



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**  
ESCOLA DE NUTRIÇÃO (ENUT)  
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS (DEALI)



**PROGRAMAÇÃO METABÓLICA E SEUS EFEITOS SOBRE A DINÂMICA  
ADIPOSA E ATIVIDADE DA PARAOXONASE-1 (PON-1) EM RATOS JOVENS**

JULIA OLIVEIRA E SILVA DE CASTRO SOUZA

Ouro Preto, Minas Gerais - Brasil

2023

JULIA OLIVEIRA E SILVA DE CASTRO SOUZA

**PROGRAMAÇÃO METABÓLICA E SEUS EFEITOS SOBRE A DINÂMICA ADIPOSA E  
ATIVIDADE DA PARAOXONASE-1 (PON-1) EM RATOS JOVENS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Escola de Nutrição da Universidade Federal de  
Ouro Preto, como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Bacharel em Nutrição

**Orientadora:** Profª. Drª. Karina Barbosa de  
Queiroz

**Co-orientadora:** Mestranda Isabela Jesus de  
Deus

Ouro Preto, Minas Gerais - Brasil

2023

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S729p Souza, Julia Oliveira E Silva De Castro.

Programação metabólica e seus efeitos sobre a dinâmica adiposa e atividade da paraoxonase-1 (PON-1) em ratos jovens. [manuscrito] / Julia Oliveira E Silva De Castro Souza. - 2023.

78 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Karina Barbosa de Queiroz.

Coorientadora: Ma. Isabela Jesus de Deus.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.  
Escola de Nutrição. Graduação em Nutrição .

1. Dieta. 2. Carboidrato. 3. Resistência a insulina. 4. Tecido adiposo branco. 5. Paraoxonase-1. I. Queiroz, Karina Barbosa de. II. Deus, Isabela Jesus de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 613.2

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



## FOLHA DE APROVAÇÃO

Julia Oliveira e Silva De Castro Souza

**Programação metabólica e seus efeitos sobre a dinâmica adiposa e atividade da paraoxonase-1 (PON-1) em ratos jovens**

Monografia apresentada ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição

Aprovada em 15 de dezembro de 2023.

### Membros da banca

PhD - Karina Barbosa de Queiroz - Orientador(a) (Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP)

PhD - Renata Rebeca Pereira e Silva - (Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP)

PhD - Aline Rezende Ribeiro de Abreu - (Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG)

Mestranda Isabela Jesus de Deus - Coorientador(a)(Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP)

Karina Barbosa de Queiroz, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 16/02/2025



Documento assinado eletronicamente por **Karina Barbosa de Queiroz, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/02/2024, às 16:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0669051** e o código CRC **254DFC9B**.

Aos meus pais Maristela e Rogério, pelo apoio  
incondicional até aqui.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Rogério e Maristela e minha irmã Luísa, que sempre torceram por mim. Amo vocês.

À minha orientadora Karina, uma pesquisadora incrível que me deu a grande oportunidade e responsabilidade de executar uma pesquisa acadêmica dentro de uma universidade federal. Me recordo do dia em que fui até ela em busca de uma vaga para entrar no Laboratório de Nutrição Experimental (LABNEX) e sou muito grata por ter aberto as portas para mim. À minha coorientadora Isabela, por ter sido minha grande parceira durante toda essa trajetória. Obrigada por todos os ensinamentos, pela paciência, por ter sido um exemplo de dedicação em tudo que se propõe a fazer. Sem você, a minha pesquisa não teria sido a mesma. À Ana Flávia, pelos aprendizados dentro de um consultório e por todas as trocas incríveis que temos. Agradeço também a todas as integrantes do LABNEX, Miliane, Nicolly, Aline, Juliana, Maria Júlia e Thamires que de alguma forma, pude aprender cada dia mais e que tornaram a minha experiência dentro da ciência muito enriquecedora.

Ao Vinícius, por todo o carinho e companheirismo.

À República Feitiço, por ter me proporcionado vivências inimagináveis.

À Universidade Federal de Ouro Preto e Escola de Nutrição pelo ensino de qualidade e por todas as oportunidades acadêmicas vivenciadas. Durante os anos, pude crescer muito enquanto pessoa e futura nutricionista.

*“O correr da vida embrulha tudo; a vida é assim:  
esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e  
depois desinquieta. O que ela quer da  
gente é coragem.”*

-Guimarães Rosa

## RESUMO

A programação metabólica tem sido estudada para entender os efeitos provocados por alterações ambientais nas janelas críticas do desenvolvimento. Sabe-se que a lactação e o tipo de alimentação durante alguns períodos críticos da vida podem ocasionar alterações epigenéticas, com possíveis predisposições a doenças metabólicas na fase adulta. As alterações ocasionadas durante a programação metabólica estão fortemente relacionadas à obesidade e resistência à insulina (RI), modulando o tecido adiposo branco (TAB) por meio de hiperplasia ou hipertrofia das células adipócitas. Aliado a isso, embora os mecanismos não estejam totalmente esclarecidos, alguns estudos evidenciam que a atividade da paraoxonase 1 (PON-1) é alterada pela exposição ao tipo de ambiente e dieta rica em açúcares, podendo as modulações dessa enzima se relacionarem com o grau de adiposidade do TAB. Com isso, esse trabalho tem como proposta analisar os efeitos da superlactação decorrente da redução da ninhada e da RI induzida por dieta rica em carboidrato simples (HSD) sobre os concentrações séricas de PON-1 e dinâmica adiposa. Após o nascimento, ratos *Wistar* machos ( $n=49$ ) foram distribuídos de maneira aleatória em: ninhada controle (8 filhotes/mãe, NC) e ninhada reduzida (4 filhotes/mãe, NR). Após o desmame (21 dias), os animais foram novamente distribuídos randomicamente em quatro grupos: (i) animais da NC alimentados com dieta padrão (ração comercial Nuvilab®) ( $n=11$ , STD-NC); (ii) animais da NC alimentados com HSD (dieta "palatável" à base de leite condensado, 79% de carboidratos ( $n=13$ , HSD-NR); (iii) animais da NR alimentados com STD ( $n=12$ , STD-NR); (iv) animais da NR alimentados com HSD ( $n=13$ , HSD-NR). Os efeitos da HSD foram avaliados durante 8 semanas. Após 8 semanas, os animais foram eutanasiados com anestésico inalatório, o sangue foi coletado e o TAB retroperitoneal foi extraído, pesado e armazenado. Foram realizadas as dosagens das concentrações séricas de colesterol total, fração HDL e triacilglicerol (TAG) e a atividade enzimática sérica da PON-1. Além disso, foi realizado o cálculo da massa relativa, confecção de lâminas histológicas do TAB retroperitoneal; parte do TAB retroperitoneal foi destinada para determinação de gordura total (método de FOLCH) e TAG no tecido. Os efeitos do tamanho da ninhada e da dieta pós-desmame foram determinados pela ANOVA TWO-WAY, seguidos do pós-teste de *Bonferroni*. Foi estabelecido previamente os modelos de superlactação com sobre peso neonatal e RI induzida pela HSD. Nossos dados demonstraram uma hipertrofia do TAB retroperitoneal provocada pela HSD, havendo uma implicação na atividade arilesterásica da PON-1. Além disso, a superlactação foi capaz de conter a hipertrofia gerada pela dieta e aumentou a atividade paraoxonásica, evidenciando um possível efeito protetor da superlactação no desenvolvimento da RI.

**Palavras-chave:** redução de ninhada, dieta rica em carboidratos simples, resistência à insulina, tecido adiposo branco, paraoxonase-1

## ABSTRACT

Metabolic imprinting has been studied to understand the effects caused in development critical periods. It is known that lactation and diet during certain critical periods of life can cause epigenetic alterations, with possible tendencies to metabolic disorders later in life. The alterations caused by metabolic imprinting are strongly related to obesity and insulin resistance (IR), which may modulate white adipose tissue (WAT) by adipocyte cells hyperplasia or hypertrophy. Although mechanisms are not fully established, some research evidence that paraoxonase 1 (PON-1) activity is modulated by environmental type exposure and high-sugar diet (HSD), enzyme changes may correlate negatively to adiposity WAT level. Wistar male rats ( $n=37$ ) were divided randomly into two groups right after birth: the control litter group (8 pups/mother) and the litter size group (4 pups/mother) for 21 days. After weaning, the animals were divided into four new groups: (i) animals fed on the control litter group's standard diet (STD) ( $n=11$ , STD-NC); (ii) animals fed on the control litter group's high sugar diet ( $n=13$ , HSD-NC); (iii) animals fed on the litter size group's standard diet (STD) ( $n=12$ , STD-NR); (iv) animals fed on the litter size group's high sugar diet ( $n=13$ , HSD-NR). The effects of HSD were evaluated over 8 weeks. After 8 weeks, the animals' euthanasia occurred with anesthetic; blood and WAT samples were removed and kept for further analyzes. WAT retroperitoneal histological blades were also analyzed as well as serum concentrations of total cholesterol, high density lipoprotein (HDL), triacylglycerol (TAG), lipid content and PON-1 activity. In addition, the relative mass was calculated, histological slides of the retroperitoneal adipose tissues were made, and part of the retroperitoneal adipose tissue was used for determination of total fat (FOLCH method), followed by measurement of TAG in the tissue. The effects of litter size and post-weaning diet were determined by TWO-WAY ANOVA, followed by Bonferroni post-test. The litter size models with neonatal overweight and HSD-induced RI were established beforehand. Our data demonstrated a hypertrophy of the retroperitoneal WAT caused by HSD, with an implication in the arylesterase activity of PON1; moreover, neonatal overfeeding was able to contain the hypertrophy caused by the diet and increased paraoxon activity, evidencing a possible protective effect of neonatal overfeeding on the development of IR.

**Key-words:** litter size effect, high-sugar diet, insulin resistance, white adipose tissue, paraoxonase-1

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 01 - Possíveis impactos da programação metabólica na vida adulta do indivíduo.....	19
Figura 02- Via da sinalização de insulina.....	25
Figura 03 - Características dos adipócitos hiperplásicos e hipertróficos.....	28
Figura 04 - Síntese da PON-1 no fígado e suas funções em diversos tecidos.....	32
Figura 05 - Delineamento experimental.....	37
Figura 06 - Efeitos da superlactação e da RI sobre o perfil lipídico sérico após 8 semanas de HSD.	
46	
Figura 07 - Efeitos da superlactação e da RI sobre a área e o número de adipócitos no TAB retroperitoneal após 8 semanas de HSD.....	48
Figura 08 - Efeitos da superlactação e da RI sobre a massa relativa, o teor de lipídios totais e concentração tecidual de TAG do TAB retroperitoneal após 8 semanas de HSD.....	50
Figura 09 - Efeitos da superlactação e da RI sobre a atividade enzimática sérica da PON-1 após 8 semanas de HSD.....	51
Figura 10 - Mapa de calor (Heatmap) da correlação de Spearman entre a atividade enzimática sérica da PON-1 e os parâmetros bioquímicos, murinométricos e morfométricos dos diferentes grupos experimentais após 8 semanas de HSD.....	53
Figura 11- Resumo das alterações provocadas pela superlactação e HSD no TAB retroperitoneal e atividade da PON-1 após 8 semanas.....	60

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABCA1: transportador A1 de cassete de ligação de ATP

AGL: ácidos graxos livres

apoA-I: apolipoproteína A1

apoA-II: apolipoproteína A2

AKT: proteína quinase B

CaCl<sub>2</sub>: cloreto de cálcio

CEA: Coeficiente de eficiência alimentar

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CGPCC: Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico

D2r: receptores D2 de dopamina

DCNT: doenças crônicas não transmissíveis

DRIs: *Dietary Recommended Intakes*, Ingestões Dietéticas de Referência

DNMT: DNA Metiltransferase

DOHaD: *Developmental Origins of Health and Disease*, Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença

FGF21: fator de crescimento de fibroblastos 21

FOXO: *forkhead box protein O*, fatores de transcrição *forkhead*

G6P: glicose 6-fosfatase

GLUT4: proteína transportadora de glicose 4

GS: enzima glicogênio sintase

GSK3β: glicogênio sintase quinase 3

IRS1/2: receptor de insulina

HAT: histona acetiltransferase

HDAC: histona deacetilase

HDL: *high density lipoprotein*, proteína de alta densidade

HE: hematoxilina-eosina

HFD: *high fat diet*, dieta rica em lipídeos

HOMA-IR: Índice de resistência à insulina

HSD: *high sugar diet*, dieta rica em carboidratos simples

mTORC2: mamífero do complexo de rapamicina 2

LDL: *low density lipoprotein*, proteína de baixa densidade

LIMP: Laboratório de Imunopatologia

LPL: lipase lipoproteica

NaCl: cloreto de sódio

NaOH: Hidróxido de sódio

ncRNAs: RNAs não codificantes

NC: nenhada controle

NR: nenhada reduzida

PDK1: fosfoinosítideo quinase dependente-1

PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxiquinase

PI3K: enzima fosfoinosítideo-3-quinase

PIP2: fosfatidilinositol-4,5-bifosfato

PIP3: fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato

PON-1: paraoxonase-1

PON-2: paraoxonase-2

PON-3: paraoxonase-3

PUFA: *polyunsaturated fatty acid*, ácidos graxos poli-insaturados

RI: resistência à insulina

ox-LDL: LDL oxidada

STD: dieta padrão

TAB: tecido adiposo branco

TAM: tecido adiposo marrom

TAG: triacilglicerol

TAR: tecido adiposo retroperitoneal

TAS: tecido adiposo subcutâneo

TAV: tecido adiposo visceral

TTGi: tolerância à glicose intraperitoneal

UFOP: Universidade Federal de Ouro Preto

VLDL: *very low density lipoprotein*, proteína de muita baixa densidade

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 Programação metabólica: conceito, histórico e seus mecanismos.....	18
2.2 Redução de ninhada e a programação metabólica.....	21
2.3 Consumo de carboidratos simples e o desenvolvimento da resistência à insulina.....	22
2.4 Tecido adiposo branco: sua relação com o metabolismo, ingestão de carboidratos simples e redução de ninhada.....	26
2.5 Paraoxonase-1: mecanismos de ação.....	29
2.6 Tecido adiposo branco, redução de ninhada, consumo de carboidrato simples e a atividade da paraoxonase-1.....	33
3. OBJETIVOS.....	35
3.1 Objetivo Geral.....	35
3.2 Objetivos Específicos.....	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 Estabelecimento do modelo experimental de superlactação e resistência à insulina.....	36
4.2 Parâmetros de consumo, murinométricos e bioquímicos.....	38
4.3 Análise do perfil lipídico sérico após 8 semanas.....	38
4.3.1 Dosagem de colesterol total.....	38
4.3.2 Dosagem da fração colesterol HDL.....	39
4.3.3 Dosagem de triacilglicerol.....	39
4.4 Caracterização do tecido adiposo branco retroperitoneal.....	40
4.4.1 Confecção das lâminas histológicas do tecido adiposo branco retroperitoneal.....	40
4.4.2 Massa relativa do tecido adiposo branco retroperitoneal.....	40
4.4.3 Determinação do teor de lipídeos no tecido adiposo branco retroperitoneal pelo método de FOLCH.....	41
4.4.4 Dosagem bioquímica no tecido adiposo branco retroperitoneal - triacilglicerol.....	42
4.5 Análise da atividade enzimática sérica da paraoxonase-1.....	42
4.5.1 Determinação da atividade sérica arilesterásica da paraoxonase-1.....	42

4.5.2 Determinação da atividade sérica paraoxonásica da paraoxonase-1.....	43
4.6 Análise estatística.....	43
5. RESULTADOS.....	44
5.1 Resultados preliminares.....	44
5.2 Efeitos da superlactação e da RI sobre o perfil lipídico sérico após 8 semanas de HSD.....	44
5.3 Efeito da superlactação e da RI sobre o tamanho e número de adipócitos do tecido adiposo branco retroperitoneal após 8 semanas de HSD.....	47
5.4 Efeitos da superlactação e da RI sobre a massa relativa, o teor de lipídeos e concentração tecidual de TAG do tecido adiposo branco retroperitoneal após 8 semanas de HSD.....	49
5.5 Efeitos da superlactação e da RI sobre a atividade enzimática sérica da PON-1 após 8 semanas de HSD.....	51
5.6 Correlação entre a atividade enzimática sérica da paraoxonase-1 e os parâmetros bioquímicos, murinométricos e morfométricos dos diferentes grupos experimentais após 8 semanas de HSD... 6. DISCUSSÃO.....	52
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
9 APÊNDICE.....	62
APÊNDICE A- Valores de r e p da correlação de Spearman.....	75
10 ANEXOS.....	75
ANEXO A – Atividades desenvolvidas.....	76
ANEXO B – Orçamento/Financiamento.....	77
ANEXO C – Certificado de Comissão de Ética no Uso de Animais.....	78
ANEXO D – Certificado de participação em projetos de pesquisa e iniciação científica.....	79
ANEXO E - Trabalho apresentado no XXX Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto – ENCONTRO DE SABERES, 2022.....	80

## 1. INTRODUÇÃO

A incidência dos distúrbios metabólicos, como obesidade e dislipidemias, têm aumentado de forma significativa (Monteiro; Azevedo, 2010). Nesse contexto, o estudo da programação metabólica se faz cada vez mais necessário, uma vez que esse termo é usado para descrever o fenômeno biológico que relaciona as experiências nutricionais do começo da vida e doenças posteriores (Waterland; Garza, 1999). Atualmente, utiliza-se o termo Origens do Desenvolvimento da Saúde e da Doença (DOHaD - *Developmental Origins of Health and Disease*) para tratar de estudos epidemiológicos que investigam a exposição a diversos fatores nos estágios iniciais da vida e sua relação com o surgimento de doenças posteriormente (Delpierre et al., 2016). Em mamíferos, esse fenômeno pode estar relacionado aos mecanismos epigenéticos, que incluem metilação do DNA, modificações pós-traducionais das histonas e uma série de RNAs não codificadores (Bernstein; Meissner; Lander, 2007). Os ajustes funcionais e metabólicos gerados por essa programação podem provocar um maior impacto nas denominadas janelas críticas do desenvolvimento dos mamíferos, como a gestação e a lactação, fases caracterizadas por intensa proliferação celular, diferenciação e rápida expansão tecidual, determinando assim, a predisposição à doenças metabólicas na vida adulta (Barker, 1993).

O modelo de manipulação do tamanho de ninhada em roedores tem sido extensamente utilizado para estudar os efeitos da programação metabólica durante janelas críticas do desenvolvimento sobre o peso e a composição corporal. Nesse modelo, ratos são redistribuídos logo após o nascimento para uma pequena ou grande ninhada, resultando em superlactação ou subnutrição durante o período de amamentação, respectivamente. Os efeitos da manipulação da ninhada na literatura são controversos, uma vez que, alguns autores sugerem que recém nascidos criados em pequenas ninhadas frequentemente apresentam resistência à insulina (RI), intolerância à glicose, dislipidemia e doenças cardiovasculares (Mozeš; Šefčíková; Raček, 2015; Xiao et al., 2007). Por outro lado, existem evidências científicas que apontam para um efeito protetor da superlactação contra obesidade e diabetes na fase adulta sendo, portanto, necessário maiores esclarecimentos em relação aos efeitos e mecanismos relacionados à superlactação (Grunewaldet et al., 2014).

Dentro desse contexto, o tecido adiposo branco (TAB) representa a maior proporção de tecido adiposo no corpo e pode ser encontrado em torno de muitos órgãos e vasos sanguíneos na cavidade abdominal e subcutânea. Esse tecido armazena o excesso de energia na forma de triacilglicerol (TAG) e um aumento na acumulação dessas células pode ser um

fator determinante para o risco de doenças metabólicas (Koenen et al., 2021). A expansão do tecido adiposo pode ocorrer por meio do aumento no tamanho do adipócito (hipertrofia) ou pelo aumento no número de adipócitos (hiperplasia) (Wang et al., 2013). Os adipócitos diferenciados são pós mitóticos, portanto, a hiperplasia representa um crescimento na formação de adipócitos *de novo* (adipogênese). A hipertrofia dos adipócitos está intimamente relacionada com a disfunção do tecido: essa expansão patológica do TAB é o principal componente da síndrome metabólica (SM) em indivíduos obesos (Sun; Kusminski; Scherer, 2011). A fonte e a quantidade de energia podem modificar o crescimento do TAB, sendo a hiperplasia mais afetada pela fonte e a hipertrofia mais afetada pela quantidade de energia (Schoonmaker et al., 2004).

Nessa perspectiva, a lactação promove a nutrição adequada do recém-nascido, além de reduzir a mortalidade infantil, sugerindo um efeito protetor. Além disso, acredita-se que a composição do leite materno leva a respostas adaptativas, favorecendo uma modificação na deposição de gordura no TAB (Horta; Loret De Mola; Victora, 2015). Sendo, ainda, importante salientar que o alto consumo de açúcares na dieta está relacionado com o aumento da obesidade na infância, por provocar alteração na expressão de genes que atuam em redes relacionadas à diferenciação celular e metabolismo de lipídios no tecido adiposo e o número de adipócitos nessa fase é um elemento importante na acumulação de massa do TAB na vida adulta (Christodoulides et al., 2009; Stephen et al., 2012). Nesse sentido, trabalhos com roedores avaliaram que animais alimentados com dieta rica em carboidratos simples (HSD) apresentaram, como consequência, hiperinsulinemia e RI, além de gerar uma hiperplasia e hipertrofia do TAB (Oliveira et al., 2020). A ingestão exacerbada desse macronutriente pode modular as vias celulares que controlam a lipogênese *de novo*, processo biológico pelo qual carbonos provenientes de carboidratos são transformados em lipídios (ácidos graxos), levando a uma maior adiposidade corporal, uma vez que os ácidos graxos serão utilizados para a síntese de TAG, o qual será armazenado principalmente no TAB retroperitoneal (De Queiroz et al., 2014b; Shankar et al., 2010).

Aliado a isso, a composição da dieta tem um papel significante na modulação da paraoxonase 1 (PON-1), importante para a manutenção de níveis normais de componentes do metabolismo lipídico e glicolítico, podendo influenciar a RI. A PON-1, enzima secretada pelo fígado ligada a HDL, possui efeito protetor contra o estresse oxidativo e inflamação, podendo ter um papel na produção e secreção de insulina (Koren-Gluzer et al., 2011; Meneses et al., 2019). Como a PON-1 protege contra o estresse oxidativo, suas propriedades antioxidantes correlacionam-se com a insulina secretada pelas células beta pancreáticas sobre

concentrações altas de glicose (Koren-Gluzer et al., 2011). Além de condições genéticas, a dieta e fatores epigenéticos podem modular tanto a atividade quanto os níveis séricos da PON-1 (Meneses et al., 2019). Os estudos que avaliaram a relação do açúcar e atividade da PON-1 foram feitos submetendo roedores a uma dieta rica em sacarose e os resultados dos trabalhos diferem, pois mostram tanto um aumento quanto uma redução enzimática frente a esse tipo de dieta (Busserolles et al., 2002; Macan et al., 2010). Além disso, a atividade da PON-1 é reduzida em várias doenças como aterosclerose, diabetes mellitus, esteatose hepática crônica e hipercolesterolemia (Pereira et al., 2016) . No entanto, o maior número de estudos do comportamento enzimático da PON-1 se relaciona com experimentos que utilizaram dieta rica em lipídios (*HFD-high fat diet*). Logo, as consequências da HSD no comportamento da PON-1 ainda não são claras e o estudo dos efeitos da interação entre superlactação e HSD precisa ser elucidado.

Resultados anteriores do grupo demonstraram que a HSD induz à RI após 8 semanas de consumo, além de provocar um aumento dos adipócitos brancos, ocasionando um processo de hipertrofia no tecido adiposo, porém sem modificar o ganho de massa corporal total (De Queiroz et al., 2014b). Nesse contexto, a redução de ninhada e a HSD são variáveis que abrangem janelas de oportunidade da programação metabólica e a correlação entre elas pode provocar modificações no metabolismo de lipídios, dinâmica adiposa e atividade enzimática da PON-1. Sabendo que as conclusões a respeito da redução da ninhada não são totalmente elucidadas na literatura e que a HSD na infância pode tornar o indivíduo suscetível a distúrbios metabólicos na vida adulta, esse trabalho irá avaliar as consequências da programação metabólica gerada pelo modelo animal de redução de ninhada e dieta HSD na atividade sérica da PON-1 e modulação do TAB (hipertrofia e hiperplasia), uma vez que essa enzima parece ser um marcador importante na prevenção do aparecimento de doenças metabólicas futuras.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Programação metabólica: conceito, histórico e seus mecanismos

Os mamíferos são sensíveis a condições externas que regulam os processos ontogênicos e com isso exercem influências permanentes em vários aspectos funcionais (Waterland; Garza, 1999). No nascimento, as condições ambientais são alteradas e o organismo precisa se adaptar ao novo local que muda drasticamente mesmo em estados fisiológicos (Arima; Fukuoka, 2020). Nesse sentido, os fatores ambientais podem provocar modificações na expressão gênica por meio de mecanismos epigenéticos, não havendo mutações na sequência de nucleotídeos do DNA em si (Roldão, 2019). Em 1962, a hipótese do genótipo poupadour (“*thrifty genotype*”), proposta pelo geneticista James Neel, sugeriu que a carência de alimentos e água em algum momento passado da história provocou mutações de ocorrência espontânea, de tal forma a garantir a sobrevivência e vantagem reprodutiva, e esses genes seriam integrados em gerações futuras (Johnson et al., 2022). Porém, a persistência desses genótipos em épocas em que a comida é abundante poderia ser mal adaptada e causar obesidade e diabetes (Neel, 1962).

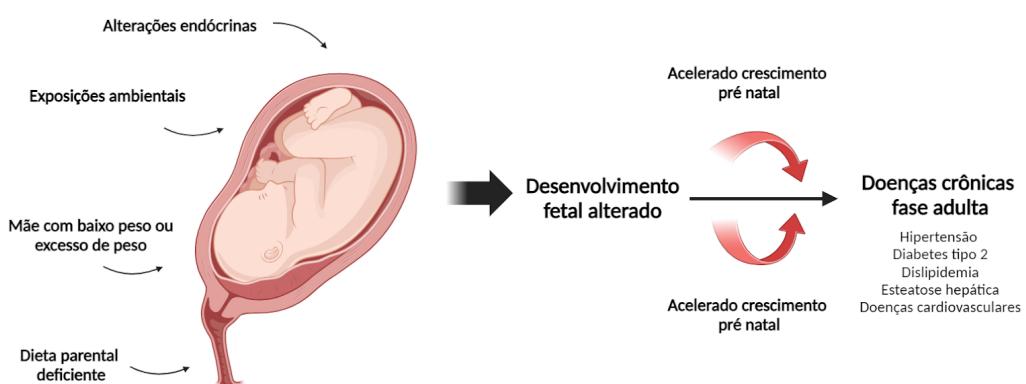
Atrelado a isso, diversos são os trabalhos que evidenciam a exposição a um ambiente neonatal com uma maior susceptibilidade a alterações metabólicas importantes posteriormente na vida adulta (Arima; Fukuoka, 2020; Bédard et al., 2017; C; Lh, 2017). Por exemplo, durante a Segunda Guerra Mundial, foi realizado um estudo com homens jovens do exército que passaram pelo período conhecido como “Fome Holandesa”, em que foi avaliado os efeitos da exposição à desnutrição na fase pré natal e infância sobre o ganho de peso e parâmetros glicometabólicos alterados quando adultos (Ravelli; Stein; Susser, 1976).

Nesse contexto, também é importante citar Barker e colaboradores (2007), que foram um dos primeiros pesquisadores a estudar esse tema. Suas observações evidenciaram uma grande correlação geográfica positiva entre as taxas de mortalidade infantil de 1921 a 1965 e a doença cardíaca isquêmica de 1968 a 1978 (Barker, 2007). Isso os levou, posteriormente, ao estabelecimento da hipótese de “Origem Fetal de Doenças” correlacionando modificações ao longo do desenvolvimento intrauterino, como baixo peso ao nascer, com risco aumentado de doenças cardiovasculares, hipertensão arterial sistêmica e obesidade na fase adulta (Barker, 1993). O Projeto Viva foi outro importante estudo feito nesse ramo para originar a teoria usada atualmente. Nessa pesquisa, foram avaliadas crianças com baixo peso e obesidade, já passados os três anos, sendo o baixo peso ao nascer correlacionado com maior índice de massa corporal (Wadhwa et al., 2009). Além disso, uma pesquisa feita por Tam e

colaboradores (2017), avaliou a exposição a um ambiente gestacional de mães diabéticas e evidenciou que após 7 anos, os filhos foram influenciados pela glicemia alterada de suas mães durante o período gestacional, havendo maior chance de desenvolvimento de obesidade, adiposidade e hipertensão (Tam et al., 2017). Portanto, essas são algumas das evidências que confirmaram a relação entre a disponibilidade de nutrientes durante a gestação e período neonatal e a reversibilidade ou não de algumas doenças crônicas.

O termo “Programação Metabólica” é usado para descrever as respostas adaptativas nos primeiros anos de vida frente a experiências nutricionais que terão implicações metabólicas futuras. Esse fenômeno é caracterizado por uma susceptibilidade limitada para uma janela crítica ontogênica no início da vida, um efeito persistente na fase adulta, um resultado específico e mensurável e uma dose-resposta (Waterland; Garza, 1999), como exemplificado pela Figura 01, a seguir. Atualmente, este termo foi atualizado para DOHaD, um campo de pesquisa que analisa a interferência de eventos que ocorrem nos estágios iniciais do desenvolvimento e suas consequências ao longo da vida (Bianco-Miotto et al., 2017). A abordagem do DOHaD considera não apenas a vida fetal, mas também o seu desenvolvimento e o impacto à exposição de uma ampla variedade de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (Penkler et al., 2019). Assim, o conceito oferece uma estratégia preventiva primordial para reduzir doenças na gerações futuras, melhorando o desenvolvimento fetal e infantil (Fall; Kumaran, 2019).

Figura 01 - Possíveis impactos da programação metabólica na vida adulta do indivíduo.



Fonte: Adaptada de HOFFMAN, D. J. e cols (2021). Criada com o Biorender.com

A partir desses estudos, os mecanismos epigenéticos têm sido considerados como o potencial recurso por trás da programação metabólica e os conceitos de DOHaD (Bianco-Miotto et al., 2017). A suscetibilidade do epigenoma para se adaptar a fatores ambientais é alterada ao longo da vida de um organismo, durante o qual há períodos em que o epigenoma é mais responsivo às mudanças (Hussey; Lindley; Mastana, 2017).

Nessa perspectiva, anteriormente à década de 40, o gene como unidade de material hereditário era um conceito teórico sem identidade física, sendo entendido que a evolução morfológica resultava da mutação e seleção, de modo que alterações no nível do gene seriam incorporadas ao genoma (Crews; McLachlan, 2006). Foi em 1942 que Conrad H. Waddington introduziu o termo epigenética para reunir uma nova área da biologia com foco na relação entre gene e expressão de proteína (Waddington, 2012). As alterações epigenéticas exercem uma importante função na remodelação da cromatina, permitindo a ativação e regulação de fatores de transcrição que atuam na ativação ou silenciamento transitório ou permanente dos genes (Fonseca; Costa Jr.; Silveira, 2021).

Dentre os mecanismos envolvidos na programação metabólica, as modificações epigenéticas referem-se às mudanças na estrutura do DNA, sem alterar a sequência de bases nitrogenadas, que possuem um papel importante na regulação da cromatina, bem como na expressão gênica da diferenciação e desenvolvimento celular. Nessa perspectiva, as alterações epigenéticas mais estudadas são a metilação do DNA, as modificações pós-traducionais das histonas e os RNAs não codificantes (ncRNAs) (Li, 2021). A metilação do DNA acontece com a transferência de um grupo metil para a posição do carbono 5 nos dinucleotídeos CpG por meio de um processo enzimático realizado por um grupo de DNA metiltransferases (DNMTs) (Chen; Zhao; He, 2016). A primeira DNA Metiltransferases (DNMT) estudada, DNMT1, foi identificada em 1988 e provou ser essencial para a manutenção da metilação após a replicação, garantindo sua transmissão precisa às células-filhas durante a mitose (Peixoto et al., 2020).

A remodelação da cromatina também regula a expressão gênica através das modificações pós-traducionais que acontecem nas histonas (Li, 2021). Tal alteração ocorre por meio de processos como acetilação, metilação, fosforilação e ubiquitinação, normalmente em resíduos específicos das caudas das histonas centrais (Kouzarides, 2007). No processo de acetilação, a regulação é mediada por duas enzimas fundamentais: a histona acetiltransferase (HAT) e a histona deacetilase (HDAC), e modificações na expressão ou atividade dessas enzimas em qualquer momento da vida podem resultar em padrões anormais de expressão gênica, contribuindo assim para o desenvolvimento de patologias (Costa; Pacheco, 2013).

Outro elemento fundamental são os RNAs não codificantes que podem se unir às proteínas argonautas e originar complexos de silenciamento transcricional (Holoch; Moazed, 2015; Li; Liu, 2019). Essa molécula é um importante regulador epigenético que participaativamente de diversos processos fisiológicos e patológicos, como a degradação de RNA mensageiro e a supressão da tradução de proteínas (Holoch; Moazed, 2015; Peixoto et al., 2020).

Dado o exposto, torna-se fundamental entender melhor o papel da saúde materna e nutrição nos estágios iniciais do desenvolvimento fetal e progressão de doenças na infância e na idade adulta e como estes poderiam modular o risco de doença, através de alteração do epigenoma.

## 2.2 Redução de ninhada e a programação metabólica

Os estímulos ambientais chegam ao organismo por meio da percepção do sistema endócrino e nervoso central, os quais estão interligados entre si para receber a informação externa. Conforme a etapa de desenvolvimento, a associação do ambiente, recepção do sistema nervoso e modulação do sistema endócrino gerará diversas repercussões (Figlewicz, 2015). Como mencionado anteriormente, nos períodos de alta sensibilidade a fatores externos, como é o caso da lactação, as alterações metabólicas induzem programações metabólicas que podem dar origem a mudanças gênicas transmitidas ou não às gerações seguintes (Anway et al., 2005; Silva et al., 2015). Nessa perspectiva, a modificação do consumo de nutrientes, armazenamento e uso de fontes energéticas na maturidade está vinculado a modulações hipotalâmicas nos estágios iniciais da vida (Xavier, 2016).

Durante a lactação, o desenvolvimento morfológico e fisiológico pode ser alterado se o eixo neuro-hormonal sofrer adaptações em decorrência de algum acontecimento, podendo gerar uma alteração permanente, mesmo quando a situação de normalidade retorne. Isso acontece porque os nutrientes determinam a desorganização do processo epigenético, podendo causar o surgimento de doenças relacionadas a distúrbios metabólicos (Tiffon, 2018). Levando em consideração que a lactação e o leite materno exercem uma implicação direta sobre o crescimento e metabolismo do organismo em desenvolvimento, o cuidado nesta etapa é fundamental (Xavier, 2016). O leite materno é considerado um alimento completo e ideal para todas as crianças durante os primeiros dois anos de vida, sendo composto por nutrientes importantes para o crescimento, energia e sistema nervoso central (Pessoa, 2017). Dessa forma, a composição do leite pode estar envolvida no processo de

programação metabólica e, no caso específico do tecido adiposo, ocasionar alterações no número e/ou tamanho de adipócitos e, consequentemente, induzir os mecanismos deste fenômeno (Xavier, 2016).

Atrelado a isso, a redução do número de filhotes da prole em roedores é um modelo experimental bastante utilizado para induzir hipernutrição precoce e investigar sua relação com programação metabólica durante a lactação, além de avaliar os possíveis efeitos na saúde, em longo prazo, dos animais (Habbout et al., 2013). O modelo compreende na redução do tamanho de ninhada para apenas 4 filhotes durante a lactação (Spencer; Tilbrook, 2009), o que leva ao maior fornecimento de leite materno a prole e, consequentemente, ingestão do volume máximo da capacidade do trato gastrointestinal (Xavier, 2016). Um estudo evidenciou que ratos submetidos a superlactação demonstraram aumento do peso corporal e do TAB, além de parâmetros metabólicos alterados como hiperglicemias, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e redução de lipoproteínas de alta densidade (HDL- *High Density Lipoprotein*) na vida adulta (Rinaldi et al., 2012).

No entanto, os efeitos da redução de ninhada na literatura ainda são controversos. Alguns trabalhos salientam que a superlactação tem um efeito protetor contra problemas metabólicos posteriormente, como a obesidade e diabetes (Grunewald et al., 2014; Rodekamp et al., 2005). Os resultados de um efeito protetor da superlactação podem ser explicados devido às substâncias bioativas presentes no leite materno que modulam a expressão gênica, de tal forma a promover o equilíbrio energético e prevenir o surgimento de doenças na fase adulta (Kaput; Rodriguez, 2004; Pereira; Alfenas; Araújo, 2014). Além disso, a existência de oligossacarídeos no leite materno desempenha um papel fundamental na promoção de uma microbiota equilibrada, estimulando a síntese de ácidos graxos de cadeia curta e minimizando o acúmulo de gorduras nos tecidos (Chambers et al., 2018; Koleva; Bridgman; Kozyrskyj, 2015). Portanto, o estudo acerca desse tema é bastante relevante para sanar questionamentos ainda não totalmente elucidados na ciência.

### **2.3 Consumo de carboidratos simples e o desenvolvimento da resistência à insulina**

Os carboidratos são as moléculas mais abundantes em nosso planeta (Chadel, 2021), sendo essenciais para a nutrição e são encontrados em uma variedade de alimentos, fornecendo a maioria das calorias consumidas nas dietas ocidentais (Silva, 2019). Desde a infância, eles exercem o papel de fornecimento de energia, principalmente para o cérebro, um órgão glicose-dependente (Mergenthaler et al., 2013; Silva, 2019). De acordo com as

Ingestões Dietéticas de Referência (2023) (DRIs- *Dietary Recommended Intakes*), os carboidratos devem fornecer cerca de 45%-65% da ingestão calórica diária humana (Dietary Reference Intakes For Energy, 2023). No Brasil, a maioria da população consome mais de 50% de sua dieta com esse macronutriente (Araújo et al., 2013).

Todavia, os chamados açúcares adicionados são açúcares processados e/ou refinados, como a sacarose e xarope de milho rico em frutose, que fornecem pouco valor nutricional aos alimentos e consistem em calorias vazias (Witek; Wydra; Filip, 2022). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o açúcar de adição não deve ultrapassar 10% do total da energia diária consumida (World Health Organization, 2015). Dados do Ministério da Saúde e Organização Panamericana de Saúde (OPAS/OMS) apontam que 12,9% das crianças brasileiras entre 5 e 9 anos são obesas e 21% dos adolescentes entre 12 e 17 anos são obesos (Ministério da Saúde, 2021; Organização Panamericana de Saúde, 2021). Ademais, no ano de 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos estavam com sobrepeso (Haththotuwa; Wijeyaratne; Senarath, 2020). Dentre muitos fatores, como exercício físico, genética e ambiente, a dieta é um elemento favorável ou não a condições complexas como a obesidade e SM (Johnson et al., 2017). O excesso de açúcar adicionado está relacionado com o desenvolvimento e/ou prevalência de RI, dislipidemia, doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 independente do ganho de peso corporal ou ingestão total de calorias por meio da desregulação do metabolismo de carboidratos e lipídios (Stanhope, 2016).

Dentro desse contexto, a glicose é uma fonte de energia para as células e é metabolizada por meio do processo conhecido como glicólise, que converte uma molécula de glicose em duas moléculas de ácido pirúvico (Nakrani; Wineland; Anjum, 2023; Witek; Wydra; Filip, 2022). Os carboidratos são os principais macronutrientes que afetam a glicemia pós prandial. A resposta glicêmica depende de diversos fatores, incluindo a quantidade total de carboidratos consumida, além do tipo desse macronutriente (Papakonstantinou et al., 2022). Um estudo demonstrou que dietas com carboidratos de alto índice glicêmico durante a puberdade foram associadas com aumento de RI posteriormente (Goletzke et al., 2013). Assim, os carboidratos de baixo índice glicêmico são interessantes, pois promovem uma liberação mais lenta da insulina e melhor controle da obesidade, devido ao aumento da saciedade, além da maior distensão gástrica promovida pela quantidade de fibras desses alimentos que aumentam a secreção de colecistoquinina (Diretriz Da Sociedade Brasileira De Diabetes, 2023).

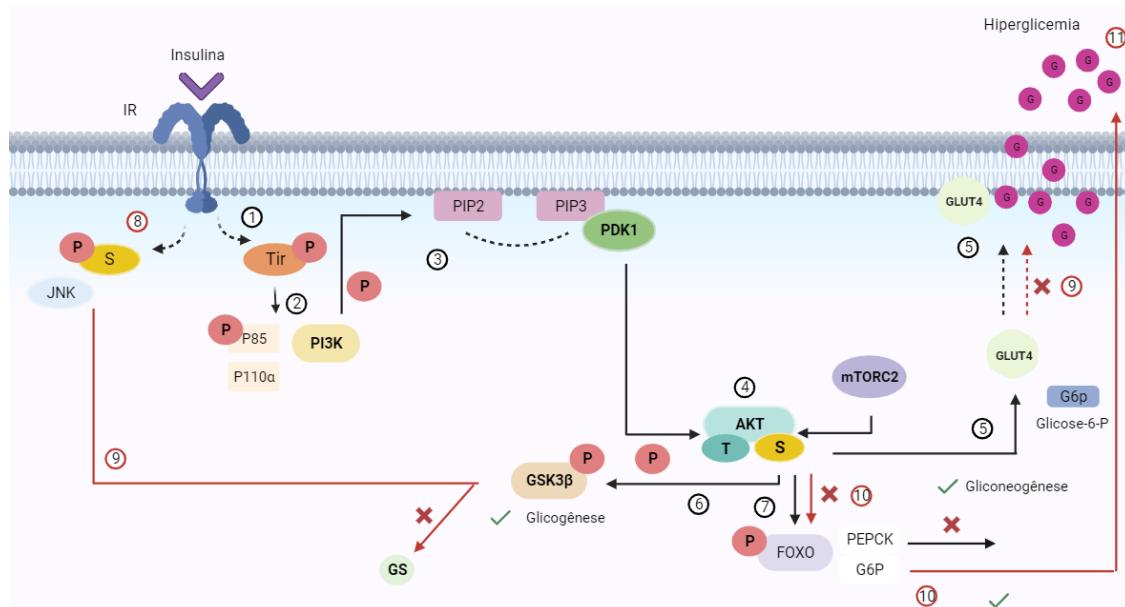
Atrelado a isso, a dieta é um fator modificável que pode prevenir ou predispor a RI (Castro-Quezada et al., 2019). Diversos estudos sugerem que o consumo de açúcares

adicionados está associado com a presença de RI (Aragno; Mastrocola, 2017; Freeman et al., 2018; Stanhope, 2016). Essa é uma condição glicometabólica definida pela incapacidade de alguns tecidos em responder às concentrações normais de insulina e, assim, concentrações maiores do hormônio são necessárias para manter as funções normais da insulina nas células (Lee; Park; Choi, 2022a). Esse é um hormônio regulador fundamental na transição da produção de nutrientes para o armazenamento. Após a ingestão de nutrientes, as concentrações de glicose plasmática atingem uma concentração limite que estimula a secreção de insulina por meio das células beta pancreáticas. Em situações regulares, esse hormônio promove a absorção de glicose nos principais locais de armazenamento e consumo, como no tecido adiposo, em que o excesso de carboidratos é armazenado como TAG. (Lee; Park; Choi, 2022b).

Em condições fisiológicas normais, para que a glicose seja utilizada pelo TAB, uma cascata de transdução de sinal é desencadeada por meio da ligação da insulina com seu receptor na membrana plasmática, a fim de garantir a entrada da molécula nas células adiposas (Choe et al., 2016). De forma resumida, quando a insulina se liga ao seu receptor, ocorre a autofosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS1/2) no resíduo de tirosina, que permite, sequencialmente, a fosforilação da subunidade reguladora p85 da enzima fosfoinositídeo-3-quinase (PI3K) e ativação do seu domínio catalítico (p110 $\alpha$ ). Essas alterações iniciais fazem com que a PI3K fosfore o fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) na posição 3 do anel de inositol, gerando o fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), o qual ancora o fosfoinositídeo quinase dependente-1 (PDK1) e proteína quinase B (AKT), duas proteínas essenciais no processo de sinalização (De Deus et al., 2023b). O PDK1 fosforila o resíduo de treonina 308 da AKT e a proteína alvo de mamífero do complexo de rapamicina 2 (mTORC2) fosforila a AKT no resíduo de serina 473. O processo de fosforilação da AKT no resíduo de serina [pAKT(Ser473)], dentre outras ações, promove a translocação da proteína transportadora de glicose 4 (GLUT4) para a membrana dos adipócitos, o que garante a entrada de glicose nas células. A pAKT(Ser473) também fosforila a glicogênio sintase quinase 3 (GSK3 $\beta$ ), fundamental para a inibição da glicogenólise e ativação da glicogênese, por meio da estimulação da enzima glicogênio sintase (GS). Além disso, ocorre a fosforilação de fatores de transcrição *forkhead* (FOXO- *forkhead box protein O*), impedindo sua translocação do núcleo para o citoplasma, o que inibe a transcrição dos genes fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) e glicose 6-fosfatase (G6P) (De Deus et al., 2023a). Em uma situação de RI, há uma ativação das S treonina quinase como a proteína c-jun N terminal quinase (JNK), que irá fosforilar IRS1/2 em serina. Isso resulta em uma

diminuição da pAKT(Ser473) e possibilita a ativação de GSK3 $\beta$  e, consequentemente, inibição de GS. Ademais, a ausência de fosforilação nuclear de FOXO por meio da pAKT(Ser473) garante a translocação dele para o citoplasma e a transcrição de genes PEPCK e G6P, o que estimula a gliconeogênese, permitindo a produção de glicose-6-P e a sua desfosforilação pela G6P. Esse mecanismo resulta em um quadro de hiperglicemia (De Deus et al., 2023b), como observado na figura 02, a seguir.

Figura 02- Via da sinalização de insulina



- ① A insulina se liga ao seu receptor e promove a autofosforilação de IRS1/2 no resíduo de tirosina ;
- ② Levando a fosforilação da p85 da PI3K e ativação de p110 $\alpha$ ;
- ③ PI3K fosforila PIP2 e gera PIP3, o qual anora o PDK1 e AKT;
- ④ PDK1 fosforila o resíduo de treonina 308 da AKT e mTORC2 fosforila a AKT no resíduo de serina 473;
- ⑤ A AKT(Ser473) permite que o GLUT4 seja translocado para a membrana dos adipócitos e a glicose entre nas células;
- ⑥ A pAKT(Ser473) fosforila a GSK3 $\beta$  e estimula a GS; inibição da glicogenólise e ativação da glicogênese;
- ⑦ Fosforilação de FOXO; inibição da transcrição dos genes PEPCK e G6P;
- ⑧ Na RI, ocorre a fosforilação de IR1/2 em S por meio de JNK.
- ⑨ Na diminuição da pAKT(Ser473) a translocação de GLUT-4 até a membrana é inibida, não ocorrendo a entrada de glicose nas células. Além disso, ocorre ativação de GSK3 $\beta$  com inibição de GS.
- ⑩ A ausência de fosforilação de FOXO permite a transcrição de genes PEPCK e G6P, o que estimula a gliconeogênese, permitindo a produção de G6P e a sua desfosforilação pela G6P.
- ⑪ Resulta em um quadro de hiperglicemia;

Tir: resíduo de tirosina; IRS1/2: receptor de insulina; p85: subunidade reguladora; PI3K: fosfoinositídeo-3-quinase; p110 $\alpha$ : domínio catalítico ; PIP2: fosfatidilinositol-4,5-bifosfato; PIP3:fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato; PDK1: fosfoinositídeo quinase dependente-1; AKT: proteína quinase B; T: resíduo de treonina; mTORC2: proteína alvo de mamífero do complexo de rapamicina 2; S: resíduo de serina; GLUT4: transportador de glicose 4; pAKT(Ser473): AKT fosforilada no resíduo de serina; GSK3 $\beta$ : glicogênio sintase quinase 3; GS: glicogênio sintase; FOXO: fosforilação de fatores de transcrição forkhead; PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxiquinase; G6P: glicose 6-fosfatase; JNK: c-jun N terminal quinase;

**Seta preta:** via insulínica normal

**Seta vermelha:** via insulínica em condição de resistência à insulina

Fonte: adaptado de DE DEUS et al., 2023; SOUZA, 2018. Criado com Biorender.com

No entanto, a ingestão excessiva de carboidratos simples, principalmente durante a infância, pode alterar a expressão de genes que atuam em redes relacionadas à diferenciação celular e metabolismo de lipídios no tecido adiposo (De Queiroz et al., 2014b), contribuindo para um quadro de desregulação insulínica. Ademais, o desenvolvimento da RI é comumente associado com a acumulação excessiva de massa adiposa, sendo a adiposidade o determinante mais importante da RI entre crianças de diferentes idades, etnias, sexo (Lee, 2006; Maffei; Morandi, 2018). Embora existam muitos fatores que contribuem para o desenvolvimento da RI, a obesidade é um dos mais fortes fatores determinantes, ainda na infância (Tucker, 2022). Nesse sentido, o consumo excessivo de açúcar pode ser perigoso para o corpo humano, contribuindo para a epidemia da obesidade e sobrepeso (Witek; Wydra; Filip, 2022). Sabendo que o consumo de carboidratos simples excessivo desde a infância tem se tornado um problema de saúde global, estudar os mecanismos e formas de combater a RI decorrente da obesidade é de suma importância.

## 2.4 Tecido adiposo branco: sua relação com o metabolismo, ingestão de carboidratos simples e redução de ninhada

O TAB exerce um papel fundamental quanto ao metabolismo energético do corpo, pois é responsável pelo armazenamento de lipídios, a partir da lipogênese, bem como pela disponibilidade de ácidos graxos livres, através da lipólise, gerando substratos para o metabolismo via beta oxidação (Bódis; Roden, 2018). Além do metabolismo energético, o TAB tem uma atuação no isolamento térmico e proteção contra estresse mecânico, sendo cada vez mais estudado devido a sua função endócrina no corpo, que secreta grandes quantidades de substâncias regulatórias para o organismo, como hormônios, adipocinas e citocinas, a fim de controlar a homeostase energética e sistema imune (Scheja; Heeren, 2019).

O TAB é subdividido em duas classificações, de acordo com a distribuição de depósitos no corpo: o tecido adiposo subcutâneo (TAS), que corresponde aos estoques abaixo da pele nas áreas abdominal, glútea e femoral, representando 80% da gordura, e o tecido adiposo visceral (TAV), que corresponde à deposição de gordura mesentérica, omental e retroperitoneal (Fonseca-Alaniz et al., 2006; Guglielmi; Sbraccia, 2018). As células de gorduras, denominadas adipócitos, são especializadas no estoque de energia na forma de TAG, não ocorrendo prejuízo à integridade funcional destas células. As substâncias

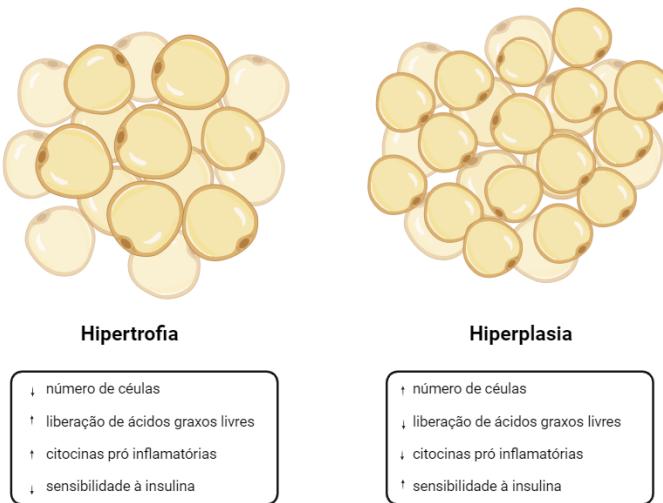
secretadas de forma ativa pelos adipócitos estão envolvidas na regulação da homeostase de lipídios e carboidratos, podendo sofrer modificações em decorrência dos hábitos alimentares e estilo de vida (Choe et al., 2016; Coelho; Oliveira; Fernandes, 2013).

Na infância, o tecido adiposo marrom (TAB) é abundante, principalmente para a dissipação de energia e geração de calor, sendo composto por adipócitos que estocam o TAG em gotículas lipídicas uniloculares (Liu et al., 2021), o que representa mais de 90% do volume celular (Saely; Geiger; Drexel, 2012). Devido a sua alta plasticidade, o TAB tem a capacidade de expandir, contrair e modificar nos primeiros anos de vida e fase adulta para acomodar mudanças em resposta a uma variedade de estímulos, incluindo obesidade, dieta e exercício (White, 2023). Ademais, algumas condições, como alterações genéticas ou exposição ao frio, têm o potencial de desencadear o escurecimento do TAB. Esse processo envolve a ativação de genes relacionados à função do TAB no TAB, resultando na formação de adipócitos conhecidos como "beiges". É importante ressaltar que a indução da termogênese, tanto no TAB quanto no TAM, demonstrou aumentar o gasto energético e prevenir o desenvolvimento de obesidade associada ao consumo de dieta e disfunção metabólica (Price; Fernández-Hernando, 2016). Dentro desse contexto, o TAB desempenha um papel vital na regulação da homeostase energética de todo o corpo, sequestrando, armazenando e liberando lipídios conforme necessário (Li; Spalding, 2022). O crescimento do TAB é mediado pelo equilíbrio entre a lipogênese e lipólise e a insulina exerce um papel fundamental, estimulando a lipogênese e inibindo a lipólise, mantendo o estoque de lipídios nos adipócitos em concentrações fisiológicas (Li; Spalding, 2022). O principal recurso para a lipogênese são os TAG circulantes transportados por meio das lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL- *Very Low Density Lipoprotein*) residentes no fígado ou quilomicrons derivados do intestino (Li; Spalding, 2022).

Esse crescimento dos adipócitos em si é um mecanismo necessário pelo qual as células acomodam a sobrecarga de nutrientes. No entanto, o crescimento descontrolado resulta na dificuldade de manutenção da homeostase, contribuindo para a disfunção do tecido (Li; Spalding, 2022). A capacidade de armazenamento de lipídios no TAB pode ocorrer pela expansão do tecido que pode ser caracterizada como hiperplasia (aumento no número de adipócitos) ou hipertrofia (aumento no tamanho de adipócitos) (Vishvanath; Gupta, 2019), como observado na figura 03, a seguir. O aumento considerável do tamanho das células ocasionado pela expansão hipertrófica, leva à disfunção dos adipócitos e tem sido amplamente reconhecido como o principal fator no desenvolvimento da SM relacionada à obesidade (Honecker et al., 2022), ocasionando prejuízo na angiogênese, acumulação da

matriz extracelular e infiltração e ativação de células inflamatórias (Choe et al., 2016). A lipólise basal é aumentada na presença de adipócitos hipertróficos, o que aumenta a liberação de ácidos graxos livres (AGL). Assim, grandes quantidades de AGL lançados pelo TAB são capturados por outros tecidos, como o fígado e o músculo, e podem causar acumulação ectópica de gordura (Choe et al., 2016). Associado a isso, a sinalização da insulina prejudicada na RI não promove a adequada absorção de glicose pelos adipócitos e também não inibe a lipólise de forma suficiente para proteger os tecidos não adiposos da deposição lipídica ectópica (Felix; Cox; Hartig, 2021). As disfunções adiposas que ocorrem na obesidade incluem a diminuição da capacidade dos adipócitos de sintetizar, esterificar e armazenar TAG em uma gotícula lipídica central. Isso ocorre pois existe uma redução na expressão enzimática da síntese lipídica, esterificação e sequestro de ácidos graxos, incluindo diminuição dos níveis de proteínas de gotículas lipídicas que normalmente protegem os TAG armazenados da lipólise (Czech, 2020).

Figura 03 - Características dos adipócitos hiperplásicos e hipertróficos.



Fonte: Adaptado de CHOE e cols., 2016. Criado com o Biorender.com.

Após o processo hipertrófico dos adipócitos ocorre a hiperplasia, que se dá por meio da adipogênese, na formação de novos adipócitos através de uma célula precursora, aumentando a capacidade de deposição de energia TAG do TAB. A obesidade proveniente do processo hipertrófico tem um maior potencial nocivo devido a produção e liberação de citocinas, o que deixa o tecido mais sujeito a mecanismos inflamatórios. Entretanto, a obesidade hiperplásica contribui para a melhora da inflamação ocasionada pela hipertrofia (Choe et al., 2016), sendo preferível durante a remodelação do tecido, pois pequenos

adipócitos apresentam melhor sensibilidade à insulina (Eriksson-Hogling et al., 2015). Normalmente, o número total de adipócitos é definido durante a infância e permanece constante durante a fase adulta, mas pode ser aumentado com a obesidade precoce e, em alguns casos, em adultos pelo excesso de ingestão de alimentos calóricos (Kahn; Wang; Lee, 2019). Embora a obesidade seja considerada uma desordem com etiologia multifatorial e está frequentemente associada a uma dieta rica em gorduras, o consumo excessivo de açúcar no início da vida tem sido descrito como um modulador lipogênico, afetando períodos críticos da infância e promovendo obesidade e RI em adultos jovens (Joslowski et al., 2013).

Alguns estudos com ratos *Wistar* evidenciam que a HSD induz a hipertrofia do TAB retroperitoneal, o que reflete em uma redução do número de adipócitos por área, além do aumento do teor de lipídeos também provocado pela dieta (De Queiroz et al., 2014a; Santos, 2018). Assim, o consumo exacerbado de açúcar é capaz de intensificar o risco de desenvolvimento de patologias metabólicas durante a vida adulta em razão do aumento da expressão gênica relacionada à vias pró-adipogênicas (De Queiroz et al., 2014a).

Nessa perspectiva, como dito anteriormente, a manipulação do tamanho de ninhada em roedores tem sido utilizada para avaliar as consequências, em longo prazo, causadas pela hipernutrição, em se tratando da composição corporal desses animais (Habbout et al., 2013). Havendo uma alta disponibilidade de leite, o volume máximo da capacidade gastrointestinal dos animais é alcançado, podendo levar os filhotes a hiperálimentação, tendo em vista que a função hipotalâmica nos estágios iniciais do desenvolvimento não está completamente formada. Dessa maneira, a superlactação tem sido correlacionada com o excesso de peso e hiperfagia na fase adulta. Entretanto, as alterações no TAB por meio desse modelo ainda são controversas na literatura (Nery, 2011), uma vez que dados anteriores do grupo evidenciaram um efeito protetor da superlactação no que diz respeito ao tecido adiposo em animais submetidos a HSD (Deus, 2020).

Portanto, considerando que o TAB exerce uma atuação central na regulação do metabolismo de lipídeos e carboidratos e que a HSD e a superlactação são estímulos externos capazes de ocasionar modificações morfológicas e metabólicas nesse tecido, é de grande relevância compreender os processos que interligam essas temáticas.

## **2.5 Paraoxonase-1: mecanismos de ação**

As paraoxonases compõem um grupo de três enzimas: paraoxonase-1 (PON-1), paraoxonase-2 (PON-2) e paraoxonase-3 (PON-3) (Taler-Verčič; Goličnik; Bavec, 2020). A

PON-1 foi identificada em 1940 por Norman Aldridge e classificada inicialmente como uma A-esterase, ficando posteriormente conhecida como paraoxonase devido a sua capacidade de hidrolisar a forma oxon do inseticida *parathion* (Ikhlef et al., 2017). No entanto, apesar de ter ficado conhecida pela sua capacidade de proteção contra envenenamento por derivados organofosforados, há um foco no seu papel protetor em doenças cardiovasculares e seu uso como um marcador de patologias envolvendo inflamação, uma vez que ela protege contra o estresse oxidativo (Ceron; Tecles; Tvarijonaviciute, 2014).

De forma geral, essas três enzimas apresentam uma variedade de atividades enzimáticas para vários tipos de substratos em um único sítio ativo (Taler-Verčič; Goličnik; Bavec, 2020). Entretanto, apenas a PON-1 exibe as três atividades: lactonásica, arilesterásica e paraoxonásica (Taler-Verčič; Goličnik; Bavec, 2020), o que a permite ter a capacidade de hidrolisar metabólitos ativos de inseticidas organofosforados como oxon e diazon, ésteres aromáticos como fenilacetato, tiofenilacetato e 2-naftilacetato e lactonas aromáticas e alifáticas (dihidrocumarina, g-butirolactona e homocisteína tiolactona) (Cunha, 2012). Os substratos mais comuns utilizados em experimentos para avaliar a atividade enzimática da PON-1 são o fenilacetato e o paraoxon (Kulka, 2016). A maior utilização do substrato fenilacetato em ensaios se dá devido a sua importância para a redução do dano endotelial e doenças cardiovasculares (Shunmoogam; Naidoo; Chilton, 2018), enquanto o paraoxon é amplamente utilizado devido a sua alta especificidade para a hidrólise de organofosforados e sua toxicidade para a saúde (Marsillach; Costa; Furlong, 2016). Os organofosfatos são triésteres de fosfatos com mecanismo de ação associado com a inibição de acetilcolinesterase no sistema nervoso, que catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina e resulta na crise colinérgica (Mohammed et al., 2022). Os éteres aromáticos apresentam um anel aromático em sua composição e o fenilacetato é um dos substratos de ésteres aromáticos mais conhecidos para a PON-1, apresentando uma taxa de hidrólise alta em comparação com as demais enzimas da família (Mohammed et al., 2022).

Além disso, a PON-1 é uma glicoproteína multifuncional cálcio dependente (Ikhlef et al., 2017; Taler-Verčič; Goličnik; Bavec, 2020) intimamente associada à subfração da HDL na corrente sanguínea (Mahrooz; Mackness, 2020) e encontrada em várias espécies de animais (Shunmoogam; Naidoo; Chilton, 2018). Essa enzima apresenta uma estrutura tridimensional composta por dois íons de cálcio com funções distintas: um para estabilizar a estrutura enzimática e o outro para que a atividade catalítica aconteça nos substratos (Ikhlef et al., 2017). Ela é sintetizada pelo fígado e pode ser identificada no plasma (Kulka, 2016) e em diversos tecidos a partir do transporte feito por HDL (Marsillach et al., 2008), podendo estar

presente em várias partículas de HDL, incluindo aquelas contendo apenas apolipoproteína A1 (apoA-I) e outras contendo apoA-I e apolipoproteína A2 (apoA-II) (Dullaart; Otvos; James, 2014). A fração de HDL que contém maior atividade enzimática da PON-1 é HDL<sub>3</sub> (Kulka, 2016). Assim, essa enzima pode representar um determinante das concentrações circulantes de colesterol HDL e apoA-I, a apolipoproteína mais abundante dessa fração de colesterol (Dullaart; Otvos; James, 2014).

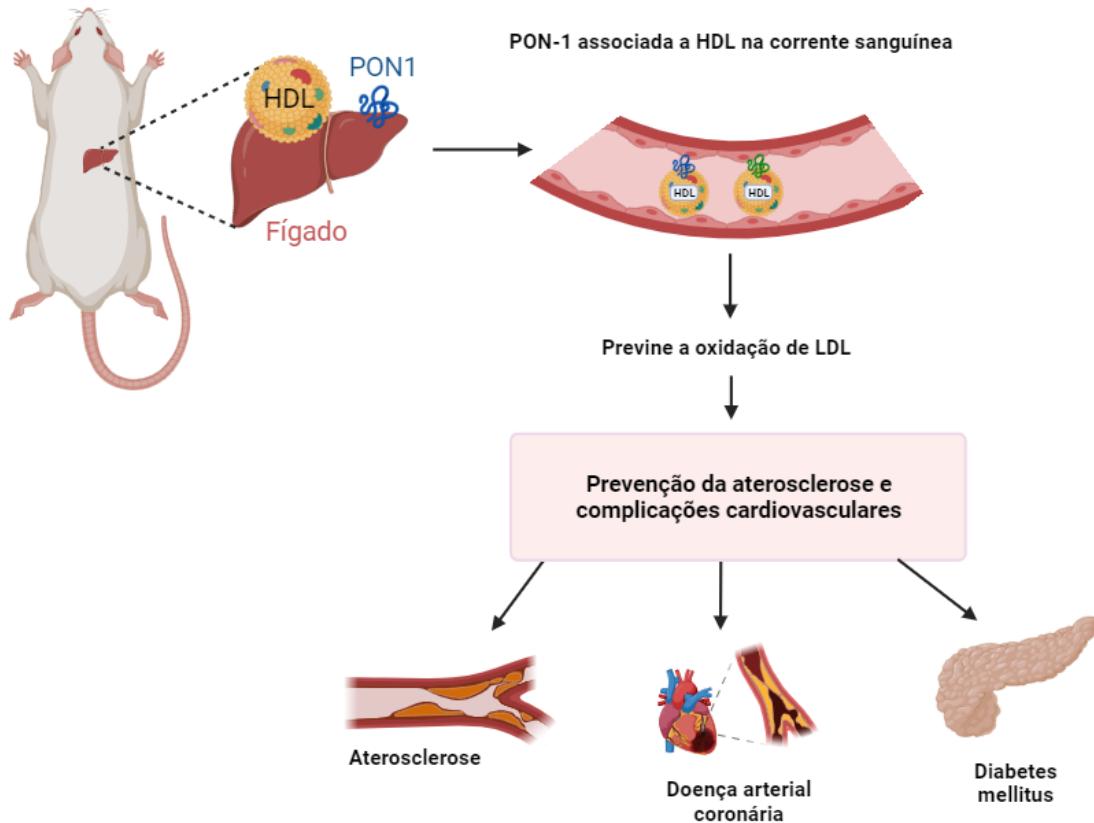
Dentro desse contexto, o HDL é um potencial inibidor da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL- *Low Density Lipoprotein*), enquanto alguns fosfolipídios oxidados podem atuar como substratos fisiológicos para a PON-1 no plasma (Sentí et al., 2003). O papel protetor do HDL frente a doenças cardiovasculares se dá por meio do transporte reverso do colesterol feito por essa fração (Shokri et al., 2020). O principal mecanismo pelo qual a HDL inibe a formação da LDL oxidada (ox-LDL), a molécula principal no processo de aterosclerose, é através da hidrólise enzimática dos hidroperóxidos de fosfolipídios (Macedo, 2013; Shokri et al., 2020). O dano oxidativo de LDL acontece por meio da formação desses hidroperóxidos de fosfolipídios contendo ácidos graxos insaturados que se decompõe para liberar aldeídos reativos mediante a uma reação de fosfolipase A2 em lisofosfolídeos (Kulka, 2016).

Dessa maneira, o maior interesse pela PON-1 se deu a partir do estudo feito por Mackness (1991) em que demonstrou a prevenção do surgimento de hidroperóxido durante a oxidação de LDL induzida por Ca<sup>2+</sup> por meio de HDL e participação fundamental da PON-1. Além disso, o efeito antioxidante do HDL é associado a presença de algumas enzimas como a PON-1 (Macedo, 2013). Nesse sentido, estudos indicam que os efeitos ateroprotetores da PON-1 podem ser capazes de modular o efluxo de colesterol pelos macrófagos (Berrougi; Loued; Khalil, 2012; Cervellati et al., 2019). O estudo de Rosenblant e colaboradores (2005) foi essencial para reportar o potencial papel da PON-1 no efluxo de colesterol mediado por HDL, por meio do transportador A1 de cassete de ligação de ATP (ABCA1) (Rosenblat et al., 2005). Sendo assim, a PON-1 atuaria de forma a conter o processo da oxidação lipídica e conferir proteção às membranas celulares (Pinheiro; Jesuíno, 2022), além de reduzir a formação de células espumosas pelos macrófagos (Mackness; Mackness, 2015).

A PON-1 exerce um papel primordial em algumas doenças metabólicas como diabetes, doenças cardiovasculares e câncer (Kotur-StevuljeviĆ et al., 2020), como exemplificado pela figura 04, a seguir. Em roedores, a lipoproteína HDL desempenha a função de transportar o colesterol para os órgãos, de maneira similar à função da lipoproteína LDL no corpo humano (Groener; Van Gent; Van Tol, 1989; Kadowaki; Patton; Robins,

1992). Após a hidrólise, a maior parte das VLDL são removidas da circulação utilizando os receptores hepáticos B/E e poucas partículas se convertem em LDL, as quais também são preferencialmente captadas e removidas pelo fígado (Havel, 1984). Há evidências em modelos animais geneticamente modificados que sugerem um efeito ateroprotetor da PON-1 (Koren-Gluzer; Aviram; Hayek, 2013; Shih et al., 1998; Tward et al., 2002). Nesse sentido, o comportamento enzimático dessa proteína em modelos experimentais é interessante, pois intermedia os estudos *in vitro* e clínicos a respeito do desenvolvimento de diversas doenças relacionadas a distúrbios metabólicos importantes (Shunmoogam; Naidoo; Chilton, 2018).

Figura 04 - Síntese da PON-1 no fígado e suas funções em diversos tecidos.



Fonte: Elaboração própria. Criado com o Biorender.com

No entanto, ainda é controverso se as concentrações elevadas da enzima contribuem para o surgimento de algumas doenças ou representam um mecanismo de proteção relacionado com suas propriedades antioxidantes (Ceron; Tecles; Tvarijonaviciute, 2014). Além disso, as alterações na atividade da PON-1 são influenciadas por fatores genéticos e

ambientais e parecem variar amplamente entre indivíduos e populações (Sentí et al., 2003). Nessa perspectiva, o estudo da programação metabólica e HSD são fundamentais para compreender o comportamento da PON-1 diante de exposições genéticas e ambientais significativas.

## **2.6 Tecido adiposo branco, redução de ninhada, consumo de carboidrato simples e a atividade da paraoxonase-1**

Dentre as diversas funções do TAB, citadas anteriormente, esse tecido também atua nas ações imunológicas e endócrinas, de tal maneira que pode atenuar ou potencializar reações desencadeadas por processos inflamatórios e estímulos metabólicos, como, por exemplo, a obesidade, fator que pode perturbar o bom funcionamento desse tecido (Fülöp et al., 2016). Além disso, as adipocinas do TAB atuam de maneira autócrina, parácrina e endócrina e são capazes de regular processos endócrinos e imunológicos que compartilham diversas vias (Fülöp et al., 2016). Associado a isso, na obesidade e outros distúrbios metabólicos, a atividade da PON-1 parece ser reduzida, atrelada a um aumento nas concentrações de hidroperóxidos lipídicos (Fedelelova et al., 2017; Meneses et al., 2019). E, neste contexto, a diminuição da atividade da PON-1 pode indicar defesa prejudicada contra processos inflamatórios que são agravados pela secreção alterada de adipocinas. Dessa forma, a PON-1 se correlaciona positivamente com a leptina, adiponectina e quemerina e o desequilíbrio de adipocinas aliado a diminuição da atividade da PON-1 contribui como um marcador para prevenir condições relacionadas à obesidade e complicações cardiovasculares (Fülöp et al., 2016).

Nesse sentido, a manipulação do tamanho de ninhada é um procedimento que contribui para a programação metabólica do organismo, pois induz a superlactação (Xavier, 2016), sendo um modelo importante para esclarecer os impactos do sobrepeso e obesidade na infância na vida adulta (Conceição et al., 2013). Como discutido em tópicos anteriores, os efeitos da redução de ninhada ainda são controversos na literatura. Sabendo que as modificações da atividade da PON-1 frente a certas condições estão relacionadas como um marcador para diversas alterações metabólicas e que a redução de ninhada é um modelo atrelado a essas alterações, o estudo acerca dessa relação é fundamental, uma vez que não é descrito pela literatura. Essa é uma lacuna dentro dessa temática, pois não há estudos que correlacionam os efeitos que a superlactação pode ocasionar na atividade da enzima, portanto, é um novo objeto de estudo na ciência buscado por esse trabalho.

Além disso, como mencionado anteriormente, a ingestão de macronutrientes é um dos fatores que podem levar a alterações importantes nos mecanismos controlados pelo TAB. É consenso na literatura que a HSD é prejudicial para a saúde, evidenciando modificações nas quantidades de gordura corporal. Os estudos com roedores demonstram um impacto significante em parâmetros metabólicos importantes, como aumento de TAG e processo hipertrófico dos adipócitos no TAB em animais submetidos a um aumento de carboidratos simples na dieta (De Queiroz et al., 2014b; Oliveira et al., 2020). No entanto, a associação e consequências de uma HSD e a atividade da PON-1, enzima estudada neste trabalho, ainda são escassos. Sabe-se que a composição da dieta exerce um importante papel na modulação na PON-1 (Meneses et al., 2019). A literatura relata que a dieta rica em sacarose em animais induziu a hiperlipidemia e estresse oxidativo, sendo que tais condições contribuem na modulação negativa da atividade da PON-1 (Busserolles et al., 2002). Em relação a esse dado, foi encontrado uma associação positiva entre concentrações séricas de TAG com a atividade enzimática específica (Macan et al., 2011). Essa divergência de resultados quanto a expressão da atividade enzimática em ratos evidencia a necessidade em aprofundar os estudos acerca dessa associação, pois as propriedades antioxidantes da PON-1 parecem ter um efeito citoprotetor nas células beta pancreáticas, o que aumenta sua viabilidade e, significativamente, a secreção de insulina (Koren-Gluzer et al., 2011).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos da programação metabólica induzida pela superlactação e resistência à insulina sobre a atividade da paraoxonase- 1 sérica e dinâmica adiposa do tecido adiposo branco retroperitoneal em ratos jovens após 8 semanas de dieta *high sugar*.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Validar o modelo experimental de superlactação e RI induzida por HSD;
- Avaliar os efeitos da superlactação e RI sobre o perfil lipídico sérico (colesterol total, fração HDL e TAG) após 8 semanas de HSD;
- Investigar os efeitos da superlactação e da RI sobre os parâmetros morfométricos do TAB retroperitoneal (número e área dos adipócitos) após 8 semanas de HSD;
- Avaliar os efeitos da superlactação e da RI sobre a massa relativa e teor de gordura total do TAB retroperitoneal após 8 semanas de HSD;
- Determinar os efeitos da superlactação e da RI sobre a atividade enzimática da PON-1 (atividade arilesterásica e paraoxonásica) após 8 semanas de HSD.

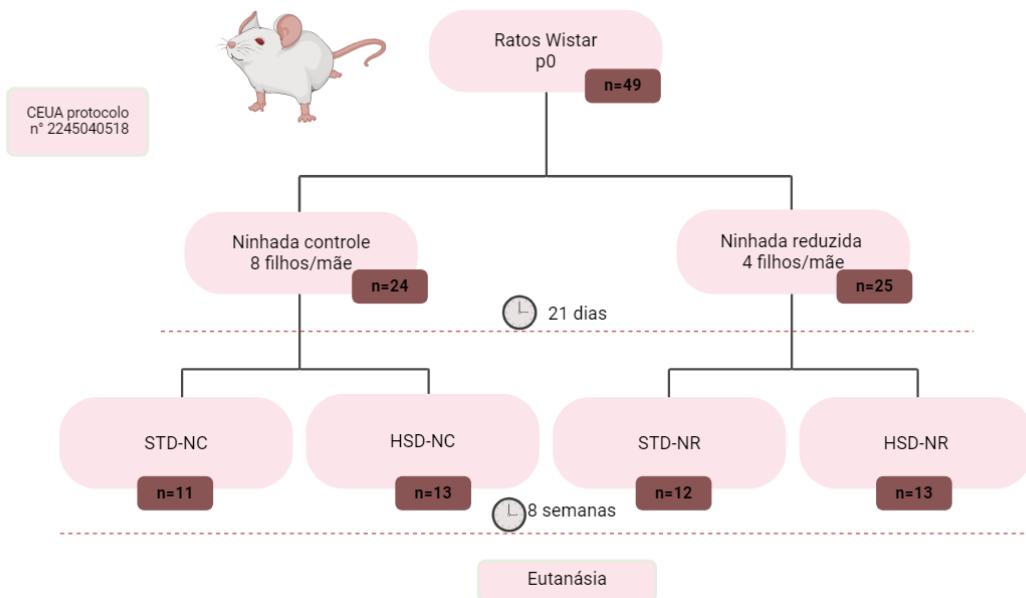
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Estabelecimento do modelo experimental de superlactação e resistência à insulina

Os procedimentos experimentais foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) sendo aprovados de acordo com o protocolo nº 2245040518 (Anexo 1). Vale destacar que o estabelecimento do modelo de redução da ninhada e HSD já foi realizado em projetos anteriores pelo nosso grupo de pesquisa (Deus, 2020; Santos, 2021), restando as análises referentes à dinâmica adiposa do TAB e atividade da PON1.

Para o estabelecimento do modelo de ninhada reduzida foi determinado a partir do modelo anteriormente publicado de manipulação de tamanho de ninhada (Spencer; Tilbrook, 2009). Após o nascimento, os ratos *Wistar* machos ( $n=49$ ) foram distribuídos de maneira aleatória em dois grupos: ninhada controle (8 filhotes/mãe, NC) e ninhada reduzida (4 filhotes/mãe) por 21 dias (período de lactação). Após o pós-desmame, os animais foram novamente distribuídos randomicamente em quatro grupos: (i) ninhada controle com dieta padrão ( $n=11$ , STD-NC); (ii) ninhada controle com dieta rica em carboidratos simples ( $n=13$ , HSD-NR); (iii) ninhada reduzida com dieta controle ( $n=12$ , STD-NR); (iv) ninhada reduzida com dieta rica em carboidratos simples ( $n=13$ , HSD-NR). O delineamento experimental encontra-se na Figura 05, a seguir.

Figura 05 - Delineamento experimental.



O modelo da ninhada reduzida foi estabelecido na literatura prévia (SPENCER, TILBROOK, 2009). Após o nascimento, os ratos *Wistar* (n=49) foram divididos em duas ninhadas, NC (8 filhotes por mãe) e NR (4 filhotes por mãe). Após o período de 21 dias, os animais foram randomicamente divididos em quatro grupos: (i) STD – NC (n=11); (ii) HSD-NC (n=13); (iii) STD – NR (n=12) e (iv) HSD – NR (n=13), conforme o desenho experimental acima. Após 8 semanas, os animais foram eutanasiados sob anestesia, o sangue e tecido adiposo branco foram coletados e armazenados sob refrigeração para análises posteriores.

STD: dieta padrão ; HSD: dieta rica em carboidratos simples; NC: ninhada controle; NR: ninhada reduzida.

Fonte: Elaboração própria.

Com relação às dietas, os animais submetidos a dieta padrão (STD) foram alimentados com ração comercial para roedores (Nuvilab® - Nuvital-CR, Colombo, Brasil), enquanto os animais submetidos a dieta HSD foram alimentados com uma dieta “palatável”, na qual era constituída por 33% de ração Nuvilab®, 33% de leite condensado Moça Nestlé, 7% de açúcar cristal e o remanescente em água (De Lima et al., 2008). Os animais foram submetidos a essas diferentes dietas durante 8 semanas experimentais, sendo semanalmente realizada aferição de massa corporal e monitoramento do consumo alimentar. Após este período os animais foram eutanasiados utilizando anestésico inalatório isoflurano (Isoforine, São Paulo, Brasil), o sangue e TAB retroperitoneal foram extraídos e armazenados no *freezer* em uma temperatura de -80°C para análises futuras.

## 4.2 Parâmetros de consumo, murinométricos e bioquímicos

Esses parâmetros foram realizados e analisados anteriormente pelo grupo e serão apresentados como resultados preliminares. Foi realizada a análise da ingestão alimentar diária, calculado os coeficientes de eficiência alimentar (CEA) através da fórmula CEA = Variação da massa corporal(final - inicial) /Total de ração ingerida ingerida no período em gramas e o coeficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC) pela fórmula CGPCC= Variação de massa corporal(final=inicial)/ Total de Kcal consumida no período (Nery et al., 2011). A ingestão calórica foi obtida utilizando a quantidade consumida em gramas ao final das semanas, multiplicado pela energia das respectivas dietas STD (3,11 kcal/g) e HSD (2,81 kcal/g), anteriormente avaliadas (Deus, 2020). O ganho de massa corporal foi avaliado por meio do Índice de Lee: [ $\sqrt[3]{\text{peso corporal} / \text{comprimento nasoanal} \times 10}$ ] (Lee, 1929) e Índice de adiposidade: [(soma do peso dos coxins adiposos) / peso do animal] (Taylor; Phillips, 1996).

Após as 8 semanas de experimento, anteriormente a eutanásia, foi realizado o teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGi) de acordo com protocolo previamente publicado (Patel; Goyal, 2019). Após a eutanásia, do soro foram realizadas as seguintes análises bioquímicas: dosagem da glicose sérica, pelo kit Glicose Monoreagente (Ref. K082; Bioclin, Paraná); insulina sérica, pelo kit comercial Rat Insulin ELISA (Cat #ERINS; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), de acordo com o protocolo do fabricante, com posterior cálculo do Índice de resistência à insulina [*Insulin Resistance Index (HOMA-IR)*], para avaliar a RI de acordo com a fórmula: (insulina de jejum  $\times$  glicose) / 22,5 (Matthews et al., 1985).

## 4.3 Análise do perfil lipídico sérico após 8 semanas

O conjunto de experimentos a seguir foram responsáveis por avaliar os efeitos da ninhada reduzida e da HSD sobre o perfil lipídico sérico em ratos jovens após 8 semanas.

### 4.3.1 Dosagem de colesterol total

Para a dosagem de colesterol total foi utilizado o kit Colesterol Liquiform (Ref. 76; Labtest Diagnóstico S.A, , Minas Gerais, Brasil) e o Leitor de Absorbância em Microplacas ELx808 (Biotek, Winooski, VT). De forma resumida, a dosagem foi feita pelo teste enzimático colorimétrico, em decorrência da hidrólise de ésteres de colesterol em ácidos graxos e colesterol livre pela enzima colesterol esterase e há a formação final de

antipirilquinonimina. A placa com as amostras são mantidas em estufa (FANEM, São Paulo, Brasil) a 37° C por 10 minutos. A concentração de colesterol presente em cada amostra é diretamente proporcional à intensidade da cor vermelha formada na reação. Para a obtenção do valor do colesterol total, utilizou-se a fórmula: colesterol total (mg/ dl) = (absorbância da teste – absorbância do padrão) × 200. A leitura da absorbância foi feita a 500 nm e os resultados expressos em mg/dL.

#### *4.3.2 Dosagem da fração colesterol HDL*

Para a dosagem de colesterol HDL foi utilizado o kit Labtest Liquiform (Colesterol HDL Liquiform, Ref 13, Labtest Diagnóstico S.A) e o Leitor de Absorbância em Microplacas ELx808 (Biotek). De forma resumida, inicialmente na primeira etapa dessa análise, foi pipetado em microtubos (Eppendorf Hamburgo, Alemanha) 75 µl de amostras e 75 µl do reagente precipitante que levados ao vortex (Phoenix Luferco São Paulo, Brasil) durante 30 segundos e em seguida a centrífuga (Daiki, São Paulo, Brasil) a 3500 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado imediatamente após o processo de centrifugação e transferido para um novo microtubo (Eppendorf). Segundo para a segunda etapa, foi utilizado o kit Colesterol Liquiform (Ref. 76; Labtest Diagnóstico S.A), na medida em que no precipitado ficou o LDL e o VLDL, restando apenas o colesterol HDL do sobrenadante. Da mesma forma como descrito anteriormente, a dosagem foi feita pelo teste enzimático colorimétrico com a placa com as amostras sendo mantidas em estufa (FANEM) a 37° C por 10 minutos. A concentração de colesterol HDL presente em cada amostra é diretamente proporcional à intensidade da cor vermelha formada na reação. Para a obtenção do valor do colesterol total, utilizou-se a fórmula: colesterol HDL (mg/ dl) = (absorbância da teste – absorbância do padrão) ×200. A leitura da absorbância foi feita a 500 nm e os resultados expressos em mg/dL.

#### *4.3.3 Dosagem de triacilglicerol*

Para a dosagem de triacilglicerol sérico, foi utilizado o kit Triglicérides Liquiform (Ref. 87; Labtest Diagnóstica S.A) e o Leitor de Absorbância em Microplacas ELx808 (Biotek). De forma resumida, a dosagem foi feita pelo teste enzimático colorimétrico, no qual ocorre a hidrólise dos TAG em glicerol pela enzima lipoproteína lipase, obtendo na reação final a quinoneimina. A placa com as amostras são mantidas em estufa (FANEM) a 37° C por

10 minutos. A concentração de TAB presente em cada amostra é diretamente proporcional à intensidade da cor vermelha formada na reação para a obtenção do valor do triacilglicerol sérico, utilizou-se a fórmula: triacilglicerol (mg/dl) = (absorbância do teste/absorbância do padrão) ×200. A leitura da absorbância foi feita a 505 nm e os resultados expressos em mg/dL.

#### **4.4 Caracterização do tecido adiposo branco retroperitoneal**

O conjunto de experimentos a seguir foram responsáveis por avaliar os efeitos da superlactação e da HSD sobre dinâmica adiposa do TAB retroperitoneal (hiperplasia e hipertrofia) em ratos jovens.

##### *4.4.1 Confecção das lâminas histológicas do tecido adiposo branco retroperitoneal*

Para análise da área e do número dos adipócitos, o TAB retroperitoneal foi dissecado e fixado em solução de Metanol 80%-Dimetilsulfóxido 20% (Met-DMSO) (Metanol, Alphatec, São Paulo, Brasil; Dimetilsulfóxido, Labsynth, São Paulo, Brasil) por três dias, com trocas do fixador a cada 24h e as amostras mantidas a -20°C no *freezer* ao longo de todo o processo. As amostras foram processadas pelo Laboratório de Imunopatologia (LIMP), sendo emblocadas em parafina, cortadas a uma espessura de 5 µm com um micrótomo e coradas com hematoxilina-eosina (HE) (Synth, São Paulo, Brasil).

Para a determinação da área e do número estimado dos adipócitos, as imagens das lâminas histológicas, coradas em HE, foram fotografadas pelo microscópio na objetiva de 20× com uma câmera digital, acoplada ao Microscópio Óptico Digital Leica DM5000B (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha). Em seguida, a análise morfométrica foi feita também pelo Microscópio Leica DM5000B (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) no Software Leica Qwin v3.5.1 com área fixa de 2592 × 1944 µm<sup>2</sup>. Tanto para a contagem dos núcleos quanto para a estimativa da área dos adipócitos, foram analisados 15 campos (fotos) em cada lâmina, com posterior cálculo da média do valor encontrado em cada campo para cada animal.

##### *4.4.2 Massa relativa do tecido adiposo branco retroperitoneal*

Para determinar se a superlactação e a HSD teriam efeito sobre o peso do TAB retroperitoneal, foi calculada a massa relativa desse tecido pela seguinte fórmula: massa

relativa do TAB = (massa absoluta do TAB/ massa corporal do animal) (De Queiroz et al., 2017).

#### *4.4.3 Determinação do teor de lipídeos no tecido adiposo branco retroperitoneal pelo método de FOLCH*

Para a determinação do teor de gordura no TAB retroperitoneal foi utilizado o método de extração de lipídeos de FOLCH adaptado (Folch; Lees; Sloane Stanley, 1957). De forma resumida, esse método compreende na extração do lipídio presente no tecido pela lavagem com diferentes soluções. Primeiramente, foram pesadas 100 mg das amostras do tecido TAB retroperitoneal, que foram maceradas com auxílio de um Gral e Pistilo de porcelana (Chiarotti, São Paulo, Brasil) juntamente com 2.000 µl de solução Clorofórmio-Metanol (2:1) (Clorofórmio, CHCl<sub>3</sub>, metanol, CH<sub>3</sub>OH, Alphatec, Paraná, Brasil), com a auxílio de uma pipeta (LabMate, São Paulo, Brasil) de forma gradativa. Após o processo de maceração, o conteúdo líquido foi transferido para um tubo previamente lavado com éter de petróleo (Alphatec), esse tubo foi anteriormente secado em estufa (Tecnal, São Paulo, Brasil) à 100 ° C e identificado no início do experimento. Na sequência, foram adicionados 400 µl de Metanol (Alphatec) nos tubos e a homogeneização foi feita no Vortex (Phoenix Luferco), por 3 minutos e em seguida levados para centrífuga (Daiki) por 10 minutos a 3.000 rpm. Após essa etapa, o líquido sobrenadante foi transferido para outro tubo de vidro também lavado com éter de petróleo, sendo adicionado 800 µl de Clorofórmio (Alphatec) e 640 µl de solução de NaCl 0,73% (Cloreto de Sódio, NaCl, Labsynth, São Paulo, Brasil); a homogeneização foi feita no Vortex (Phoenix Luferco) por 1 minuto e em seguida levado à centrifugação (Daiki) por 10 minutos a 3000 rpm.

Após o tempo na centrifugação (Daiki), o líquido sobrenadante dos tubos foi descartado com auxílio da pipeta (LabMate), a parede do tubo foi lavada com solução de FOLCH (CHCl<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>OH e H<sub>2</sub>O, na proporção 3:48:47) (Alphatec) previamente preparada e os tubos foram agitados de forma delicada e o sobrenadante novamente descartado. Os tubos foram levados para a estufa (Tecnal) semiaberta a 80° C *overnight* por 17 horas até a completa evaporação do solvente, vale ressaltar que durante as últimas 3 horas de secagem na estufa, os tubos foram avaliados a cada 60 minutos, para conferir se todo o solvente havia evaporado e evitando que a gordura extraída queimasse. Após esfriarem, os tubos foram novamente pesados e o teor de lipídeos foi calculado por diferença, usando a fórmula: % lipídeos= (Peso final do tubo – Peso inicial do tubo) / peso da amostra × 100.

#### *4.4.4 Dosagem bioquímica no tecido adiposo branco retroperitoneal - triacilglicerol*

Para a dosagem de TAG no TAB retroperitoneal, após o procedimento de determinação de lipídios totais pelo método de FOLCH, a gordura contida em cada tubo foi ressuspensas com 1 mL de álcool isopropílico (Alphatec) e, em seguida, os tubos foram homogeneizados no Vórtex (Phoenix Luferco) por 30 segundos. Após a ressuspensão da gordura, foi possível realizar a dosagem bioquímica, de TAG utilizando o kit Triglicérides Liquiform (Ref. 87; Labtest Diagnóstica S.A, Minas Gerais, Brasil), utilizando o Leitor de Absorbância em Microplacas ELx808 (Biotek), conforme descrito na seção 3.2 dos materiais e métodos. Os resultados foram expressos em mg/ dl.

### **4.5 Análise da atividade enzimática sérica da paraoxonase-1**

O conjunto de experimentos a seguir foram responsáveis por avaliar os efeitos da superlactação e da HSD sobre a atividade enzimática da PON-1 em ratos jovens após 8 semanas.

#### *4.5.1 Determinação da atividade sérica arilesterásica da paraoxonase-1*

A atividade sérica da enzima PON-1 foi avaliada conforme descrito por Beltowski e colaboradores (2002), com a utilização de amostras de soro e do fenilacetato (Sigma-Aldrich, San Luis, MO) utilizado como substrato para a reação, através do método de espectrofotometria (Beltowski; Wójcicka; Jamroz, 2002). Foi preparado um tampão de Tris-HCl 1M pH 8, utilizando os reagentes Tris (Sigma-Aldrich) e CaCl<sub>2</sub> (Alphatec) para realizar a preparação da solução de fenilacetato. Após preparo desse tampão, iniciou-se o experimento com preparo da solução de fenilacetato, contendo fenilacetato (Sigma-Aldrich) e tampão TRIS (Alphatec), 1:1500. Em cada tubo de ensaio foi adicionado 5 µL de amostra, algumas delas diluídas na proporção 1:3 com água Milli-Q e 1 µL da solução de fenilacetato. A absorbância foi lida em 270 nm no espectrofotômetro (DR AWELL, Shanghai, China) e sendo realizada 1 leitura ao final de 3 minutos. Os resultados foram calculados assumindo o coeficiente de extinção molar do fenilacetato de 1310 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Os valores foram expressos em unidades por milímetros da atividade arilesterásica, em que 1 unidade de paraoxonase equivale à hidrólise de 1 mmol de fenilacetato por minuto.

#### 4.5.2 Determinação da atividade sérica paraoxonásica da paraoxonase-1

A atividade da enzima PON-1 também foi medida com a utilização do paraoxon (dietil-p-nitrofenilfosfato, Sigma-Aldrich) como substrato para a reação. Foi preparado um tampão Glicina/CaCl<sub>2</sub>, utilizando os reagentes glicina (Sigma-Aldrich), CaCl<sub>2</sub> (Alphatec) de concentração 1M pH 10,5 para realizar a preparação da solução de paraoxon.

Após o preparo desse tampão, iniciou-se o experimento com preparo da solução de trabalho, contendo paraoxon (Sigma-Aldrich) e tampão TRIS (Alphatec), 2:9000. É importante destacar que para o preparo dessa solução, devido ao substrato paraoxon ser tóxico, foi pipetado na capela e mantido no gelo. Em cada tubo de ensaio foi adicionado 5 µL de amostra, algumas delas foram diluídas na proporção 1:3 com água Milli-Q e 1 µL da solução de trabalho. A absorbância foi lida em 410 nm no espectrofotômetro (DR AWELL) e foram feitas três leituras durante 3 minutos a cada 1 minuto. Os resultados foram calculados assumindo o coeficiente de extinção molar do paraoxon de 18290 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Os valores foram expressos em micromol por milímetros da atividade do paraoxon, em que 1 unidade de paraoxonase equivale à hidrólise de 1 mmol de paraoxon por minuto.

#### 4.6 Análise estatística

Para realizar a análise estatística foi utilizado usado o *Software GraphPad Prism* (GraphPad Software Inc., Irvine, CA), sendo a normalidade de dados analisada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Os dados foram apresentados como média ± desvio padrão (dados paramétricos) ou mediana e IQR (dados não paramétricos) e o nível de significância foi de p < 0,05. Os efeitos do tamanho da ninhada e da dieta pós-desmame foram determinados pelo ANOVA TWO-WAY, seguida pelo pós- teste de *Bonferroni*. Os mapas de calor foram elaborados a partir da análise de correlação de *Spearman* (p< 0,05) entre os parâmetros avaliados. Quando necessário, os *outliers* foram excluídos anteriormente à análise estatística pelo critério de IQR, sendo que os valores acima de 75% e abaixo de 25% foram retirados, quando necessário.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Resultados preliminares

Como dados preliminares do grupo, temos que o massa corporal foi ~15% maior na ninhada reduzida (NR) do que na ninhada de controle (NC), sugerindo a eficiência da superlactação em modelos neonatais com sobre peso (Deus, 2020; Santos, 2021). Com relação ao consumo alimentar, a HSD ( $p<0,001$ ) afetou o consumo diário, que foi aproximadamente ~7% maior no grupo alimentado com a dieta HSD do que nos animais alimentados com a dieta STD (Santos, 2021). O CEA também foi afetado pela dieta ( $p<0,01$ ), pois foi ~9% menor no grupo HSD-NC do que no grupo STD-NC. O CGPCC também foi afetado pela dieta ( $p<0,05$ ), mas não houve diferença estatística no pós-teste. Para os parâmetros murinométricas, o Índice de Lee e o ganho de peso não mostraram diferença, no entanto, a HSD afetou o Índice de Adiposidade, que foi ~7% maior no grupo HSD-NC do que no grupo STD-NC (Deus, 2020; Santos, 2021).

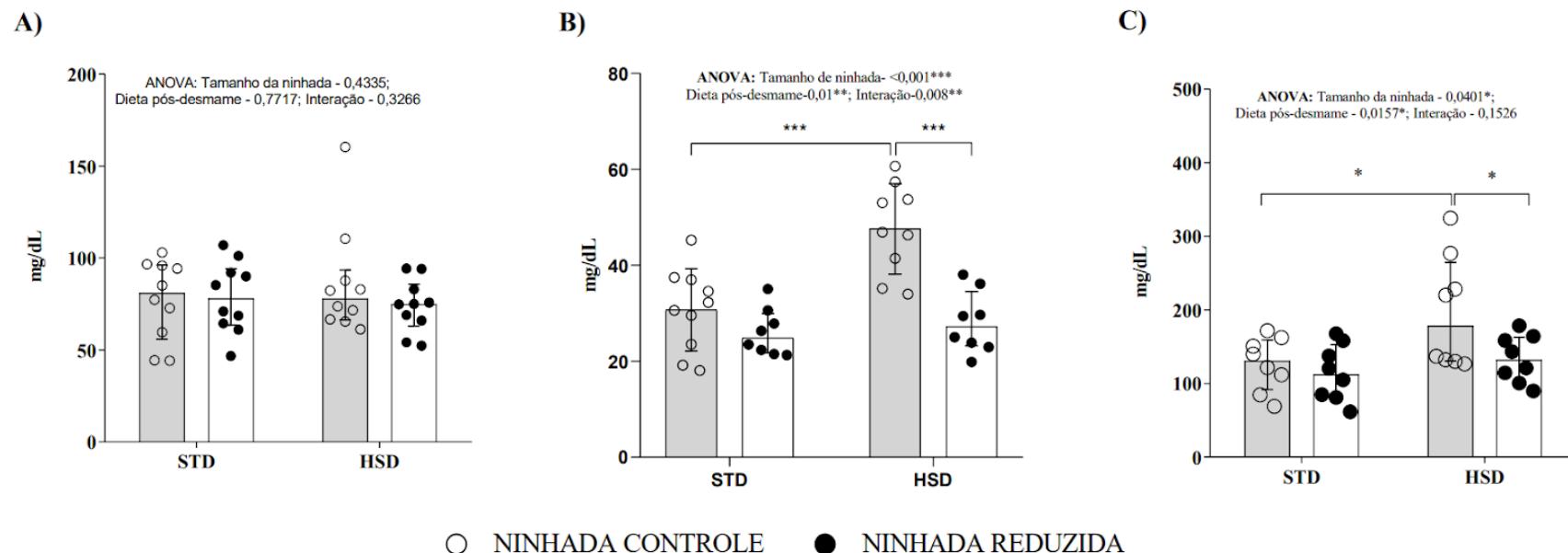
Quanto às análises glicometabólicas, a glicose sofreu influência da interação entre as variáveis ( $p<0,05$ ), enquanto no teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGi), foi observado o efeito da dieta oferecida após o desmame ( $p<0,05$ ); entretanto, não foi detectada significância no pós teste para glicose e TTGi (Deus, 2020; Santos, 2021). A insulina sérica e o HOMA-IR foram quantificados para aprimorar a análise de RI, que mostrou que os animais que receberam HSD apresentaram níveis mais elevados de insulina sérica, resultando em maior HOMA-IR e consequente RI induzida por dieta (Deus, 2020).

### 5.2 Efeitos da superlactação e da RI sobre o perfil lipídico sérico após 8 semanas de HSD

A Figura 06, a seguir, evidencia as concentrações séricas de colesterol total, fração HDL e TAG dos animais ao final de 8 semanas de experimento. O colesterol total sérico não foi influenciado por nenhuma das variáveis (Figura 06, painel A). No entanto, para fração colesterol HDL, foi observado efeito do tamanho da ninhada, da dieta pós-desmame e da interação ( $p<0,05$ ), com aumento de ~63% na concentração de HDL sérico no grupo HSD-NC e uma redução de ~40% no grupo HSD-NR, quando comparados ao grupo STD-NC e HSD-NC, respectivamente (Figura 06, painel B). Para as concentrações de TAG, foi observado efeito do tamanho da ninhada e da dieta pós-desmame ( $p<0,05$ ), com aumento ~41% do TAG sérico no grupo HSD-NC, comparado ao grupo STD-NC e redução de 15%

das concentrações de TAG sérico no grupo HSD-NR, quando comparado ao grupo HSD-NC (Figura 06, painel C).

Figura 06 - Efeitos da superlactação e da RI sobre o perfil lipídico sérico após 8 semanas de HSD.



A) Colesterol total; B) Fração colesterol HDL; C) Triacilglicerol. A manipulação do tamanho das ninhadas foi feita conforme previamente publicado, na qual a ninhada controle tinha 8 filhotes por mãe e a ninhada reduzida 4 filhotes por mãe. Para a análise A os animais foram divididos em STD-NC (n=8); HSD-NC (N=9); STD-NR (N=9) e HSD-NR (N=9). Para a análise B, os animais foram divididos em STD-NC (n=9); HSD-NC (N=10); STD-NR (N=10) e HSD-NR (N=10). Para a análise C, os animais foram divididos em STD-NC (n=5); HSD-NC (N=6); STD-NR (N=6) e HSD-NR (N=6) A normalidade dos dados foi testada pelo teste *Shapiro-Wilk*, e os dados não paramétricos estão representados como mediana e intervalo interquartil. Os efeitos do tamanho da ninhada e da dieta foram analisados por ANOVA TWO-WAY, seguida do pós teste de *Bonferroni*, \*p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001.

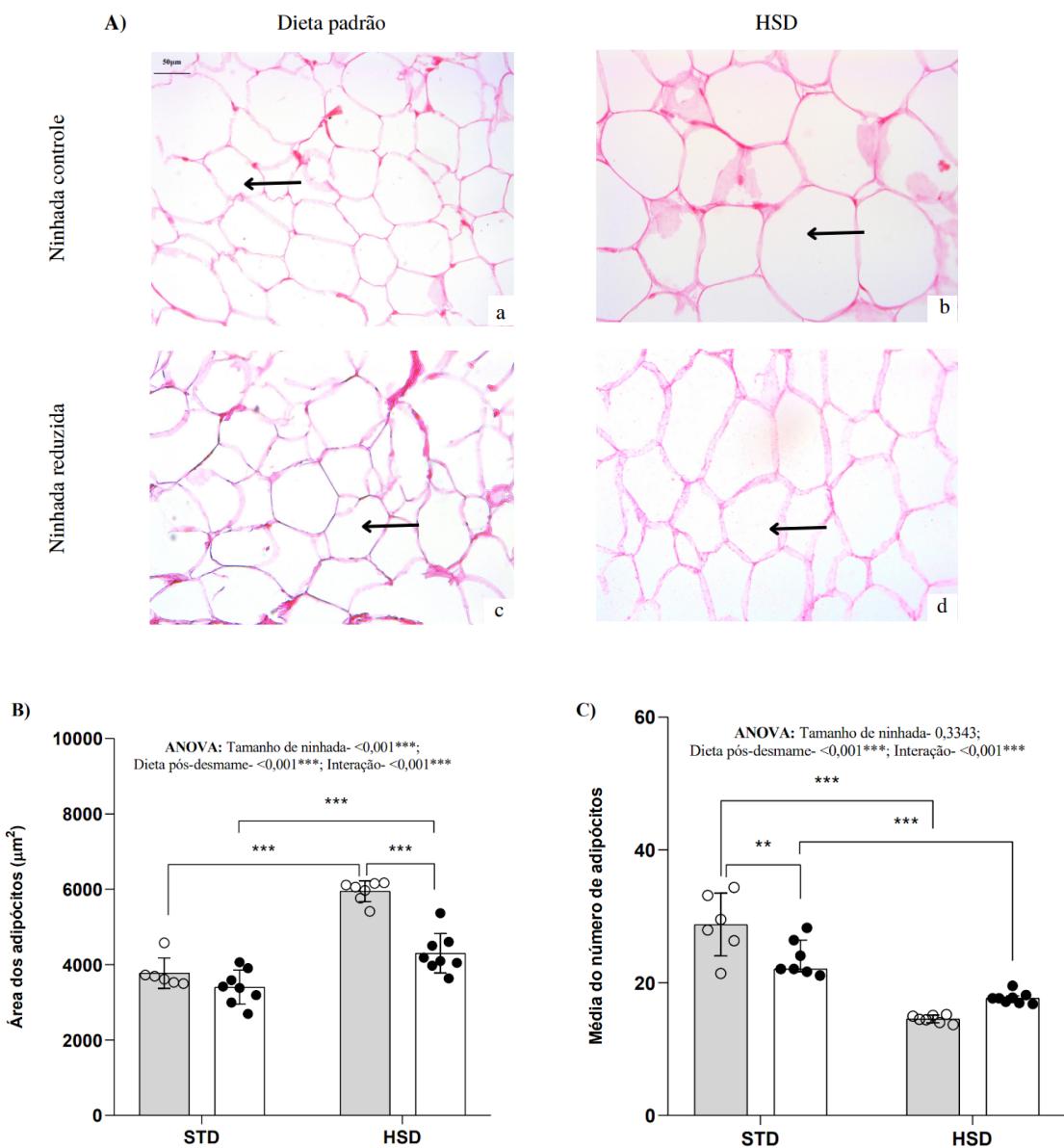
HSD: dieta rica em carboidratos simples; STD: dieta padrão.

Fonte: Elaboração própria.

### **5.3 Efeito da superlactação e da RI sobre o tamanho e número de adipócitos do tecido adiposo branco retroperitoneal após 8 semanas de HSD**

A Figura 07, a seguir, representa secções histológicas da área média dos adipócitos coradas com HE e evidencia o tamanho e número dos adipócitos do TAB retroperitoneal dos animais ao final de 8 semanas de experimento. Na Figura 07, painel A, encontram-se as secções histológicas dos quatros grupos experimentais: (a) STD-NC; (b) HSD-NC; (c) STD-NR; (d) HSD-NR. Quanto à área dos adipócitos (Figura 07, painel B), foi observado efeito da tamanho da ninhada, dieta pós-desmame e da interação ( $p<0,001$ ), havendo no grupo HSD-NC um aumento de ~58% e um aumento de ~26% nos animais HSD-NR (quando comparado aos animais STD-NC e STD-NR, respectivamente) na área dos adipócitos. Além disso, houve uma redução de ~28% na área do grupo HSD-NR, quando comparado ao grupo HSD-NC (Figura 07, painel B). Em relação ao número de adipócitos (Figura 07, painel C), foi encontrado um efeito da dieta pós-desmame e interação ( $p<0,001$ ); nos animais HSD-NC houve uma redução no número de ~49% e uma redução de ~30% no grupo HSD-NR, quando comparados aos grupos STD-NC e STD-NR, respectivamente. Além disso, foi observado uma redução de ~12% no número de adipócitos do grupo STD-NR, quando comparado ao grupo STD-NC.

Figura 07 - Efeitos da superlactação e da RI sobre a área e o número de adipócitos no TAB retroperitoneal após 8 semanas de HSD.



A) Secções histológicas da área média dos adipócitos coradas com hematoxilina-eosina. Barra = 50 $\mu\text{m}$ . Em cada foto histológica (a, b, c e d) é identificado um adipócito representativo do grupo (setas pretas). Os cortes das lâminas dos quatro grupos analisados foram fotografados com uma câmera digital, acoplada ao Microscópio Óptico Digital Leica DM5000B. B) Área de adipócitos. A área dos adipócitos foi calculada medindo a área de todos os adipócitos presentes nos 15 campos (fotos), realizando ao final a média da área dos adipócitos encontrados em cada lâmina, que corresponde a um animal. Para essa análise foi utilizado um total de 29 animais, sendo 13 da NC e 16 da NR, dividida em STD-NC (n=6); HSD-NC (N=7); STD-NR (N=8) e HSD-NR (N=8). C) Números de adipócitos. O número de adipócitos (que corresponde ao número de núcleos) foi calculado analisando microscópicamente em uma área fixa ( $2592 \times 1944 \mu\text{m}^2$ ), através da plataforma de Morfometria e Microanálise. O Software Leica Qwin v3.5.1 foi utilizado para contar os núcleos presentes nos

15 campos (fotos) analisados em cada lâmina, realizando ao final o cálculo da média do número de núcleos encontrados em cada lâmina, correspondente a um animal. A normalidade dos dados foi testada pelo teste *Shapiro-Wilk*, os dados não paramétricos estão representados como mediana e intervalo interquartil. Os efeitos do tamanho da ninhada e da dieta foram analisados pelo ANOVA TWO-WAY, seguida do pós-teste de Bonferroni, \*\* $p<0,01$  e \*\*\* $p<0,001$ .

HSD: dieta rica em carboidratos simples; STD: dieta padrão.

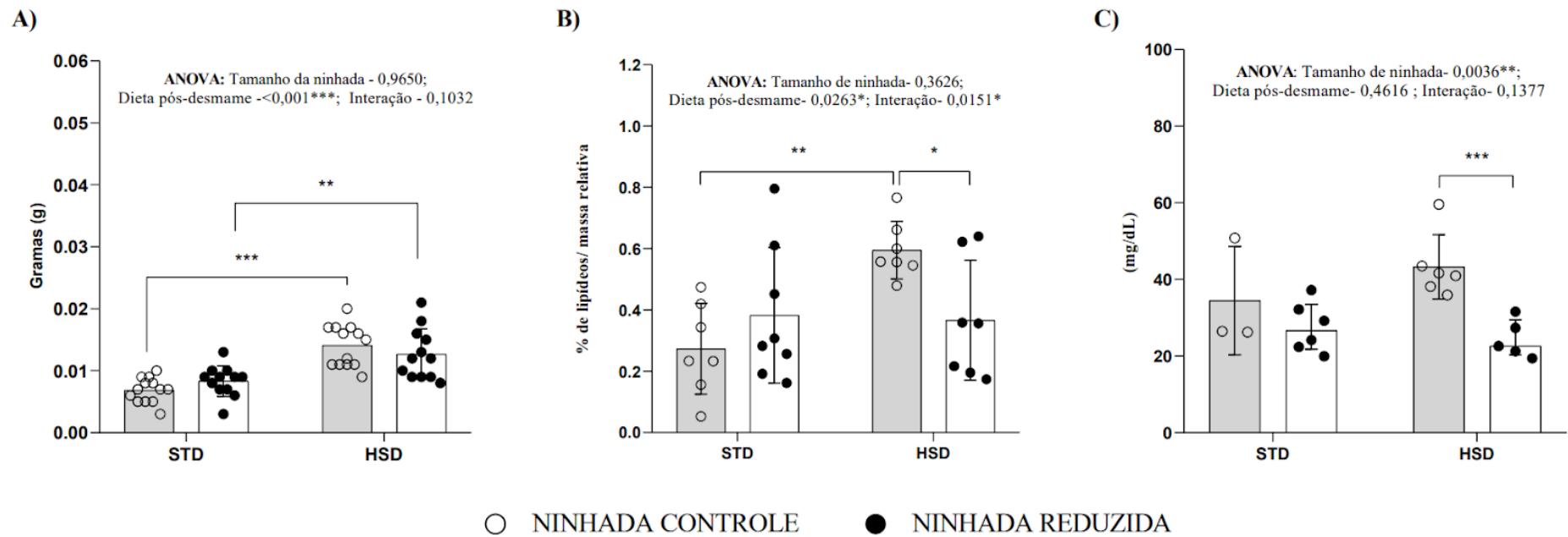
Fonte: Elaboração própria.

#### **5.4 Efeitos da superlactação e da RI sobre a massa relativa, o teor de lipídeos e concentração tecidual de TAG do tecido adiposo branco retroperitoneal após 8 semanas de HSD**

A Figura 08, a seguir, representa a massa relativa, o teor de lipídeos totais e a concentração tecidual de TAG do TAB retroperitoneal ao final de 8 semanas de experimento. Foi observado efeito apenas da dieta pós-desmame ( $p<0,001$ ) na massa relativa do tecido, com aumento de ~101% na massa relativa do TAB retroperitoneal nos animais do grupo HSD-NC e aumento de ~51% nos animais do grupo HSD-NR, quando comparado a STD-NC e STD-NR, respectivamente (Figura 08, painel A).

Como dito anteriormente, após a eutanásia, o TAB retroperitoneal foi dissecado e pesado, como descrito na seção Materiais e Métodos, uma parte foi destinada para o método de FOLCH, que permitiu quantificar o teor de lipídeos no TAB retroperitoneal e posterior dosagem das concentrações teciduais de TAG. Quanto ao teor de lipídeos totais (Figura 08, painel B), foi evidenciado um efeito da dieta pós-desmame e da interação ( $p<0,05$ ), com aumento de ~56% nos animais do grupo HSD-NC (comparado ao STD-NC) e uma redução de ~3% no grupo HSD-NR (comparado ao HSD-NC) (Figura 08, painel B). Em relação às concentrações teciduais de TAG, houve um efeito da superlactação ( $p<0,01$ ), com redução de ~31% nas concentrações teciduais de TAG nos animais HSD-NR em comparação a HSD-NC, (Figura 08, painel C).

Figura 08 - Efeitos da superlactação e da RI sobre a massa relativa, o teor de lipídios totais e concentração tecidual de TAG do TAB retroperitoneal após 8 semanas de HSD.



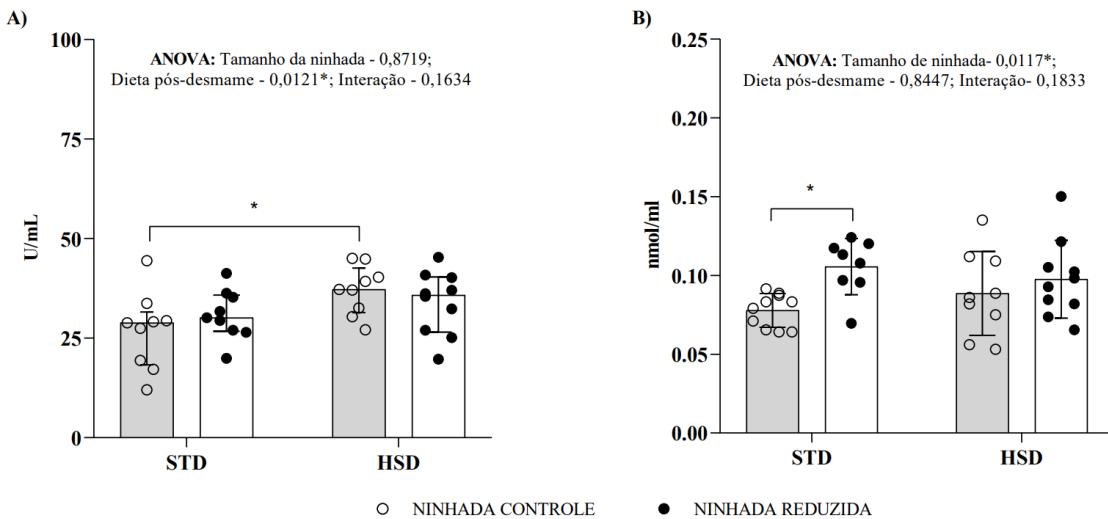
A) Massa relativa do tecido adiposo branco retroperitoneal. A manipulação do tamanho das ninhadas foi feita conforme previamente publicado, na qual a ninhada controle tinha 8 filhotes por mãe e a ninhada reduzida 4 filhotes por mãe. Para essa análise foi utilizado um total de 49 animais, sendo 24 da NC e 25 da NR, dividida em STD-NC ( $n=11$ ); HSD-NC ( $N=13$ ); STD-NR ( $N=12$ ) e HSD-NR ( $N=13$ ). B) Teor de lipídeos totais. Para a análise de teor de lipídeos foi utilizado um total de 35 animais, sendo 17 da NC e 18 da NR, dividida em STD-NC ( $n=9$ ); HSD-NC ( $N=8$ ); STD-NR ( $N=9$ ) e HSD-NR ( $N=9$ ). C) Concentração tecidual de TAG. Para a análise de TAG, foi utilizado um total de 23 animais, sendo 11 da NC e 12 da NR, dividida em STD-NC ( $n=6$ ); HSD-NC ( $N=5$ ); STD-NR ( $N=6$ ) e HSD-NR ( $N=6$ ). A normalidade dos dados foi testada pelo teste *Shapiro-Wilk*, e os dados estão apresentados como mediana e desvio padrão. Os dados não paramétricos estão representados como mediana e intervalo interquartil. Os efeitos do tamanho da ninhada e da dieta foram analisados por ANOVA TWO-WAY, seguida do pós teste de *Bonferroni*, \* $p<0,5$ ; \*\* $p< 0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ . HSD: dieta rica em carboidratos simples; STD: dieta padrão.

Fonte: Elaboração própria

### 5.5 Efeitos da superlactação e da RI sobre a atividade enzimática sérica da PON-1 após 8 semanas de HSD

A Figura 09, a seguir, evidencia a atividade sérica arilesterásica e paraoxonásica da PON-1 dos animais ao final de 8 semanas de experimento. Em relação a atividade da PON-1 utilizando o substrato fenilacetato, observamos efeito apenas da dieta-pós-desmame ( $p<0,05$ ), com aumento de ~37% na atividade arilesterásica da PON-1 no grupo HSD-NC, comparado ao grupo STD-NC (Figura 09, painel A). Com relação à atividade paraoxonásica, observamos efeito da superlactação ( $p<0,05$ ), com aumento de ~42% na atividade paraoxonásica da PON-1 no grupo STD-NR, comparado ao grupo STD-NC (Figura 09, painel B).

Figura 09 - Efeitos da superlactação e da RI sobre a atividade enzimática sérica da PON-1 após 8 semanas de HSD.



A) Atividade arilesterásica; B) Atividade paraoxonásica. A manipulação do tamanho das ninhadas foi feita conforme previamente publicado, na qual a ninhada controle tinha 8 filhotes por mãe e a ninhada reduzida 4 filhotes por mãe. Para essa análise foi utilizado um total de 40 animais, sendo 20 da NC e 20 da NR, dividida em STD-NC ( $n=10$ ); HSD-NC ( $N=10$ ); STD-NR ( $N=10$ ) e HSD-NR ( $N=10$ ). Os dados estão representados como média ± desvio padrão. Os efeitos do tamanho da ninhada e da dieta foram analisados por ANOVA TWO-WAY, seguida do pós teste de Bonferroni, \*  $p < 0,05$ .

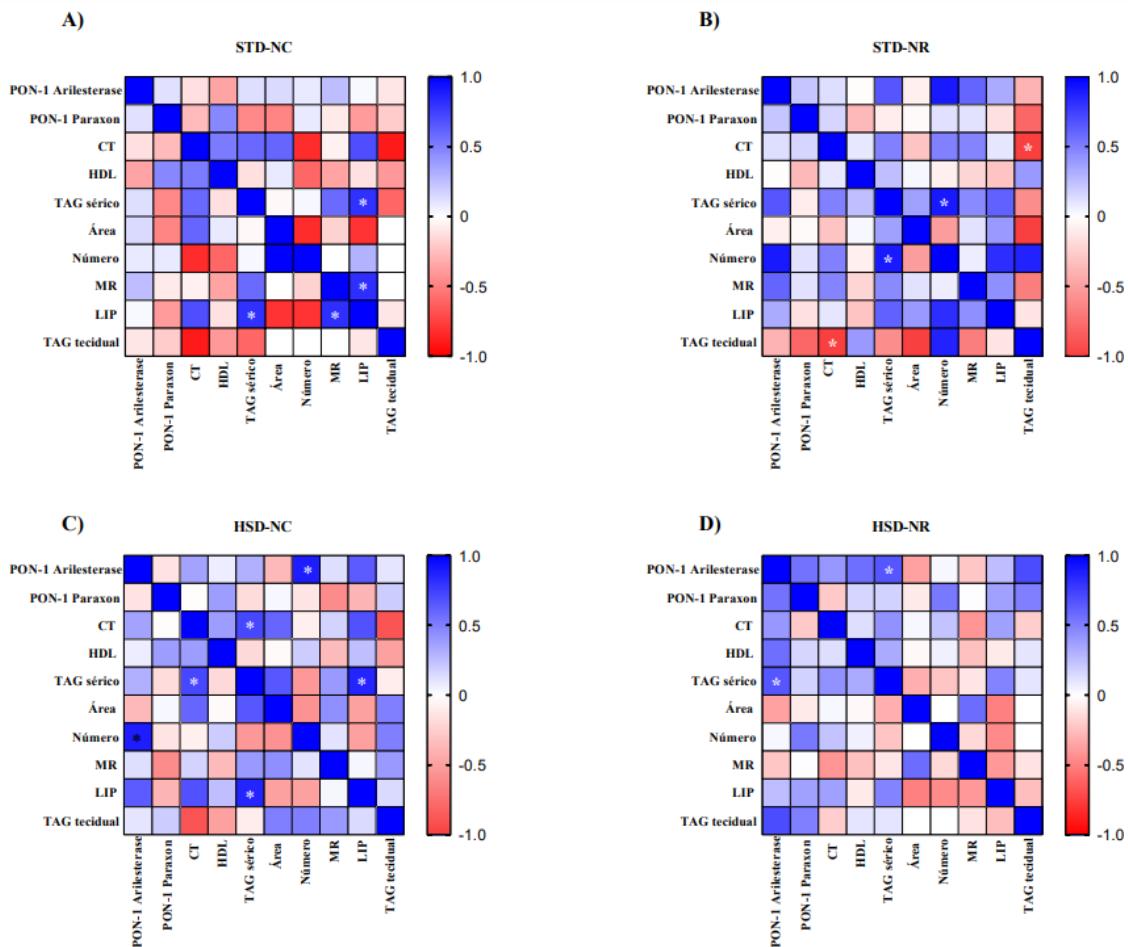
HSD: dieta rica em carboidratos simples. STD: dieta padrão.

Fonte: Elaboração própria.

## 5.6 Correlação entre a atividade enzimática sérica da paraoxonase-1 e os parâmetros bioquímicos, murinométricos e morfométricos dos diferentes grupos experimentais após 8 semanas de HSD

A correlação de *Spearman* foi utilizada para avaliar a associação dos parâmetros estudados e seus efeitos na atividade sérica da PON-1. Os parâmetros considerados foram: PON-1 Arilesterase, PON-1 Paraoxon, colesterol total sérico, HDL sérico, TAG sérico, área e número de adipócitos, massa relativa do TAR, teor de lipídeos totais e TAG tecidual. A Figura 10 evidencia os mapas de calor de cada grupo estudado. Foi observada uma correlação positiva entre TAG sérico e teor de lipídeos totais, e vice versa ( $r= 0,8095$ ,  $p= 0,0218$ ) e entre massa relativa e teor de lipídeos totais no TAR e vice versa ( $r= 0,8193$ ,  $p=0,0171$ ) do grupo STD-NC (Figura 10 painel A). Quanto ao grupo STD-NR, houve correlações positivas entre, TAG sérico e número de adipócitos ( $r=0,8986$ ,  $p=0,0278$ ) e correlação negativa entre colesterol total e TAG tecidual e vice e versa ( $r=-1.000$ ,  $p=0,0167$ ) (Figura 10, painel B). Em se tratando dos grupos HSD, foram observadas correlações positivas entre colesterol total e TAG sérico e vice e versa ( $r=0,7212$ ,  $p=0,0234$ ), TAG sérico e teor de lipídeos totais e vice e versa ( $r=0,8571$ ,  $p=0,0238$ ) e PON-1 Arilesterase e número de adipócitos e vice e versa ( $r=0,8857$ ,  $p=0,0333$ ) no grupo HSD-NC (Figura 10, painel C). No grupo HSD-NR, foi encontrada correlação positiva entre PON-1 Arilesterase e TAG sérico, e vice-versa ( $r=0,6606$ ,  $p=0,0438$ ) (Figura 10, D). Todos os coeficientes da correlação de *Spearman* se encontram no Apêndice 1.

Figura 10 - Mapa de calor (*Heatmap*) da correlação de *Spearman* entre a atividade enzimática sérica da PON-1 e os parâmetros bioquímicos, murinométricos e morfométricos dos diferentes grupos experimentais após 8 semanas de HSD.



Mapa de calor. A coloração azul representa uma correlação positiva e a vermelha uma correlação negativa entre os parâmetros analisados. n=8/grupo. Os dados foram obtidos a partir do coeficiente de *Spearman* ( $p<0,05$ ).

STD-NC: grupo ninhada controle alimentado com dieta padrão; STD-NR: grupo ninhada reduzida alimentado com dieta padrão; HSD-NC: grupo ninhada controle alimentado com dieta rica em carboidratos simples; HSD-NR: grupo ninhada reduzida alimentado com dieta rica em carboidratos simples; PON-1: paraoxonase 1 ;CT: colesterol total sérico; TAG: triacilglicerol; MR: massa relativa do tecido adiposo retroperitoneal; LIP: teor de lipídeos totais. Fonte: Elaboração própria

## 6. DISCUSSÃO

O principal objetivo do presente estudo foi investigar a relação da superlactação com a dinâmica adiposa do TAB retroperitoneal e a atividade sérica da PON-1 em ratos jovens, após 8 semanas de HSD. Nossos resultados sugerem que a HSD foi capaz de provocar um aumento nas concentrações séricas de HDL e TAG, bem como uma considerável hipertrofia no TAB retroperitoneal, evidenciada pelo aumento da área e diminuição do número de adipócitos, com um aumento no teor de lipídios totais. Além disso, a dieta pós- desmame obteve um efeito sobre a atividade arilesterásica da PON-1. A superlactação/ interação foi capaz de reduzir o HDL e TAG e atenuar a hipertrofia provocada pela dieta, além de contribuir na diminuição da deposição de TAG no TAB retroperitoneal. Quanto à PON-1, a superlactação reduziu a atividade paraoxonásica da enzima.

O aumento da concentração de HDL, observado pelo consumo da HSD, pode ser explicado devido ao transporte de colesterol em ratos, que ocorre de forma contrária ao organismo humano: a HDL em roedores é a lipoproteína que faz o transporte do colesterol para os órgãos do corpo, assemelhando-se, portanto ao papel da LDL no homem (Groener; Van Gent; Van Tol, 1989; Kadowaki; Patton; Robins, 1992). Em razão disso, o aumento de HDL ocasionado pela HSD sugere uma piora do perfil lipídico desses animais. Nossos resultados também evidenciaram uma atenuação dos efeitos da HSD na concentração de HDL pela superlactação, uma vez que essa variável foi capaz de diminuir o HDL.

O TAB retroperitoneal é um importante depósito de gordura visceral (Garcia et al., 2021) e está relacionado com complicações metabólicas da obesidade, sendo altamente responsável a intervenções dietéticas (Brand-Miller; Buyken, 2012). O excesso de carboidratos simples pode modificar a expressão de genes que atuam no metabolismo de lipídios no tecido adiposo. Havendo grande disponibilidade de glicose no plasma e alta liberação de insulina por meio das células beta pancreáticas, uma maior quantidade de ATP e citrato são geradas, que inibe a via glicolítica e estimula, consequentemente, a via lipogênica no fígado (Leoni; Navarro, 2013). O citrato excedente faz parte da formação dos ácidos graxos de cadeia longa, que, posteriormente, são esterificados com moléculas de glicerol e tem-se a formação de TAG (Lehninger et al., 2014). Nesse sentido, a dieta pós-desmame repercutiu em um aumento da concentração de TAG sérica no grupo HSD-NC, ocasionando um quadro de hipertrigliceridemia nesses animais. Nossos dados são corroborados pela literatura uma vez que a hipertrigliceridemia é um cenário apontado como consequência do consumo da HSD, pois o excesso de carboidratos simples presente nessa dieta é armazenado

na forma de TAG (Parks; Parks, 2002). Além disso, estudos anteriores do grupo já haviam evidenciado o impacto negativo desse tipo de dieta no que diz respeito à concentração de TAG sérica e os resultados do presente estudo são condizentes com os apontados anteriormente (De Queiroz et al., 2014b).

Os benefícios da ingestão de leite materno, tanto em curto quanto em longo prazo na espécie humana, é bem elucidado, havendo influência na redução de riscos de distúrbios metabólicos, como obesidade e dislipidemias (Masquio; Ganen; Damaso, 2014), quando comparado a crianças que receberam fórmulas infantis (Davis et al., 2014). Tais benefícios da composição do leite materno estão parcialmente relacionados a PUFA (Janovska; Kopecky, 2009). Isso porque a ingestão de PUFA induz a liberação do hormônio sensibilizador de insulina adiponectina dos adipócitos do TAB por meio de PPAR- $\gamma$ , o qual interage com o gene promotor de adiponectina em ratos (Janovska; Kopecky, 2009). Além disso, a redução de TAG sérico pela superlactação pode ser explicada pelo aumento da expressão e secreção de FGF21 hepático (fator de crescimento de fibroblastos 21), proteína secretada pelo fígado que atua como um metabólito regulador no desenvolvimento de obesidade. O aumento da secreção dessa proteína atinge o sistema nervoso central, ativando os neurônios gabaérgicos que expressam D2r (receptores D2 de dopamina). Dessa forma, a maior oferta de leite seria capaz de reprogramar os circuitos hipotalâmicos de forma a tornar a prole mais resistente a dietas que induzem a obesidade (Pena-Leon et al., 2022). No estudo de Pena-Leon e col. (2022), a dieta utilizada foi *high fat* (HF) na vida adulta e o aumento na quantidade de leite oferecida no período de lactação foi feito por meio da amamentação prolongada desses animais (Pena-Leon et al., 2022). Apesar do modelo ser diferente do presente estudo, o princípio de maior aporte de leite materno em ratos é o mesmo e a HSD também é uma dieta obesogênica, evidenciando assim, a possível contribuição protetora da superlactação na diminuição dos parâmetros do TAB. Essa hipótese é bastante atrativa para explicar os nossos achados; entretanto, futuros experimentos são necessários para confirmar o mecanismo por trás desta ação protetora da superlactação.

Conforme observado, o tamanho dos adipócitos do TAB sofreu alterações decorrentes do tamanho de ninhada, dieta pós-desmame e interação entre as duas variáveis estudadas. A HSD provocou uma hipertrofia considerável no TAB retroperitoneal, evidenciada pelo aumento da área e diminuição do número de adipócitos. Esses achados são corroborados pelos resultados encontrados na literatura, havendo hipertrofia ocasionada por esse tipo de dieta (De Queiroz et al., 2014a). Como comentado em tópicos anteriores, o excesso da ingestão de carboidratos é capaz de modular as vias celulares que controlam a lipogênese de

novo, o que leva a um aumento de adiposidade (Shankar et al., 2010). O processo hipertrófico ocasionado pela HSD pode ser explicado pelo estímulo a mudanças em padrões de expressão gênica que atuam em vias relacionadas a diferenciação celular e metabolismo do tecido, especificamente, pelo aumento das vias pró-adipogênicas e diminuição dos sinais anti-adipogênicos (De Queiroz et al., 2014b). Além disso, após a ingestão de carboidratos simples, o aumento na área dos adipócitos está relacionado com o aumento das concentrações de leptina circulantes, sugerindo que o aumento da concentração desse hormônio devido a dieta contribui para a desregulação morfológica nos adipócitos (Fuente-Martín et al., 2012). Nesse sentido, o crescimento hipertrófico do TAB está associado com um aumento nas taxas de lipólise e na produção de citocinas inflamatórias, os quais estão associados às disfunções metabólicas (Vishvanath; Gupta, 2019).

Além disso, a HSD também foi capaz de aumentar a massa relativa do TAB de ambas as ninhadas e o teor de lipídios totais no grupo HSD-NC. Esse é um resultado esperado, pois quando a disponibilidade de glicose aumenta, a insulina provoca uma inibição do processo de lipólise, resultando em uma diminuição da oxidação de ácidos graxos e disponibilidade de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, portanto, aumentando a síntese e armazenamento de ácidos graxos no TAB (Barbosa De Queiroz et al., 2017; Sidossis et al., 1996). A síntese de ácidos graxos aumentada, provocada pelo aumento de carboidratos da dieta, pode comprometer a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas, devido a uma falha na translocação do GLUT4 para a membrana celular, levando a uma redução na sensibilidade à insulina e favorecendo a RI (Longo et al., 2019). Nossos resultados são corroborados por trabalhos da literatura que já reportaram aumento nesses parâmetros devido a HSD no período pós desmame (De Queiroz et al., 2014a).

De forma complementar, a partir do mapa de calor, foi possível analisar uma correlação positiva entre TAG sérico e teor de lipídios totais tanto no grupo STD-NC e HSD-NC (Figura 9, painel A e painel C, respectivamente). A quantidade de TAG armazenada nos adipócitos, que estão em fluxo constante no ciclo TAG-ácidos graxos, depende do equilíbrio entre a lipogênese e a lipólise (Bolsoni-Lopes; Alonso-Vale, 2015). O armazenamento de lipídios e sua incorporação em TAG dependem da captação de ácidos graxos contidos nos quilomícrons. No tecido adiposo, os quilomícrons sofrem ação da lipase lipoproteica (LPL), a qual degrada o TAG dos quilomícrons e os ácidos graxos liberados são transferidos para os adipócitos. Assim, a alta ingestão de carboidratos simples leva a ativação da síntese de ácidos graxos livres no tecido adiposo, facilitando a conversão de glicose em

ácidos graxos (Bódis; Roden, 2018) que resultam em um maior acúmulo de gordura no tecido.

Como demonstrado, a superlactação/interação foi capaz de atenuar o aumento da deposição de TAG no tecido, teor de lipídios totais e redução da hipertrofia, além do tamanho de ninhada impedir o aumento do número de adipócitos no TAB. Isso se deve ao fato de que a composição do leite materno pode estar envolvida no processo de programação metabólica, causando alterações no número e/ou tamanho dos adipócitos e induzindo o fenômeno de diferenciação metabólica (Xavier, 2016). A limitação do aumento desses aspectos que envolvem a expansão do tecido provocada pela superlactação pode ser resultado de uma melhoria na eficácia da atividade do TAB. Como esse tipo de expansão tecidual parece ser metabolicamente mais favorável (Sakers et al., 2022) devido à maior secreção de adiponectina, importante na melhoria da sensibilidade insulínica (Meyer et al., 2013) e a HSD é desfavorável a ação desse hormônio, entende-se que é um estímulo dietético que pode resultar na redução da quantidade de células adipócitas. Também se pode considerar o período de lactação como uma oportunidade única, devido à capacidade de plasticidade da célula adiposa durante esse intervalo. Em outras palavras, os adipócitos demonstram a capacidade de ajustarem o seu número em resposta a estímulos externos, como a superlactação (Longo et al., 2019). Dessa forma, a diferenciação dos adipócitos é considerada fundamental na manutenção da homeostase metabólica e o aumento dos adipócitos devido à capacidade prejudicada de recrutar novas células pode ser a base da associação entre obesidade e RI, uma vez que os adipócitos na SM são histologicamente caracterizados por tamanho aumentado (Brand-Miller; Buyken, 2012; Christodoulides et al., 2009). Dado o exposto, a superlactação parece ser importante para diminuir o impacto do desbalanço da diferenciação dos adipócitos ocasionada pela HSD. Contudo, futuros experimentos são necessários para confirmar esta hipótese.

Além disso, a dieta pós-desmame foi capaz de aumentar a atividade arilesterásica da PON-1 no grupo da ninhada controle. Sabe-se que a dieta é um dos fatores que podem modular a atividade da enzima. Estudos com roedores demonstraram que uma dieta rica em lipídios é capaz de promover uma diminuição na atividade sérica da PON-1 (Costa et al., 2005; Soran et al., 2009). No entanto, a influência de uma dieta rica em açúcar na atividade dessa enzima não é muito bem estabelecida. Como é conhecido, o excesso de açúcar aumenta a síntese e secreção de VLDL pelo fígado e induz a hipertrigliceridemia em roedores e humanos (Kannan; Baker; Bruckdorfer, 1981; Saku et al., 1996). Além disso, a literatura aponta que a HSD induz o estresse oxidativo e esse fator está associado a uma diminuição da

atividade enzimática da PON-1 (Busserolles et al., 2002; Diniz et al., 2006). Considerando que a HSD modula negativamente a atividade da enzima, era esperado uma diminuição na atividade da PON-1. Os dados encontrados neste estudo são opostos aos achados da literatura, uma vez que a dieta aumentou a atividade da PON-1. Esse resultado pode ser explicado parcialmente pela influência do VLDL na secreção da PON-1. A principal fração responsável pela liberação da enzima pelo fígado para a corrente sanguínea é a HDL, mas como demonstrado no estudo *in vitro* por Deakin e colaboradores (2005) a VLDL também atua nesse mecanismo de uma forma mais moderada (James; Deakin, 2004), além de atuar no transporte de TAG pelos capilares e, posteriormente, ser armazenado no TAB (Sakers et al., 2022). Nesse estudo, os autores encontraram uma associação positiva entre a concentração de TAG e concentração sérica da PON-1, mas negativa em relação à atividade enzimática. No entanto, assim como Macan e colaboradores (2010), podemos especular que a associação positiva encontrada entre a concentração de TAG e atividade da PON-1 é decorrente das condições experimentais *in vivo* do presente estudo (Macan et al., 2010). Dessa forma, o aumento da atividade da PON-1 pela HSD pode ter sido influenciado pelas altas concentrações de TAG provocadas pela dieta, de tal forma que superou o possível efeito oxidante da HSD na atividade enzimática. Além disso, o excesso de TAB gera um grande aumento de síntese e secreção de adipocinas, as quais agem de forma patológica a desencadear as desordens que caracterizam a SM, com um estado pró-inflamatório crônico (Bremer; Jialal, 2013). Foi constatado que a atividade arilesterásica da PON-1 apresenta uma correlação positiva com as concentrações de adipocinas (Kota et al., 2013). Outro resultado que complementa essa hipótese é a correlação positiva encontrada entre a atividade arilesterásica da PON-1 e TAG sérico em animais HSD-NR no mapa de calor, evidenciada pela coloração azul. Portanto, o aumento da PON-1 pode ser sustentado pela hipótese da hipertrigliceridemia encontrada no estudo. Além disso, embora nossos resultados não tenham encontrado hiperplasia do TAB, foi observada uma correlação positiva entre PON-1 arilesterásica e número de adipócitos. No entanto, nossos resultados sugerem que a influência de TAG sérico quanto ao aumento da atividade arilesterásica é mais intensa quando comparamos com o número de adipócitos.

A relação significativa entre marcadores pró-inflamatórios e atividade arilesterásica, mas não com a atividade paraoxonásica, pode ser explicada devido a alguns polimorfismos genéticos que não têm influência na atividade arilesterásica. Além disso, essa atividade apresenta menor variabilidade interindividual quando comparada a paraoxonásica (Meisinger et al., 2021). Esses fatores podem sugerir o motivo pelo qual apenas a atividade arilesterásica

respondeu ao efeito da HSD, uma vez que este é um tipo de dieta que perturba o sistema inflamatório. Ademais, apesar de ambos os substratos serem importantes para análise, essas características fazem da atividade arilesterásica ser mais utilizada, além da preferência da PON-1 em hidrolisar ésteres aromáticos de ácido acético em detrimento aos organofosforados (Draganov et al., 2005).

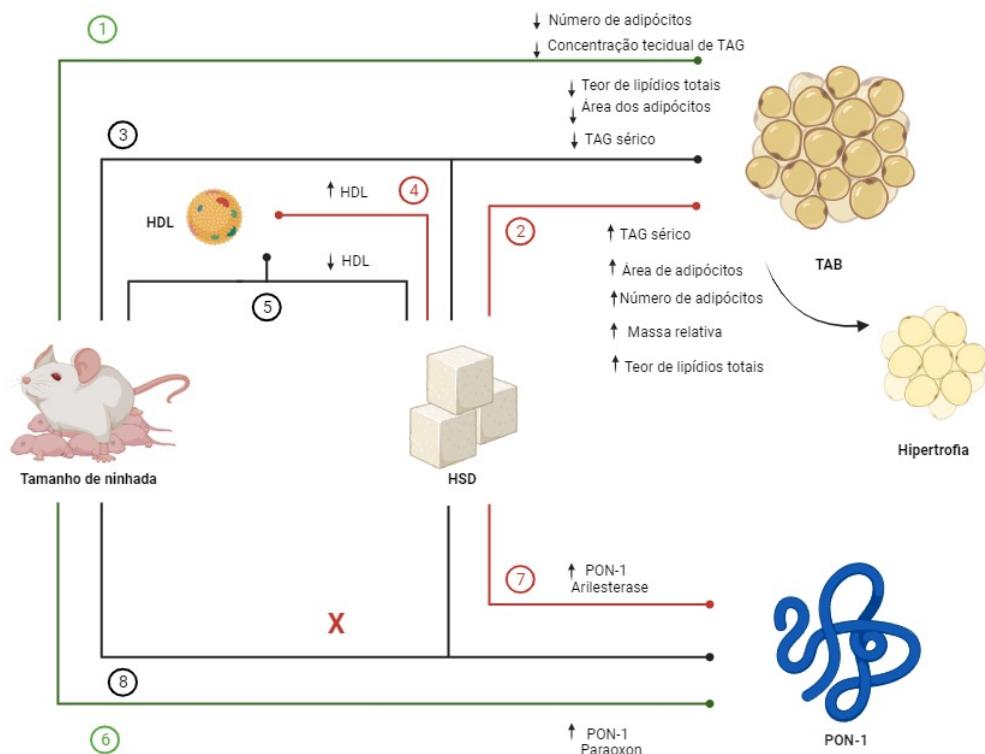
No entanto, ao analisarmos a atividade paraoxonásica, a superlactação aumentou a atividade enzimática da PON-1 no grupo que recebeu dieta controle, evidenciando um possível efeito protetor do tamanho de ninhada devido às propriedades antioxidantes do leite materno. Estudos *in vitro* e *in vivo* em animais e humanos forneceram evidências iniciais de que os antioxidantes podem aumentar a atividade da PON-1, possivelmente protegendo a enzima da inativação induzida pelo estresse oxidativo (Macan et al., 2011). Dessa forma, como a PON-1 faz parte do sistema endógeno de defesa antioxidant, a atividade mais alta da PON-1 pode garantir maior proteção de HDL e VLDL contra a oxidação (James; Deakin, 2004; Macan et al., 2010). Ademais, o leite materno possui uma quantidade adequada de PUFA, que são essenciais para garantir os receptores insulínicos necessários do sistema nervoso nos estágios iniciais da vida, contribuindo para a manutenção de um metabolismo glicêmico saudável (Das, 2007). Dentro desse contexto, sabendo que a PON-1 exerce um papel antioxidant importante, o aumento dessa enzima provocada pela superlactação atuaria como um mecanismo de proteção contra o desenvolvimento da RI.

O estudo acerca da PON-1 associada a HSD e superlactação precisa ser aprofundado a partir da análise da expressão gênica da PON-1, a fim de se elucidar as diferenças que as variáveis causaram em cada substrato. Isso porque os mecanismos epigenéticos, além de serem modulados por exposições ambientais, também são impactados por genes (MAHROOZ; MACKNESS, 2020). Os dados conflitantes sobre a associação da atividade da PON-1 com determinadas doenças podem ser parcialmente explicados por alterações na metilação dos sítios CpG na região promotora do gene da PON-1, por exemplo (HUEN et al., 2015). Nesse sentido, os polimorfismos da região codificadora do gene PON-1 têm sido investigados quanto aos seus efeitos sobre a eficiência de hidrólise a substratos específicos e constitui a base molecular da variabilidade interindividual, sugerindo que estes afetam a expressão de PON-1 (MACEDO, 2013). Portanto, seria interessante compreender se a superlactação impacta na expressão gênica desses substratos a fim de melhor elucidar os resultados encontrados neste trabalho.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os principais resultados obtidos neste estudo são exemplificados e resumidos pela Figura 11, a seguir:

Figura 11- Resumo das alterações provocadas pela superlactação e HSD no TAB retroperitoneal e atividade da PON-1 após 8 semanas.



- ① Efeitos do tamanho de ninhada sobre os parâmetros do TAB após 8 semanas de experimento (perfil lipídico sérico, tamanho e número de adipócitos, massa relativa, teor de lipídeos totais e concentração tecidual de TAB);
- ② Efeitos da dieta pós desmame (HSD) sobre os parâmetros do TAB após 8 semanas de experimento;
- ③ Efeitos da interação entre as duas variáveis (tamanho de ninhada e HSD) sobre os parâmetros do TAB após 8 semanas de experimento;
- ④ Efeitos da dieta pós desmame (HSD) sobre a concentração sérica de HDL após 8 semanas de experimento;
- ⑤ Efeitos da interação entre as duas variáveis (tamanho de ninhada e HSD) sobre a concentração sérica de HDL após 8 semanas de experimento;
- ⑥ Efeitos do tamanho de ninhada sobre a atividade da PON-1 (Paraoxonásica) após 8 semanas de experimento;
- ⑦ Efeitos da dieta pós desmame (HSD) sobre a atividade da PON-1 (Arilesterase) após 8 semanas de experimento;
- ⑧ Efeitos da interação entre as duas variáveis (tamanho de ninhada e HSD) sobre as atividades da PON-1 após 8 semanas de experimento).

**Seta verde:** Efeitos do tamanho de ninhada

**Seta vermelha:** Efeitos da dieta pós-desmame (HSD)

**Seta preta:** Efeitos da interação entre as duas variáveis (tamanho de ninhada e dieta pós-desmame - HSD)

HSD: dieta rica em carboidratos simples; HDL: proteína de alta densidade; TAG: triacilglicerol; PON-1: paraoxonase-1.

Fonte: Elaboração própria.

- I. Com relação ao perfil lipídico sérico, a HSD aumentou a concentração de colesterol HDL e TAG. Em relação ao TAB, a HSD aumentou a massa relativa do tecido, provocando um aumento na área e uma redução no número de adipócitos, ocasionando uma hipertrofia do tecido. Ainda, a HSD aumentou o teor de lipídeos totais e a deposição de TAG no TAB dos animais da ninhada controle. Em relação à atividade sérica da PON-1, a HSD aumentou a atividade arilesterásica na ninhada controle, o que pode estar associado à concentração aumentada de TAG nestes animais.
- II. A superlactação/ interação foi capaz de atenuar os efeitos da HSD em relação ao perfil lipídico sérico, reduzindo a concentração sérica de HDL e TAG, além de diminuir a massa relativa do TAB retroperitoneal, o teor de lipídios totais e as concentrações teciduais de TAG. Morfológicamente, houve uma atenuação no aumento da área dos adipócitos no TAB retroperitoneal. Foi observado um aumento da atividade sérica paraoxonásica na ninhada reduzida alimentada com dieta controle, evidenciando seu fator protetor.

Diante do exposto, os resultados apresentados demonstram hipertrofia do TAB retroperitoneal provocada pela HSD, com implicações na atividade sérica arilesterásica da PON-1, com aumento decorrente da hipertrigliceridemia encontrada. Além disso, de forma surpreendente, a superlactação foi capaz de conter a hipertrofia gerada pela dieta e aumentou a atividade paraoxonásica na ninhada reduzida com dieta controle, sugerindo que a atividade enzimática mais elevada nestes animais possui um efeito protetor. Entretanto, futuros experimentos são necessários para comprovar a nossa hipótese.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, M. C. et al. Consumo de macronutrientes e ingestão inadequada de micronutrientes em adultos. *Revista de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 47, n. 1, p.177-189, 2013a.
- LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX M. M. Princípios de Bioquímica. 6a Edição. 2014
- ANWAY, M. D. et al. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science (New York, N.Y.)*, v. 308, n. 5727, p. 1466–1469, 3 jun. 2005.
- ARAGNO, M.; MASTROCOLA, R. Dietary Sugars and Endogenous Formation of Advanced Glycation Endproducts: Emerging Mechanisms of Disease. *Nutrients*, v. 9, n. 4, p. 385, 14 abr. 2017.
- ARIMA, Y.; FUKUOKA, H. Developmental origins of health and disease theory in cardiology. *Journal of Cardiology*, v. 76, n. 1, p. 14–17, jul. 2020.
- BARBOSA DE QUEIROZ, K. et al. Physical activity prevents alterations in mitochondrial ultrastructure and glucometabolic parameters in a high-sugar diet model. *PloS One*, v. 12, n. 2, p. e0172103, 2017.
- BARKER, D. J. Fetal origins of coronary heart disease. *British Heart Journal*, v. 69, n. 3, p. 195–196, mar. 1993.
- BARKER, D. J. P. The origins of the developmental origins theory. *Journal of Internal Medicine*, v. 261, n. 5, p. 412–417, maio 2007.
- BÉDARD, A. et al. Maternal intake of sugar during pregnancy and childhood respiratory and atopic outcomes. *The European Respiratory Journal*, v. 50, n. 1, p. 1700073, jul. 2017.
- BEŁTOWSKI, J.; WÓJCICKA, G.; JAMROZ, A. Differential effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on plasma paraoxonase 1 activity in the rat. *Polish Journal of Pharmacology*, v. 54, n. 6, p. 661–671, 2002.
- BERNSTEIN, B. E.; MEISSNER, A.; LANDER, E. S. The mammalian epigenome. *Cell*, v. 128, n. 4, p. 669–681, 23 fev. 2007.
- BERROUGUI, H.; LOUED, S.; KHALIL, A. Purified human paraoxonase-1 interacts with plasma membrane lipid rafts and mediates cholesterol efflux from macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 52, n. 8, p. 1372–1381, 15 abr. 2012.
- BIANCO-MIOTTO, T. et al. Epigenetics and DOHaD: from basics to birth and beyond. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, v. 8, n. 5, p. 513–519, out. 2017.
- BÓDIS, K.; RODEN, M. Energy metabolism of white adipose tissue and insulin resistance in humans. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 48, n. 11, p. e13017, nov. 2018.
- BOLSONI-LOPES, A.; ALONSO-VALE, M. I. C. Lipolysis and lipases in white adipose

tissue - An update. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 59, n. 4, p. 335–342, ago. 2015.

BRAND-MILLER, J.; BUYKEN, A. E. The glycemic index issue. **Current Opinion in Lipidology**, v. 23, n. 1, p. 62–67, fev. 2012.

BREMER, A. A.; JIALAL, I. Adipose tissue dysfunction in nascent metabolic syndrome. **Journal of Obesity**, v. 2013, p. 393192, 2013.

BUSSEROLLES, J. et al. Rats fed a high sucrose diet have altered heart antioxidant enzyme activity and gene expression. **Life Sciences**, v. 71, n. 11, p. 1303–1312, 2 ago. 2002.

C, L.; LH, L. Exposure to the Chinese famine of 1959-61 in early life and long-term health conditions: a systematic review and meta-analysis. **International journal of epidemiology**, v. 46, n. 4, 8 jan. 2017.

CASTRO-QUEZADA, I. et al. Dietary Carbohydrates and Insulin Resistance in Adolescents from Marginalized Areas of Chiapas, México. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 3066, 16 dez. 2019.

CERON, J. J.; TECLES, F.; TVARIJONAVICIUTE, A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. **BMC veterinary research**, v. 10, p. 74, 25 mar. 2014.

CERVELLATI, C. et al. Paraoxonase-1 activities in individuals with different HDL circulating levels: Implication in reverse cholesterol transport and early vascular damage. **Atherosclerosis**, v. 285, p. 64–70, jun. 2019.

CHAMBERS, E. S. et al. Role of Gut Microbiota-Generated Short-Chain Fatty Acids in Metabolic and Cardiovascular Health. **Current Nutrition Reports**, v. 7, n. 4, p. 198–206, dez. 2018.

CHANDEL, N. S. Carbohydrate Metabolism. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 13, n. 1, p. a040568, 4 jan. 2021.

CHEN, K.; ZHAO, B. S.; HE, C. Nucleic Acid Modifications in Regulation of Gene Expression. **Cell Chemical Biology**, v. 23, n. 1, p. 74–85, 21 jan. 2016.

CHOE, S. S. et al. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. **Frontiers in Endocrinology**, v. 7, p. 30, 2016.

CHRISTODOULIDES, C. et al. Adipogenesis and WNT signalling. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 20, n. 1, p. 16–24, jan. 2009.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of Medical Science : AMS**, v. 9, n. 2, p. 191–200, 20 abr. 2013.

CONCEIÇÃO, E. P. S. et al. Oxidative stress programming in a rat model of postnatal early overnutrition — role of insulin resistance. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 81–87, 1 jan. 2013.

COSTA, E. DE B. O.; PACHECO, C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível

transcional e suas implicações. **Semina cienc. biol. saude**, p. 125–136, 2013.

COSTA, L. G. et al. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, n. 4, p. 541–550, 15 fev. 2005.

CREWS, D.; MCLACHLAN, J. A. Epigenetics, evolution, endocrine disruption, health, and disease. **Endocrinology**, v. 147, n. 6 Suppl, p. S4-10, jun. 2006.

CUNHA, J. D. **Estudo da atividade e polimorfismos da Paraoxonase-1 em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana tipo-1 (HIV-1) tratados com inibidores de protease**. Doutorado em Alergia e Imunopatologia—São Paulo: Universidade de São Paulo, 31 ago. 2012.

CZECH, M. P. Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. **Molecular Metabolism**, v. 34, p. 27–42, abr. 2020.

DAS, U. N. Breastfeeding prevents type 2 diabetes mellitus: but, how and why? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 5, p. 1436–1437, maio 2007.

DE DEUS, I. J. et al. Role of NLRP3 inflammasome and oxidative stress in hepatic insulin resistance and the ameliorative effect of phytochemical intervention. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 118829, 2023a.

DE LIMA, D. C. et al. The enhanced hyperglycemic response to hemorrhage hypotension in obese rats is related to an impaired baroreflex. **Metabolic Brain Disease**, v. 23, n. 4, p. 361–373, dez. 2008.

DE QUEIROZ, K. B. et al. Endurance training increases leptin expression in the retroperitoneal adipose tissue of rats fed with a high-sugar diet. **Lipids**, v. 49, n. 1, p. 85–96, jan. 2014a.

DE QUEIROZ, K. B. et al. Molecular mechanism driving retroperitoneal adipocyte hypertrophy and hyperplasia in response to a high-sugar diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, n. 12, p. 2331–2341, dez. 2014b.

DELPIERRE, C. et al. [DOHaD: epidemiological researches]. **Medecine Sciences: M/S**, v. 32, n. 1, p. 21–26, jan. 2016.

DEUS, I. J. DE. Programação metabólica induzida pela redução da ninhada e resistência à insulina promove alterações no tecido adiposo marrom de ratos jovens. 2020.

DINIZ, Y. S. et al. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 543, n. 1–3, p. 151–157, 14 ago. 2006.

**Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes - Ed. 2023.** Disponível em: <<https://diretriz.diabetes.org.br>>. Acesso em: 19 out. 2023.

DRAGANOV, D. I. et al. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. **Journal of Lipid Research**, v. 46, n. 6,

p. 1239–1247, jun. 2005.

DULLAART, R. P. F.; OTVOS, J. D.; JAMES, R. W. Serum paraoxonase-1 activity is more closely related to HDL particle concentration and large HDL particles than to HDL cholesterol in Type 2 diabetic and non-diabetic subjects. **Clinical Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 1022–1027, ago. 2014.

ERIKSSON-HOGLING, D. et al. Adipose tissue morphology predicts improved insulin sensitivity following moderate or pronounced weight loss. **International Journal of Obesity (2005)**, v. 39, n. 6, p. 893–898, jun. 2015.

FALL, C. H. D.; KUMARAN, K. Metabolic programming in early life in humans. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, v. 374, n. 1770, p. 20180123, 15 abr. 2019.

FEDELESOVA, M. et al. Paraoxonase activity in sera of patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Bratislavské Lekarske Listy**, v. 118, n. 12, p. 719–720, 2017.

FELIX, J. B.; COX, A. R.; HARTIG, S. M. Acetyl-CoA and Metabolite Fluxes Regulate White Adipose Tissue Expansion. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 32, n. 5, p. 320–332, maio 2021.

FIGLEWICZ, D. P. Modulation of Food Reward by Endocrine and Environmental Factors: Update and Perspective. **Psychosomatic Medicine**, v. 77, n. 6, p. 664–670, 2015.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, maio 1957.

FONSECA, P. E. R.; COSTA JR., C. V.; SILVEIRA, B. F. Epigenética e sua relação com algumas doenças. 2021.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 216–229, abr. 2006.

FREEMAN, C. R. et al. Impact of sugar on the body, brain, and behavior. **Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)**, v. 23, n. 12, p. 2255–2266, 1 jun. 2018.

FÜLÖP, P. et al. Paraoxonase-1 and adipokines: Potential links between obesity and atherosclerosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 259, n. Pt B, p. 388–393, 25 nov. 2016.

GARCIA, M. L. et al. Retroperitoneal adipose tissue denervation improves cardiometabolic and autonomic dysfunction in a high fat diet model. **Life Sciences**, v. 283, p. 119841, 15 out. 2021.

GOLETZKE, J. et al. Habitually higher dietary glycemic index during puberty is prospectively related to increased risk markers of type 2 diabetes in younger adulthood. **Diabetes Care**, v. 36, n. 7, p. 1870–1876, jul. 2013.

GROENER, J. E.; VAN GENT, T.; VAN TOL, A. Effect of lipid transfer protein on plasma

lipids, apolipoproteins and metabolism of high-density lipoprotein cholestryl ester in the rat. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1002, n. 1, p. 93–100, 14 mar. 1989.

GRUNEWALD, M. et al. Excessive weight gain during full breast-feeding. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 64, n. 3–4, p. 271–275, 2014.

GUGLIELMI, V.; SBRACCIA, P. Obesity phenotypes: depot-differences in adipose tissue and their clinical implications. **Eating and weight disorders: EWD**, v. 23, n. 1, p. 3–14, fev. 2018.

**GUIA ALIMENTAR PARA CRIANÇAS BRASILEIRAS MENORES DE 2 ANOS.pdf**  
 — Ministério da Saúde Disponível em:  
 <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil/eu-quero-me-alimentar-melhor/Documentos/pdf/guia-alimentar-para-criancas-brasileiras-menores-de-2-anos.pdf/view>>. Acesso em: 19 out. 2023.

HABBOUT, A. et al. Postnatal overfeeding in rodents by litter size reduction induces major short- and long-term pathophysiological consequences. **The Journal of Nutrition**, v. 143, n. 5, p. 553–562, maio 2013.

HATHTHOTUWA, R. N.; WIJAYARATNE, C. N.; SENARATH, U. Chapter 1 - Worldwide epidemic of obesity. Em: MAHMOOD, T. A.; ARULKUMARAN, S.; CHERVENAK, F. A. (Eds.). **Obesity and Obstetrics (Second Edition)**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 3–8.

HAVEL, R. J. The formation of LDL: mechanisms and regulation. **Journal of Lipid Research**, v. 25, n. 13, p. 1570–1576, 15 dez. 1984.

HOLOCH, D.; MOAZED, D. RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. **Nature Reviews. Genetics**, v. 16, n. 2, p. 71–84, fev. 2015.

HONECKER, J. et al. Transcriptome and fatty-acid signatures of adipocyte hypertrophy and its non-invasive MR-based characterization in human adipose tissue. **EBioMedicine**, v. 79, p. 104020, maio 2022.

HORTA, B. L.; LORET DE MOLA, C.; VICTORA, C. G. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)**, v. 104, n. 467, p. 30–37, dez. 2015.

HUEN, K. et al. PON1 as a model for integration of genetic, epigenetic, and expression data on candidate susceptibility genes. **Environmental Epigenetics**, v. 1, n. 1, p. dvv003, jan. 2015.

HUSSEY, B.; LINDLEY, M. R.; MASTANA, S. Epigenetics and epigenomics: the future of nutritional interventions? **Future Science OA**, v. 3, n. 4, p. FSO237, nov. 2017.

IKHLEF, S. et al. Human paraoxonase 1 overexpression in mice stimulates HDL cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. **PloS One**, v. 12, n. 3, p. e0173385, 2017.

**INTERFERÊNCIAS DA PROGRAMAÇÃO METABÓLICA NO**

**DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE E SUAS COMORBIDADES.** Salus Journal of Health Sciences, [s.d.]. Disponível em: <<http://www.salusjournal.org/magazine/interferencias-da-programacao-metabolica-no-desenvolvimento-da-obesidade-e-suas-comorbidades/>>. Acesso em: 17 nov. 2023

JAMES, R. W.; DEAKIN, S. P. The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 37, n. 12, p. 1986–1994, 15 dez. 2004.

JANOVSKA, P.; KOPECKY, J. Adipose tissue-muscle interactions and the metabolic effects of n-3 LCPUFA - implications for programming effects of early diet. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 646, p. 149–157, 2009.

JOHNSON, R. J. et al. Perspective: A Historical and Scientific Perspective of Sugar and Its Relation with Obesity and Diabetes. **Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 8, n. 3, p. 412–422, maio 2017.

JOHNSON, R. J. et al. Do thrifty genes exist? Revisiting uricase. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 30, n. 10, p. 1917–1926, out. 2022.

JOSLOWSKI, G. et al. Prospective associations of dietary insulin demand, glycemic index, and glycemic load during puberty with body composition in young adulthood. **International Journal of Obesity (2005)**, v. 36, n. 11, p. 1463–1471, nov. 2012.

KADOWAKI, H.; PATTON, G. M.; ROBINS, S. J. Metabolism of high density lipoprotein lipids by the rat liver: evidence for participation of hepatic lipase in the uptake of cholesterol ester. **Journal of Lipid Research**, v. 33, n. 11, p. 1689–1698, nov. 1992.

KAHN, C. R.; WANG, G.; LEE, K. Y. Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 3990–4000, 1 out. 2019.

KANNAN, R.; BAKER, N.; BRUCKDORFER, K. R. Secretion and turnover of very low density lipoprotein triacylglycerols in rats fed chronically diets rich in glucose and fructose. **The Journal of Nutrition**, v. 111, n. 7, p. 1216–1223, jul. 1981.

KAPUT, J.; RODRIGUEZ, R. L. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. **Physiological Genomics**, v. 16, n. 2, p. 166–177, 15 jan. 2004.

KOENEN, M. et al. Obesity, Adipose Tissue and Vascular Dysfunction. **Circulation Research**, v. 128, n. 7, p. 951–968, 2 abr. 2021.

KOLEVA, P. T.; BRIDGMAN, S. L.; KOZYRSKYJ, A. L. The Infant Gut Microbiome: Evidence for Obesity Risk and Dietary Intervention. **Nutrients**, v. 7, n. 4, p. 2237–2260, abr. 2015.

KOREN-GLUZER, M. et al. The antioxidant HDL-associated paraoxonase-1 (PON1) attenuates diabetes development and stimulates  $\beta$ -cell insulin release. **Atherosclerosis**, v. 219, n. 2, p. 510–518, dez. 2011.

KOREN-GLUZER, M.; AVIRAM, M.; HAYEK, T. Paraoxonase1 (PON1) reduces insulin resistance in mice fed a high-fat diet, and promotes GLUT4 overexpression in myocytes, via the IRS-1/Akt pathway. **Atherosclerosis**, v. 229, n. 1, p. 71–78, jul. 2013.

KOTA, S. K. et al. Implications of serum paraoxonase activity in obesity, diabetes mellitus, and dyslipidemia. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 17, n. 3, p. 402–412, maio 2013.

KOTUR-STEVULJEVIĆ, J. et al. Paraoxonase 1 and atherosclerosis-related diseases. **BioFactors (Oxford, England)**, v. 46, n. 2, p. 193–205, mar. 2020.

KOUZARIDES, T. Chromatin modifications and their function. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 693–705, 23 fev. 2007.

KULKA, M. A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 1, p. 225–232, 2016.

LEE, J. M. Insulin resistance in children and adolescents. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**, v. 7, n. 3, p. 141–147, set. 2006.

LEE, M. O. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 89, n. 1, p. 24–33, jun. 1929.

LEE, S.-H.; PARK, S.-Y.; CHOI, C. S. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. **Diabetes & Metabolism Journal**, v. 46, n. 1, p. 15–37, jan. 2022a.

LEE, S.-H.; PARK, S.-Y.; CHOI, C. S. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. **Diabetes & Metabolism Journal**, v. 46, n. 1, p. 15–37, 31 jan. 2022b.

LI, J.; LIU, C. Coding or Noncoding, the Converging Concepts of RNAs. **Frontiers in Genetics**, v. 10, p. 496, 2019.

LI, Q.; SPALDING, K. L. The regulation of adipocyte growth in white adipose tissue. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 1003219, 2022.

LI, Y. Modern epigenetics methods in biological research. **Methods (San Diego, Calif.)**, v. 187, p. 104–113, mar. 2021.

LIU, W. et al. Expansion and inflammation of white adipose tissue - focusing on adipocyte progenitors. **Biological Chemistry**, v. 402, n. 2, p. 123–132, 27 jan. 2021.

LONGO, M. et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 9, p. 2358, 13 maio 2019.

MACAN, M. et al. Effects of high sucrose diet, gemfibrozil, and their combination on plasma paraoxonase 1 activity and lipid levels in rats. **Acta Biochimica Polonica**, v. 57, n. 3, p. 321–326, 2010.

MACAN, M. et al. The influence of gemfibrozil on malondialdehyde level and paraoxonase 1 activity in wistar and fisher rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 108, n. 6, p. 428–435, jun. 2011.

MACEDO, C. G. D. **Estudo das paraoxonases 1, 2 e 3 em pacientes portadores de anemia falciforme**. Mestrado em Distúrbios do Crescimento Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia—São Paulo: Universidade de São Paulo, 15 jul. 2013.

MACKNESS, M. I.; ARROL, S.; DURRINGTON, P. N. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **FEBS letters**, v. 286, n. 1–2, p. 152–154, 29 jul. 1991.

MACKNESS, M.; MACKNESS, B. Human paraoxonase-1 (PON1): Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. **Gene**, v. 567, n. 1, p. 12–21, 1 ago. 2015.

MAFFEIS, C.; MORANDI, A. Body composition and insulin resistance in children. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 9, p. 1239–1245, set. 2018.

MAHROOZ, A.; MACKNESS, M. Epigenetics of paraoxonases. **Current Opinion in Lipidology**, v. 31, n. 4, p. 200, ago. 2020.

MARSILLACH, J. et al. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 45, n. 2, p. 146–157, 15 jul. 2008.

MARSILLACH, J.; COSTA, L. G.; FURLONG, C. E. Paraoxonase-1 and Early-Life Environmental Exposures. **Annals of Global Health**, v. 82, n. 1, p. 100–110, 2016.

MASQUIO, D. C. L.; GANEN, A. DE P.; DAMASO, A. R. Influência do aleitamento materno na obesidade e fatores de risco cardiovascular. **Revista eletronica acervo saude**, v. 6, n. 2, p. 598–616, 2014.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul. 1985.

MEISINGER, C. et al. Association between inflammatory markers and serum paraoxonase and arylesterase activities in the general population: a cross-sectional study. **Lipids in Health and Disease**, v. 20, n. 1, p. 81, 31 jul. 2021.

MENESES, M. J. et al. Paraoxonase-1 as a Regulator of Glucose and Lipid Homeostasis: Impact on the Onset and Progression of Metabolic Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 16, p. 4049, 19 ago. 2019.

MERGENTHALER, P. et al. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 10, p. 587–597, out. 2013.

MOHAMMED, C. J. et al. A PON for All Seasons: Comparing Paraoxonase Enzyme Substrates, Activity and Action including the Role of PON3 in Health and Disease.

**Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 3, p. 590, 19 mar. 2022.

MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 289645, 2010.

MOZEŠ, Š.; ŠEFČÍKOVÁ, Z.; RAČEK, L. Effect of repeated fasting/refeeding on obesity development and health complications in rats arising from reduced nest. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 60, n. 2, p. 354–361, fev. 2015.

NAKRANI, M. N.; WINELAND, R. H.; ANJUM, F. Physiology, Glucose Metabolism. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE; HEALTH AND MEDICINE DIVISION; FOOD AND NUTRITION BOARD; COMMITTEE ON THE DIETARY REFERENCE INTAKES FOR ENERGY. **Dietary Reference Intakes for Energy**. Washington (DC): National Academies Press (US), 2023.

NEEL, J. V. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? **American Journal of Human Genetics**, v. 14, n. 4, p. 353–362, dez. 1962.

NERY, C. DA S. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. 2011.

NERY, C. DA S. et al. Murinometric evaluations and feed efficiency in rats from reduced litter during lactation and submitted or not to swimming exercise. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, p. 49–55, fev. 2011.

OLIVEIRA, D. T. DE et al. High-sugar diet leads to obesity and metabolic diseases in ad libitum -fed rats irrespective of caloric intake. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 64, n. 1, p. 71–81, fev. 2020.

PAPAKONSTANTINOU, E. et al. Effects of Diet, Lifestyle, Chrononutrition and Alternative Dietary Interventions on Postprandial Glycemia and Insulin Resistance. **Nutrients**, v. 14, n. 4, p. 823, 16 fev. 2022.

PARKS, E. J.; PARKS, E. J. Changes in fat synthesis influenced by dietary macronutrient content. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 61, n. 2, p. 281–286, maio 2002.

PATEL, B. M.; GOYAL, R. K. Liver and insulin resistance: New wine in old bottle!!! **European Journal of Pharmacology**, v. 862, p. 172657, 5 nov. 2019.

PEIXOTO, P. et al. From 1957 to Nowadays: A Brief History of Epigenetics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7571, 14 out. 2020.

PENA-LEON, V. et al. Prolonged breastfeeding protects from obesity by hypothalamic action of hepatic FGF21. **Nature Metabolism**, v. 4, n. 7, p. 901–917, jul. 2022.

PENKLER, M. et al. DOHaD in science and society: emergent opportunities and novel responsibilities. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 10, n. 3, p. 268–273, jun. 2019.

PEREIRA, P. F.; ALFENAS, R. DE C. G.; ARAÚJO, R. M. A. Does breastfeeding influence the risk of developing diabetes mellitus in children? A review of current evidence. **Jornal De Pediatria**, v. 90, n. 1, p. 7–15, 2014.

PEREIRA, R. R. et al. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) Upregulates Paraoxonase 1 Gene Expression and Activity with Concomitant Reduction of Hepatic Steatosis in High-Fat Diet-Fed Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 8379105, 2016.  
PESSOA, J. A IMPORTÂNCIA DO ALEITAMENTO MATERNO: UMA REVISÃO DE LITERATURA. 2017.

PINHEIRO, D. DA S.; JESUÍNO, R. S. A. O Gene da Paraoxonase 1 (PON1) no Contexto Doença Arterial Coronariana. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 119, n. 4, p. 602–603, 5 out. 2022.

PRICE, N. L.; FERNÁNDEZ-HERNANDO, C. miRNA regulation of white and brown adipose tissue differentiation and function. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, MicroRNAs and lipid/energy metabolism and related diseases. v. 1861, n. 12, Part B, p. 2104–2110, 1 dez. 2016.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **The New England Journal of Medicine**, v. 295, n. 7, p. 349–353, 12 ago. 1976.

RINALDI, W. et al. Efeito da redução de ninhada sobre as respostas autonômicas e metabólicas de ratos Wistar. **Revista de Nutrição**, v. 25, p. 321–330, jun. 2012.

RODEKAMP, E. et al. Long-term impact of breast-feeding on body weight and glucose tolerance in children of diabetic mothers: role of the late neonatal period and early infancy. **Diabetes Care**, v. 28, n. 6, p. 1457–1462, jun. 2005.

ROLDÃO, C. F. DA C. Leite materno e programação metabólica: benefícios para a saúde a curto e longo prazo. 27 jun. 2019.

ROSENBLAT, M. et al. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. **Atherosclerosis**, v. 179, n. 1, p. 69–77, mar. 2005.

SAELY, C. H.; GEIGER, K.; DREXEL, H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. **Gerontology**, v. 58, n. 1, p. 15–23, 2012.

SAKERS, A. et al. Adipose-tissue plasticity in health and disease. **Cell**, v. 185, n. 3, p. 419–446, 3 fev. 2022.

SAKU, K. et al. Short-term effects of a high-sucrose diet on plasma lipid, lipoprotein cholesterol, tissue lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase in rats. **Artery**, v. 22, n. 1, p. 36–48, 1996.

SANTOS, E. DOS. Programação metabólica previne o desenvolvimento da esteatose hepática induzida por dieta high-sugar em ratos jovens. 2021.

SANTOS, T. A. P. DOS. Epigenética no tecido adiposo retroperitoneal de ratos alimentados com dieta rica em carboidratos simples após treinamento físico de natação. 2018.

SCHEJA, L.; HEEREN, J. The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease. **Nature Reviews. Endocrinology**, v. 15, n. 9, p. 507–524, set. 2019.

SCHOONMAKER, J. P. et al. Effect of source and amount of energy and rate of growth in the growing phase on performance and carcass characteristics of early- and normal-weaned steers. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 1, p. 273–282, jan. 2004.

SENTÍ, M. et al. Antioxidant Paraoxonase 1 Activity in the Metabolic Syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 11, p. 5422–5426, 1 nov. 2003.

SHANKAR, K. et al. Carbohydrate-responsive gene expression in the adipose tissue of rats. **Endocrinology**, v. 151, n. 1, p. 153–164, jan. 2010.

SHIH, D. M. et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. **Nature**, v. 394, n. 6690, p. 284–287, 16 jul. 1998.

SHOKRI, Y. et al. Importance of paraoxonase 1 (PON1) as an antioxidant and antiatherogenic enzyme in the cardiovascular complications of type 2 diabetes: Genotypic and phenotypic evaluation. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 161, p. 108067, mar. 2020.

SHUNMOOGAM, N.; NAIDOO, P.; CHILTON, R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. **Vascular Health and Risk Management**, v. 14, p. 137–143, 2018.

SILVA, R. S. DA. Avaliação do conhecimento de adultos jovens acerca da utilização dos carboidratos no organismo humano. 2019.

SORAN, H. et al. Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. **Current Opinion in Lipidology**, v. 20, n. 4, p. 265–274, ago. 2009.

SOUZA, C. T. Envolvimento da inflamação subclínica e do estresse oxidativo na resistência à insulina associada a obesidade. **HU Revista**, v. 44, n. 2, p. 211–220, 2018.

SPENCER, S. J.; TILBROOK, A. Neonatal overfeeding alters adult anxiety and stress responsiveness. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, n. 8, p. 1133–1143, set. 2009.

STANHOPE, K. L. Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 53, n. 1, p. 52–67, 2016.

STEPHEN, A. et al. The role and requirements of digestible dietary carbohydrates in infants and toddlers. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, n. 7, p. 765–779, jul. 2012.

SUN, K.; KUSMINSKI, C. M.; SCHERER, P. E. Adipose tissue remodeling and obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 6, p. 2094–2101, jun. 2011.

TALER-VERČIĆ, A.; GOLIČNIK, M.; BAVEC, A. The Structure and Function of

Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 24, p. 5980, 17 dez. 2020.

TAM, W. H. et al. In Utero Exposure to Maternal Hyperglycemia Increases Childhood Cardiometabolic Risk in Offspring. **Diabetes Care**, v. 40, n. 5, p. 679–686, maio 2017.

TAYLOR, B. A.; PHILLIPS, S. J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics**, v. 34, n. 3, p. 389–398, 15 jun. 1996.

TIFFON, C. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3425, 1 nov. 2018.

TUCKER, L. A. Macronutrient Intake and Insulin Resistance in 5665 Randomly Selected, Non-Diabetic U.S. Adults. **Nutrients**, v. 14, n. 5, p. 918, 22 fev. 2022.

TWARD, A. et al. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. **Circulation**, v. 106, n. 4, p. 484–490, 23 jul. 2002.

VISHVANATH, L.; GUPTA, R. K. Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 4022–4031, 1 out. 2019.

WADDINGTON, C. H. The epigenotype. 1942. **International Journal of Epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 10–13, fev. 2012.

WADHWA, P. D. et al. Developmental origins of health and disease: brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 27, n. 5, p. 358–368, set. 2009.

WANG, Q. A. et al. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. **Nature Medicine**, v. 19, n. 10, p. 1338–1344, out. 2013.

WATERLAND, R. A.; GARZA, C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 179–197, fev. 1999.

WHITE, U. Adipose tissue expansion in obesity, health, and disease. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 11, p. 1188844, 2023.

WITEK, K.; WYDRA, K.; FILIP, M. A High-Sugar Diet Consumption, Metabolism and Health Impacts with a Focus on the Development of Substance Use Disorder: A Narrative Review. **Nutrients**, v. 14, n. 14, p. 2940, 18 jul. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guideline: sugars intake for adults and children**. Geneva: World Health Organization, 2015.

XAVIER, J. L. DE P. IMPACTO DA REDUÇÃO DE NINHADA DURANTE O PERÍODO LACTACIONAL SOBRE A MORFOFISIOLOGIA MATERNA E SUA REPERCUSSÃO NA PROLE. 4 mar. 2016.

XIAO, X. Q. et al. Excess weight gain during the early postnatal period is associated with permanent reprogramming of brown adipose tissue adaptive thermogenesis. *Endocrinology*, v. 148, n. 9, p. 4150–4159, set. 2007.

## 9 APÊNDICE

### APÊNDICE A- Valores de *r* e *p* da correlação de *Spearman*

		STD-NC																				
Variáveis	PON-1 Arilesterase		PON-1 Paraoxon		Colesterol total sérico		HDL sérico		TAG sérico		Área		Número		Massa Relativa		Teor de lipídeos		TAG tecidual			
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p				
PON-1 Arilesterase	1,00000	<0,0001	0,11590	0,75130	-0,12730	0,73300	-0,35760	0,31290	0,12730	0,73300	0,14290	0,47180	0,08571	0,91940	0,25690	0,47180	0,02381	0,97680	-0,10000	0,950000		
PON-1 Paraoxon	0,11590	0,75130	1,00000	<0,0001	-0,26830	0,45030	0,46950	0,17260	-0,46340	0,17830	-0,48570	0,81180	0,08571	0,91940	-0,08615	0,81180	-0,39520	0,33390	-0,20520	0,766700		
Colesterol total sérico	-0,12730	0,73300	-0,26830	0,45030	1,00000	<0,0001	0,51520	0,13340	0,58790	0,08060	0,60000	0,88400	-0,82860	0,05830	-0,05505	0,88400	0,69050	0,06940	-0,90000	0,083300		
HDL sérico	-0,35760	0,31290	0,46950	0,17260	0,51520	0,13340	1,00000	<0,0001	-0,12730	0,73300	0,14290	0,30310	-0,60000	0,24170	-0,36090	0,30310	-0,11900	0,79300	-0,40000	0,516700		
TAG sérico	0,12730	0,73300	-0,46340	0,17830	0,58790	0,08060	-0,12730	0,73300	0,14290	<0,0001	-0,02857	0,08290	0,02857	>0,9999	0,58110	0,08290	0,80950	0,02180	-0,60000	0,350000		
Área	0,14290	0,80280	-0,48570	0,35560	0,60000	0,24170	0,08571	0,91940	-0,02857	>0,9999	1,00000	0,76670	-0,82860	0,05830	-0,17650	0,76670	-0,80000	0,68330	0,00000			
Número	0,08571	>0,9999	0,08571	0,70000	-0,82860	0,05830	-0,60000	0,91940	0,02857	>0,9999	1,00000	0,07220	1,00000	0,00280	0,00000	>0,9999	0,30000	0,13330	0,00000			
Massa relativa	0,25690	0,47180	-0,08615	0,81180	-0,05505	0,88400	-0,36090	0,30310	0,58110	0,08290	0,00000	<0,0001	-0,17650	>0,9999	1,00000	<0,0001	0,81930	0,01710	0,00000	>0,9999		
Teor de lipídeos totais	0,02381	0,97680	-0,39520	0,33390	0,69050	0,06940	-0,11900	0,79300	0,080950	0,02180	-0,80000	0,01710	-0,80000	0,13330	0,81930	0,01710	0,00000	-0,10000	0,950000			
TAG tecidual	-0,10000	0,95000	-0,20520	0,76670	-0,90000	0,08330	-0,40000	0,51670	-0,60000	0,35000	0,00000	>0,9999	0,00000	0,00000	>0,9999	-0,10000	0,95000	1,00000	0,016700			
STD-NR																						
Variáveis	PON-1 Arilesterase		PON-1 Paraoxon		Colesterol total sérico		HDL sérico		TAG sérico		Área		Número		Massa Relativa		Teor de lipídeos		TAG tecidual			
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p				
PON-1 Arilesterase	1,00000	<0,0001	0,22420	0,53670	0,12730	0,73300	-0,01818	0,97300	0,66060	0,04380	-0,08571	0,91940	0,89860	0,02780	0,60500	0,06900	0,33330	0,42790	-0,40000	0,516700		
PON-1 Paraoxon	0,22420	0,53670	1,00000	<0,0001	0,16360	0,65670	-0,36970	0,29570	-0,10300	0,78500	-0,02857	>0,9999	0,11600	0,83890	0,11110	0,76230	-0,16670	0,70330	-0,80000	0,133300		
Colesterol total sérico	0,12730	0,73300	0,16360	0,65670	1,00000	<0,0001	0,09091	0,81130	0,49900	0,15480	-0,31430	0,56390	0,49280	0,33330	0,48160	0,16120	0,09524	0,84010	-0,10000	0,016700		
HDL sérico	-0,01818	0,97300	-0,36970	0,29570	0,09091	0,81130	1,00000	<0,0001	0,24850	0,49180	1,00000	<0,0001	0,37140	0,49720	0,89860	0,02780	0,45690	0,18550	0,61900	0,11500	-0,60000	0,350000
TAG sérico	0,66060	0,04380	-0,10300	0,78500	0,49090	0,15480	0,24850	0,49180	1,00000	<0,0001	0,37140	0,49720	0,89860	0,02780	0,45690	0,18550	0,61900	0,11500	-0,60000	0,350000		
Área	-0,08571	0,91940	-0,02857	>0,9999	-0,31430	0,56390	0,02857	>0,9999	0,37140	0,49720	1,00000	<0,0001	-0,51810	0,19460	0,111050	0,80120	0,40000	0,51670	-0,10000	0,333300		
Número	0,89860	0,02780	0,11600	0,83890	0,49280	0,33330	-0,08697	0,86670	0,89860	0,02780	-0,51810	0,19460	1,00000	0,33330	0,06833	0,10000	0,82080	0,13330	0,86600	0,666700		
Massa relativa	0,60500	0,06900	0,11110	0,76230	0,48160	0,16120	-0,22230	0,53580	0,45690	0,18550	0,11050	0,80120	0,06833	0,87200	1,00000	<0,0001	0,43720	0,24340	-0,67610	0,20000		
Teor de lipídeos totais	0,33330	0,42790	-0,16670	0,70330	0,09524	0,84010	-0,30950	0,46180	0,61900	0,11500	0,40000	0,51670	0,82080	0,13330	0,43720	0,24340	1,00000	<0,0001	-0,14290	0,802800		
TAG tecidual	-0,40000	0,51670	-0,80000	0,13330	-1,00000	0,01670	-0,40000	0,51670	-0,60000	0,35000	-1,00000	0,33330	0,86600	0,66670	-0,67610	0,20000	-0,14290	0,80280	1,00000	0,002800		
HSD-NC																						
Variáveis	PON-1 Arilesterase		PON-1 Paraoxon		Colesterol total sérico		HDL sérico		TAG sérico		Área		Número		Massa Relativa		Teor de lipídeos		TAG tecidual			
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p				
PON-1 Arilesterase	1,00000	<0,0001	-0,15150	0,68210	0,35760	0,31290	0,06667	0,86510	0,30910	0,38690	-0,37140	0,49720	0,88570	0,03330	0,12920	0,72130	0,64290	0,13890	0,10000	0,950000		
PON-1 Paraoxon	-0,15150	0,68210	1,00000	<0,0001	-0,01818	0,97300	0,38180	0,27880	-0,18790	0,60730	-0,02857	>0,9999	-0,14290	0,80280	-0,60310	0,06990	-0,39290	0,39560	0,20000	0,78330		
Colesterol total sérico	0,35760	0,31290	-0,01818	0,97300	1,00000	<0,0001	0,38180	0,27880	0,72120	0,02340	0,60000	0,24170	-0,08571	0,91940	0,17230	0,63360	0,67860	0,10950	-0,90000	0,083300		
HDL sérico	0,06667	0,86510	0,38180	0,27880	0,38180	0,27880	1,00000	<0,0001	-0,20000	0,58370	-0,02857	>0,9999	0,20000	0,71390	-0,36310	0,30040	0,25000	0,59480	-0,50000	0,450000		
TAG sérico	0,30910	0,38690	-0,18790	0,60730	0,72120	0,02340	-0,20000	0,58370	1,00000	<0,0001	0,65710	0,17500	-0,54290	0,29720	0,40000	0,25070	0,85710	0,02380	-0,10000	0,950000		
Área	-0,37140	0,49720	-0,02857	>0,9999	0,60000	0,24170	-0,02857	>0,9999	0,65710	0,17500	1,00000	0,00040	-0,57140	0,20000	0,43640	0,34920	-0,50000	>0,9999	0,50000	>0,9999		
Número	0,88570	0,03330	-0,14290	0,80280	-0,08571	0,91940	0,20000	0,71390	-0,54290	0,29720	-0,57140	0,20000	1,00000	0,00040	0,10910	0,85870	-0,50000	>0,9999	0,50000	>0,9999		
Massa relativa	0,12920	0,72130	-0,60310	0,06990	0,17230	0,63360	-0,36310	0,30040	0,40000	0,25070	0,43640	0,34920	0,10910	0,85870	1,00000	<0,0001	0,03420	0,93760	0,40000	0,88890		
Teor de lipídeos totais	0,64290	0,13890	-0,39290	0,39560	0,67860	0,10950	0,25000	0,59480	0,85710	0,02380	-0,50000	>0,9999	-0,50000	0,03420	0,93760	1,00000	<0,0001	0,14290	0,80280	1,00000		
TAG tecidual	0,10000	0,95000	0,20000	0,78330	-0,90000	0,08330	-0,50000	0,45000	-0,10000	0,95000	0,50000	>0,9999	0,50000	>0,9999	0,40000	0,88890	0,14290	0,80280	1,00000	0,00280		
HSD-NR																						
Variáveis	PON-1 Arilesterase		PON-1 Paraoxon		Colesterol total sérico		HDL sérico		TAG sérico		Área		Número		Massa Relativa		Teor de lipídeos		TAG tecidual			
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p				
PON-1 Arilesterase	1,00000	<0,0001	0,55150	0,10490	0,40610	0,24750	0,56360	0,09630	0,66060	0,04380	-0,37140	0,49720	0,02899	0,11110	-0,22420	0,53670	0,25710	0,65830	0,70000	0,23330		
PON-1 Paraoxon	0,55150	0,10490	1,00000	<0,0001	-0,21210	0,56030	0,16360	0,65670	0,17580	0,63210	-0,08571	0,91940	0,52180	0,23330	0,06060	>0,9999	0,37140	0,49720	0,50000	0,45000		
Colesterol total sérico	0,40610	0,24750	-0,21210	0,56030	1,00000	<0,0001	0,12730	0,73300	0,43030	0,21820	0,02857	>0,9999	0,23190	0,27220	-0,41820	0,232						

## **10 ANEXOS**

### **ANEXO A – Atividades desenvolvidas**

#### **INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

Projeto de iniciação científica intitulado “Programação metabólica e seus efeitos sobre a dinâmica adiposa e paraoxonase-1 em ratos jovens” com participação na categoria PIP-1S 14/2021 com período de vigência de 01/03/2022 a 28/02/2023 (Anexo 2).

#### **PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS**

Apresentação em formato de vídeo do trabalho intitulado: “Programação metabólica e seus efeitos sobre a dinâmica adiposa e paraoxonase-1 em ratos jovens” no XXX Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto - ENCONTRO DE SABERES, 2022 (Anexo 3).

Apresentação em formato de pôster do trabalho intitulado “Conscientização e Agregação de valor a partes de alimentos não consumidos habitualmente” no XXXI Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto - ENCONTRO DE SABERES, 2023.

#### **PROJETO DE EXTENSÃO**

Projeto de extensão intitulado “Conscientização e Agregação de valor a partes de alimentos não consumidos habitualmente” com período de vigência de 01/05/2021 a 30/11/2021 e 01/04/2023 a 31/12/23.

#### **EMPRESA JÚNIOR**

Participação na Empresa Júnior da Escola de Nutrição - NUTRIATIVA no período de 01/01/2022 a 31/07/2022.

#### **ESTÁGIO EXTRACURRICULAR**

Estágio extracurricular no consultório da nutricionista Ana Flávia Martins, iniciado em 01/05/2023 (ainda vigente).

**ANEXO B – Orçamento/Financiamento**

Esse trabalho conta com os seguintes auxílios financeiros: EDITAL 14/2021 PROGRAMA PIP/UFOP 1S - AUXÍLIO FINANCEIRO A PESQUISADOR CUSTEIO 2021, TO 132020041 e APQ-02200-21 DEMANDA UNIVERSAL FAPEMIG.

## ANEXO C – Certificado de Comissão de Ética no Uso de Animais



### Comissão de Ética no Uso de Animais

#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos do sobre peso neonatal induzido por aleitamento materno sobre a resistência à insulina em modelo experimental induzido por dieta rica em carboidratos simples (high sugar diet)", protocolada sob o CEUA nº 2245040518 (00000), sob a responsabilidade de **Karina Barbosa de Queiroz** e equipe; **Daniela Costa Caldeira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA/UFOP) na reunião de 13/07/2018.

We certify that the proposal "Effects of neonatal breast overfeeding on the insulin resistance in a high-sugar diet model.", utilizing 60 Heterogenics rats (60 males), protocol number CEUA 2245040518 (00000), under the responsibility of **Karina Barbosa de Queiroz** and team; **Daniela Costa Caldeira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Ouro Preto Federal University (CEUA/UFOP) in the meeting of 07/13/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **09/2018** a **12/2022** Área: **Ciências Biológicas**

Origem: **Centro de Ciência Animal**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **21 a 28 dias**

N: **60**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **45 a 55 g**

Local do experimento: Os experimentos de manipulação do tamanho das ninhadas serão realizados no CCA. Após os desmame, os animais serão levados para o Biotério de Nutrição experimental da Escola de Nutrição, onde será realizada a manutenção com dieta rica em carboidratos simples e, após as oito semanas de experimento, será realizada a eutanásia.

Ouro Preto, 23 de julho de 2018

Profa. Dra. Paula Melo de Abreu Vieira  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Ouro Preto

## ANEXO D – Certificado de participação em projetos de pesquisa e iniciação científica



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Ouro Preto  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Setor de Pesquisa e Iniciação Científica



### CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO EM PROJETOS DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Certificamos que **JULIA OLIVEIRA E SILVA DE CASTRO SOUZA**, Matrícula 19.1.7003, CPF 131.348.436-92, aluno(a) do curso de NUTRIÇÃO participa/participou do(s) projeto(s) abaixo relacionado(s) com a(s) respectiva(s) função(ões), vigência(s) e carga(s) horária(s):

Programa	Projeto	Função	Orientador	Vigência	C.H. Semanal	Situação
PIP-1S/UFOP	Programação metabólica e seus efeitos sobre a atividade da paraoxonase 1 (PNO1) e dinâmica adiposa em ratos jovens	BOLSISTA UFOP	KARINA BARBOSA DE QUEIROZ (DEALI)	01/03/2022-28/02/2023	15	PENDENTE*

#### Plano de Trabalho

01/03/2022	30/03/2022	Estabelecimento do modelo de ninhada reduzida e RI induzida por HSD (organização dos dados coletados previamente)
01/04/2022	30/04/2022	Revisão de literatura
01/05/2022	30/05/2022	Treinamento em Microscopia
01/06/2022	30/07/2022	Análise de lâminas histológica
01/08/2022	30/08/2022	Relatório parcial
01/09/2022	30/10/2022	Análises bioquímicas (colesterol HDL e PNO1)
01/11/2022	30/12/2022	Análise dos resultados
01/01/2023	30/01/2023	Apresentação dos resultados em congresso

Documento emitido às 13:03 de 14/03/2023.

A autenticação deste documento poderá ser confirmada na página da Universidade Federal de Ouro Preto na Internet, no endereço [www.ufop.br/autenticacao](http://www.ufop.br/autenticacao) por meio do código 1NEENGH4

**ANEXO E - Trabalho apresentado no XXX Seminário de Iniciação Científica da Universidade Federal de Ouro Preto – ENCONTRO DE SABERES, 2022.**



República Federativa do Brasil  
Ministério da Educação  
Universidade Federal de Ouro Preto  
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação  
Pró-Reitoria de Graduação  
Pró-Reitoria de Extensão e Cultura  
Pró-Reitoria de Assuntos Comunitários e Estudantis  
Diretoria de Relações Internacionais



**CERTIFICADO**

Certificamos que o trabalho **PROGRAMAÇÃO METABÓLICA E SEUS EFEITOS SOBRE A ATIVIDADE DA PARAOXONASE 1 (PONI) E DINÂMICA ADIPOSA EM RATOS JOVENS**, de autoria de **JULIA OLIVEIRA E SILVA DE CASTRO SOUZA, MILIANE MARTINS DE ANDRADE FAGUNDES, ÂNGELA ANTUNES SILVA, DANIELA CALDEIRA COSTA, CLÁUDIA MARTINS CARNEIRO, ISABELA JESUS DE DEUS e KARINA BARBOSA DE QUEIROZ**, foi apresentado no **XXX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA do ENCONTRO DE SABERES – UFOP**, realizado de **12 a 16 de Dezembro de 2022**.

Ouro Preto, 16 de Dezembro de 2022.

Autenticidade



Código: 167181545553a5e11fa6973

  
 Sandra Antunes Nogueira  
 Pró-Reitora de Extensão e Cultura

  
 Prof. Dr. Tânia Rossi Garbin  
 Pró-Reitora de Graduação

  
 Renata Guerra de Sá Costa  
 Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

  
 Anderson Gamarano  
 Diretor de Relações Internacionais

  
 Natália de Souza Líbida  
 Pró-Reitora de Assuntos Comunitários e Estudantis

Este certificado foi gerado eletronicamente e sua autenticidade poderá ser atestada informando o código em [www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados](http://www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados)