REYNOLDS, R. The consequences of obesity and excess weight gain in pregnancy. **Proc Nutr Soc.**, v. 70, p. 450–456, 2011.

NOWAK, K. W.; KACZMAREK, P.; MACKOWIAK, P.; ZIOLKOWSKA, A.; ALBERTIN, G.; GINDA, W. J.; TREJTER, M.; NUSSDORFER, G. G.; MALENDOWICZ, L. K. Rat thyroid gland expresses the long form of leptin receptors, and leptin stimulates the function of the gland in euthyroid non-fasted animals. **Int J Mol Med**, v. 9, p. 31–34, 2002.

NYIRENDA, M. J.; LINDSAY, R. S.; KENYON, C. J.; BURCHELL, A.; SECKL, J. R. Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. **J Clin Invest.**, v. 101, n. 10, p. 2174–2181, 1998.

O'REILLY, J. R.; REYNOLDS, R. M. The risk of maternal obesity to the long-term health of the offspring. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 78, p. 9–16, 2013.

OGDEN, C. L.; CARROLL, M. D.; KIT, B. K.; FLEGAL, K. M. Prevalence of obesity and trends in body mass index among US children and adolescents, 1999-2010. **JAMA**, v. 307, n. 5, p. 483-490, 2012a.

OGDEN, C. L.; CARROLL, M. D.; KIT, B. K.; FLEGAL, K. M. Prevalence of obesity in the United States, 2009-2010. **NCHS Data Brief**, v. 82, p. 1-8, 2012b.

OGDEN, C. L.; CARROLL, M. D.; KIT, B. K.; FLEGAL, K. M. Prevalence of Childhood and Adult Obesity in the United States, 2011-2012. **JAMA**, v. 311, n. 8, p. 806-814, 2014.

OKAMURA, K.; MUROTSUKI, J.; WATANABE, T.; TANIGAWARA, S.; UEHARA, S.; YANO, M.; YAJIMA, A.; SAKAI, T. Relation between fetal blood gas levels and the outcome of babies in severe preeclampsia. **Tohoku J Exp Med**, v. 167, p. 279–285, 1992.

OKEN, E. Maternal and Child Obesity: The Causal Link. **Obstet Gynecol Clin N Am**, v. 36, p.361–377, 2009.

OLIVEIRA, E.; MOURA, E.; SANTOS-SILVA, A.; FAGUNDES, A.; RIOS, A.; ABREU-VILLACA, Y.; NOGUEIRA-NETO, J. F.; PASSOS, M. C.; LISBOA, P. C. Short and long-term effects of maternal nicotine exposure during lactation on body adiposity, lipid profile and thyroid function of rat offspring. **J. Endocrinol.**, v. 202, p. 397–405, 2009.

ONG, K. K.; AHMED, M. L.; EMMETT, P. M.; PREECE, M. A.; DUNGER, D. B. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. **BMJ**, v. 320, n. 7240, p. 967–971, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Tópicos em saúde: **Obesidade**, 2013. Disponível em: <http://www.who.int/topics/obesity/en/> [Acessado em Jan 2015]

ORTIGA-CARVALHO, T. M.; HASHIMOTO, K.; PAZOS-MOURA, C. C.; GEENEN, D.; COHEN, R.; LANG, R. M.; WONDISFORD, F. E. Thyroid hormone resistance in the heart: role of the thyroid hormone receptor beta isoform. **Endocrinology**, v. 145, n. 4, p. 1625-33, Abr-2004.

ORTIGA-CARVALHO, T. M.; OLIVEIRA, K. J.; SOARES, B. A.; PAZOS-MOURA, C. C. The role of leptin in the regulation of TSH secretion in the fed state: in vivo and in vitro studies. **Journal of Endocrinology**, v. 174, p. 121–125, 2002.

OSMOND, C.; BARKER, D. J.; SLATTERY, J. M. Risk of death from cardiovascular disease and chronic bronchitis determined by place of birth in England and Wales. **J Epidemiol Community Health**, v. 44, n. 2, p. 139-41, Jun-1990.

PAHL, P. J. Growth curves for body weight of the laboratory rat. **Aust. J. Biol. Sci**, v. 22, p. 1077-80, 1969.

PANCHAL, S. K.; POUDYAL, H.; IYER, A.; NAZER, R.; ALAM, A.; DIWAN, V.; KAUTER, K.; SERNIA, C.; CAMPBELL, F.; WARD, L.; GOBE, G.; FENNING, A.;

BROWN, L. High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 57, p. 51–64, 2011.

PARHAMI, F.; TINTUT, Y.; BALLARD, A.; FOGELMAN, A. M.; DEMER, L. L. Leptin enhances the calcification of vascular cells: artery wall as a target of leptin. **Circ Res**, v. 88, n. 9, p. 954-60, 2001.

PATSCH, J. R.; MIESENBOCK, G.; HOPFERWIESER, T.; MUHLBERGER, V.; KNAPP, E.; DUNN, J. K.; GOTTO, A. M. JR.; PATSCH, W. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. **Arterioscler. Thromb.**, v. 12, p. 1336–1345, 1992.

PAUSOVA, Z. From big fat cells to high blood pressure: a pathway to obesity-associated hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens.**, v. 15, p. 173–178, 2006.

PAZOS-MOURA, C.; ABEL, E. D.; BOERS, M-E.; MOURA, E.; HAMPTON, T. G.; WANG, J.; MORGAN, J. P.; WONDISFORD, F. E. Cardiac Dysfunction Caused by Myocardium-Specific Expression of a Mutant Thyroid Hormone Receptor. **Circ Res**, v. 86, p. 70, 2000.

PEREIRA-JUNIOR, P. P.; CHAVES, E. A.; COSTA-E-SOUSA, R. H.; MASUDA, M. O.; CARVALHO, A. C.; NASCIMENTO, J. H. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid. **Eur J Appl Physiol**, v. 96, p. 487-494, 2006.

PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES. POF 2008-09: desnutrição cai e peso das crianças brasileiras ultrapassa padrão internacional. **IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento**, 2010. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1691&id_pagina=1/ [Acessado em 09-07-2012].

PETRY, C. J.; DORLING, M. W.; PAWLAK, D. B.; OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Diabetes in old male offspring of rat dams fed a reduced protein diet. **Int J Exp Diabetes Res.**, v. 2, n. 2, p. 139-143, 2001.

PHILLIPS, D. I. Birth weight and the future development of diabetes. A review of the evidence. **Diabetes Care**, v. 21, s. 2, p. B150–B155, 1998.

PITRE, M.; NADEAU, A.; BACHELARD, H. Insulin sensitivity and hemodynamic responses to insulin in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 271, p. E658–E668, 1996.

POSTIGO, L.; HEREDIA, G.; ILLSLEY, N. P.; TORRICOS, T.; DOLAN, C.; ECHALAR, L.; TELLEZ, W.; MALDONADO, I.; BRIMACOMBE, M.; BALANZA, E.; VARGAS, E.; ZAMUDIO, S. Where the O₂ goes to: Preservation of human fetal oxygen delivery and consumption at high altitude. **J Physiol.**, v. 587, p. 693–708, 2009.

POSTON, L. Influence of maternal nutritional status on vascular function in the offspring. **Microcirculation**, v. 18, p. 256–262, 2011.

PUJOL, E.; RODRIGUEZ-CUENCA, S.; FRONTERA, M.; JUSTO, R.; LLADO, I.; KRAEMER, F. B.; GIANOTTI, M.; ROCA, P. Gender- and site-related effects on lipolytic capacity of rat white adipose tissue. **Cell Mol Life Sci**, v. 60, p. 1982–1989, 2003.

PURDHAM, D. M.; RAJAPUROHITAM, V.; ZEIDAN, A.; HUANG, C.; GROSS, G. J.; KARMAZYN, M. A neutralizing leptin receptor antibody mitigates hypertrophy and hemodynamic dysfunction in the post infarcted rat heart. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol**, v. 295, p. H441–H446, 2008.

PURDHAM, D. M.; MIN-XU, Z.; RAJAPUROHITAM, V.; KARMAZYN, M. Rat heart is a site of leptin production and action. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 287, p. H2877–H2884, 2004.

RAHMOUNI, K.; CORREIA, M. L.; HAYNES, W. G.; MARK, A. L. Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms. **Hypertension**, v. 45, p. 9–14, 2005.

RAJAPUROHITAM, V.; GAN, X. T.; KIRSHENBAUM, L. A.; KARMAZYN, M. The obesity associated peptide leptin induces hypertrophy in neonatal rat ventricular myocytes. **Circ Res**, v. 93, p. 277–9, 2003.

RAJAPUROHITAM, V.; JAVADOV, S.; PURDHAM, D. M.; KIRSHENBAUM, L. A.; KARMAZYN, M. An autocrine role for leptin in mediating the cardiomyocyte hypertrophic effects of angiotensin II and endothelin-1. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 41, p. 265–274, 2006.

RATTIGAN, S.; CLARK, M. G.; BARRETT, E. J. Hemodynamic actions of insulin in rat skeletal muscle. Evidence for capillary recruitment. **Diabetes**, v. 46, p. 1381–1388, 1997.

RAVELLI, A. C.; VAN DER MEULEN, J. H.; OSMOND, C.; BARKER, D. J.; BLEKER, O. P. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. **Am J Clin Nutr.**, v. 70, n. 5, p. 811-6, Nov-1999.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **N Engl J Med.**, v. 295, n. 7, p. 349-53, Ago-1976.

REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595–1607, 1988.

REN, J.; DONG, F.; CAI, G-J.; ZHAO, P.; NUNN, J. M.; WOLD, L. E.; PEI, J. Interaction between Age and Obesity on Cardiomyocyte Contractile Function: Role of Leptin and Stress Signaling. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, p. e10085, 2010.

RIDER, O. J.; FRANCIS, J. M.; ALI, M. K.; HOLLOWAY, C.; PEGG, T.; ROBSON, M. D.; TYLER, D.; BYRNE, J.; CLARKE, K.; NEUBAUER, S. Effects of catecholamine stress on diastolic function and myocardial energetics in obesity. **Circulation**, v. 125, n. 12, p. 1511-9, Mar-2012.

RITCHIE, R. H.; DELBRIDGE, L. M. Cardiac hypertrophy substrate utilization and metabolic remodelling: cause or effect? **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, v. 33, p. 159–166, 2006.

ROBERTS, C. K.; BARNARD, R. J.; SINDHU, R. K.; JURCZAK, M.; EHDAIE, A.; VAZIRI, N. D. A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction, oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. **J Appl Physiol.**, v. 98, p. 203–210, 2005.

ROBERTS, C. K.; BARNARD, R. J.; SINDHU, R. K.; JURCZAK, M.; EHDAIE, A.; VAZIRI, N. D. Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. **Metabolism**, v. 55, p. 928–934, 2006.

ROBERTS, C. K.; VAZIRI, N. D.; WANG, X. Q.; BARNARD, R. J. Enhanced NO inactivation and hypertension induced by a high-fat, refined-carbohydrate diet. **Hypertension**, v. 36, p. 423–429, 2000.

RODFORD, J. L.; TORRENS, C.; SIOW, R. C.; MANN, G. E.; HANSON, M. A.; CLOUGH, G. F. Endothelial dysfunction and reduced antioxidant protection in an animal model of the developmental origins of cardiovascular disease. **J Physiol.**, v. 586, p. 4709–4720, 2008.

RODRIGUES, A. L.; DE MOURA, E. G.; PASSOS, M. C.; DUTRA, S. C.; LISBOA, P. C. Postnatal early overnutrition changes the leptin signaling pathway in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis of young and adult rats. **J Physiol**, v. 587, p. 2647–2661, 2009.

ROEDER, L. M.; CHOW, B. F. Maternal undernutrition and its long-term effects on the offspring. **Am J Clin Nutr.** v. 25, n. 8, p. 812-21, Ago-1972.

ROHRER, D. K.; DESAI, K. H.; JASPER, J. R.; STEVENS, M. E.; REGULA, D. P. JR.; BARSH, G. S.; BERNSTEIN, D.; KOBILKA, B. K. Targeted disruption of the mouse beta1-adrenergic receptor gene: Developmental and cardiovascular effects. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 93, n. 14, p. 7375–7380, 1996.

ROMERO-CORRAL, A.; SOMERS, V. K.; SIERRA-JOHNSON, J.; KORENFELD, Y.; BOARIN, S.; KORINEK, J.; JENSEN, M. D.; PARATI, G.; LOPEZ-JIMENEZ, F. Normal weight obesity: a risk factor for cardiometabolic dysregulation and cardiovascular mortality. **Eur Heart J**, v. 31, p. 737–746, 2010.

ROSEBOOM, T. J.; VAN DER MEULEN, J. H.; RAVELLI, A. C.; OSMOND, C.; BARKER, D. J.; BLEKER, O. P. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. **Twin Res.**, v. 4, n. 5, p. 293-8, Out-2001.

ROSEBOOM, T. J.; VAN DER MEULEN, J. H.; RAVELLI, A. C.; VAN MONTFRANS, G. A.; OSMOND, C.; BARKER, D. J.; BLEKER, O. P. Blood pressure in adults after prenatal exposure to famine. **J Hypertens.**, v. 17, n. 3, p. 325-30, Mar-1999.

ROSEMBERG, J. Pandemia do tabagismo – Enfoques Históricos e Atuais. São Paulo, Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, **SES – CIPeCVE**, v. 184, 2002.

ROSS, M. Labor and fetal heart rate decelerations: Relation to fetal metabolic acidosis. **Clin Obstet Gynecol.**, v. 54, p. 74–82, 2011.

ROSSNER, S. Obesity: the disease of the twenty-first century. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 26, s.04, p. 2-4, 2002.

ROTHER, E.; KUSCHEWSKI, R.; ALCAZAR, M. A. A.; OBERTHUER, A.; BAEGARTZ, I.; VOHLEN, C.; ROTH, B.; DÖTSCH, J. Hypothalamic JNK1 and IKK Activation and Impaired Early Postnatal Glucose Metabolism after Maternal Perinatal High-Fat Feeding. **Endocrinology**, v. 153, n. 2, p. 770–781, Feb-2012.

ROUWET, E. V.; TINTU, A. N.; SCHELLINGS, M. W. M.; VAN BILSEN, M.; LUTGENS, E.; HOFSTRA, L.; SLAAF, D. W.; RAMSAY, G.; LE NOBLE, F. A. Hypoxia induces aortic hypertrophic growth, left ventricular dysfunction, and sympathetic hyperinnervation of peripheral arteries in the chick embryo. **Circulation**, v. 105, p. 2791–2796, 2002.

RUBIO-RUIZ, M. E.; DEL VALLE-MONDRAGÓN, L.; CASTREJÓN-TELLEZ, V.; CARREÓN-TORRES, E.; DÍAZ-DÍAZ, E.; GUARNER-LANS, V. Angiotensin II and 1-7 during aging in Metabolic Syndrome rats. Expression of AT1, AT2 and Mas receptors in abdominal white adipose tissue. **Peptides**, v. 57, p. 101-8, Jul-2014.

RUIGE, J. B.; ASSENDELFT, W. J.; DEKKER, J. M.; KOSTENSE, P. J.; HEINE, R. J.; BOUTER, L. M. Insulin and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. **Circulation**, v. 97, p. 996–1001, 1998.

RYU, J. E.; HOWARD, G.; CRAVEN, T. E.; BOND, M. G.; HAGAMAN, A. P.; CROUSE, J. R. III. Postprandial triglyceridemia and carotid atherosclerosis in middle-aged subjects. **Stroke**, v. 23, p. 823–828, 1992.

SAMUELSSON, A. M.; MATTHEWS, P. A.; JANSEN, E.; TAYLOR, P. D.; POSTON, L. Sucrose feeding in mouse pregnancy leads to hypertension, and sex-linked obesity and insulin resistance in female offspring. **Front Physiol.**, v. 4, p. 14, Feb-2013a.

SAMUELSSON, A.M.; CLARK, J.; RUDYK, O.; SHATTOCK, M. J.; BAEA, S. E.; SOUTH, T.; POMBO, J.; REDINGTON, K.; UPPAL, E.; COEN, C. W.; POSTON, L.; TAYLOR, P. D. Experimental Hyperleptinemia in neonatal rats leads to selective leptin responsiveness, hypertension and altered myocardial function. **Hypertension**, v. 62, p. 627–633, 2013b.

SAMUELSSON, A. M.; MATTHEWS, P. A.; ARGENTON, M.; CHRISTIE, M. R.; MCCONNELL, J. M.; JANSEN, E. H.; PIERSMA, A. H.; OZANNE, S. E.; TWINN, D. F.; REMACLE, C.; ROWLERSON, A.; POSTON, L.; TAYLOR, P. D. 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, p. 383–392, 2008.

SAMUELSSON, A. M.; MORRIS, A.; IGOSHEVA, N.; KIRK, S. L.; POMBO, J. M.; COEN, C. W.; POSTON, L.; TAYLOR, P. D. Evidence for sympathetic origins of hypertension in juvenile offspring of obese rats. **Hypertension**, v. 55, p. 76–82, 2010.

SASSON, Z.; RASOOLY, Y.; GUPTA, R.; RASOOLY, I. Left atrial enlargement in healthy obese: prevalence and relation to left ventricular mass and diastolic function. **Can J Cardiol**, v. 12, n. 3, p. 257-63, Mar-1996.

SATOH, N.; OGAWA, Y.; KATSUURA, G.; HAYASE, M.; TSUJI, T.; IMAGAWA, K.; YOSHIMASA, Y.; NISHI, S.; HOSODA, K.; NAKAO, K. The arcuate nucleus as a primary site of satiety effect of leptin in rats. **Neurosci Lett**, v. 224, p. 149–152, 1997a.

SATOH, N.; OGAWA, Y.; KATSUURA, G.; TSUJI, T.; MASUZAKI, H.; HIRAOKA, J.; OKAZAKI, T.; TAMAKI, M.; HAYASE, M.; YOSHIMASA, Y.; NISHI, S.; HOSODA, K.; NAKAO, K: Pathophysiologic significance of the obese gene product, leptin, in ventromedial hypothalamus (VMH)-lesioned rats: evidence for loss of its satiety effect in VMH lesioned rats. **Endocrinology**, v. 138, p. 947–954, 1997b.

SATOH, N.; OGAWA, Y.; KATSUURA, G.; NUMATA, Y.; TSUJI, T.; HAYASE, M.; EBIHARA, K.; MASUZAKI, H.; HOSODA, K.; YOSHIMASA, Y.; NAKAO, K. Sympathetic Activation of Leptin via the Ventromedial Hypothalamus Leptin-Induced Increase in Catecholamine Secretion. **Diabetes**, v. 48, p. 1787–1793, 1999.

SCHIMIDT-OTT, U. M.; ASCHEIM, D. D. Thyroid hormone and heart failure. **Curr Heart Fail Rep**, v. 3, n. 3, p. 114-9, Set-2006.

SCHRAM K, SWEENEY G. Implications of myocardial matrix remodeling by adipokines in obesity-related heart failure. **Trends Cardiovasc Med**, v. 18, p. 199–205, 2008.

SCOTT, I. C.; MASRI, B.; D'AMICO, L. A.; JIN, S. W.; JUNGBLUT, B.; WEHMAN, A. M.; BAIER, H.; AUDIGIER, Y.; STAINIER, D. Y. The g protein coupled receptor agtr11b regulates early development of myocardial progenitors. **Dev Cell**, v. 12, p. 403–413, 2007.

SENTI, M.; NOGUES, X.; PEDRO-BOTET, J.; RUBIES-PRAT, J.; VIDAL-BARRAQUER, F. Lipoprotein profile in men with peripheral vascular disease. Role of intermediate density lipoproteins and apoprotein E phenotypes. **Circulation**, v. 85, p. 30–36, 1992.

SHARMA, S.; ADROGUE, J. V.; GOLFMAN, L.; URAY, I.; LEMM, J.; YOUKER, K.; NOON, G. P.; FRAZIER, O. H.; TAEGTMEYER, H. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. **FASEB J**, v. 18, p. 1692–1700, 2004.

SHUBEITA, H. E.; MARTINSON, E. A.; VAN BILSEN, M.; CHIEN, K. R.; BROWN, J. H. Transcriptional activation of the cardiac myosin light chain 2 and atrial natriuretic factor genes by protein kinase C in neonatal rat ventricular myocytes. **Proc Natl Acad Sci**, v. 89, p. 1305- 1309, 1992.

SICHERI, R.; SIQUEIRA, K. S.; MOURA, A. S. Obesity and abdominal fatness associated with undernutrition early in life in a survey in Rio de Janeiro. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 24, p. 614–618, 2000.

SIERRA-HONIGMANN, M. R.; NATH, A. K.; MURAKAMI, C.; GARCIA-CARDENA, G.; PAPAPETROPOULOS, A.; SESSA, W. C.; MADGE, L. A.; SCHECHNER, J. S.; SCHWABB, M. B.; POLVERINI, P. J.; FLORES-RIVEROS, J. R. Biological action of leptin as an angiogenic factor. **Science**, v. 281, p. 1683–1686, 1998.

SIMMERMAN, H. K.; JONES, L. R. Phospholamban: protein structure, mechanism of action, and role in cardiac function. **Physiol Rev**, v. 78, p. 921–947, 1998.

SIMMONS, R. Developmental origins of adult metabolic disease: concepts and controversies. **Trends Endocrinol Metab**, v. 16, p. 390-394, 2005.

SIMONS, L. A.; DWYER, T.; SIMONS, J.; BERNSTEIN, L.; MOCK, P.; POONIA, N. S.; BALASUBRAMANIAM, S.; BARON, D.; BRANSON, J.; MORGAN, J.; et al. Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: A case-control study. **Atherosclerosis**, v. 65, p. 181–189, 1987.

SINGH, A.; BALINT, J. A.; EDMONDS, R. H.; RODGERS, J. B. Adaptive changes of the rat small intestine in response to a high fat diet. **Biochim Biophys Acta**, v. 260, n. 4, p.708–15, 1972.

SKEGGS, L. T. JR.; MARSH, W. H.; KAHN, J. R.; SHUMWAY, N. P. The existence of two forms of hypertensin. **J. Exp. Med.**, v. 99, p. 275–282, 1954.

SKOMEDAL, T.; BORTHNE, K.; AASS, H.; GEIRAN, O.; OSNES, J. B. Comparasion between alpha-1 adrenoceptor-mediated and beta adrenoceptor mediated inotropic components elicited by norepinephrine in failing human ventricular muscle. **The JI of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 280, p. 721-728, 1997.

SNOECK, A.; REMACLE, C.; REUSENS, B.; HOET, J. J. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. **Biol.Neonate**, v. 57, p. 107–118, 1990.

SOLTYS, C. L.; BUCHHOLZ, L.; GANDHI, M.; CLANACHAN, A. S.; WALSH, K.; DYCK, J. R. Phosphorylation of cardiac protein kinase B is regulated by palmitate. **Am. J. Physiol.**, v. 283, n. 3, p. H1056–1064, 2002.

SOMM, E.; SCHWITZGEBEL, V. M.; VAUTHAY, D. M.; AUBERT, M. L.; HÜPPI, P. S. Prenatal nicotine exposure and the programming of metabolic and cardiovascular disorders. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 304, p. 69–77, 2009.

SOMM, E.; SCHWITZGEBEL, V. M.; VAUTHAY, D. M.; CAMM, E. J.; CHEN, C. Y.; GIACOBINO, J. P.; SIZONENKO, S. V.; AUBERT, M. L.; HÜPPI, P. S. Prenatal nicotine exposure alters early pancreatic islet and adipose tissue development with consequences and the control of body weight and glucose metabolism later in life. **Endocrinology**, v. 149, p. 6289–6299, 2008.

SOOTHILL, P. W.; AJAYI, R. A.; CAMPBELL, S.; ROSS, E. M.; NICOLAIDES, K. H. Fetal oxygenation at cordocentesis, maternal smoking and childhood neuro-development. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.**, v. 59, p. 21–24, 1995.

SRINIVASAN, M.; KATEWA, S. D.; PALANIYAPPAN, A.; PANDYA, J. D.; PATEL, M. S. Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 291, p. E792–E799, 2006.

STEINBERG, H. O.; BRECHTEL, G.; JOHNSON, A.; FINEBERG, N.; BARON, A. D. Insulinmediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. **J Clin Invest.**, v. 94, p. 1172–1179, 1994.

STEINBERG, H. O.; TARSHOBY, M.; MONESTEL, R.; HOOK, G.; CRONIN, J.; JOHNSON, A.; BAYAZEED, B.; BARON, A. D. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. **J. Clin. Invest.**, v. 100, p. 1230–1239, 1997.

SUGANAMI, T.; NISHIDA, J.; OGAWA, Y. A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: role of free fatty acids and tumor necrosis factor alpha. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 25, p. 2062–2068, 2005.

SWANSON, E. A.; GLOSS, B.; BELKE, D. D.; KANESHIGE, M.; CHENG, S. Y.; DILLMANN, W. H. Cardiac expression and function of thyroid hormone receptor beta and its PV mutant. **Endocrinology**, v. 144, n. 11, p. 4820-5, Nov-2003.

TAJMIR, P.; CEDDIA, R. B.; LI, R. K.; COE, I. R.; SWEENEY, G. Leptin increases cardiomyocyte hyperplasia via extracellular signal-regulated kinase- and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent signaling pathways. **Endocrinology**, v. 145, n. 4, p. 1550-5, Abr-2004.

TARTAGLIA, L. A.; DEMBSKI, M.; WENG, X.; DENG, N.; CULPEPPER, J.; DEVOS, R.; RICHARDS, G. J.; CAMPFIELD, L. A.; CLARK, F. T.; DEEDS, J.; MUIR, C.; SANKER, S.; MORIARTY, A.; MOORE, K. J.; SMUTKO, J. S.; MAYS, G. G.; WOOL, E. A.; MONROE, C. A.; TEPPER, R. I. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OBR. **Cell**, v. 83, p. 1263-71, 1995.

TEIXEIRA, C. V.; RAMOS, C. D. F.; MOUÇO, T.; PASSOS, M. C. F.; MOURA, E. G. Leptin injection during lactation alters thyroid function in adult rats. **Horm Metab Res**, v. 35, p. 367–371, 2003.

TODD, S. E.; OLIVER, M. H.; JAQUIERY, A. L.; BLOOMFIELD, F. H.; HARDING, J. E. Periconceptional undernutrition of ewes impairs glucose tolerance in their adult offspring. **Pediatr Res.**, v. 65, p. 409–413, 2009.

TOLMACHOV, O.; MA, Y-L.; THEMIS, M.; PATEL, P.; SPOHR, H.; MACLEOD, K. T.; ULLRICH, N. D.; KIENAST, Y.; COUTELLE, C.; PETERS, N. S. Overexpression of connexin43 using a retroviral vector improves electrical coupling of skeletal myoblasts with cardiac myocytes in vitro. **Biomedical Central Cardiovascular Disorders**, v. 6, p. 25, 2006.

TOSTE, F. P.; ALVES, S. B.; DUTRA, S. C.; BONOMO, I. T.; LISBOA, P. C.; MOURA, E. G.; PASSOS, M. C. Temporal evaluation of the thyroid function of rats programmed by leptin treatment on the neonatal period. **Horm Metab Res**, v. 38, p. 827–831, 2006a.

TOSTE, F. P.; DE MOURA, E. G.; LISBOA, P. C.; FAGUNDES, A.T.; DE OLIVEIRA, E.; PASSOS, M. C. Neonatal leptin treatment programmes leptin hypothalamic resistance and intermediary metabolic parameters in adult rats. **Br J Nutr**, v. 95, p. 830-7, 2006b.

TREVENZOLI, I. H.; RODRIGUES, A. L.; OLIVEIRA, E.; THOLE, A. A.; CARVALHO, L.; FIGUEIREDO, M. S.; TOSTE, F. P.; NETO, J. F.; PASSOS, M. C.; LISBOA, P. C.; MOURA, E. G. Leptin treatment during lactation programs leptin synthesis, intermediate metabolism, and liver microsteatosis in adult rats. **Horm Metab Res**, v. 42, n. 7, p. 483-90, Jun-2010.

TREVENZOLI, I. H.; VALLE, M. M.; MACHADO, F. B.; GARCIA, R. M.; PASSOS, M. C.; LISBOA, P. C.; MOURA, E. G. Neonatal hyperleptinaemia programmes adrenal medullary function in adult rats: effects on cardiovascular parameters. **J Physiol**, v. 580, p. 629-637, 2007.

TURDI, S.; WEI, G. E.; NAN, H. U.; BRADLEY, K. M.; WANG, X.; REN, J. Interaction between maternal and postnatal high fat diet leads to a greater risk of myocardial dysfunction in offspring via enhanced lipotoxicity, IRS-1 serine phosphorylation and mitochondrial defects. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 55, p. 117–129, 2013.

TURKBEY, E. B.; MCCLELLAND, R. L.; KRONMAL, R. A.; BURKE, G. L.; BILD, D. E.; TRACY, R. P.; ARAI, A. E.; LIMA, J. A. C.; BLUEMKE, D. A. The Impact of Obesity on the Left Ventricle: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **JACC: Cardiovasc Imag**, v. 3, n. 3, p. 266–74, 2010.

UHLEY, V.E.; JEN, K.L. Changes in feeding efficiency and carcass composition in rats on repeated high-fat feedings. **Int. J. Obesity**, v. 13, p. 849-856, 1989.

VAGUE, J.; RUBIN, P.; JUBELIN, J.; VAGUE, P. The various forms of obesity. **Triangle**, v. 13, p. 41–50, 1974.

VAN ABELEN, A. F.; DE ROOIJ, S. R.; OSMOND, C.; PAINTER, R. C.; VEENENDAAL, M. V.; BOSSUYT, P. M.; ELIAS, S. G.; GROBBEE, D. E.; VAN DER SCHOUW, Y. T.; BARKER, D. J.; ROSEBOOM, T. J. The sex-specific effects of famine on the association between placental size and later hypertension. **Placenta**, v. 32, p. 694-698, 2011.

VAN DEN BERGH, A.; VANDERPER, A.; VANGHELUWE, P.; DESJARDINS, F.; NEVELSTEEN, I.; VERRETH, W.; WUYTACK, F.; HOLVOET, P.; FLAMENG, W.; BALLIGAND, J. L.; HERIJGERS, P. Dyslipidaemia in type II diabetic mice does not aggravate contractile impairment but increases ventricular stiffness. **Cardiovasc Res**, v. 77, p. 371–379, 2008.

VAN DER WAL, A. C.; BECKER, A. E. Atherosclerotic plaque rupture – pathologic basis of plaque stability and instability. **Cardiovasc Res.**, v. 41, p. 334-44, 1999.

VAN OOSTROM, A. J.; VAN WIJK, J.; CASTRO-CABEZAS, M. Lipaemia, inflammation and atherosclerosis: Novel opportunities in the understanding and treatment of atherosclerosis. **Drugs**, v. 64, p. 19–41, 2004.

VANDERLEI, L. C. M.; PASTRE, C. M.; HOSHI, R. A.; CARVALHO, T. D.; GODOY, M. F. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Rev Bras Cir Cardiovasc.**, v. 24, n. 2, p. 205-217, 2009.

VARGAS-URICOECHEA, H.; BONELO-PERDOMO, A.; SIERRA-TORRES, C. H. Effects of thyroid hormones on the heart. **Clin Invest Arterioscl**, v. 26, n. 6, p. 296-309, 2014.

VICKERS, M. H.; GLUCKMAN, P. D.; COVENY, A. H.; HOFMAN, P. L.; CUTFIELD, W. S.; GERTLER, A.; BREIER, B. H.; HARRIS, M. The effect of neonatal leptin treatment on postnatal weight gain in male rats is dependent on maternal nutritional status during pregnancy. **Endocrinology**, v. 149, p. 1906–1913, 2008.

VINCENT, D.; ILANY, J.; KONDO, T.; NARUSE, K.; FISHER, S. J.; KISANUKI, Y. Y.; BURSELL, S.; YANAGISAWA, M.; KING, G. L.; KAHN, C. R. The role of

endothelial insulin signaling in the regulation of vascular tone and insulin resistance. **J Clin Invest.**, n. 111, p. 1373–1380, 2003.

VOGEL, R. A.; CORRETTI, M. C.; PLOTNICK, G. D. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. **Am J Cardiol.**, v. 79, n. 3, p. 350-4, Feb-1997.

WADDELL, J.; MCCARTHY, M. M. Sexual differentiation of the brain and ADHD: what is a sex difference in prevalence telling us? **Curr. Top. Behav. Neurosci.**, v. 9, p. 341-360, 2012.

WALKER, C. L.; HO, S. M. Developmental reprogramming of cancer susceptibility. **Nat. Rev. Cancer.**, v. 12, p. 479-486, 2012.

WALLACE, A. M.; MCMAHON, A. D.; PACKARD, C. J.; KELLY, A.; SHEPHERD, J.; GAW, A.; SATTAR, N. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). **Circulation.**, v. 104, p. 3052–3056, 2001.

WALLACE, J. M.; BOURKE, D. A.; AITKEN, R. P.; MILNE, J. S.; HAY, W. W. Placental glucose transport in growth-restricted pregnancies induced by overnourished adolescent sheep. **J. Physiol.**, v. 547, p. 85–94, 2003.

WALLS, H. L.; BACKHOLER, K.; PROIETTO, J.; MCNEIL, J. J. Obesity and trends in life expectancy. **Journal of Obesity**, ID 107989, 2012.

WANG, H.; PENG, D. Q. New insights into the mechanism of low high-density lipoprotein cholesterol in obesity. **Lipids Health Dis.**, v. 10, p. 176, 2011.

WANG, J.; WANG, H.; LUO, W.; GUO, C.; WANG, J.; CHEN, Y. E.; CHANG, L.; EITZMAN, D.T. Leptin-Induced Endothelial Dysfunction Is Mediated by Sympathetic Nervous System Activity. **J Am Heart Assoc.**, v. 2, p. e000299, 2013.

WANG, L.; MAMUDU, H. M.; ALAMIAN, A.; ANDERSON, J. L.; BROOKS, B. Independent and joint effects of prenatal maternal smoking and maternal exposure to second-hand smoke on the development of adolescent obesity: a longitudinal study. **J Paediatr Child Health.**, v. 50, n. 11, p. 908-15, Nov-2014.

WATKINS, A. J.; SINCLAIR, K. D. Paternal low protein diet affects adult offspring cardiovascular and metabolic function in mice. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**, n. 306, p. H1444 – H1452, 2014.

WHITE, C. L.; PURPERA, M. N.; MORRISON, C. D. Maternal obesity is necessary for programming effect of high-fat diet on offspring. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, v. 296, p. R1464–R1472, 2009.

WIDDOWSON, E. M. Cellular growth and function. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 35, p. 357–362, 1976.

WILLIAMS, K. W.; ZSOMBOK, A.; SMITH, B. N. Rapid Inhibition of Neurons in the Dorsal Motor Nucleus of the Vagus by Leptin. **Endocrinology.**, v. 148, n.4, p. 1868–1881, Abr-2007.

WILLIAMS, C. M.; KANAGASABAI, T. Maternal adipose tissue response to nicotine administration in the pregnant rat: effects on fetal body fat and cellularity. **Br.J.Nutr.**, v. 51, p. 7–13, 1984.

WOO, A. Y. H.; XIAO, R-P. β -Adrenergic receptor subtype signaling in heart: From bench to bedside. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, p. 335–341, 2012.

WOODS, S. C.; SEELEY, R. J.; RUSHING, P. A.; D'ALESSIO, D.; TSO, P. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **J Nutr**, v. 133, n. 4, p. 1081–7, 2003.

WROTONIAK, B. H.; SHULTS, J.; BUTTS, S.; STETTLER, N. Gestational weight gain and risk of overweight in the offspring at age 7 y in a multicenter, multiethnic cohort study. **Am J Clin Nutr**, v. 87, p. 1818–24, 2008.

XIAO, R. P. Cell logic for dual coupling of a single class of receptors to Gs and Gi proteins. **Circ Res**, v. 87, p. 635–637, 2000.

XU, Y.; ELMQUIST, J. K.; FUKUDA, M: Central nervous control of energy and glucose balance: focus on the central melanocortin system. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1243, p. 1–14, 2011.

YIM, H. E.; HA, K. S.; BAE, I. S.; YOO, K. H.; HONG, Y. S.; LEE, J. W. Postnatal early overnutrition dysregulates the intrarenal renin–angiotensin system and extracellular matrix-linked molecules in juvenile male rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 8, p. 937–945, Ago-2012.

YIN, F.C.; SPURGEON, H. A.; RAKUSAN, K.; WEISFELDT, M. L.; LAKATTA, E. G. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 243, n. 6, p. H941–H947, Dez-1982.

YURA, S.; ITOH, H.; SAGAWA, N.; YAMAMOTO, H.; MASUZAKI, H.; NAKAO, K.; KAWAMURA, M.; TAKEMURA, M.; KAKUI, K.; OGAWA, Y.; FUJII, S. Role of premature leptin surge in obesity resulting from intrauterine undernutrition. **Cell Metab**, v. 1, p. 371–378, 2005.

ZANARDO, V.; NICOLUSSI, S.; CAVALLIN, S.; TREVISANUTO, D.; BARBATO, A.; FAGGIAN, D.; FAVARO, F.; PLEBANI, M. Effect of maternal smoking on breast milk interleukin-1 α , b-endorphin, and leptin concentrations. **Environ. Health Perspect.**, v. 113, p. 1410–1413, Out-2005.

ZHAO, X. L.; GUTIERREZ, L.M.; CHANG, C.F.; HOSEY, M. M. The alpha 1-subunit of skeletal muscle L-type Ca channels is the key target for regulation by A-kinase and protein phosphatase-1C. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 198, p. 166–173, 1994.

ZULKAFI, I. S.; WADDELL, B. J.; MARK, P. J. Postnatal dietary omega-3 fatty acid supplementation rescues glucocorticoid-programmed adiposity, hypertension, and hyperlipidemia in male rat offspring raised on a high-fat diet. **Endocrinology**, v. 154, n. 9, p. 3110–7, Set-2013.