



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA  
DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E  
MORFOLÓGICOS MATERNAIS E PARÂMETROS  
CARDIOVASCULARES NA PROLE NA IDADE ADULTA**

**KEILAH VALÉRIA NAVES CAVALCANTE**

**Goiânia – GO**

**2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

### E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação     Tese     Outro\*: \_\_\_\_\_

\*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

#### 2. Nome completo do autor

Keilah Valéria Navas Cavalcante

#### 3. Título do trabalho

EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E MORFOLÓGICOS MATERNAIS E PARÂMETROS CARDIOVASCULARES NA PROLE NA IDADE ADULTA

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

**[1]** Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a)** consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
  - b)** novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
- O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**

Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Rodrigues Pedrino, Professor do Magistério Superior**, em 21/09/2022, às 15:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do



art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **KEILAH VALÉRIA NAVES CAVALCANTE, Discente**, em 22/09/2022, às 09:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3093506** e o código CRC **7A452089**.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA**  
**DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E**  
**MORFOLÓGICOS MATERNAIS E PARÂMETROS**  
**CARDIOVASCULARES NA PROLE NA IDADE ADULTA**

Trabalho apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, para a defesa de produto final do Mestrado em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Farmacologia e Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rodrigues Pedrino

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Mello Gomes

**Goiânia – GO**

**2022**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Cavalcante, Keilah Valéria Naves  
EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E MORFOLÓGICOS MATERNAIS E PARÂMETROS CARDIOVASCULARES NA PROLE NA IDADE ADULTA [manuscrito]  
/ Keilah Valéria Naves Cavalcante. - 2022.  
LXXV, 75 f.: il.

Orientador: Prof. Gustavo Rodrigues Pedrino; co-orientador Rodrigo Mello Gomes.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Goiânia, 2022.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Restrição proteica . 2. Desnutrição. 3. Disfunção vascular. 4. Hipertensão. 5. Remodelamento cardíaco . I. Pedrino, Gustavo Rodrigues, orient. II. Título.

CDU 57



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**

Ata nº 542 da sessão de Defesa de Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, que confere a **Keilah Valéria Naves Cavalcante** o título de Mestra em Ciências Biológicas, na área de concentração em Farmacologia e Fisiologia.

Aos vinte e seis dias do mês de julho de 2022, a partir das 09:00 horas, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E MORFOLÓGICOS MATERNAIS E PARÂMETROS CARDIOVASCULARES NA PROLE NA IDADE ADULTA”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientadora, Professor Doutor Gustavo Rodrigues Pedrino (ICB - UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora Patrícia Maria Ferreira (ICB - UFG), membro titular externo; Professora Doutora Renata Mazaro e Costa (ICB - UFG), membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Gustavo Rodrigues Pedrino (ICB - UFG), Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos vinte e seis dias do mês de julho de 2022.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Rodrigues Pedrino, Professor do Magistério Superior**, em 26/07/2022, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Mazaro Costa, Professora do Magistério Superior**, em 26/07/2022, às 11:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Maria Ferreira, Professor do Magistério Superior**, em 26/07/2022, às 11:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3064858** e o código CRC **839DB5E9**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado saúde, por ter me dado força e sabedoria para continuar trilhando o caminho certo. Agradeço principalmente pelas oportunidades que foram colocadas durante todo o meu mestrado, que foram essenciais para a minha evolução tanto pessoal quanto profissional.

Agradeço aos meus pais, Thays Christiane e Charles Cavalcante, e ao meu avô, Domingos Cavalcante e minha avó Dina, por darem todo o apoio necessário. Sem vocês nada disso seria possível, e obrigada por não medirem esforços para a concretização de mais um sonho. Agradeço a minha irmã, Anna Vitória, pela amizade e pelo companheirismo em todos os momentos. Vocês são meu porto seguro, amo vocês!

Agradeço ao meu namorado, Marcos Ferreira, por sempre ter sido o meu braço direito em todos os projetos que foram confiados a nossa responsabilidade, pelo companheirismo, pela amizade, por ter compartilhado um dos momentos mais incríveis e especiais, e por sempre me dar força em todos os momentos. Sem a sua ajuda e orientação, nada disso seria possível!

Agradeço ao Prof. Dr. Rodrigo Mello, pela amizade e pelo companheirismo durante toda minha caminhada na pesquisa.

Agradeço aos meus amigos, Raphaela Almeida Chiareli, Lucas Saavedra, Helen Tomaz, Carla Silveira, Alessandra Castro, Amanda Bessa, Amanda Matos e Jaqueline Moura que fizeram parte dessa minha caminhada e que compartilharam muitos perrengues, conhecimentos, alegria e a correria do dia a dia. Obrigada pela parceria!

Agradeço ao Laboratório de Neurobiologia de Sistemas, na pessoa do Prof. Dr. Carlos Xavier, e ao LIFCaN, nas pessoas do Prof. Dr. Carlos Castro e Prof.<sup>a</sup> Elizabeth Mendes. Obrigada pelas colaborações produtivas!

Agradeço a Médica Veterinária Ângela Neves, pela amizade, e também pela realização das ecocardiografias. Obrigada fiota!

Agradeço ao CPNFC, coordenado pelo Professor Gustavo Pedrino, onde pude desenvolver minha iniciação científica e mestrado.

Agradeço aos demais laboratórios e respectivos coordenadores que possibilitaram a execução de meu plano de trabalho.

Agradeço aos professores da banca examinadora do exame de qualificação pelas preciosas contribuições, e também aos professores que aceitaram o convite para avaliar este trabalho, as Professoras Doutoras Elizabeth Mendes, Renata Mazaro e Patrícia Ferreira. Viva as mulheres na ciência!

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Matafome, que me deu a oportunidade de estagiar em seu laboratório, e a toda a equipe do iCBR da Universidade de Coimbra que me recebeu com carinho.

Agradeço ao CNPQ, no qual forneceu a minha bolsa para a realização do meu mestrado, que foi de extrema importância para que eu conseguisse ser dedicação exclusiva.

## SUMÁRIO

|   |             |
|---|-------------|
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>  | <b>VIII</b> |
| <b>LISTA DE FIGURAS.....</b>  | <b>IX</b>   |
| <b>LISTA DE TABELAS .....</b>   | <b>XII</b>  |
| <b>RESUMO.....</b>  | <b>XIII</b> |
| <b>ABSTRACT.....</b>  | <b>XV</b>   |
| <b>IMPACTO E RELEVÂNCIA DA PESQUISA PARA A SOCIEDADE .....</b>                              | <b>XVII</b> |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>1</b>    |
| 1.1. ORIGENS DESENVOLVIMENTISTAS DA SAÚDE E DOENÇA (DOHAD)...                               | 2           |
| 1.2. A LACTAÇÃO COMO JANELA ONTOGENÉTICA PARA A PROGRAMAÇÃO METABÓLICA .....                | 3           |
| 1.3. RESTRIÇÃO PROTEICO-CALÓRICA E SEU EFEITO NO SISTEMA CARDIOVASCULAR A CURTO PRAZO ..... | 6           |
| 1.4. ALTERAÇÃO CARDIOVASCULAR E A REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL.....                        | 7           |
| 1.5. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE .....   | 8           |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>  | <b>9</b>    |
| 2.1. OBJETIVO GERAL .....   | 9           |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 9           |
| <b>3. METODOLOGIA.....</b>  | <b>11</b>   |
| 3.1. ANIMAIS .....  | 11          |
| 3.2. MODELO EXPERIMENTAL.....   | 11          |
| 3.3. EXPERIMENTOS <i>IN VIVO</i> .....  | 14          |
| <b>3.3.1. Ecocardiograma .....</b>  | <b>14</b>   |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 3.3.2. | Banho de órgãos: anéis de aorta .....  | 14 |
| 3.3.3. | Cateterização da veia e artéria femorais.....  | 15 |
| 3.3.4. | Registro da pressão arterial pulsátil (PAP) e frequência cardíaca (FC) em animais não anestesiados .....   | 16 |
| 3.3.5. | Teste de barorreflexo.....   | 16 |
| 3.4.   | EUTANÁSIA E COLETA DE AMOSTRAS.....  | 16 |
| 3.5.   | ANÁLISE HISTOLÓGICA .....  | 17 |
| 3.5.1. | Medida de diâmetro dos cardiomiócitos .....  | 17 |
| 3.5.2. | Medida de fibrose perivascular no coração .....  | 17 |
| 3.5.3. | Medida de fibrose intersticial no coração.....   | 18 |
| 3.5.4. | Medida da espessura da aorta.....  | 18 |
| 3.6.   | ANÁLISE ESTATÍSTICA.....   | 18 |
| 4.     | RESULTADOS .....   | 19 |
| 4.1.   | EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA DURANTE A FASE DE LACTAÇÃO NA PROGENITORA.....  | 19 |
| 4.1.1. | Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a ingestão alimentar, ingestão calórica e peso corporal das mães durante o período de lactação ..... | 19 |
| 4.1.2. | Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a composição do leite materno .....  | 21 |
| 4.1.3. | Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal, tamanho da tíbia e no peso dos órgãos das mães .....              | 22 |
| 4.1.4. | Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise bioquímica sérica das mães.....   | 24 |
| 4.1.5. | Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos e na espessura da aorta das mães .....                | 25 |
| 4.2.   | EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA NA PROLE DE MÃES SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO .....   | 26 |
| 4.2.1. | Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal da prole .....   | 26 |
| 4.2.2. | Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, nos parâmetros cardíacos morfológicos e funcionais da prole, avaliados pelo          |    |

|  |    |
|--|----|
| ecocardiograma.....  | 27 |
| 4.2.3. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na pressão arterial, frequência cardíaca da prole e na sensibilidade dos barorreceptores..... | 30 |
| 4.2.4. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal e dos órgãos, e no crescimento da prole.....                                | 33 |
| 4.2.5. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise histológica cardíaca.....  | 37 |
| 4.2.6. Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na reatividade vascular.....  | 38 |
| 4.2.7. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise histológica da aorta.....  | 43 |
| 5. DISCUSSÃO.....  | 44 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....   | 52 |
| REFERÊNCIAS.....   | 53 |

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

|                |  |
|----------------|--|
| <b>CO</b>      | Controle   |
| <b>DC</b>      | Débito Cardíaco                                      |
| <b>DIVEd</b>   | Diâmetros interno do Ventrículo Esquerdo em Diástole |
| <b>DIVEs</b>   | Diâmetros interno do Ventrículo Esquerdo em Sístole  |
| <b>DOHaD</b>   | Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença        |
| <b>EPM</b>     | Erro Padrão da Média                                 |
| <b>FC</b>      | Frequência Cardíaca                                  |
| <b>FE</b>      | Fração de Ejeção                                     |
| <b>IB</b>      | Índice do Barorreflexo                               |
| <b>IFP</b>     | Índice de Fibrose Perivascular                       |
| <b>MFR</b>     | <i>Moderate Food Restriction</i>                     |
| <b>NTS</b>     | Núcleo do Trato Solitário                            |
| <b>OMS</b>     | Organização Mundial da Saúde                         |
| <b>PA</b>      | Pressão Arterial                                     |
| <b>PAD</b>     | Pressão Arterial Diastólica                          |
| <b>PAP</b>     | Pressão Arterial Pulsátil                            |
| <b>PAS</b>     | Pressão Arterial Sistólica                           |
| <b>PBS</b>     | Salina Tamponada com Fosfato                         |
| <b>PLVEd</b>   | Parede Livre do Ventrículo Esquerdo em Diástole      |
| <b>PLVEs</b>   | Parede Livre do Ventrículo Esquerdo em Sístole       |
| <b>RVLM</b>    | Neurônios na Região Rostroventrolateral do Bulbo     |
| <b>SFR</b>     | <i>Severe Food Restriction</i>                       |
| <b>SIVd</b>    | Septo Interventricular em Diástole                   |
| <b>SIVs</b>    | Septo Interventricular em Sístole                    |
| <b>TA OVAR</b> | Tecido Adiposo Ovariano                              |
| <b>TAB</b>     | Tecido Adiposo Branco                                |
| <b>TAM</b>     | Tecido Adiposo Marrom                                |
| <b>VDF</b>     | Volume Diastólico Final                              |
| <b>VS</b>      | Volume Sistólico                                     |
| <b>VSF</b>     | Volume Sistólico Final                               |

**LISTA DE FIGURAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Distribuição de glândulas mamárias em pequenos roedores.....   | 4  |
| <b>Figura 2.</b> Delineamento experimental, durante o período de lactação .....   | 13 |
| <b>Figura 3.</b> Delineamento experimental da prole na fase adulta .....  | 14 |
| <b>Figura 4.</b> Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a ingestão alimentar, ingestão calórica e peso corporal das mães durante o período de lactação.....              | 20 |
| <b>Figura 5.</b> Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre as ingestões calóricas e de macronutrientes durante 24h no 14º dia da intervenção .....                          | 21 |
| <b>Figura 6.</b> Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a composição do leite materno .....  | 21 |
| <b>Figura 7.</b> Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal, tamanho da tíbia e no peso dos órgãos das mães .....                          | 22 |
| <b>Figura 8.</b> Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, nos depósitos de gorduras das mães .....   | 23 |
| <b>Figura 9.</b> Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise bioquímica sérica das mães.....   | 24 |
| <b>Figura 10.</b> Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos das mães .....   | 25 |
| <b>Figura 11.</b> Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na espessura da aorta das mães .....  | 25 |
| <b>Figura 12.</b> Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal da prole.....   | 27 |
| <b>Figura 13.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros morfológicos nos machos, avaliado pelo ecocardiograma.....                                 | 28 |
| <b>Figura 14.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros funcionais nos machos, avaliados pelo ecocardiograma .....                                 | 29 |
| <b>Figura 15.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros morfológicos das fêmeas, avaliados pelo ecocardiograma.....                                | 29 |
| <b>Figura 16.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros funcionais das fêmeas, avaliados pelo ecocardiograma.....                                  | 30 |
| <b>Figura 17.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na pressão arterial, frequência cardíaca e na sensibilidade dos barorreceptores dos machos..... | 31 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 18.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, na pressão arterial, frequência cardíaca e sensibilidade dos barorreceptores das fêmeas                                 | 32 |
| <b>Figura 19.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, na massa corporal e no dos órgãos, e no crescimento dos machos  | 34 |
| <b>Figura 20.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, na massa corporal e dos órgãos, e no crescimento das fêmeas   | 35 |
| <b>Figura 21.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos depósitos de gorduras dos machos  | 36 |
| <b>Figura 22.</b> Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos depósitos de gorduras das fêmeas  | 36 |
| <b>Figura 23.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na deposição de colágeno no coração dos machos  | 37 |
| <b>Figura 24.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos dos machos   | 37 |
| <b>Figura 25.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na deposição de colágeno no coração das fêmeas  | 38 |
| <b>Figura 26.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos das fêmeas   | 38 |
| <b>Figura 27.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento endotélio-dependente, com acetilcolina, com tecido adiposo perivascular (PVAT)                 | 39 |
| <b>Figura 28.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento endotélio-dependente, com acetilcolina, com tecido adiposo perivascular (PVAT)                 | 39 |
| <b>Figura 29.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento independente do endotélio, com nitroprussiato de sódio, com tecido adiposo perivascular (PVAT) | 40 |
| <b>Figura 30.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento independente do endotélio, com nitroprussiato de sódio, sem tecido adiposo perivascular (PVAT) | 40 |
| <b>Figura 31.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição com endotélio e o tecido adiposo perivascular (PVAT) intactos                               | 41 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 32.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição com endotélio intacto e sem o tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise da resposta contrátil de ambos os sexos ..... | 42 |
| <b>Figura 33.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição sem o endotélio intacto e com tecido adiposo perivascular (PVAT) .  | 42 |
| <b>Figura 34.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição sem o endotélio intacto e sem o tecido adiposo perivascular (PVAT) .....  | 43 |
| <b>Figura 35.</b> Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na espessura da aorta de ambos os sexos.....  | 43 |
| <b>Figura 36.</b> Resumo dos resultados encontrados nas progenitoras. ....  | 47 |
| <b>Figura 37.</b> Resumo dos resultados encontrados na prole de progenitoras CO, MFR e SFR .....  | 51 |

**LISTA DE TABELAS**

|   |    |
|---|----|
| <b><i>Tabela 1.</i></b> <i>Informações nutricionais das dietas empregadas no estudo</i> ..... | 12 |
| <b><i>Tabela 2.</i></b> <i>Composição da Solução Krebs-Henseleit</i> .....                    | 15 |

## RESUMO

Doenças desenvolvidas na fase adulta podem estar associadas a condições em que o indivíduo foi exposto nos estágios iniciais da vida. De longa data, é postulado que alterações no desenvolvimento fetal podem desencadear diversos efeitos na qualidade de vida do recém-nascido. Entretanto, a grande responsividade a estímulos ambientais/nutricionais em fases pós-natais como a lactação e a puberdade tem sido relatada na literatura como importante fator na adaptação fenotípica em longo prazo. A lactação é um período importante do desenvolvimento, principalmente devido ao *leptin surge* onde a circuitaria neuroendócrina se consolida, dessa forma o leite materno é a principal fonte de nutrientes para os filhotes nessa fase de crescimento. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos causados nas mães devido a intervenção alimentar, e os efeitos sobre parâmetros cardiovasculares na prole, de ambos os sexos, de mães submetidas a desnutrição durante a lactação. Ratas Wistar prenhes foram alocadas em um dos três grupos experimentais: Controle (CO) para as quais foi ofertada dieta padrão *ad libitum*; Restrição alimentar moderada (MFR, *Moderate Food Restriction*) para as quais foi ofertada dieta em regime de restrição de 50% do consumo diário das progenitoras CO; e Restrição alimentar severa (SFR, *Severe Food Restriction*) para as quais foi ofertada dieta com baixo teor de proteínas (4,5 g de proteínas / 100 g ração) *ad libitum*. Para manter a equidade entre as ninhadas, após o parto todas as ninhadas foram ajustadas para 9 filhotes (equilibrando as quantidades de machos e fêmeas). As intervenções alimentares foram realizadas do 1º ao 14º dia de lactação, e do 14º ao 21º dia de lactação todas as progenitoras receberam dieta padrão *ad libitum*. A prole de todos os grupos foi alimentada com dieta padrão para roedores em regime *ad libitum* durante todo o período experimental. Para todos os animais foi ofertada água filtrada *ad libitum*. Durante a intervenção alimentar foram acompanhados a massa corporal e ingestão alimentar das progenitoras, e após o desmame foi coletado amostras para dosagens bioquímicas sérica (Proteínas totais, Albumina, Colesterol total, Triglicerídeos, HDL, TGO, Fosfatase Alcalina e Glicose) e do leite materno (Proteínas totais e Triglicerídeos), e análises histológicas (diâmetro dos cardiomiócitos e espessura da aorta). A prole foi acompanhada até os 120 dias de idade, quando foram realizados o ecocardiograma, o registro de pressão arterial invasivo, teste do barorreflexo, reatividade vascular. avaliação morfométrica e coleta de amostras. Os protocolos foram aprovados pelo comitê de ética da UFG (número

do processo 023/2015). As mães MFR apresentaram redução da ingestão calórica e de macronutrientes devido ao protocolo de restrição alimentar de 50%, e apresentaram diminuição do peso do tecido adiposo ovariano. As mães SFR apresentaram redução da ingestão alimentar, e como consequência houve redução ingestão calórica e de macronutrientes, e apresentaram diminuição da massa cardíaca e aumento do tecido adiposo marrom. Os machos do grupo MFR apresentaram alterações cardiovasculares, como aumento da pressão arterial (PA), prejuízo na sensibilidade dos barorreceptores, remodelamento cardíaco e alterações na reatividade vascular. Em contraponto, machos do grupo SFR não apresentaram alterações na PA e no tecido cardíaco, entretanto houve prejuízo na sensibilidade dos barorreceptores. Fêmeas de ambos os grupos de restrição alimentar não apresentaram nenhuma alteração cardiovascular, o que indica um efeito cardioprotetor quando comparadas aos seus pares de sexos opostos, possivelmente essa cardioproteção seja conferida pelo estrogênio. Com base nos resultados encontrados, concluímos que a restrição alimentar moderada durante a lactação promove alterações cardiovasculares funcionais e morfológicas, em machos na idade adulta.

**Palavras-chaves:** Restrição proteica. Desnutrição. Disfunção vascular. Hipertensão. Remodelamento cardíaco.

## ABSTRACT

Diseases developed in adulthood may be associated with conditions to which the individual was exposed in the early stages of life. It has long been postulated that changes in fetal development can trigger different effects on the newborn's quality of life. However, the great responsiveness to environmental/nutritional stimuli in postnatal phases such as lactation and puberty has been reported in the literature as an important factor in long-term phenotypic adaptation. Lactation is an important period of development, mainly due to leptin rises where the neuroendocrine circuitry is consolidated, so breast milk is the main source of nutrients for puppies in this growth phase. The objective of this study was to evaluate the effects caused on mothers due to food intervention, and the effects on cardiovascular parameters in the offspring, of both sexes, of mothers submitted to malnutrition during lactation. Pregnant Wistar rats were allocated to one of three experimental groups: Control (CO) to which a standard diet was offered *ad libitum*; Moderate Food Restriction (MFR, Moderate Food Restriction) for which a diet restricted to 50% of the daily consumption of the CO mothers was offered; and Severe Food Restriction (SFR) for which a low-protein diet (4.5 g protein / 100 g ration) was offered *ad libitum*. To maintain equity between litters, after calving all litters were adjusted to 9 pups (balancing the numbers of males and females). Feeding interventions were performed from the 1st to the 14th day of lactation, and from the 14th to the 21st day of lactation all dams received a standard diet *ad libitum*. The offspring of all groups were fed a standard rodent diet *ad libitum* throughout the experimental period. All animals were offered filtered water *ad libitum*. During the food intervention, the body mass and food intake of the mothers were monitored, and after weaning, samples were collected for serum biochemical measurements (Total Proteins, Albumin, Total Cholesterol, Triglycerides, HDL, TGO, Alkaline Phosphatase and Glucose) and breast milk. (Total proteins and Triglycerides), and histological analyzes (diameter of cardiomyocytes and thickness of the aorta). The offspring were followed up until 120 days of age, when the echocardiogram, invasive blood pressure recording, baroreflex test and vascular reactivity were performed. morphometric evaluation and sample collection. The protocols were approved by the UFG ethics committee (case number 023/2015). MFR mothers had reduced caloric and macronutrient intake due to the 50% food restriction protocol and had reduced ovarian adipose tissue weight. The SFR mothers showed a reduction in food intake,

and consequently, there was a reduction in caloric and macronutrient intake, and a decrease in heart mass and an increase in brown adipose tissue. Males in the MFR group showed cardiovascular changes, such as increased blood pressure (BP), impaired baroreceptor sensitivity, cardiac remodeling, and changes in vascular reactivity. In contrast, males in the SFR group did not show changes in BP and cardiac tissue, however there was a loss in the sensitivity of the baroreceptors. Females from both food restriction groups did not show any cardiovascular changes, which indicates a cardioprotective effect when compared to their opposite sex pairs, possibly this cardioprotection is conferred by estrogen. Based on the results found, we conclude that moderate food restriction during lactation promotes functional and morphological cardiovascular changes in males in adulthood.

**Keywords:** Protein restriction. Malnutrition. Vascular dysfunction. Hypertension. Cardiac remodeling.

## **IMPACTO E RELEVÂNCIA DA PESQUISA PARA A SOCIEDADE**

O presente estudo almejou avaliar os parâmetros cardiovasculares da prole de mães que passaram por restrição alimentar de 50% e desnutrição severa, durante os primeiros 14 dias da lactação. Muitos estudos sobre a programação metabólica mantem o foco de insultos realizados durante a gestação, por ser fase crítica do desenvolvimento geral do feto. Entretanto, neste estudo foi mostrado que a intervenção alimentar, como restrição alimentar de 50%, durante a lactação pode gerar alterações cardiovasculares a longo prazo na prole de ambos os sexos, como o desenvolvimento de hipertensão arterial, prejuízo no barorreflexo, remodelamento cardíaco e disfunção vascular apenas nos machos. Sendo assim, este estudo abre caminho para mostrar a relevância da nutrição materna adequada e que alteração na composição na dieta pode trazer consequências futuras na saúde de seus filhos. Além de abordar uma questão social onde tanto em países pobres e quanto em subdesenvolvidos, com o agravante da pandemia, gerou redução ao acesso adequada a alimentação trazendo consequências como o surgimento de doenças, e esse conjunto de alterações alimentares servem como insultos principalmente em fases de desenvolvimento que também colabora no surgimento de doenças na fase adulta.

## 1. INTRODUÇÃO

A homeostase energética é o ponto de equilíbrio entre a energia obtida através da ingestão de alimentos e o gasto de energia que o organismo necessita para o funcionamento adequado de todos os processos biológicos. Quando ocorre alteração na homeostase energética surgem doenças como obesidade, ocorrendo aumento da ingestão alimentar sem o gasto energético necessário, e como a desnutrição, ocorrendo ingestão calórica menor do que o necessário.

Importantes teorias abordam o campo dos extremos em diversas áreas de conhecimento, entre elas a política e até mesmo a física. A primeira diz respeito aos extremos políticos da direita e da esquerda, onde ambos possuem características em comum como o autoritarismo e o totalitarismo; a teoria da ferradura, atribuída ao escritor francês Jean-Pierre Faye (FILIPOVIĆ; ĐORIĆ, 2010). A segunda pode ser representada por uma curva em U invertido, característica da percepção auditiva nos humanos, onde o eixo das abcissas representa a frequência do som e o eixo das ordenadas a percepção do som por um indivíduo; a percepção aumenta de forma diretamente proporcional a frequência até determinado ponto, a partir do qual a percepção decresce a medida em que a frequência continua a aumentar, até o ponto em que nada se ouve (VERHEY; PAR, 2020). Tanto no primeiro exemplo quanto no segundo, os extremos acabam por setocar, seja pela perseguição a inimigos políticos ou pela ausência de percepção sonora. Da mesma forma, no campo da nutrição dois extremos são amplamente estudados a fim de perceber seus efeitos no organismo, o excesso de nutrientes e a desnutrição. Os extremos desta vez se tocam no que diz respeito a saúde, ou melhor dizendo, a diminuição dela.

A má nutrição, é por natureza fator de risco para disfunções metabólicas importantes, favorecendo a debilidade como diminuição de massa muscular, alterações hormonais e estruturais que podem favorecer para o desenvolvimento de novas patologias. Fatores socioeconômicos representam o principal componente para o surgimento do cenário de má nutrição em muitos países, esse problema foi agravado pela crise econômica causada pela pandemia da COVID-19 (JIANG; CHEN; WANG, 2021; RIBEIRO-SILVA et al., 2020). Com as alterações alimentares de forma contínua interferindo em fases importantes do desenvolvimento, pode ocasionar desnutrição

proteico-calórico e de micronutrientes, trazendo o risco de desenvolvimento de doenças em diversas fases de vida.

As fases iniciais de vida, como gestação, lactação, pós-desmame e puberdade, são janelas fisiológicas importantes que podem influenciar no estado saudável da prole, ou seja, doenças desenvolvidas na fase adulta podem estar associadas as condições que o indivíduo foi exposto nos estágios iniciais da vida (BIANCO-MIOTTO et al., 2017).

### 1.1. ORIGENS DESENVOLVIMENTISTAS DA SAÚDE E DOENÇA (DOHAD)

O conceito DOHAD se tornou um conceito científico atualmente muito utilizado por diversos pesquisadores, com objetivo de mostrar que fatores ambientais/nutricionais durante fases importantes do desenvolvimento, podem contribuir para o surgimento de doenças crônicas ao longo da vida (SILVEIRA et al., 2007).

Na década de 1930, pesquisadores estudaram a taxa de mortalidade da época e observaram íntima relação entre as condições ambientais durante a vida intrauterina e a infância, que pareciam estar determinando a sobrevivência de cada geração (KERMACK; MCKENDRICK; MCKINLAY, 1934; SILVEIRA et al., 2007).

Na década de 1970, pesquisadores avaliaram os filhos de mulheres que foram expostas a restrição alimentar durante a gestação, devido à escassez de alimentos na época conhecido como fome holandesa, que ocorreu durante a Segunda Guerra Mundial. E foi observado que de acordo com o insulto sofrido durante a vida intrauterina, pode acarretar padrões diferenciados na sua composição corporal, devido a diferenciação hipotalâmica que gera influência no apetite, crescimento e obesidade subsequente (RAVELLI, 1976; SILVEIRA et al., 2007; WIDDOWSON; MCCANCE, 1960).

Estudos clínicos e experimentais vêm observando a importância de um ambiente intrauterino adequado para o desenvolvimento correto do feto. Foi observado que ratos expostos a restrição alimentar durante o último período da gestação, apresentaram prejuízo no crescimento e ganho de peso corporal, quando comparado aos animais controle, esses efeitos são causados devido a mudanças significativas que comprometem o adequado desenvolvimento da circuitaria neuroendócrina do hipotálamo mostrando que a desnutrição nessa janela de desenvolvimento gera mudanças fenotípicas na prole (RAVELLI, 1976; SILVEIRA et al., 2007).

Através desses estudos pioneiros comprovaram a importância e influência da gestação e da dieta materna, na prole até a sua fase adulta. Alterações na composição do leite materno podem interferir no crescimento, no desenvolvimento do sistema imune e no desenvolvimento neuropsicomotor, mostrando que esses insultos ou estímulos em um período sensível a essas mudanças podem gerar efeitos a longo prazo sobre estrutura ou função de diversos sistemas dos organismos, a fim de gerar uma resposta de sobrevivência. Dessa forma, caracterizaram o termo programação metabólica (SILVEIRA et al., 2007).

É sabido que a gestação é o período do desenvolvimento do feto, e o ambiente materno adequado é extremamente importante para o crescimento e maturação dos sistemas internos do feto. A lactação é uma fase importante por ser um período de fornecimento de nutrientes e que possui influência no crescimento dos filhotes. Já o período pós-natal corresponde ao todo período após o nascimento incluindo a fase da puberdade da prole, mostrando o envolvimento da maturação sexual na vida adulta (BIANCO-MIOTTO et al., 2017). Embora a participação do período da gestação seja bem definida na literatura, pouco se sabe acerca da participação do período pós-natal no desenvolvimento de doenças na fase adulta.

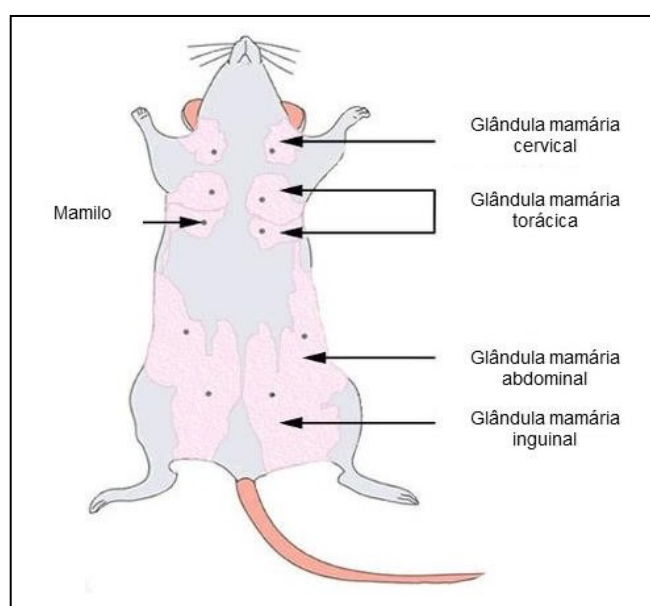
## 1.2. A LACTAÇÃO COMO JANELA ONTOGENÉTICA PARA A PROGRAMAÇÃO METABÓLICA

Após o nascimento, durante o período da lactação, o recém-nascido é nutrido pelo leite materno e é através do leite que há o fornecimento de todos os nutrientes essenciais para o seu crescimento. Dentre os nutrientes presentes no leite há proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas, minerais, enzimas e hormônios (KULSKI; HARTMANN, 1980; LEE; KELLEHER, 2016). É importante ressaltar que a composição do leite pode sofrer alterações em sua composição, de acordo com o estágio da lactação, para atender as necessidades do filhote. É importante perceber que os organismos são programados durante o desenvolvimento inicial em um grau variável onde fatores fisiológicos, como citado acima, ou fatores ambientais e externos irão preparar o cenário para um organismo saudável, e para o desenvolvimento de alguma doença, ao longo da vida (LEE; KELLEHER, 2016).

Estágios que possuem papel importante no desenvolvimento, maturação e diferenciação em diversos tecidos, ocorre no período da lactação. É importante ressaltar

que esses processos de desenvolvimento, como exemplo a maturação de órgãos e diferenciação celular, variam de acordo com as espécies. No entanto, pesquisas realizadas com animais, especificamente em roedores, nos ajudam a compreender os mecanismos e os efeitos de alterações ambientais/nutricionais na lactente, que afetam o organismo da prole, o que na maioria das vezes não é passível de avaliação em seres humanos.

Além das diferenças no tempo de desenvolvimento e maturação dos órgãos, outro aspecto diferente entre humanos e modelos murinos são as glândulas mamárias. Enquanto os humanos possuem 1 par de mamilos e glândulas mamárias, as fêmeas de roedores possuem de 6 a 8 pares (Figura 1). Devido as mudanças na maturação e na produção do leite, a lactação acaba sendo dividida em períodos. Em roedores, a lactação possui 3 períodos: estágio inicial que são os 6 primeiros dias após o nascimento, estágio intermediário a partir do 7º dia ao 14º dia em que ocorre a produção máxima de leite, e o estágio final do 15º dia ao 21º dia, onde ocorre uma redução na produção do leite.



**Figura 1.** Distribuição de glândulas mamárias em pequenos roedores. Fonte: Adaptado de (HONVO-HOUÉTO; TRUCHET, 2015).

O período que compreende o evento conhecido como *leptin surge* abrange o estágio inicial e intermediário da lactação, estimulando a liberação da leptina que possui um papel importante na regulação energética controlando a ingestão alimentar e gasto energético em respostas a mudanças nos estoques de energia. Curiosamente o pico da liberação da leptina coincide com o desenvolvimento do tecido adiposo no período da lactação, mostrando a relação entre esses eventos (AHIMA; PRABAKARAN; FLIER,

2011; WU et al., 2020). Estudo avaliou que o pico de leptina pós-natal é essencial para a formação de adipócitos bege induzida pelo desenvolvimento em camundongos, possivelmente através do aumento da inervação do nervo simpático devido ao efeito neurotrópico da leptina que contribui para o desenvolvimento neuronal e ativação do sistema nervoso simpático (WU et al., 2020). Além disso, em camundongos com deficiência a leptina apresentam alterações no desenvolvimento, como alterações na maturação sexual bem como anormalidades estruturais neuronais (BARASH et al., 1996; BEREITER; JEANRENAUD, 1979). Além de influenciar na homeostase energética, a leptina também atua no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), atuando principalmente na regulação dos níveis de corticosterona (AHLMA et al., 1996; BORNSTEIN et al., 1997).

Mudanças na ingestão de calorias, restrições de macronutrientes e até mesmo de micronutrientes, podem influenciar desde o desenvolvimento do feto até a composição do leite no qual a prole será exposta (WATTEZ et al., 2015). Como exemplo, a restrição alimentar materna de 50% durante a gestação e lactação, gera diminuição na concentração de lactose, galactose, glicose e de leptina no leite, além de aumentar os níveis de corticosterona e o teor de gorduras, sem alterar a composição proteica do leite (KLIEWER; RASMUSSEN, 1987; RODRIGUEZ-GONZALEZ et al., 2020). Os glicocorticoides e a prolactina são importantes para a manutenção da lactação, e quando ocorre alteração nos seus níveis circulantes, provavelmente é um mecanismo pelo qual a desnutrição exerce seus efeitos sobre a secreção de leite (KLIEWER; RASMUSSEN, 1987). Em progenitoras que passaram por restrição alimentar de 50% durante a gestação, aumentou o nível circulante de corticosterona no plasma e no leite (KLIEWER; RASMUSSEN, 1987).

Além da restrição alimentar, a restrição de macronutrientes como proteínas também altera a composição do leite de diferentes maneiras (GRIGOR et al., 1987), o que irá influenciar será a quantidade da restrição proteica e em que momento será realizado essa restrição, seja na gestação, lactação ou em ambas janelas fisiológicas. A restrição de proteínas (8%) durante a gravidez e lactação reduz as concentrações de aminoácidos livres envolvidos na secreção de insulina e gliconeogênese e aumenta o teor de ácidos graxos do leite, sem modificar o teor de proteína (AGNOUX et al., 2015).

Do que até aqui fora exposto, a lactação é um período crítico para o desenvolvimento da prole, e diversos estudos mostram a importância da programação

pela lactação adequada e ajudam a identificar alvos de intervenção na prole para prevenir resultados adversos na fase adulta, como alterações metabólicas e comportamentais.

### 1.3. RESTRIÇÃO PROTEICO-CALÓRICA E SEU EFEITO NO SISTEMA CARDIOVASCULAR A CURTO PRAZO

O envolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares tem sido tornado um problema de saúde pública. Alguns estudos mostraram que tanto a desnutrição na fase intrauterina quanto na infância, torna um fator de risco para o desenvolvimento da hipertensão arterial (DA SILVA LIMA et al., 2011; SAWAYA et al., 2005; SESSO et al., 2004). Entretanto ainda não foram investigados os parâmetros pressóricos da prole de ambos os sexos de mães que passaram por desnutrição durante a lactação.

A desnutrição promove aumento da pressão arterial, envolvendo diversos fatores, entretanto alguns pesquisadores têm investigado a relação com a função endotelial. Através dessas investigações, tem sido mostrado associação entre aumento da pressão arterial e disfunção endotelial e/ou aumento da atividade simpática (DE BELCHIOR et al., 2012). Estudo com restrição proteica pós-desmame, mostrou que houve aumento do ânion superóxido e óxido nítrico em anéis de aorta de animais que foram submetidos a esse tipo de intervenção alimentar após 3 meses de idade (DE BELCHIOR et al., 2012). Além desses mecanismos, é observado aumento dos níveis de catecolaminas circulantes em animais desnutridos (CICOGNA et al., 1999; DE BELCHIOR et al., 2012; NUTTER et al., 1979).

A desnutrição proteico-calórica pode ocasionar alterações funcionais no coração, promovendo redução do débito cardíaco, da complacência ventricular e trazendo prejuízos na contratilidade cardíaca (CICOGNA et al., 1999). Além disso, foi reportado que esse tipo de desnutrição pode gerar alterações relacionadas à síntese proteica e alterações morfológicas, tais como dilatação das câmaras cardíacas, degeneração dos miócitos e aumento da quantidade de colágeno no tecido (CICOGNA et al., 1999).

A hipertrofia cardíaca é um mecanismo de compensação que ocorre quando há aumento da carga de trabalho do coração, tendo como principal objetivo manter o desempenho cardíaco diante da demanda metabólica sistêmica. Estudos associaram a restrição proteico-calórica à musculatura cardíaca, mostrando que a função cardíaca pode sofrer influência da escassez de nutrientes gerando aumento ou diminuição da

função cardíaca (ALDEN et al., 1987; BING; FANBURG, 1985; CICOGNA et al., 1999; KLEBANOV; HERLIHY; FREEMAN, 1997). Pouco ainda se sabe sobre a restrição proteico-calórico e calórica durante a lactação, nas alterações funcionais e morfológicas cardíacas da prole de progenitoras que sofreram essa intervenção alimentar.

#### 1.4. ALTERAÇÃO CARDIOVASCULAR E A REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

Segundo a OMS, a hipertensão arterial é uma doença caracterizada por uma elevação crônica da pressão arterial sistólica (PAS) e/ou pressão arterial diastólica (PAD). A pressão arterial (PA) é exercida no interior das artérias e pode ser calculada pelo produto da resistência vascular periférica total pelo débito cardíaco, sendo assim os fatores que alteram essas variáveis promovem alteração na PA, tais como alterações na volemia, na contratilidade do miocárdio e da frequência cardíaca (DE LOLIO, 1990).

A regulação da pressão arterial ocorre por vários mecanismos, seja por controle da resistência vascular periférica, e/ou pelo controle do débito cardíaco. Um dos mecanismos de regulação da pressão arterial de grande relevância é o barorreflexo. Os barorreceptores, localizados na bifurcação das artérias carótidas e no arco aórtico, são terminações nervosas sensíveis as alterações indiretas da PA, pois detectam o estiramento da parede destes vasos. Ativação dos barorreceptores, como o aumento da pressão arterial, enviam impulsos nervosos para o Núcleo do Trato solitário (NTS) (ACCORSI-MENDONÇA; MACHADO, 2013), que desencadeiam respostas para o medula ventrolateral caudal (CVLM) promovendo a inibição dos neurônios na região rostroventrolateral do bulbo (RVLM; pré-motores simpáticos) diminuindo o estímulo eferente simpático para o coração e os vasos de resistência (SVED; GORDON, 1994).

Além das alterações na volemia, a principal resposta adaptativa a hipertensão arterial é a hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE) e o seu diagnóstico se dá pelo ecocardiograma (ALDEN et al., 1987). A resposta hipertrófica cardíaca se dá por outros fatores como envolvimento do sistema renina-angiotensina e sistema nervoso simpático. Além da hipertrofia, ocorre o aumento de deposição de colágeno no tecido cardíaco que gera alteração no seu funcionamento. Esse conjunto de alterações morfológicas é denominado remodelamento cardíaco (NWABUO; VASAN, 2020).

O interstício cardíaco é formado por fibroblastos, células do músculo liso vascular, macrófagos, mastócitos, células dendríticas e linfócitos, além de uma rede proteica da

matriz extracelular (colágeno, glicosaminoglicanos, glicoproteínas, proteoglicanos, fatores de crescimento e proteases) e moléculas responsáveis por diversas sinalizações (DOBACZEWSKI; GONZALEZ-QUESADA; FRANGOIANNIS, 2010; NWABUO; VASAN, 2020). Portanto é importante que a arquitetura do interstício e dos cardiomiócitos estejam intactas, para a manutenção do funcionamento cardíaco de forma adequada e íntegra. No entanto, a fibrose cardíaca é resultado de processo reparador devido ao aumento da pressão exercida no miocárdio, que gera lesão tecidual (HUMERES; FRANGOIANNIS, 2019; NWABUO; VASAN, 2020).

## 1.5. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Como exposto, alterações alimentares podem influenciar nos parâmetros pressóricos, seja pelo excesso de nutrientes ou por desnutrição. Na literatura já são bem descritos os efeitos que a restrição alimentar promove na prole, durante a fase intrauterina, variando desde alterações metabólicas a alterações pressóricas (CHRISTIANS; SHERGILL; ALBERT, 2021). A lactação é um período chave para a maturação de órgãos e sistemas, e insultos nas fases iniciais de vida induzem a prole a se adaptar de modo a sobreviver. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos cardiovasculares na prole adulta de progenitoras que passaram por restrição calórico/proteica. Nesse estudo hipotetizamos que ambos os tipos de desnutrição são capazes de alterar tanto parâmetros pressóricos quanto parâmetros morfológicos da prole na fase adulta.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos causados nas mães devido a intervenção alimentar, e os efeitos sobre parâmetros cardiovasculares na prole, de ambos os sexos, de mães submetidas a desnutrição durante a lactação.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Módulo 1 – Avaliar os efeitos metabólicos e morfológicos causados nas mães pela desnutrição alimentar durante a lactação, nos seguintes parâmetros:

- Acompanhar a ingestão alimentar, ingestão calórica e o consumo de macronutrientes (lipídeos, carboidratos e proteínas totais) das mães durante a intervenção alimentar.
- Avaliar a evolução da massa corporal das mães durante a intervenção alimentar.
- Avaliar a composição do leite materno no dia 14, último dia de intervenção alimentar.
- Avaliar o peso dos órgãos, depósito de gordura e a medição da tíbia das mães após o desmame.
- Avaliar os parâmetros bioquímicos do soro das mães após o desmame.
- Avaliar o diâmetro dos cardiomiócitos e espessura da aorta torácica nas mães no pós-desmame.

Módulo 2 – Avaliar os efeitos da desnutrição alimentar materna durante a lactação na prole, de ambos os sexos, aos 120 dias de idade, nos seguintes parâmetros:

- Acompanhar a evolução da massa corporal da prole, durante a lactação e até a fase adulta.
- Avaliar a função e morfologia cardíaca através de ecocardiografia na prole aos 120 dias de vida, de ambos os sexos.
- Avaliar os parâmetros cardiovasculares, através do registro da pressão arterial pulsátil, frequência cardíaca e teste do barorreflexo na prole aos 120 dias de vida, de ambos os sexos.

- Avaliar o comprimento naso-anal, peso dos órgãos e medição da tíbia na prole.
- Analisar o diâmetro dos cardiomiócitos, espessura da aorta, fibrose intersticial e fibrose perivascular na prole aos 120 dias de vida, de ambos os sexos.
- Parâmetros de reatividade vascular *ex vivo*, através do banho de órgãos com anéis de aorta torácica.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. ANIMAIS

Todos os protocolos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Goiás (CEUA/UFG), sob protocolo 023/15, e realizados de acordo com as normativas preconizadas pelo CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. Os animais foram alocados no biotério setorial, no Instituto de Ciências Biológicas 2, localizado na Universidade Federal de Goiás, durante todo o período experimental.

#### 3.2. MODELO EXPERIMENTAL

Ratos Wistar machos (250-300g) e fêmeas (200-250g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Goiás, foram alojados em gaiolas de polipropileno, sob temperatura controlada ( $23 \pm 2$  °C) e ciclo claro / escuro (12/12 horas) durante 7 dias para o período de ambientação. Após esse período os animais foram distribuídos na proporção de 2 fêmeas e 1 macho por caixa para o acasalamento.

Constatada a prenhez, as ratas foram alocadas em um dos três grupos experimentais: Controle (CO; n=5) para as quais foi ofertada dieta padrão *ad libitum*; Restrição alimentar moderada (MFR, *Moderate Food Restriction*; n=4) para as quais foi ofertada dieta padrão em regime de restrição de 50% do consumo diário das progenitoras CO; e Restrição alimentar severa (SFR, *Severe Food Restriction*; n=6) para as quais foi ofertada dieta com baixo teor de proteínas (LP, low protein, 4,5 g de proteínas / 100g ração) *ad libitum*. As mães MFR foram alocadas no biotério interno do laboratório, durante os 14 dias de restrição alimentar a fim de evitar o cheiro da ração das outras caixas alocadas no biotério setorial.

Para restrição alimentar moderada foi utilizado *dispenser* de ração, desenvolvido pelo doutorando Marcos Ferreira, onde foi programado para disponibilizar 1/3 da ração às 6 horas da manhã e 2/3 da ração às 18 horas da tarde, a proporção foi estabelecida por serem animais de hábito noturno. A restrição alimentar de 50% foi realizada duas vezes ao dia a fim de minimizar o estresse nas progenitoras e evitar que ocorra canibalismo, por parte das mães. A composição da dieta LP pode ser observada na Tabela 1, onde é comparada com a dieta padrão para roedores AIN-93M. Para manter a equidade entre as ninhadas, após o parto todas as ninhadas foram ajustadas para 9

filhotes (equilibrando as quantidades de machos e fêmeas). Em cada ninhada foi utilizado enriquecimento ambiental para minimizar o estresse nas progenitoras.

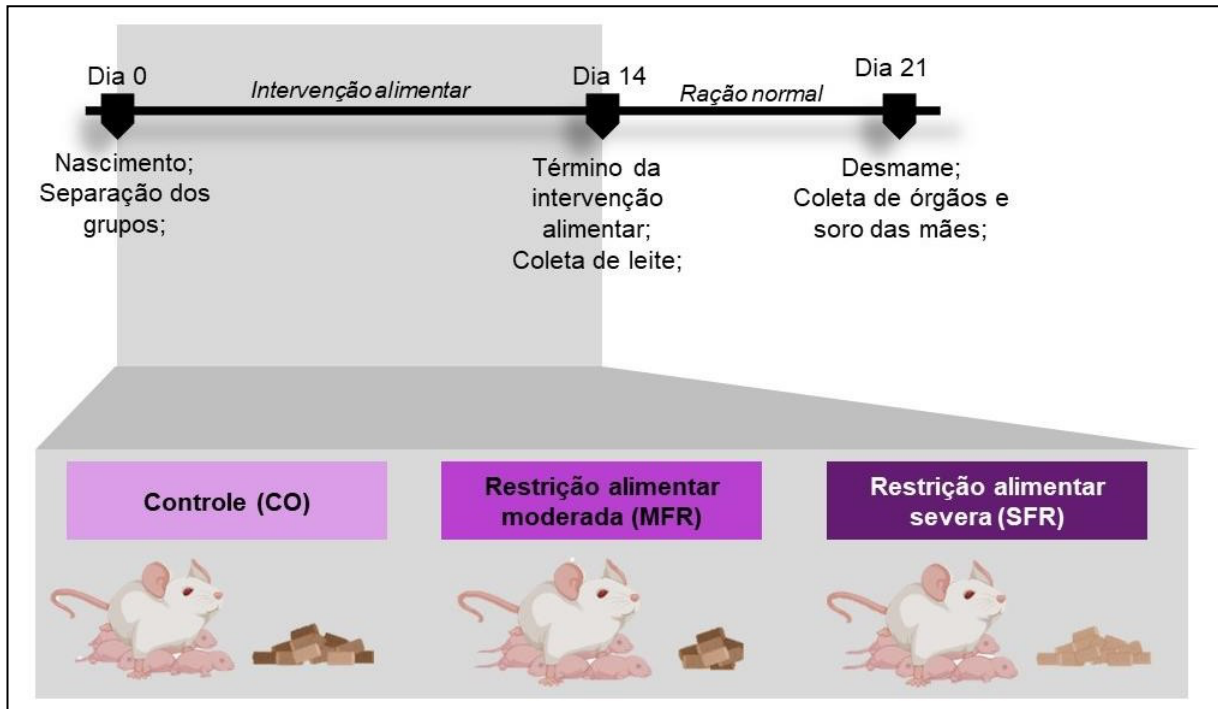
As intervenções alimentares foram realizadas do 1º ao 14º dia de lactação, e do 14º ao 21º dia de lactação todas as progenitoras receberam dieta padrão (Nuvilab, Colombo, Paraná, Brasil) *ad libitum*. A prole de todos os grupos foi alimentada com dieta padrão para roedores em regime *ad libitum* durante todo o período experimental. Para todos os animais foi ofertada água filtrada *ad libitum*.

No dia 21, os filhotes foram separados das mães para o desmame, e devido ao prejuízo de ganho de massa corporal dos filhotes SFR, eles foram mantidos no biotério interno do laboratório com mantas térmicas dispostas embaixo das caixas dos filhotes. Para a separação, machos e fêmeas, foi acompanhado a evolução do ganho de peso dos animais e a partir de 40 dias de idade foi contabilizado o seu peso corporal. Após o desmame, as mães foram submetidas ao jejum de 12 horas, das 18hrs às 6hr da manhã, para coleta de amostras de sangue e foram coletados o coração e aorta para análise morfológica das mães.

**Tabela 1.** Informações nutricionais das dietas empregadas no estudo.

| COMPONENTES DA RAÇÃO       | NP (AIN-93G) | LP   |
|----------------------------|--------------|------|
| <b>Proteínas totais</b>    | 23,3         | 4,5  |
| <b>Carboidratos totais</b> | 65,5         | 84,3 |
| <b>Lipídios totais</b>     | 6,4          | 6,4  |
| <b>Mix de vitaminas</b>    | 1,6          | 1,6  |
| <b>Mix de minerais</b>     | 3,2          | 3,2  |
| <b>kcal</b>                | 3,8          | 3,8  |
| <b>Total (g)</b>           | 100          | 100  |

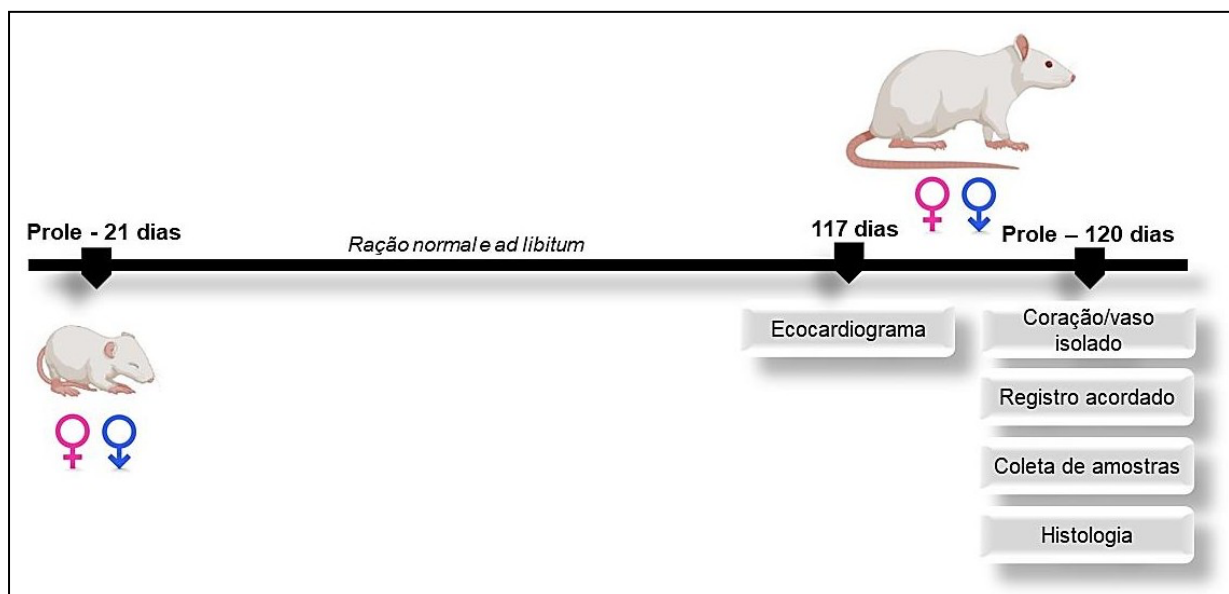
Fonte: (FERREIRA et al., 2022; REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993)



**Figura 2.** Delineamento experimental, durante o período de lactação. Fonte: A autora.

### 3.3. EXPERIMENTOS *IN VIVO*

A prole de ambos os grupos teve sua massa monitorada semanalmente durante o período experimental. A figura 3 resume os procedimentos realizados na prole.



**Figura 3.** Delineamento experimental da prole na fase adulta. Fonte: A autora.

#### 3.3.1. Ecocardiograma

Os animais foram anestesiados com Cetamina + Xilazina (80 mg (K) + 5 mg (X) /Kg de massa corporal; Syntec, São Paulo, Brasil), e foram submetidos a ecocardiograma usando um sistema ultrassonográfico equipado com um transdutor de 12 MHz (GE Healthcare, Chicago, IL, USA). Foram analisados os diâmetros internos do ventrículo esquerdo em sístole (DIVEs) e em diástole (DIVEd), a espessura do septo interventricular em sístole (SIVs) e em diástole (SIVd), a espessura da parede livre do ventrículo esquerdo em sístole (PLVEs) e em diástole (PLVEd). Foram calculados o volume diastólico final (VDF), volume sistólico final (VSF), volume sistólico (VS), débito cardíaco (DC) e frações de ejeção e de encurtamento (FEj; FEn).

#### 3.3.2. Banho de órgãos: anéis de aorta

Para a avaliação da reatividade vascular aórtica, anéis de aorta torácica descendente, foram montados em cubas contendo Solução de Krebs-Henseleit (SKH) (Tabela 2) gaseificada (95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>), com temperatura a 37°C, fixados às hastes

metálicas acopladas aos transdutores de força. Os animais foram eutanasiados por decapitação 10 minutos após serem heparinizados (200 U.I./mL de heparina). A cavidade torácica foi exposta e a aorta torácica descendente foi retirada e dividida em quatro anéis de 4 mm cada: um anel com endotélio (E+) e com tecido adiposo perivascular (PVAT), um anel com endotélio e sem o PVAT, um anel sem endotélio (E-) e com PVAT e um anel sem endotélio e sem PVAT. Os anéis foram estabilizados por um período de 1 hora a uma tensão de 1,5 g. A presença de endotélio funcional foi avaliada pela porcentagem de relaxamento induzido pela acetilcolina (10  $\mu$ m) nos vasos pré- contraídos com fenilefrina (0,1  $\mu$ m). Para avaliação do relaxamento dependente de endotélio foram realizadas curvas dose-resposta cumulativas de ACh ( $10^{-9}$  a  $10^{-5}$  mol/L) em vasos com endotélio e para o relaxamento independente de endotélio, utilizou-se curva cumulativa de nitroprussiato de sódio (NPS  $10^{-11}$  a  $10^{-6}$  mol/L).

**Tabela 2.** Composição da Solução Krebs-Henseleit

| Compostos   | Concentração (mmol/L) |
|---|-----------------------|
| NaCl  | 118,6                 |
| KCl   | 4,6                   |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                         | 0,9                   |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O                    | 2,4                   |
| CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O                    | 3,3                   |
| C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> (glicose) | 11,1                  |
| NaHCO <sub>3</sub>                                      | 24,9                  |

### 3.3.3. Cateterização da veia e artéria femorais

Os animais foram anestesiados com Cetamina + Xilazina (100 mg (K) + 10 mg (X) /Kg de massa corporal; Syntec, São Paulo, Brasil) e submetidos ao procedimento cirúrgico para a implantação de cateteres de polietileno preenchidos com salina heparinizada (50 U/ml, Hepamax, Blau Farmacêutica, Cotia, SP, Brasil) na artéria e veia femoral direita, para o registro da pressão arterial pulsátil (PAP) e infusões de drogas, respectivamente. Os cateteres foram exteriorizados pelo dorso do animal e foram suturados. Como medidas analgésicas pós-cirúrgicas, foi administrado dose única de

Flunixinina (s.c.; 2,5 mg/Kg de massa corporal; Chemiteq, São Paulo, Brasil). Por fim, os animais foram acomodados em caixas individuais.

### **3.3.4. Registro da pressão arterial pulsátil (PAP) e frequência cardíaca (FC) em animais não anestesiados**

Após a recuperação dos animais foi realizado o registro dos parâmetros cardiovasculares nos animais acordados. O sinal da PAP foi obtido pela conexão do cateter arterial a um transdutor de pressão (MLT0699, ADInstruments, Bella Vista, Austrália) acoplado a um amplificador (Bridge Amp, FE221, ADInstruments, Bella Vista, Austrália). Os dados foram digitalizados em uma taxa amostral de 2 KHz utilizando um conversor analógico/digital (PowerLab 4/25, ML845, ADInstruments, Bella Vista, Austrália). Os valores de pressão arterial média (PAM), e a FC foram obtidas a partir das variações e dos sinais pulsáteis da PA, sendo os cálculos realizados por software (LabChart 7 v7.3.7; ADInstruments, Bella Vista, Austrália).

### **3.3.5. Teste de barorreflexo**

Após o registro da PA basal, de aproximadamente 30 minutos para a ambientação do animal e estabilização do registro, foi iniciado a infusão em bolus (0,1 ml) de fenilefrina (agonista adrenérgico; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA), nas concentrações de 10, 15 e 20  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , e de nitroprussiato de sódio (doador de NO; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) nas concentrações de 100, 150 e 200  $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ . Para avaliar a sensibilidade barorreflexa, foi calculado o índice de barorreflexo (IB), dado como a razão entre a variação da frequência cardíaca e a variação da pressão arterial média ( $\Delta\text{FC} \cdot \Delta\text{PAM}^{-1}$ ) mediante a infusão dos fármacos acima citados.

## **3.4. EUTANÁSIA E COLETA DE AMOSTRAS**

Os animais passaram por jejum de 12 horas antes da coleta de tecidos e sangue. Ao término do jejum, os animais foram anestesiados com Tiopental Sódico (i.v., 40 mg/kg de massa corporal. Thiopentax, Cristália, São Paulo, Brasil) para a coleta de sangue por punção venosa da veia cava inferior com agulha e seringa estéreis. Após a coleta os animais eutanasiados por exsanguinação. As amostras de sangue obtidas foram depositadas em tubos a vácuo sem heparina e centrifugadas para a coleta do soro (Microcentrífuga, 2000 rpm, 15 min). Em seguida foram armazenadas a -20 °C.

Após a coleta do sangue foram coletados e dissecados o coração e a aorta abdominal. A tíbia direita foi retirada e medida com paquímetro de precisão. Os tecidos foram fixados em formaldeído 10% durante 24 horas, em seguida foram realizados banhos de PBS, álcool 20%, álcool 50% e por fim as amostras foram armazenadas no álcool 70%. O tempo dos banhos foram no intervalo de 1 hora cada.

### 3.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Amostras de coração foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool (80%, 90% e 100%; Synth, Diadema, São Paulo, Brasil), diafanizadas em xilol 100% (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil) e por fim, foram incluídos em parafina (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil). Posteriormente, o material foi seccionado em 7  $\mu\text{m}$  de espessura utilizando um micrótomo (RM2245, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha). Estes cortes não-seriados do coração foram dispostos em lâminas de vidro, corados com *Picrossirus Red*, para a marcação do colágeno e outras lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina, para análise dos cardiomiócitos.

#### 3.5.1. Medida de diâmetro dos cardiomiócitos

Utilizando um microscópio ótico (DM500 + ICC50 HD, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) acoplado a uma câmera digital, fotomicrografias contendo cortes transversais de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo foram obtidas. Posteriormente, utilizando o software ICY (Institut Pasteur, Paris, França. <http://icy.bioimageanalysis.org/>) foi analisado a distância entre as extremidades da membrana na altura do núcleo de cada cardiomiócito. A média e erro padrão de média foram calculados do diâmetro dos cardiomiócitos, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{m}$  e comparados entre os grupos.

#### 3.5.2. Medida de fibrose perivascular no coração

As fotomicrografias contendo a marcação do colágeno ao redor das arteríolas, em cortes transversais, foram analisadas com o *software* ICY (Institut Pasteur, Paris, França. <http://icy.bioimageanalysis.org/>). O índice de fibrose perivascular (IFP) foi calculado pela área da fibrose dividida pela área do lúmen do vaso, e expressos em u.a. A média e o erro padrão de média para cada animal foram calculados, e o resultados foram expressos em  $\mu\text{m}^2$ , e comparados entre os grupos.

### 3.5.3. Medida de fibrose intersticial no coração

As fotomicrografias contendo a marcação do colágeno no interstício, para análise do percentual de fibrose. Foi realizada análise estereológica, com malha de 594 pontos, através do *software Image-Pro Plus* (versão 6.0, Media Cybernetics, São Paulo). A média e erro padrão de média foram calculados e os resultados foram comparados entre os grupos.

### 3.5.4. Medida da espessura da aorta

As fotomicrografias contendo cortes transversais das aortas foram obtidas. Posteriormente, utilizando o software ICY (Institut Pasteur, Paris, França. <http://icy.bioimageanalysis.org/>) foi analisado a distância entre as extremidades da camada muscular de cada aorta. A média e erro padrão de média foram calculados do diâmetro dos cardiomiócitos, e os resultados foram expressos em  $\mu\text{m}$  e comparados entre os grupos.

## 3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados estão expressos em Média  $\pm$  Erro Padrão de Média (EPM). Para análise das diferenças entre os grupos em relação ao tempo foi utilizado análise de variância de duas vias (*two-way ANOVA*) seguida pelo pós-teste de Tukey, para análise do consumo alimentar, para o acompanhamento da massa corporal e para a reatividade vascular; análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) seguido pelo pós-teste de Tukey, para dados bioquímicos, composição do leite materno, massa dos órgãos e dos depósitos de gorduras, ecocardiograma, parâmetros cardiovasculares e análises histológicas.

Para a análise estatística e produção gráfica dos resultados foi utilizado o software *Prism* (v9; GraphPad, San Diego, CA, EUA).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA DURANTE A FASE DE LACTAÇÃO NA PROGENITORA

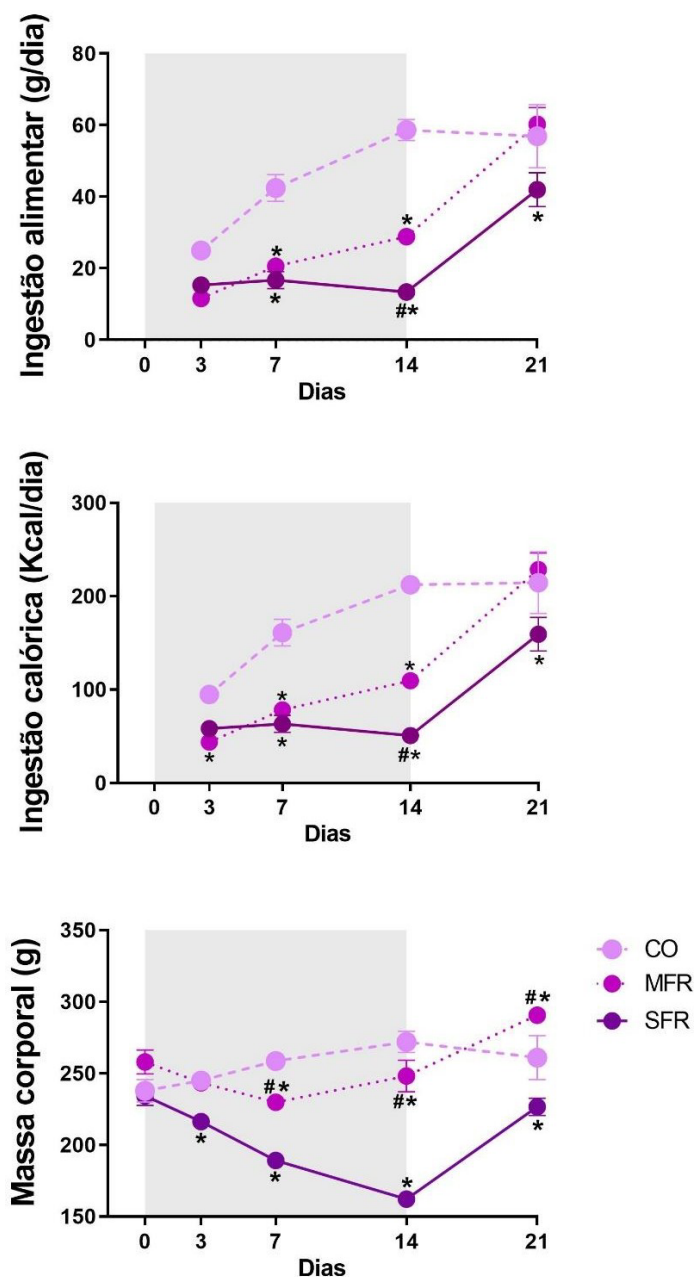
#### 4.1.1. Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a ingestão alimentar, ingestão calórica e peso corporal das mães durante o período de lactação

Como fixado, as mães alocadas no grupo de restrição alimentar moderada (MFR) consumiram 50% a menos da dieta padrão consumida por seus pares do grupo controle (Figura 4A) nos 14 primeiros dias de lactação, e apresentaram também redução da ingestão calórica (Figura 4B). Entretanto, quando encerrado o período de intervenção alimentar, as mães MFR apresentaram restabelecimento da ingestão alimentar e da ingestão calórica, equiparando à ingestão das mães CO (Figura 4<sup>a</sup> e 4B). Interessantemente, apesar da dieta LP ser isocalórica em relação a dieta controle, foi observado que as mães do grupo SFR tiveram menor ingestão alimentar e ingestão calórica quando comparadas às mães CO (Figura 4A e 4B), surpreendentemente no décimo quarto dia pós-natal (PN14), as mães SFR ingeriram menores quantidades inclusive quando comparadas às mães MFR (Figura 4A e 4B), além disso, mesmo depois de 7 dias de recuperação (PN21), a ingestão alimentar e ingestão calórica das mães SFR permaneceu significativamente menor que os demais grupos (Figura 4A e 4B).

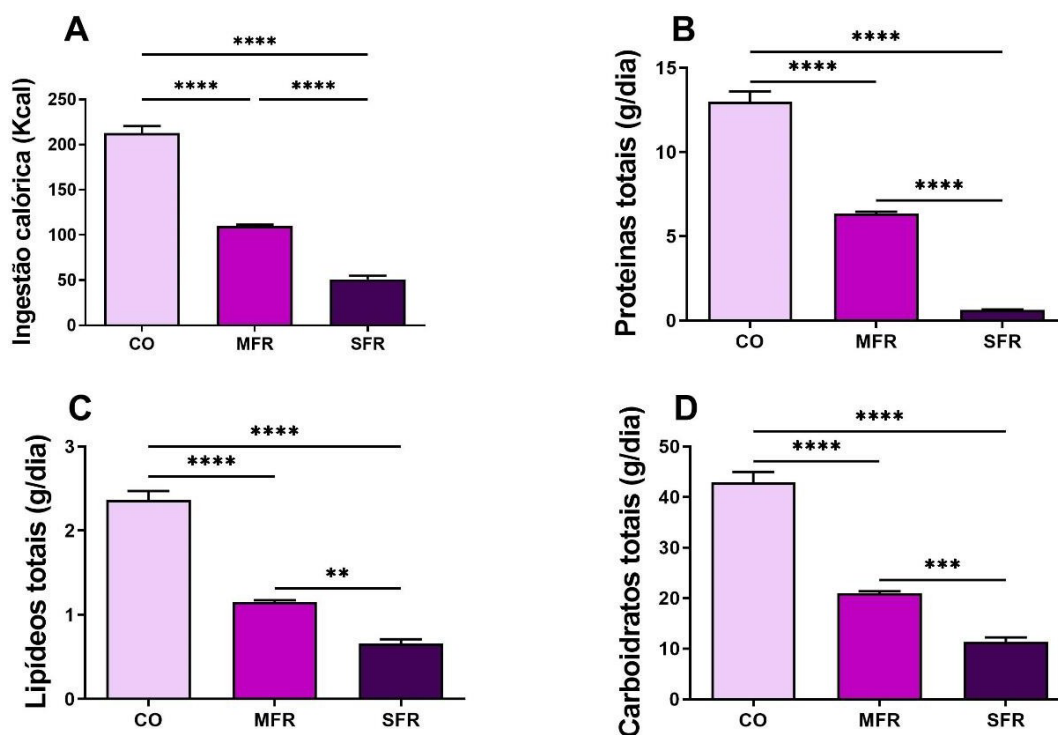
Em relação ao efeito das dietas sobre a massa corporal, a restrição promovida pela dieta LP afetou significativamente a manutenção desse parâmetro nas mães SFR, que apresentaram progressiva perda de massa corporal ao longo dos 14 dias em que foram alimentadas com a LP (Figura 4C). Também foi observado que mesmo após 7 dias ingerindo dieta padrão, as mães SFR apresentaram massa corporal menor que as demais mães (Figura 4C).

A figura 5 apresenta o comparativo das ingestões calóricas e de macronutrientes entre os grupos experimentais. Esses dados representam a ingestão diária no 14<sup>o</sup> dia de intervenção nutricional, uma vez observado o mesmo padrão na ingestão calórica e de nutrientes no terceiro dia e no sétimo dia. Como esperado as mães do grupo MFR ingeriram exatamente a metade da ingestão calórica e de macronutrientes comparadas as mães CO. Na figura 5, também pode ser observado o impacto da diminuição na ingestão alimentar das mães SFR, que afetou sua ingestão calórica, sendo menor do

que das mães CO e das mães MFR (Figura 5A). Efeito semelhante foi observado com significativa diminuição na ingestão de macronutrientes, onde observamos a diminuição da ingestão de proteínas totais (Figura 5B), lipídeos totais (Figura 5C) e carboidratos totais (Figura 5D) quando comparado com as mães CO e MFR.



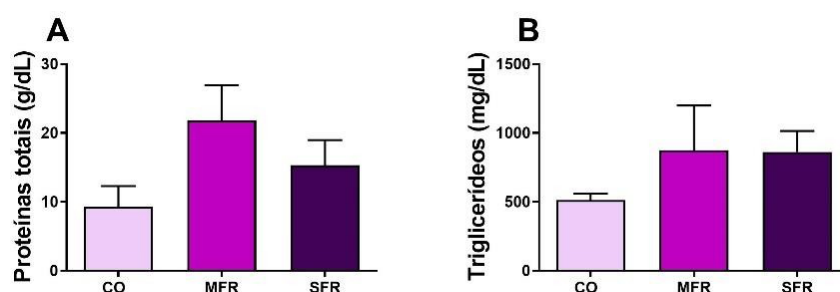
**Figura 4.** Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a ingestão alimentar, ingestão calórica e peso corporal das mães durante o período de lactação. Ingestão alimentar (A), ingestão calórica (B) e massa corporal (C). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de duas vias foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO. # $p < 0,05$  SFR vs MFR



**Figura 5.** Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre as ingestões calóricas e de macronutrientes durante 24h no 14º dia da intervenção. Ingestão calórica (A), proteínas totais (B), lipídeos totais (C) e carboidratos totais (D). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

#### 4.1.2. Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a composição do leite materno

No PN14, foram coletadas amostras de leite para análises da composição nutricional e não houve diferença significativa nas dosagens de proteínas totais (Figura 6A) e triglicerídeos (Figura 6B).

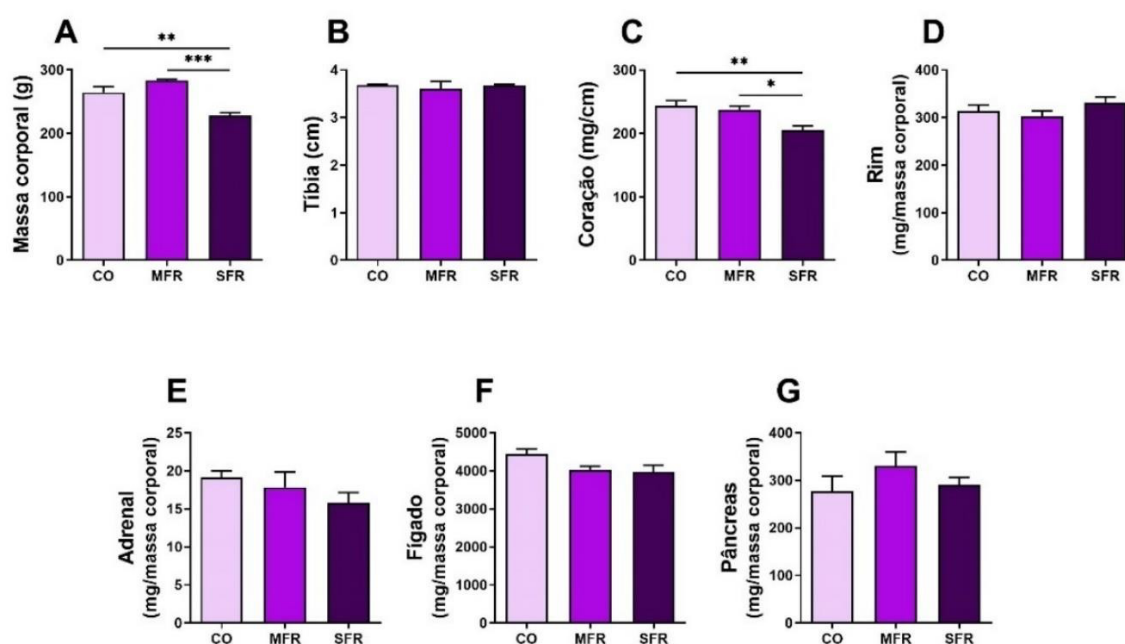


**Figura 6.** Efeito da restrição alimentar severa e moderada sobre a composição do leite materno. Dosagem de Proteínas totais (A) e triglicerídeos (B). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

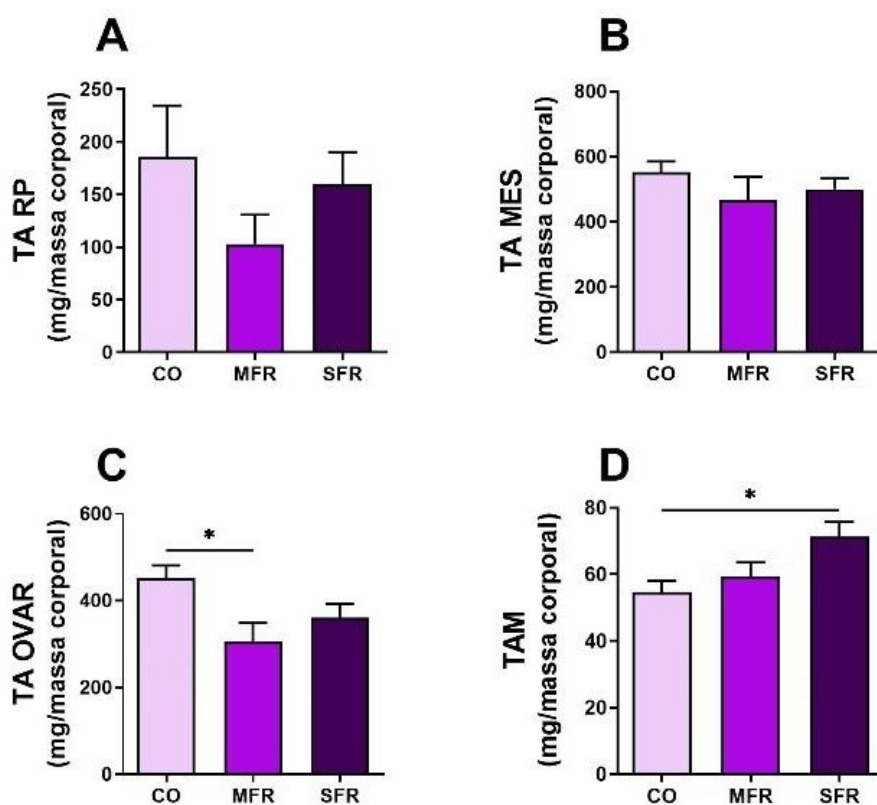
### 4.1.3. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal, tamanho da tíbia e no peso dos órgãos das mães

No PN21, após ao desmame, as mães foram submetidas a um período de jejum de 12 horas para realização de coleta de amostras e pesagem de órgãos. Observamos que as mães SFR, continuaram mais leves quando comparadas as mães do grupo CO (Figura 7A) mesmo após a oferta de dieta padrão. Como consequência, observamos diminuição da massa do coração das mães SFR quando comparado as mães CO (Figura 7C). Não houve diferença estatística na massa dos rins, adrenais, fígado e pâncreas, e do tamanho da tíbia.

Apesar de não haver alteração no peso das gorduras viscerais (retroperitoneal e mesentérico; Figura 8A e 8B), observamos diminuição do tecido adiposo ovariano (TA OVAR) nas mães MFR (Figura 8C) quando comparado as mães CO, e aumento do tecido adiposo marrom (TAM; Figura 8D) nas mães SFR quando comparado as mães CO.



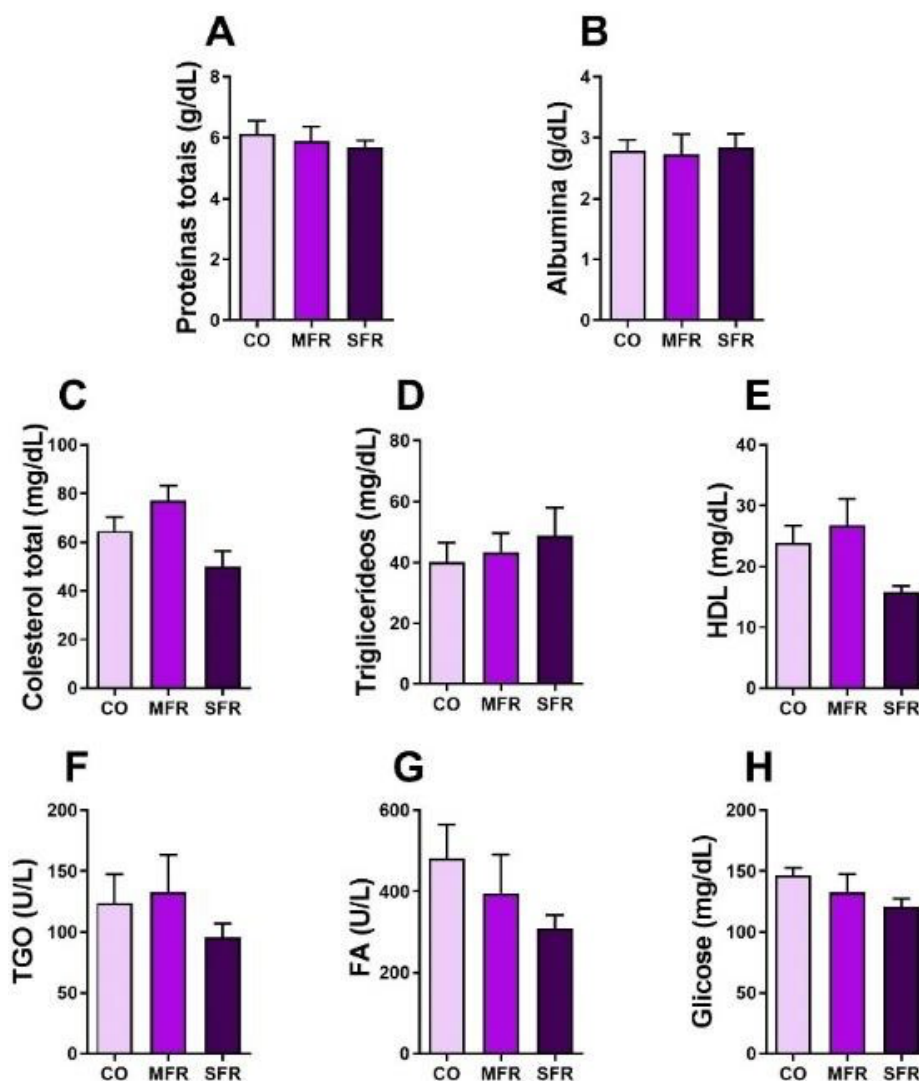
**Figura 7.** Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal, tamanho da tíbia e no peso dos órgãos das mães. Massa corporal (A), tíbia (B), peso do coração (C), do rim (D), da adrenal (E), do fígado (F) e do pâncreas (G). Dados expressos em Média ± EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 e \*\*\*\*p<0,0001 vs CO.



**Figura 8.** Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, nos depósitos de gorduras das mães. Peso do tecido adiposo retroperitoneal (TA RP; A), tecido adiposo mesentérico (TA MES; B), tecido adiposo ovariano (TA OVAR; C) e tecido adiposo marrom (TAM; D), em razão da massa corporal. Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

#### 4.1.4. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise bioquímica sérica das mães

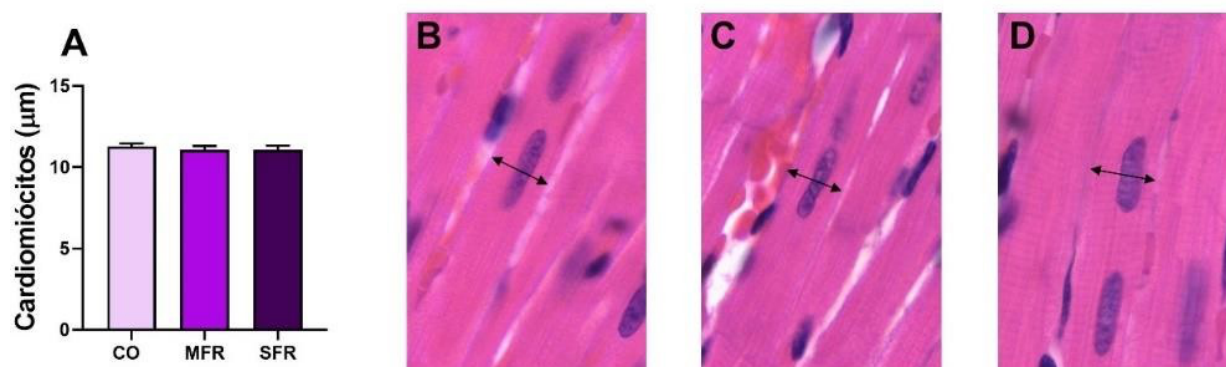
Na análise bioquímica sanguínea das progenitoras, não observamos nenhuma alteração dos analitos dosados (Figura 9).



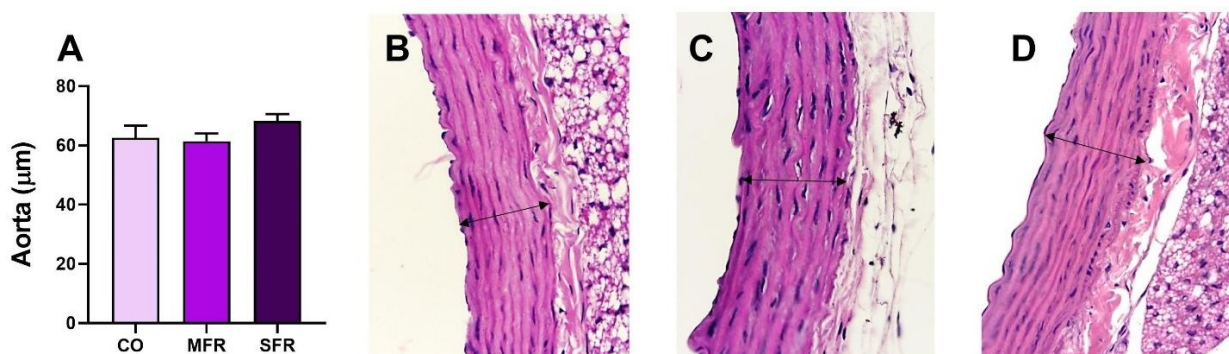
**Figura 9.** Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise bioquímica sérica das mães. Proteínas totais (A), Albumina (B), Colesterol total (C), Triglicerídeos (D), HDL (E), TGO (F), Fosfatase Alcalina (G) e Glicose (H). Dados expressos em Média ± EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

#### 4.1.5. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos e na espessura da aorta das mães

Apesar das alterações da massa corporal e na massa do coração nos grupos restritos, não foram encontradas diferenças no diâmetro de cardiomiócitos (Figura 10) nem na espessura das camadas íntima-média das aortas torácicas (Figura 11).



**Figura 10.** Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos das mães. Diâmetro dos cardiomiócitos (A), representativa do grupo CO (B), grupo SFR (C) e grupo MFR (D). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).



**Figura 11.** Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na espessura da aorta das mães. Espessura da aorta (A), representativa do grupo CO (B), grupo SFR (C) e grupo MFR (D). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

## 4.2. EFEITOS DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR SEVERA E MODERADA NA PROLE DE MÃES SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO

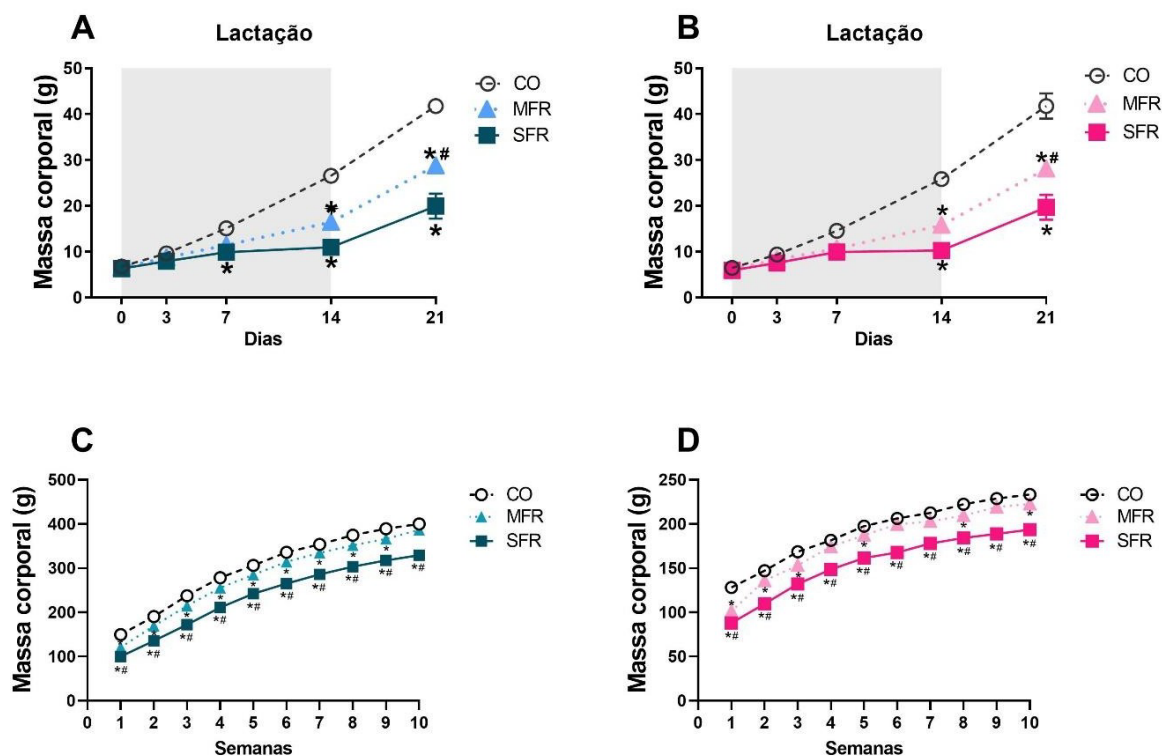
### 4.2.1. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal da prole

Durante o período de restrição alimentar, foi acompanhada a massa corporal das proles de ambos os sexos até o PN21. Observou-se que a prole das mães SFR tiveram menores ganhos de massa corporal a partir do PN7, e no PN14 houve prejuízo no ganho de massa corporal também na prole de mães MFR (Figura 12A).

Após o período de restrição, ainda no período de lactação, observamos que apesar do ligeiro aumento na massa corporal, os animais dos grupos SFR e MFR continuaram mais leves quando comparados ao grupo CO. Os perfis de evolução da massa corporal foram semelhantes em ambos os sexos, para ambos os tratamentos (Figura 12A e Figura 12B).

Após o desmame os animais não foram imediatamente dispostos em caixas separadas, para iniciar o acompanhamento da massa corporal, por estarem extremamente mais leves e menores que o grupo CO. Portanto foi padronizado, conforme o ganho de peso dos animais, o início do acompanhamento do ganho de massa a partir do PN40. Observou-se que os machos MFR apresentaram-se mais leves durante o período da puberdade e início da fase adulta, entretanto em torno de 110 dias de idade (semana 10) os animais conseguiram atingir a massa corporal do grupo CO (Figura 12C). Já os machos SFR apresentaram-se mais leves durante todo o período até a fase adulta, quando comparados aos grupos CO e MFR (Figura 12C).

As fêmeas MFR apresentaram-se mais leves até os 60 dias de idade (semana 3), e após essa semana ocorreram variações no seu ganho de peso, quando comparado ao grupo CO (Figura 12D). Aos 110 dias de idade (semana 10) elas apresentaram-se mais leves quando comparadas ao grupo CO. Já as fêmeas SFR apresentaram-se mais leves durante todo o período experimental, quando comparadas aos grupos CO e MFR (Figura 12D), semelhante aos machos SFR.



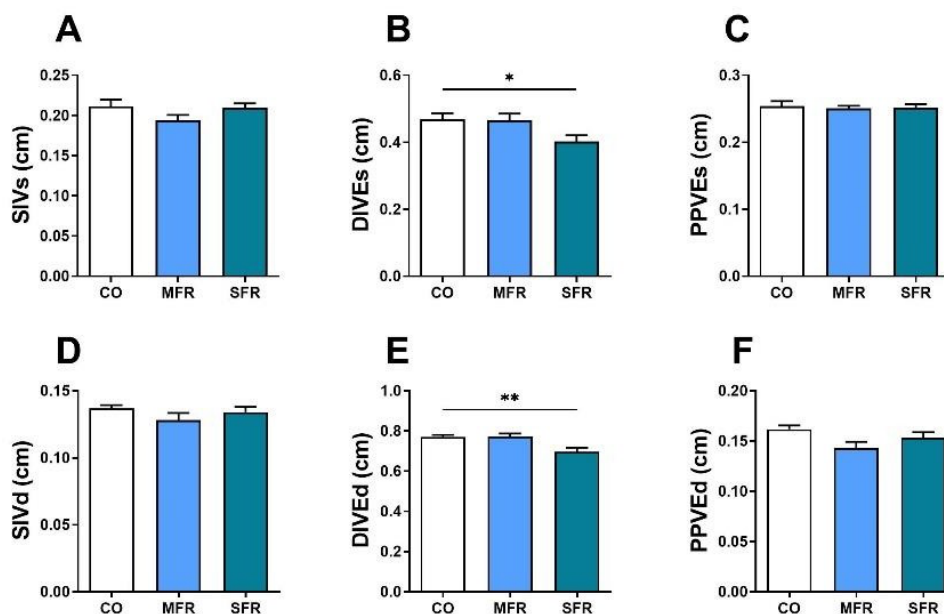
**Figura 12.** Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal da prole. Massa corporal dos machos (A) e das fêmeas (B). Dados expressos em Média ± EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO # $p < 0,05$  SFR vs MFR

#### 4.2.2. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, nos parâmetros cardíacos morfológicos e funcionais da prole, avaliados pelo ecocardiograma

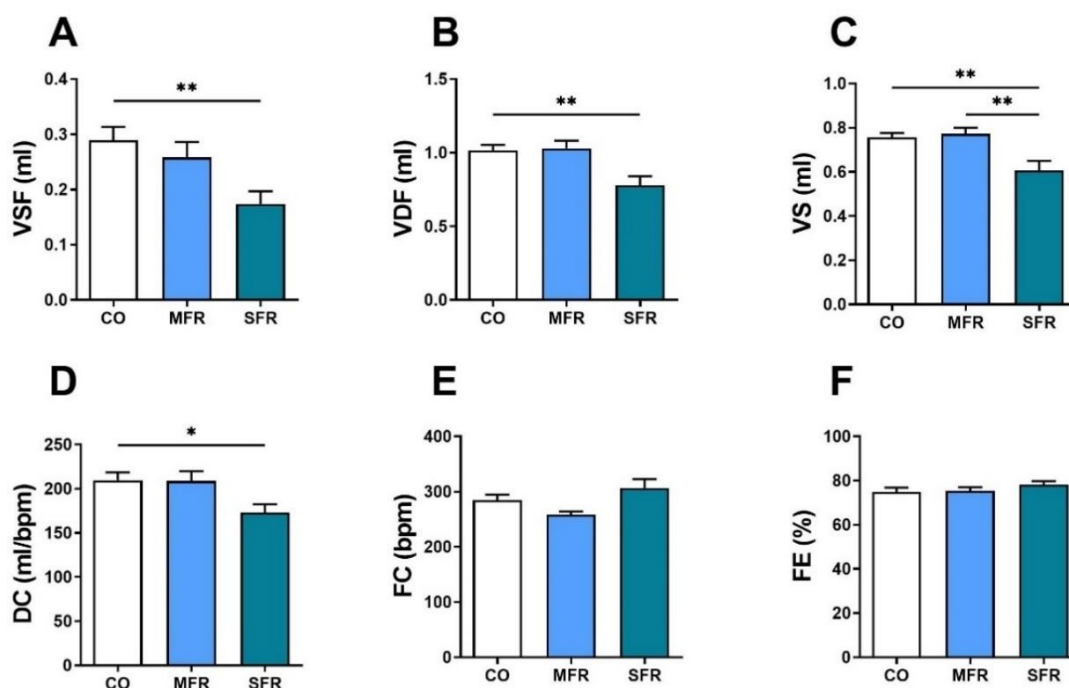
Através de ecocardiografia transtorácica foram avaliados *in vivo* parâmetros morfofuncionais do ventrículo esquerdo durante a sístole e a diástole.

Houve diminuição do diâmetro interno do ventrículo esquerdo, durante a diástole (DIVE<sub>d</sub>) e sístole (DIVE<sub>s</sub>), nos machos do grupo SFR quando comparados aos machos do grupo CO (Figura 13). Também foi observada diminuição do volume diastólico final (VDF), do volume sistólico final (VSF), do volume sistólico (VS) e do débito cardíaco (DC) nos machos do grupo SFR quando comparado aos machos do grupo CO (Figura 14). Não foram observadas diferenças na fração de ejeção (FE) e frequência cardíaca (FC) entre os grupos. As alterações encontradas no grupo SFR se dá devido os animais serem menores diante ao grupo CO.

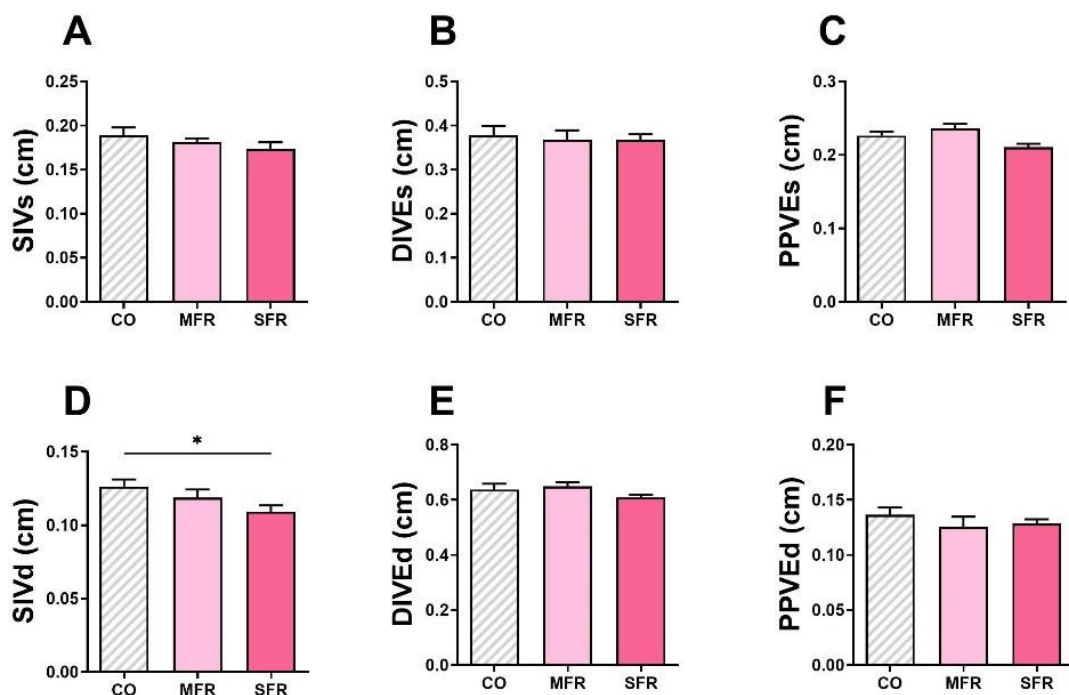
Nas fêmeas do grupo SFR foi observada diminuição do septo interventricular na diástole (Figura 15D), diminuição do VS quando comparados aos respectivos controles (Figura 16C).



**Figura 13.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros morfológicos nos machos, avaliado pelo ecocardiograma. Septo intraventricular na sístole (SIVs; A), Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole (DIVEs; B), Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo na sístole (PPVEs; C), Septo intraventricular na diástole (SIVd; D), Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole (DIVEd; E), e Parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole (PPVEd; F). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

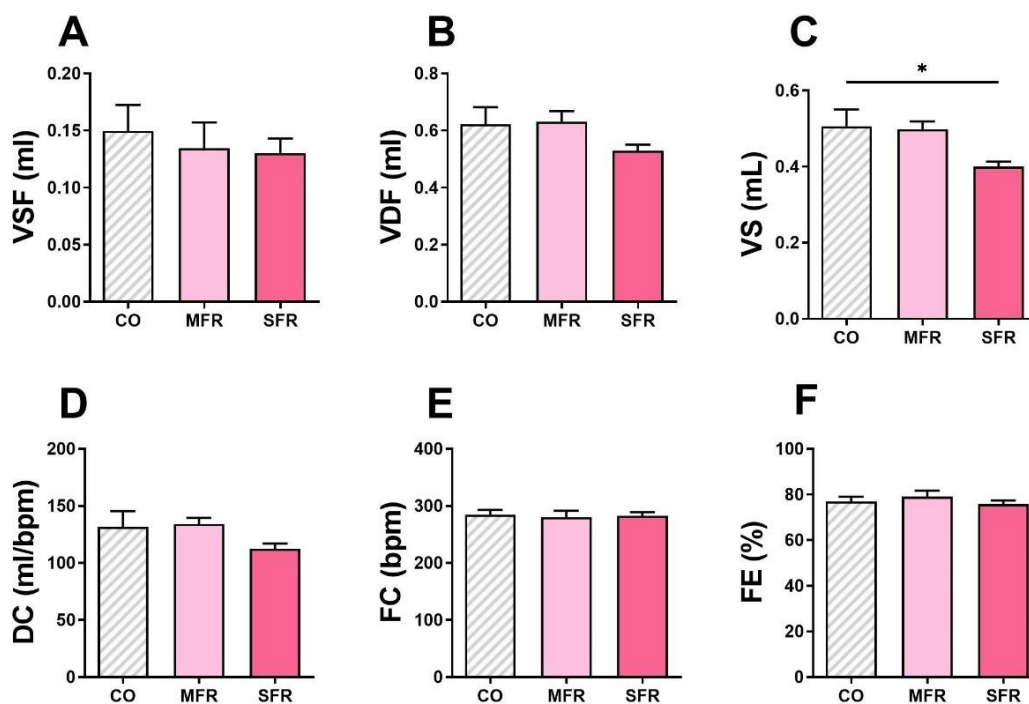


**Figura 14.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros funcionais nos machos, avaliados pelo ecocardiograma. Volume Sistólico Final (VSF; A), Volume Diastólico Final (VDF; B), Volume sistólico (VS; C), Débito Cardíaco (DC; D), Frequência Cardíaca (FC; E), e Fração de ejeção (FE; F). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.



**Figura 15.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros morfológicos das fêmeas, avaliados pelo ecocardiograma. Septo intraventricular na sístole (SIVs; A), Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole (DIVES; B), Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo na sístole (PPVEs; C), Septo intraventricular na diástole (SIVd; D), Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole (DIVED; E), Parede Posterior do Ventrículo Esquerdo na diástole (PPVED; F).

C), Septo intraventricular na diástole (SIVd; D), Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole (DIVEd; E), e Parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole (PPVEd; F). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

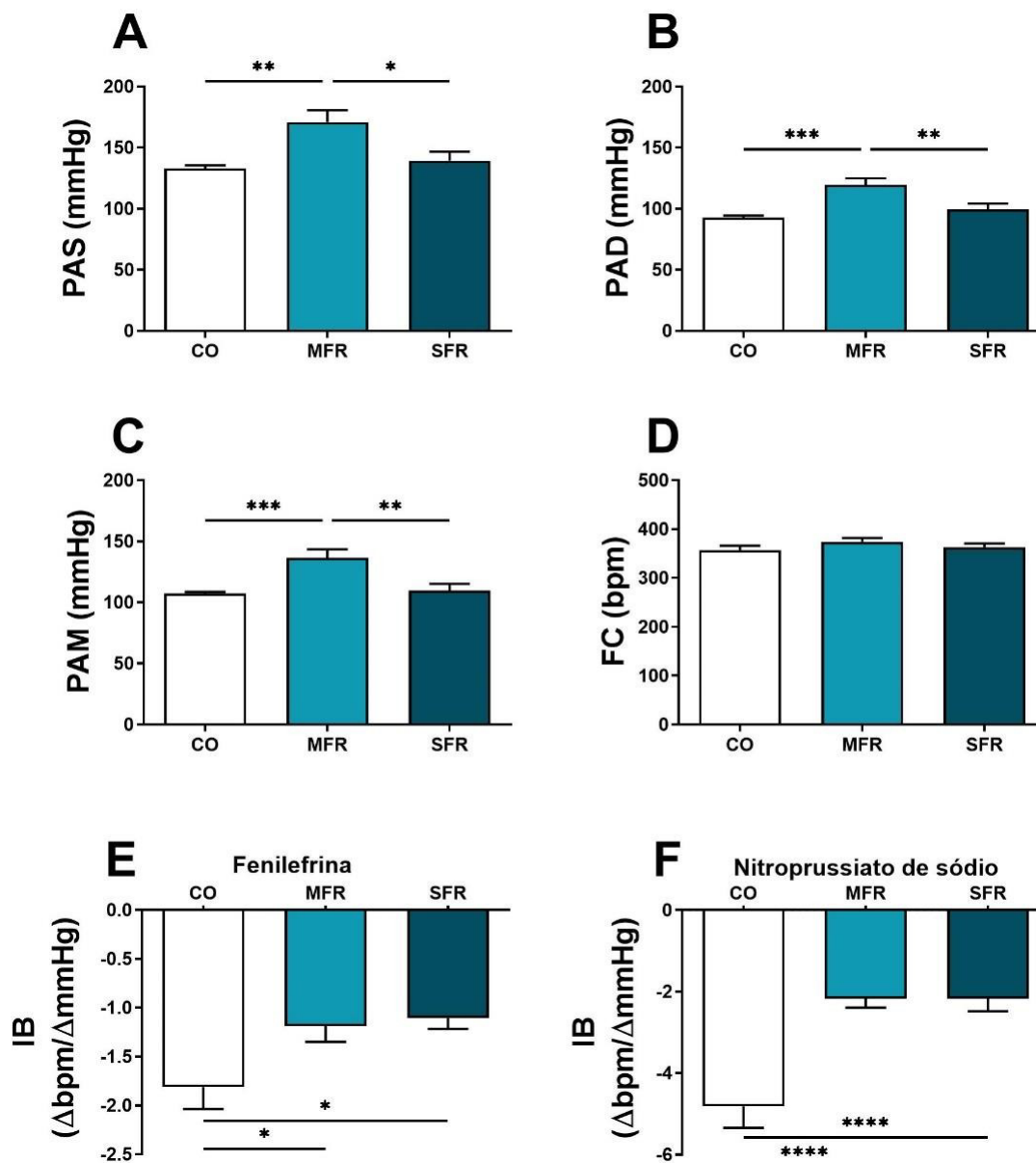


**Figura 16.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos parâmetros funcionais das fêmeas, avaliados pelo ecocardiograma. Volume Sistólico Final (VSF; A), Volume Diastólico Final (VDF; B), Volume sistólico (VS; C), Débito Cardíaco (DC; D), Frequência Cardíaca (FC; E), e Fração de ejeção (FE; F). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

#### 4.2.3. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na pressão arterial, frequência cardíaca da prole e na sensibilidade dos barorreceptores

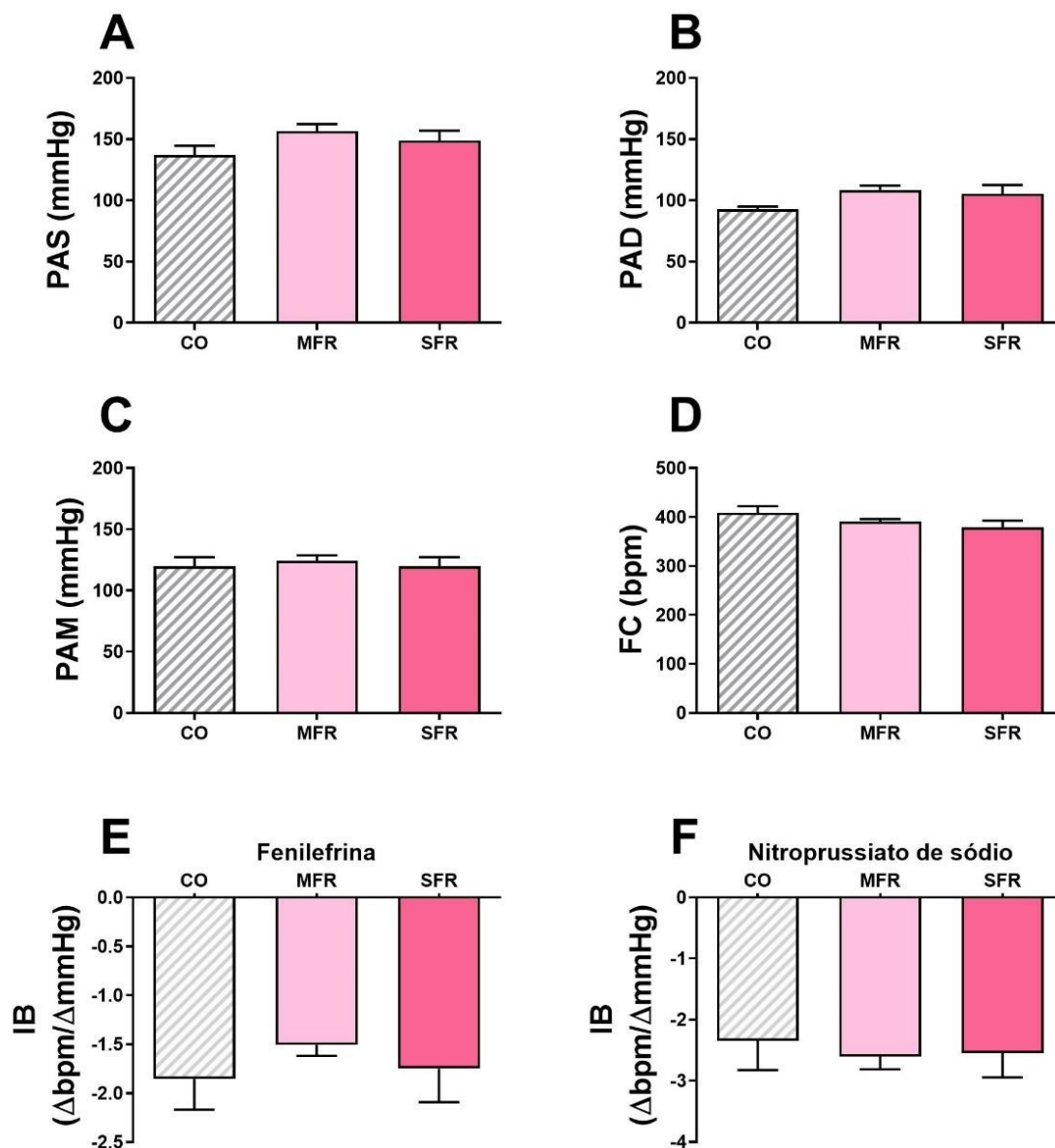
A fim de verificar os efeitos das diferentes restrições alimentares em alterações na PA, foi realizado o registro de pressão arterial (PA) invasiva em animais não anestesiados. Foi observado aumento da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM), porém sem alterações da frequência cardíaca (FC) (Figura 19) nos machos do grupo MFR quando comparados ao respectivo controle. Interessantemente, os machos do grupo SFR não apresentaram alterações nos parâmetros cardiovasculares analisados.

Após a aquisição de registro de PA em níveis basais, foi realizado o teste do barorreflexo. O Índice do barorreflexo (IB) dos machos MFR e SFR, foi menor nas injeções de fenilefrina (Figura 17E) e nitroprussiato de sódio (Figura 17F), quando comparado ao grupo CO.



**Figura 17.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na pressão arterial, frequência cardíaca e na sensibilidade dos barorreceptores dos machos. Pressão Arterial Sistólica (PAS; A), Pressão Arterial Diastólica (PAD; B), Pressão Arterial Média (PAM; C), Frequência Cardíaca (FC; D), Índice do barorreflexo a injeções em bólus de Fenilefrina (E) e de Nitroprussiato de sódio (F). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

Nas fêmeas, observamos que ambas as restrições não foram capazes de alterar a PAS, PAD, PAM e FC (Figura 18). E de forma similar, a sensibilidade dos barorreceptores estavam inalteradas (Figura 18E 18F).



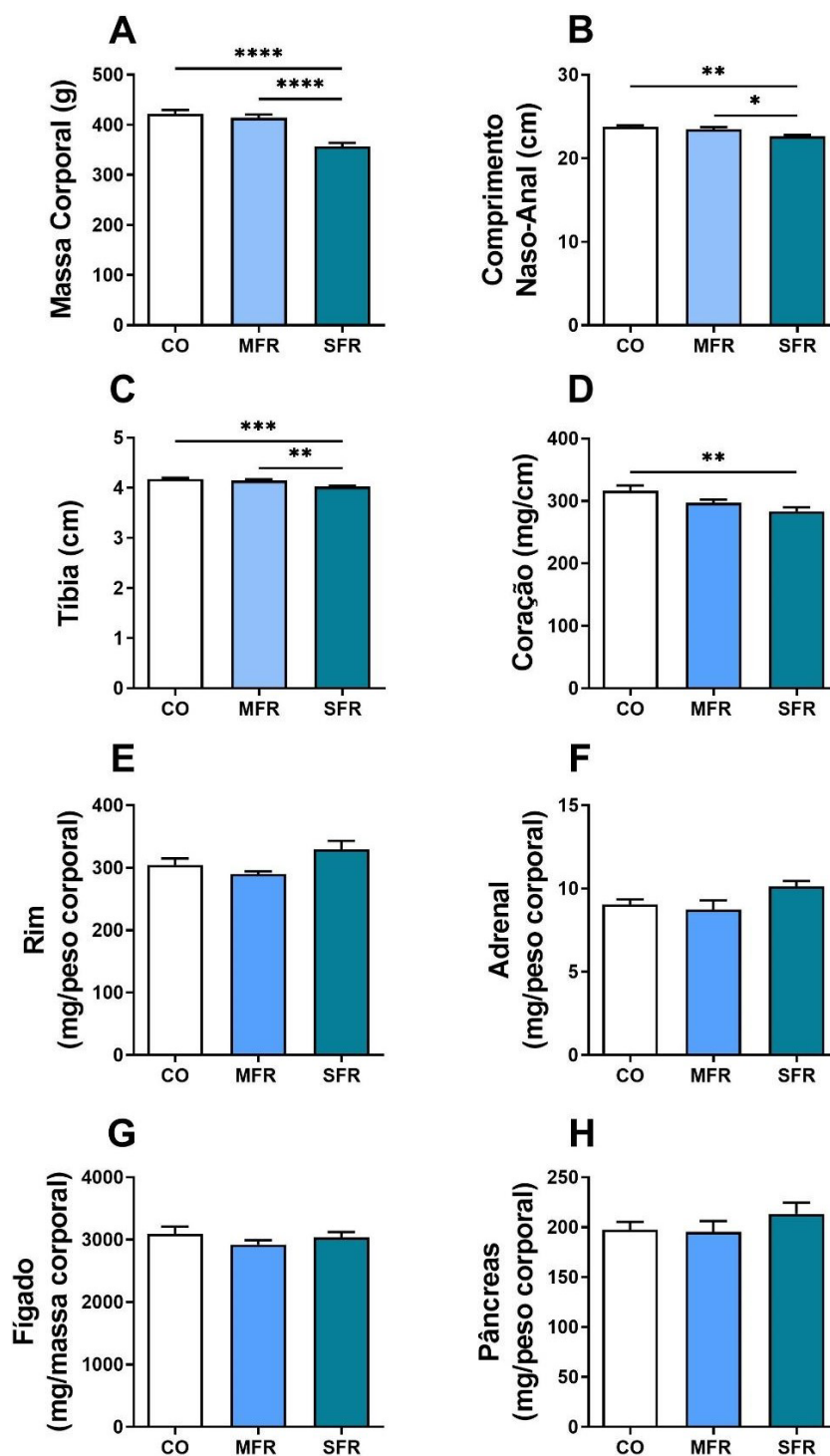
**Figura 18.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, na pressão arterial, frequência cardíaca e sensibilidade dos barorreceptores das fêmeas. Pressão Arterial Sistólica (PAS; A), Pressão Arterial Diastólica (PAD; B), Pressão Arterial Média (PAM; C), Frequência Cardíaca (FC; D), Índice do barorreflexo a injeções em bólus de Fenilefrina (E) e de Nitroprussiato de sódio (F). Dados expressos em Média ± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

#### **4.2.4. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na massa corporal e dos órgãos, e no crescimento da prole**

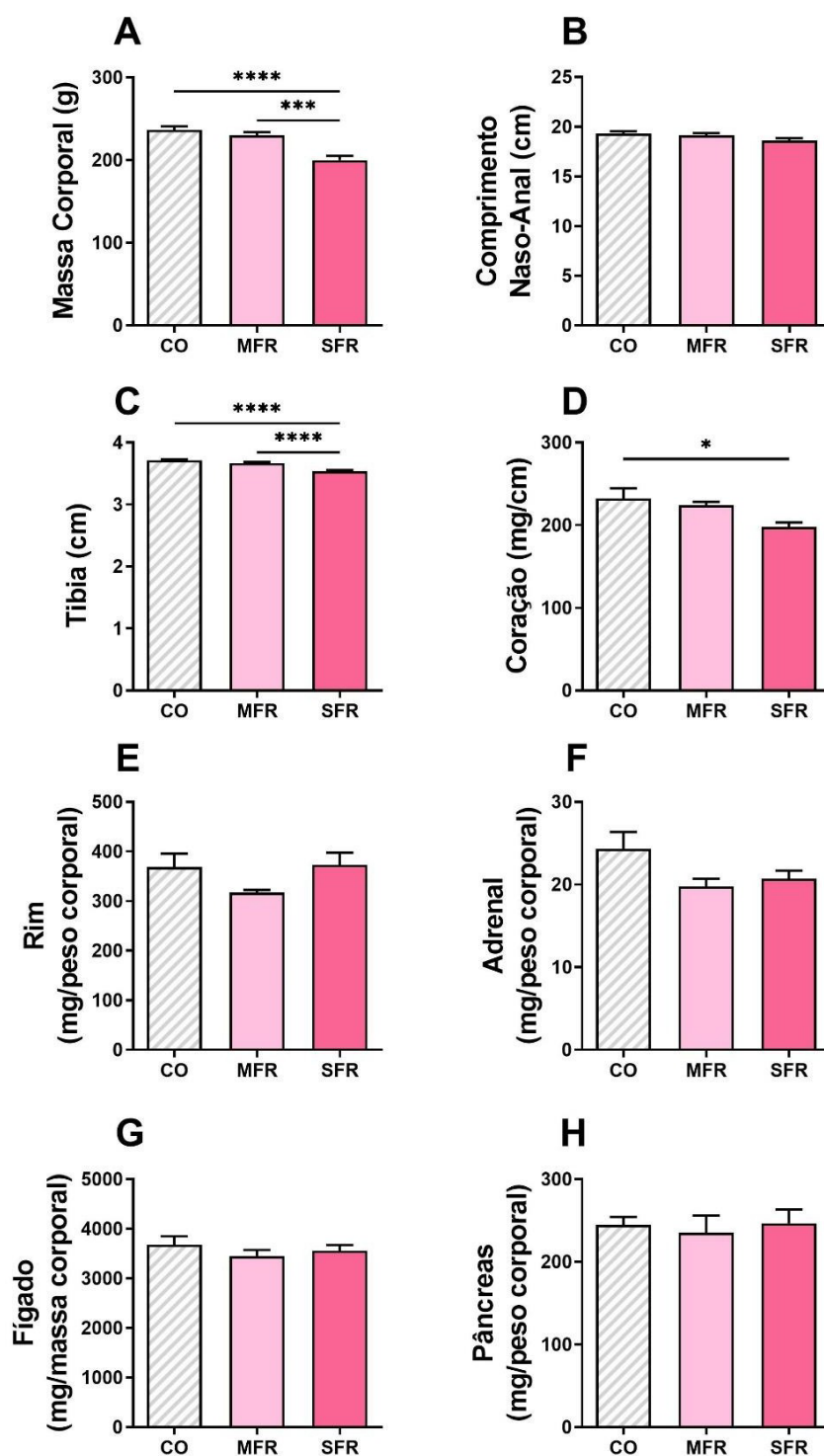
Foi observado que a prole do sexo masculino SFR foram mais leves (Figura 19A) e menores (Figura 19B) quando comparados ao grupo CO. Machos MFR apresentaram maior ganho de massa corporal durante o desenvolvimento pós-desmame, alcançando a massa média dos animais controles (Figura 19A). Além disso, os machos SFR apresentaram menor massa do coração em relação ao respectivo controle (Figura 19D). Em outros órgãos (rim, adrenal, fígado e pâncreas) não houve diferenças em relação a massa (Figura 19E-H).

Resguardadas as devidas proporções, a massa corporal de fêmeas restritas seguiu o mesmo perfil do sexo oposto (Figura 20A). Fêmeas SFR apresentaram menor massa corporal em relação ao respectivo controle (Figura 20A), entretanto a restrição alimentar severa não foi capaz de interferir no seu crescimento (Figura 20B). Não houve diferença na massa corporal ou comprimento nasoanal entre fêmeas do grupo SFR e CO (Figura 20B). Fêmeas SFR apresentaram menor massa do coração em relação ao respectivo controle (Figura 20D), sem alteração na massa dos outros órgãos.

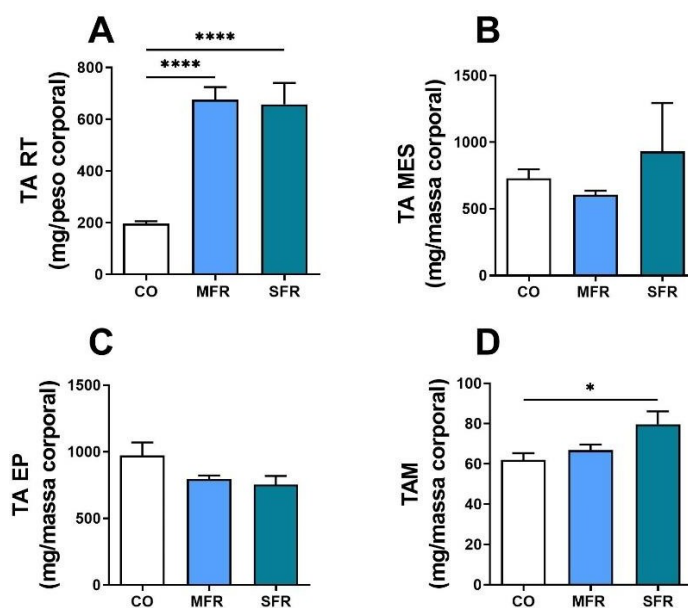
Nos depósitos de gorduras, houve aumento da gordura visceral retroperitoneal (Figura 21A), tanto nos machos do grupo SFR quanto no grupo MFR, e aumento do TAM no grupo SFR quando comparado ao grupo CO. Já nos depósitos de gorduras das fêmeas, houve aumento do TA OVAR no grupo MFR quando comparado ao grupo SFR (Figura 22D), e aumento do TAM no grupo SFR quando comparado ao grupo CO (Figura 22D).



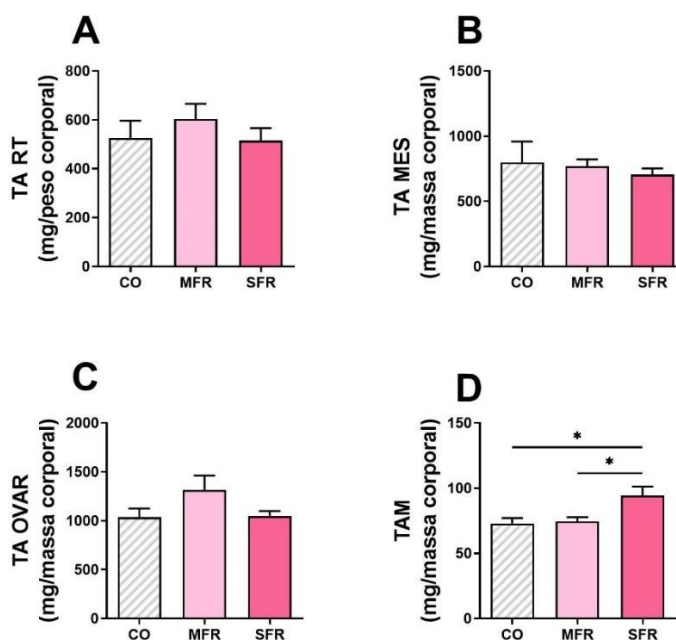
**Figura 19.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, na massa corporal e no dos de órgãos, e no crescimento dos machos. Massa corporal (A), Comprimento naso-anal (B), tamanho da tíbia (C) Peso do coração em razão da tíbia (D), peso do rim (E), da adrenal (F), do fígado (G) e o do pâncreas (H), em razão da massa corporal. Dados expressos em Média± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.



**Figura 20.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, na massa corporal e dos órgãos, e no crescimento das fêmeas. Massa corporal (A), Comprimento naso-anal (B), tamanho da tíbia (C) Peso do coração em razão pela tíbia (D), peso do rim (E), da adrenal (F), do fígado (G) e o do pâncreas (H), em razão da massa corporal. Dados expressos em Média ± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.



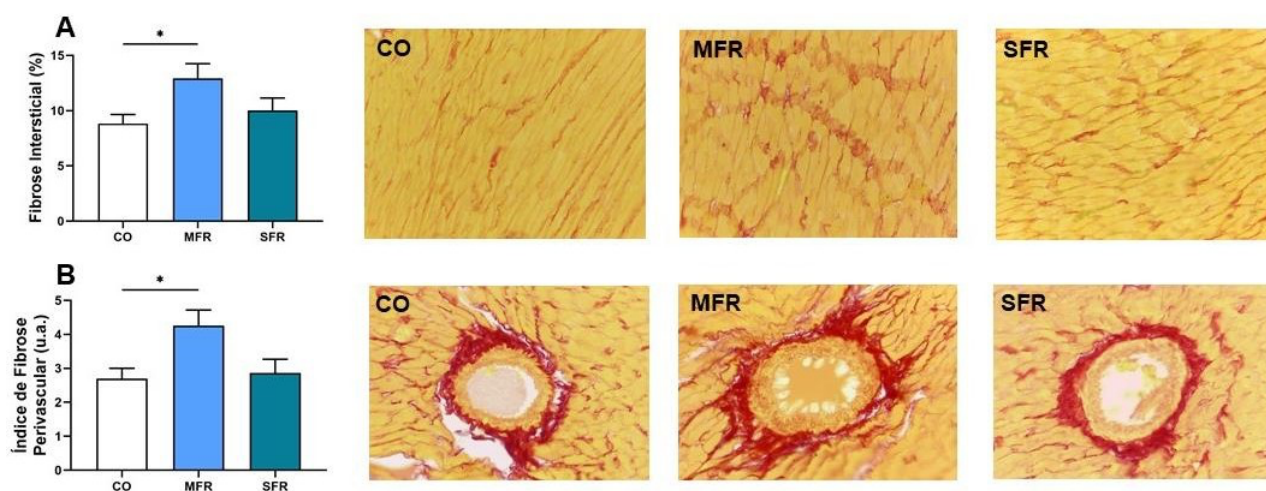
**Figura 21.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos depósitos de gorduras dos machos. Peso do tecido adiposo retroperitoneal (TA RT; A), tecido adiposo mesentérico (TA MES; B), tecido adiposo epididimal (TA EP; C) e tecido adiposo marrom (TAM; D), em razão da massa corporal. Dados expressos em Média± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.



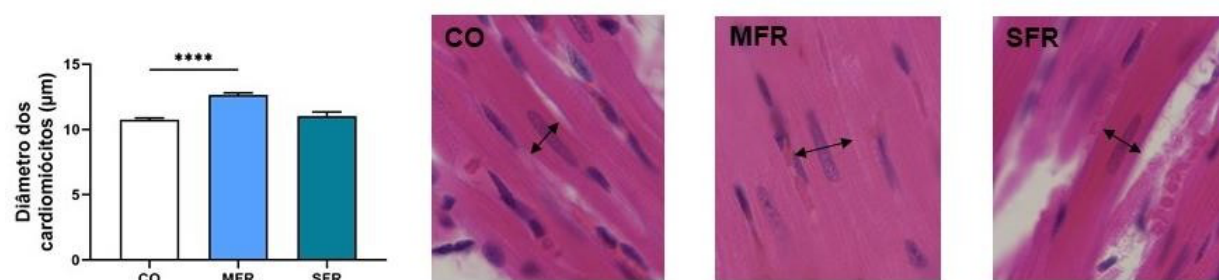
**Figura 22.** Efeitos da restrição moderada e severa, durante a lactação, nos depósitos de gorduras das fêmeas. Peso dos depósitos de gorduras das ratas Wistar aos 120 dias de idade. Peso do tecido adiposo retroperitoneal (TA RT; A), tecido adiposo mesentérico (TA MES; B), tecido adiposo ovariano (TA OVAR; C) e tecido adiposo marrom (TAM; D), em razão da massa corporal. Dados expressos em Média± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

#### 4.2.5. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise histológica cardíaca

Na análise histológica cardíaca, houve aumento da fibrose intersticial (Figura 23A) e da fibrose perivascular (Figura 23B) nos machos do grupo MFR, em relação ao seu respectivo controle. Na espessura dos cardiomiócitos, observamos aumento no diâmetro indicando hipertrofia dos cardiomiócitos (Figura 24), nos machos do grupo MFR quando comparado ao CO.

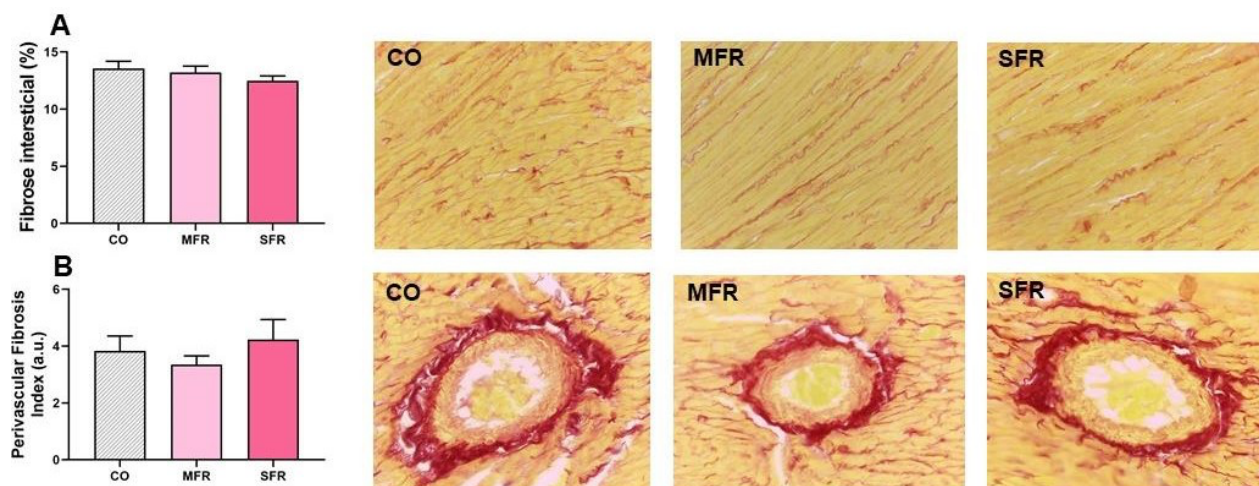


**Figura 23.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na deposição de colágeno no coração dos machos. Fibrose intersticial (A) e fibrose perivascular (B). Dados expressos em Média± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

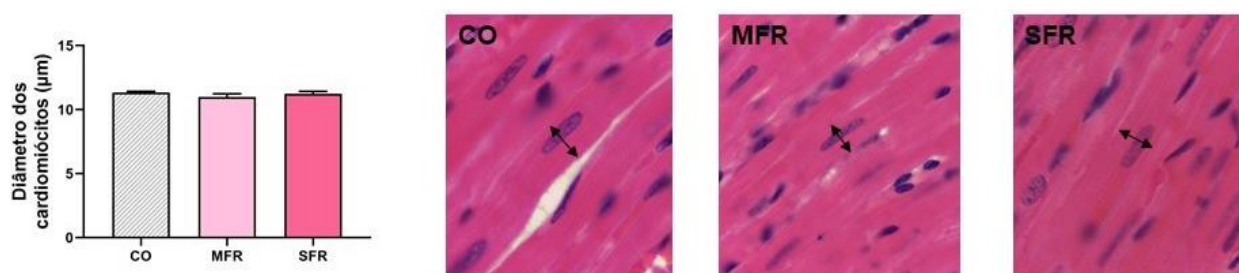


**Figura 24.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos dos machos. Análise dos cardiomiócitos e representativas dos respectivos grupos. Dados expressos em Média± EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

As fêmeas não apresentaram nenhuma alteração no coração em relação a fibrose intersticial (Figura 25A), fibrose perivascular (Figura 25B), e diâmetro dos cardiomiócitos (Figura 26).



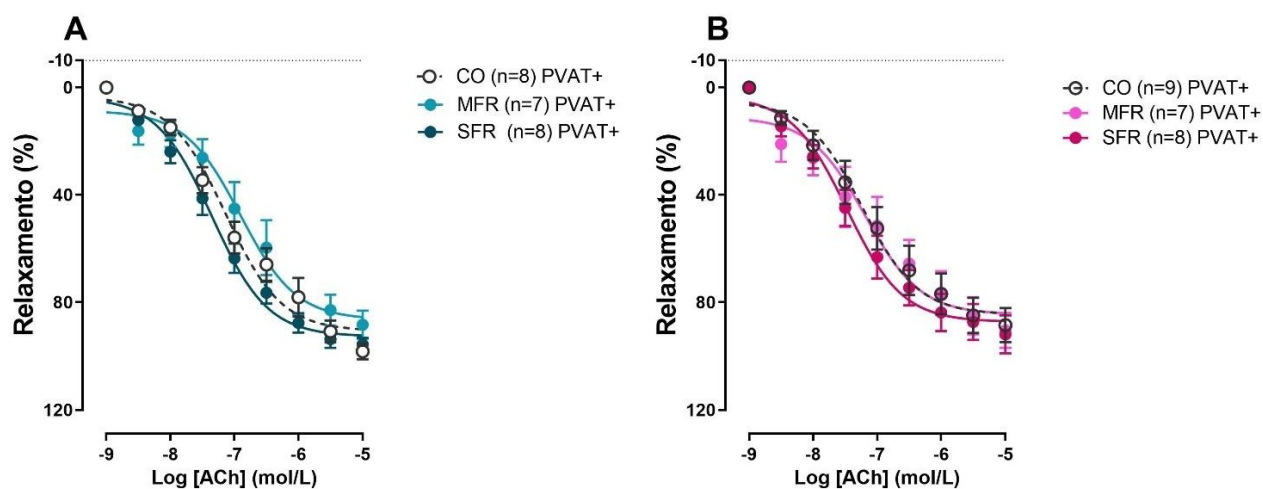
**Figura 25.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na deposição de colágeno no coração das fêmeas. Fibrose intersticial (A) e fibrose perivascular (B). Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).



**Figura 26.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no diâmetro dos cardiomiócitos das fêmeas. Análise dos cardiomiócitos e representativas dos respectivos grupos. Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (*one-way ANOVA*) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

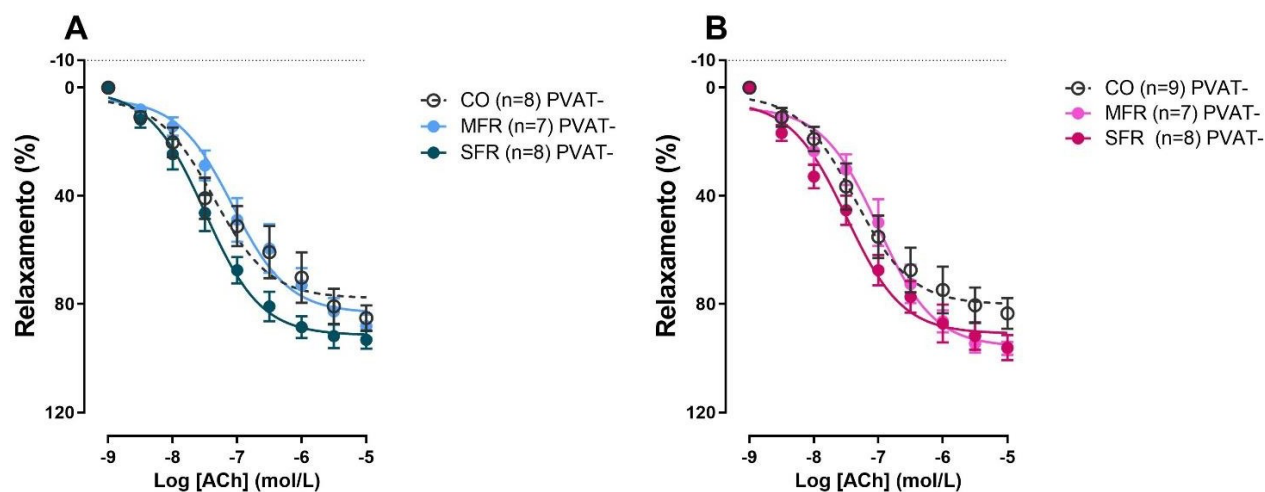
#### 4.2.6. Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na reatividade vascular

No teste de viabilidade do endotélio, foi avaliado o relaxamento endotélio-dependente com acetilcolina, após pré-contracção com fenilefrina. Observamos que na aorta com o tecido adiposo perivascular (PVAT) não há nenhuma alteração no relaxamento dependente do endotélio em ambos os sexos (Figura 27).



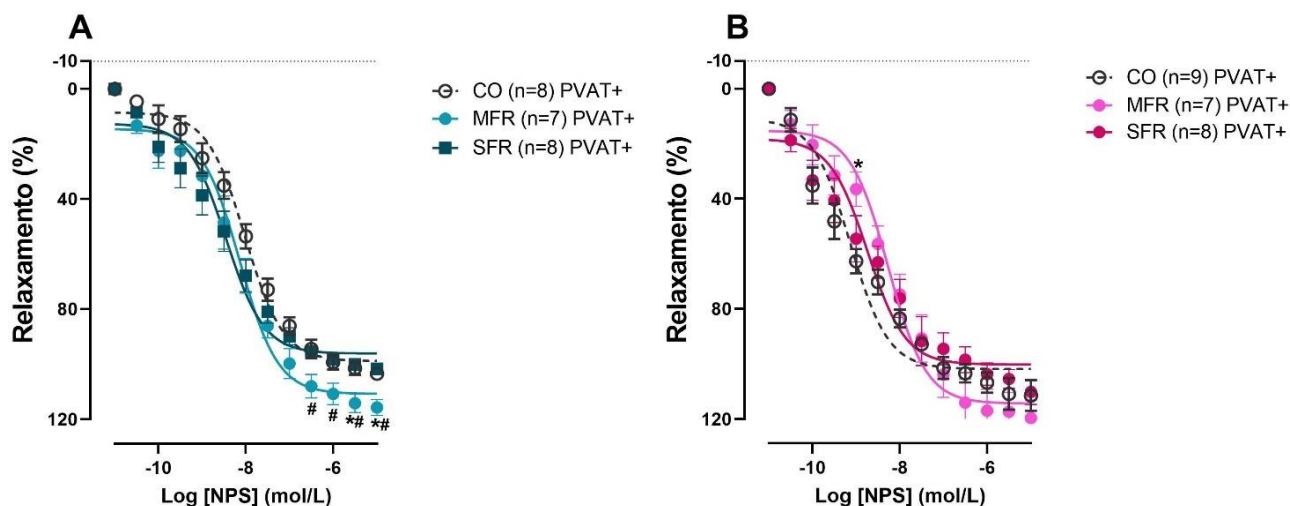
**Figura 27.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento endotélio-dependente, com acetilcolina, com tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise do relaxamento de ambos os sexos. Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

Nos anéis sem o PVAT, também não encontramos nenhuma alteração da resposta do relaxamento endotélio-dependente (Figura 28).

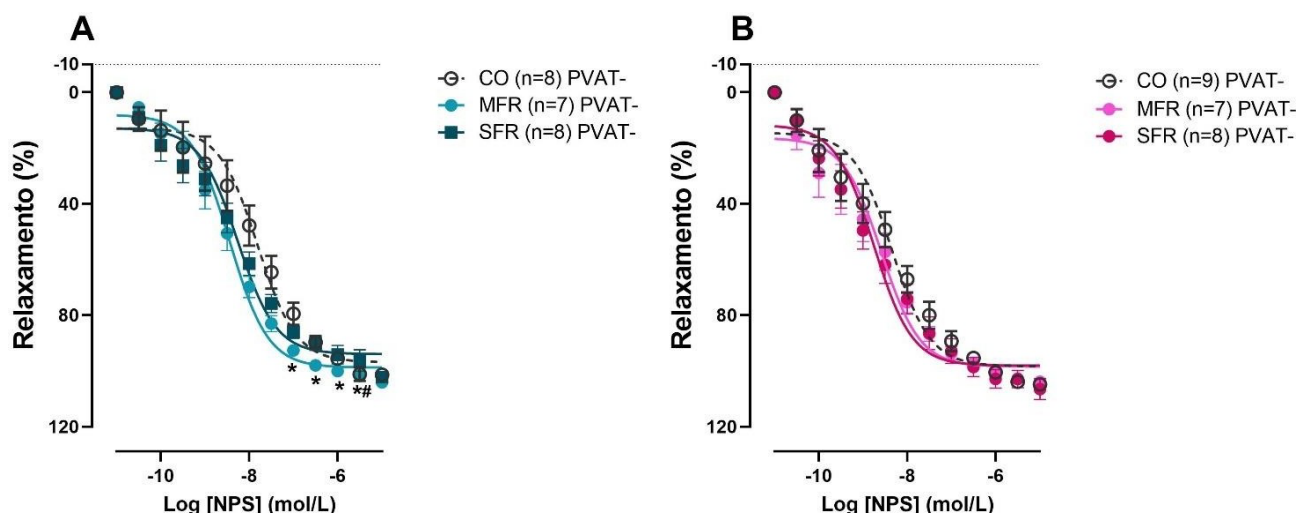


**Figura 28.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento endotélio-dependente, com acetilcolina, com tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise do relaxamento de ambos os sexos. Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).

Após teste do relaxamento endotélio-dependente, foi induzido o relaxamento com nitroprussiato de sódio (NPS), de forma a avaliar o relaxamento não dependente do endotélio. Logo, observamos que os anéis de aorta de machos MFR, com PVAT preservado, apresentaram maior resposta máxima no relaxamento induzido por NPS (Figura 29).



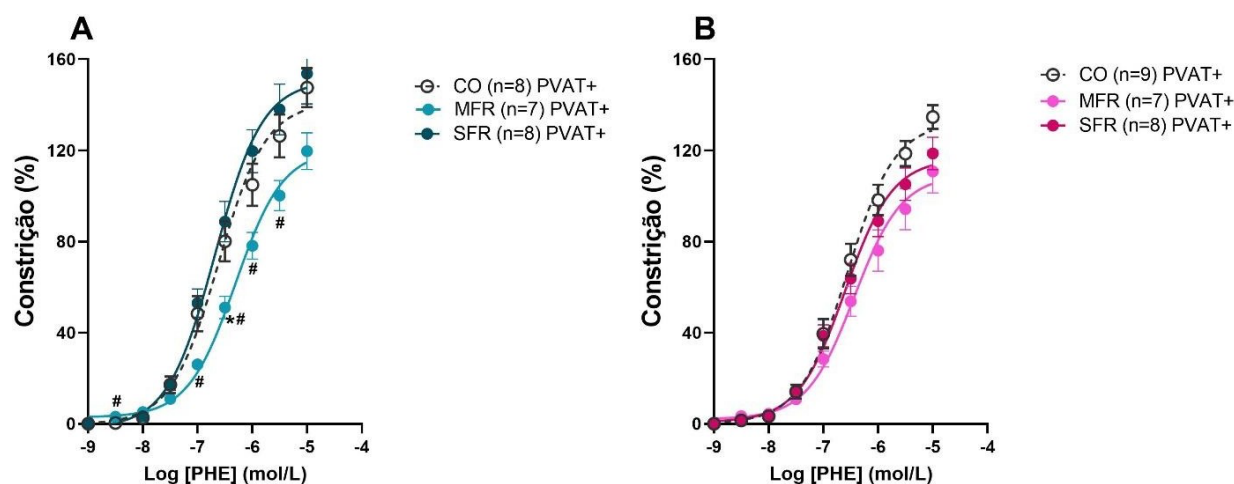
**Figura 29.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento independente do endotélio, com nitroprussiato de sódio, com tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise do relaxamento de ambos os sexos. Dados expressos em Média± EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR).



**Figura 30.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, no relaxamento independente do endotélio, com nitroprussiato de sódio, sem tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise do relaxamento de ambos os sexos. Dados expressos em Média± EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO # $p < 0,05$  SFR vs MFR.

Nos anéis sem PVAT, ainda observamos maior relaxamento nos machos MFR quando comparados aos machos CO (Figura 30). Entretanto não foi detectado nenhum efeito nas fêmeas em nenhum dos grupos (Figura 30).

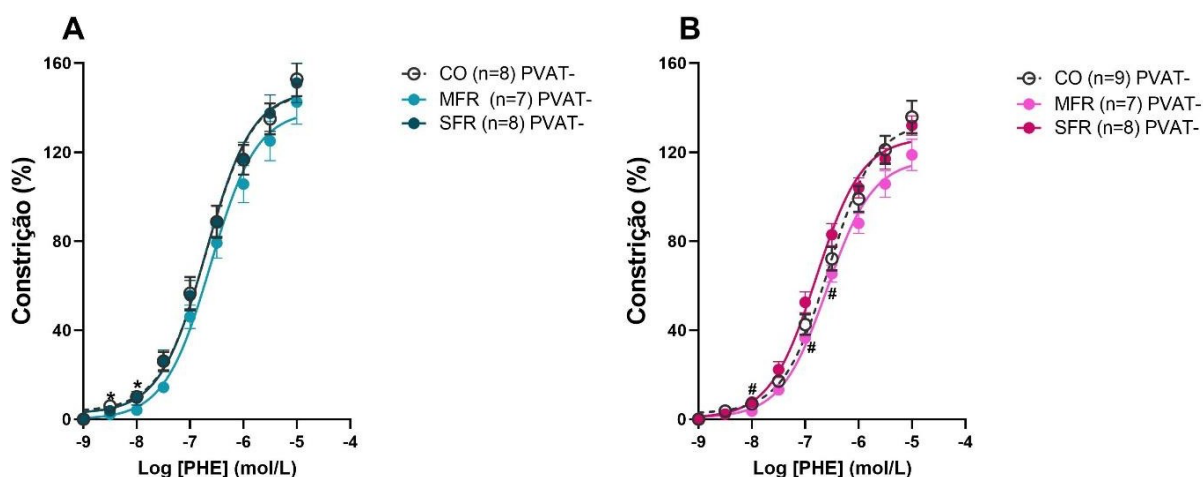
Seguido da avaliação do relaxamento, e após o período de estabilização, os anéis de aorta foram submetidos à curva de concentração de fenilefrina para avaliação da resposta contrátil. Observamos que a resposta contrátil dos anéis de aorta de machos MFR com endotélio e PVAT intactos, ocorre de forma mais amena, sendo diferente tanto comparado ao grupo CO quanto ao grupo SFR (Figura 31).



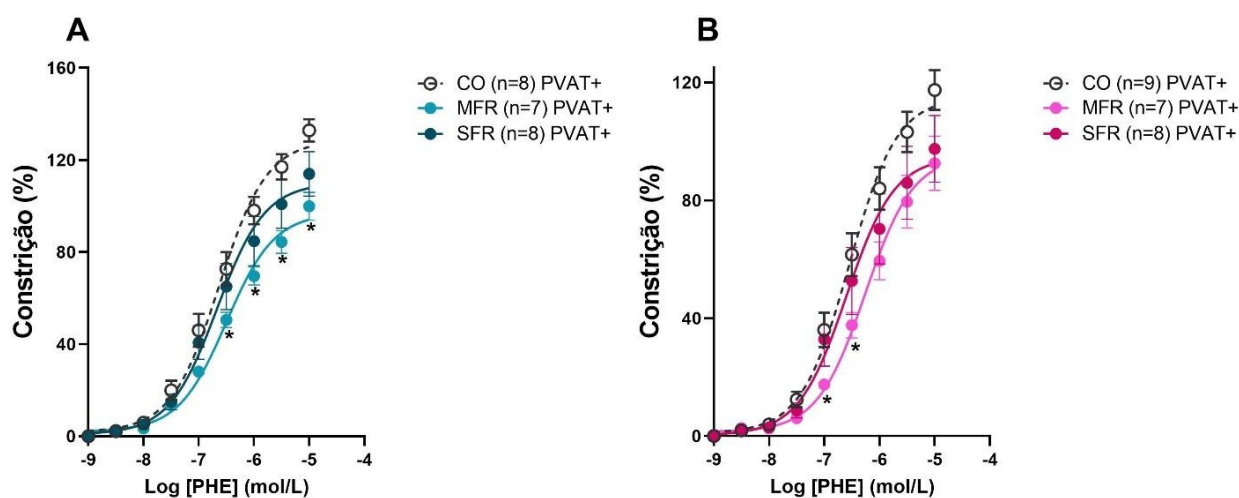
**Figura 31.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição com endotélio e o tecido adiposo perivascular (PVAT) intactos. Análise da resposta contrátil de ambos os sexos. Dados expressos em Média  $\pm$  EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO # $p < 0,05$  SFR vs MFR.

Nos anéis com endotélio intacto e sem o PVAT, observamos alterações em pontos aleatórios da curva, tanto nos machos quanto nas fêmeas, mas não se alterou de forma consistente ao longo das concentrações crescentes (Figura 32).

Já nos anéis com endotélio e PVAT preservados, observamos resposta similar a anéis com PVAT mas sem endotélio, uma resposta contrátil prejudicada nos machos MFR quando comparados ao grupo CO (Figura 33).

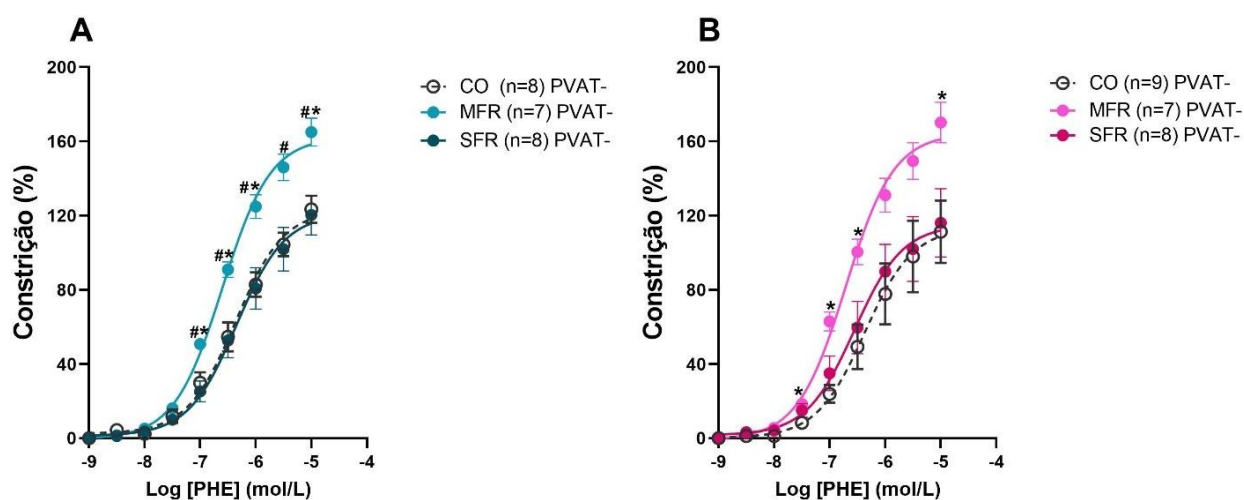


**Figura 32.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição com endotélio intacto e sem o tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise da resposta contrátil de ambos os sexos. Dados expressos em Média $\pm$  EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO # $p < 0,05$  SFR vs MFR.



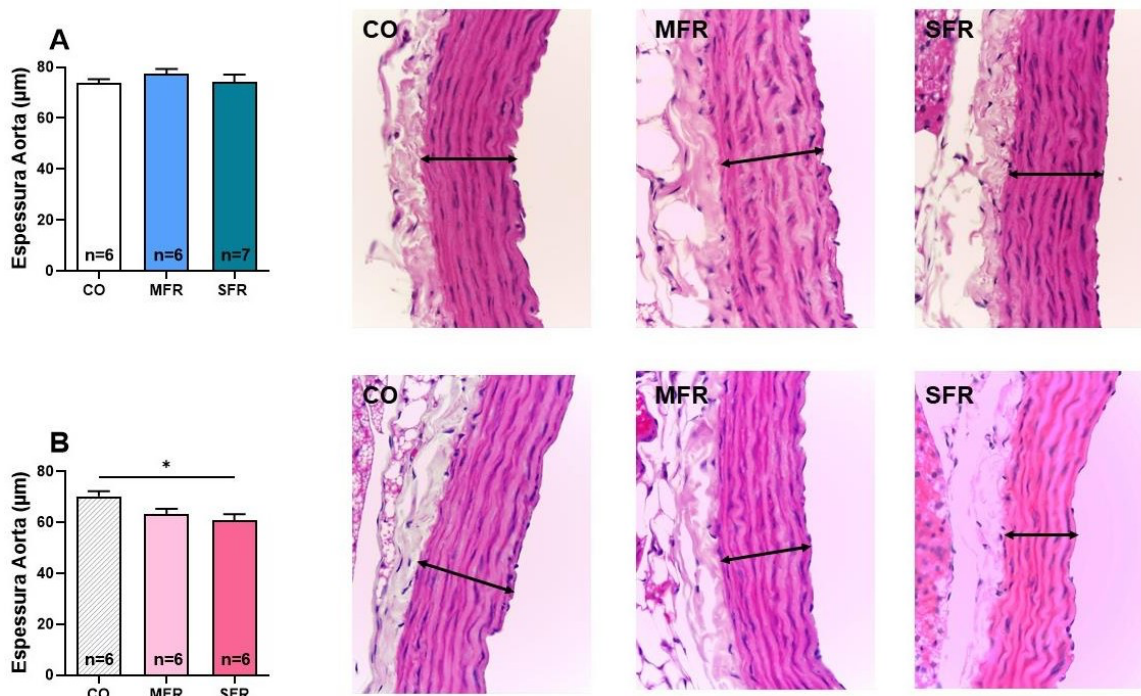
**Figura 33.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição sem o endotélio intacto e com tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise da resposta contrátil de ambos os sexos. Dados expressos em Média $\pm$  EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO # $p < 0,05$  SFR vs MFR.

Nos anéis sem o endotélio e sem o PVAT, a resposta contrátil dos machos MFR foram mais eficientes quanto comparados ao grupo CO e ao SFR (Figura 34). As fêmeas MFR apresentaram o mesmo padrão de resposta dos machos MFR.



**Figura 34.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na vasoconstrição sem o endotélio intacto e sem o tecido adiposo perivascular (PVAT). Análise da resposta contrátil de ambos os sexos. Dados expressos em Média $\pm$  EPM. Análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$  vs CO # $p < 0,05$  SFR vs MFR.

#### 4.2.7. Efeitos da restrição alimentar severa e moderada, durante a lactação, na análise histológica da aorta



**Figura 35.** Efeitos da restrição alimentar moderada e severa, durante a lactação, na espessura da aorta de ambos os sexos. Dados expressos em Média $\pm$  EPM. Análise de Variância de uma via (one-way ANOVA) foi utilizada, seguida do pós-teste de Tukey. Grupo Controle (CO), restrição alimentar moderada (MFR) e restrição alimentar severa (SFR). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  vs CO.

Na análise da espessura da aorta, não encontramos nenhuma alteração nos machos, entretanto nas fêmeas SFR houve diminuição da espessura da camada íntima-média quando comparadas ao grupo CO (Figura 35).

## 5. DISCUSSÃO

Este estudo mostrou pela primeira vez que o modelo de restrição proteica induzida por uma dieta LP, já bastante utilizada em outros estudos, promove significativa redução da ingestão alimentar, com consequente redução da ingestão calórica e de macronutrientes nas mães que foram alimentadas com a LP e caracterizadas como restrição alimentar severa. A fim de estabelecer se as alterações encontradas eram causadas pela redução de proteínas na dieta ou pela redução do consumo calórico, mostramos pela primeira vez a diferença entre os efeitos da restrição alimentar severa e da restrição alimentar moderada, nos parâmetros cardiovasculares na prole de mães que passaram por estas intervenções alimentares.

Para tal, foi investigado inicialmente as alterações das restrições nas progenitoras e como foi constituído o ambiente materno como, composição do leite materno, análise bioquímica, peso dos órgãos e análise morfológica do coração e aorta. O questionamento inicial foi como seria a ingestão alimentar e o ganho de massa corporal das mães, durante a lactação. As mães do grupo MFR apresentaram diminuição de 50% da ingestão alimentar, comparada as mães CO, devidamente ao protocolo de restrição utilizado no estudo, e apresentaram redução no ganho de peso corporal. As mães do grupo SFR apresentaram uma queda na ingestão alimentar, chegando a ter ingestão menor que o grupo de MFR, provavelmente pela baixa palatabilidade da ração. Consequentemente, as mães SFR tiveram prejuízo no ganho de massa corporal, durante o período de intervenção alimentar. Progenitoras que foram submetidas a restrição alimentar de 30% durante a gestação, apresentaram redução no ganho de massa corporal quando comparada as progenitoras controles *ad libitum*, além disso gerou retardo no crescimento dos fetos, mostrando que a restrição calórica influencia diretamente na perda de massa corporal (VICKERS et al., 2000).

Após o 14º dia da lactação, foi ofertada dieta padrão e *ad libitum* para todas as mães, onde as progenitoras tiveram 7 dias de recuperação pós-intervenção alimentar. Neste período, foi observado que as mães MFR tiveram aumento da ingestão alimentar e de sua massa corporal, chegando ao final (21º dia) ser semelhante ao grupo CO. As

progenitoras SFR apresentaram aumento da ingestão alimentar e da massa corporal (quando comparado a sua ingestão e massa corporal durante intervenção alimentar), mas continuaram com ingestão alimentar e massa corporal menor que as mães CO. Outro estudo mostrou que restrição alimentar de 50% durante todo o período de gestação, provoca redução da massa corporal das mães, entretanto quando é ofertado ração *ad libitum* durante toda a lactação, a progenitora consegue ganhar massa corporal chegando ao peso, no final da lactação, do seu respectivo grupo controle (HOWIE; SLOBODA; VICKERS, 2012).

Em suma, o presente estudo mostra que a restrição alimentar severa trouxe mais complicação no ganho de massa corporal nas mães, devido a sua hipofagia. Os resultados observados nesse estudo, corroboram com os observados por De Oliveira *et al.* (2018), o autor relata que ratas Wistar alimentadas com LP durante os 14 primeiros dias de lactação apresentam significativa redução da ingestão alimentar, o autor argumenta que essa redução pode ser explicada pela baixa palatabilidade da dieta LP. Isso se deve sobretudo pelo fato de substituímos a massa proteica retirada, por amido (fonte de carboidrato), assim mantendo a densidade energética da dieta LP, que comparada a AIN-93G é isocalórica. Possivelmente, o excesso de amido torne a dieta menos palatável. Por outro lado, devemos ressaltar que o alto teor de carboidratos também possa interferir na regulação neuroendócrina do apetite/saciedade (DE OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Após observar que as restrições alimentares trouxeram alterações na massa corporal e na ingestão alimentar, foi calculado a ingestão calórica das mães. As progenitoras MFR, tiveram redução de 50% na ingestão calórica e dos macronutrientes (proteínas totais, lipídeos totais e carboidratos totais), comparado as mães CO. No grupo SFR foi observado diminuição da ingestão calórica e dos macronutrientes, comparado tanto com as mães CO quanto as mães MFR. A ração hipoproteica é isocalórica e com a queda no consumo da ração, a ingestão das mães SFR foi hipocalórica.

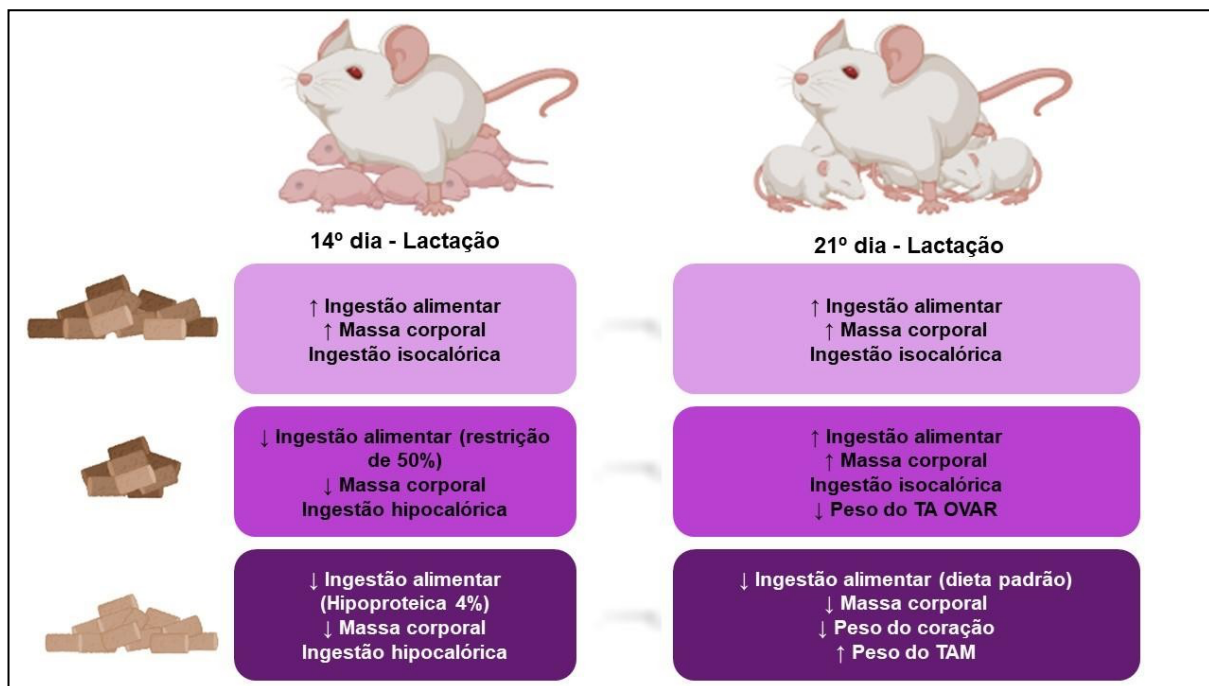
Conforme as alterações nutricionais das mães, foi realizada a dosagem bioquímica do leite materno (14º dia), no último dia de intervenção alimentar. Não foi encontrada nenhuma alteração nas concentrações proteicas e de triglicerídeos do leite. Dados não publicados, mostraram aumento de proteínas, lipídeos e carboidratos no leite das mães SFR no 7º dia da intervenção alimentar, porém no 14º dia não houve alteração, assim como os dados encontrados no presente estudo.

Com esses achados, foi observado que as mães SFR provavelmente passam por um período de adaptação durante os primeiros 7 dias, a fim de ofertar nutrientes para a prole, e as progenitoras MFR provavelmente não passam por adaptação tão complexa. O organismo promove adaptações preditivas em resposta aos sinais ou estímulos que estão sendo sinalizados, resultando em ajustes nos sistemas homeostáticos para ajudar na sobrevivência e melhorar o sucesso em um ambiente adverso (HOWIE; SLOBODA; VICKERS, 2012).

Sabendo que a intervenção alimentar foi capaz de alterar a massa corporal, a próxima investigação foi no peso dos órgãos das progenitoras após o desmame. Foi observado redução do peso do coração das mães SFR, quando comparado as mães CO e MFR, e nos outros órgãos (rim, adrenal, fígado e pâncreas) não houve nenhuma diferença no peso. Um estudo com restrição proteica de 8% durante 14 dias da gestação, mostrou que a restrição proteica promoveu redução da massa corporal, mas não houve alteração na pressão arterial em nenhum momento da gestação (LANGLEY-EVANS; PHILLIPS; JACKSON, 1994). Entretanto, restrição alimentar de 30% durante a gestação promove diminuição do peso do fígado e dos rins das mães (VICKERS et al., 2000).

Com relação aos depósitos de gorduras, observamos aumento do TAM nas mães SFR quando comparado as mães CO. O TAM é um órgão termogênico e libera a energia dos nutrientes como calor para manter a temperatura corporal, e quando ocorre estímulo de frio gera aumento da atividade do TAM para gerar a estabilização da temperatura corporal (OELKRUG; POLYMEROPOULOS; JASTROCH, 2015). Sabendo isso podemos inferir que devido a perda de peso corporal, como resposta adaptativa houve aumento do TAM nas mães SFR.

Avaliando os analitos bioquímicos das mães no final da lactação, não foi encontrado nenhuma alteração das proteínas totais, albumina, perfil lipídico e nos marcadores de lesão hepática. Por fim, foi realizado a análise histológica cardíaca das mães. Não houve alterações morfológicas nos cardiomiócitos e na aorta dos grupos. Baseando nos achados da alteração no peso do coração, do grupo SFR, as progenitoras podem ter sofrido adaptação fisiológica e não patológica durante a intervenção. Corroborando com os resultados morfológicos encontrados com a intervenção durante a lactação, a restrição proteica na fase intrauterina não promove alteração nos parâmetros pressóricos das mães (LANGLEY-EVANS; PHILLIPS; JACKSON, 1994). A figura 27 resume os principais efeitos da restrição proteico/calórica nas progenitoras durante a lactação.



**Figura 36.** Resumo dos resultados encontrados nas progenitoras.

Foi acompanhado o ganho de massa corporal da prole, de ambos os sexos, durante a lactação e do pós-desmame até a fase adulta. A alteração na massa corporal da prole, foi semelhante ao das mães, entretanto tanto machos quanto fêmeas MFR não conseguiram atingir o peso dos filhotes CO, no período de adaptação, como as mães conseguiram. Tanto os filhotes MFR e quanto os filhotes SFR se apresentaram mais leves durante todo o período de intervenção alimentar, quando comparado ao grupo CO. Durante o acompanhamento de ganho da massa corporal do pós-desmame até a fase adulta, observamos que o grupo MFR na fase adulta atingiu a massa corporal do grupo CO e o grupo SFR (tanto os machos quanto as fêmeas) se apresentaram bem mais leves e menores em relação ao grupo MFR e CO. A restrição alimentar de 30% durante a gestação gera retardo no crescimento dos filhotes, fazendo com que estes se tonem mais leves e também menores quando comparados ao seus respectivos controles (VICKERS et al., 2000). Estudo com modelo de restrição proteica de 8% durante a gestação, mostrou que a prole nasceu menor em relação ao respectivo grupo controle (LANGLEY-EVANS; PHILLIPS; JACKSON, 1994) e outro estudo modelo de restrição proteica de 4,5%, durante os 14º dias de lactação, interferiu no ganho de massa corporal na prole já na fase adulta (DE OLIVEIRA et al., 2018). Em suma, podemos inferir que alteração futura no ganho de peso da prole, que foram submetidas as intervenções alimentares nas fases iniciais da vida, sugere que existe adaptação ou alteração no

desenvolvimento das células hipotalâmicas que estão envolvidas na indução do apetite, do desenvolvimento e no crescimento do organismo podendo gerar alterações na composição corporal (RAVELLI, 1976; SILVEIRA et al., 2007).

Foi realizado o ecocardiograma *in vivo* para avaliar os parâmetros morfológicos e funcionais da prole na fase adulta. Os machos SFR apresentaram diminuição do diâmetro interno do ventrículo esquerdo durante a sístole e diástole, comparado com o CO. Nos parâmetros funcionais, observamos que os machos SFR apresentaram diminuição do volume sistólico final, volume diastólico final, volume sistólico e o débito cardíaco. Enquanto as fêmeas SFR apresentaram o septo intraventricular durante a diástole menor e o volume sistólico reduzido, quando comparado com as fêmeas CO. As alterações encontradas no ecocardiograma mostram uma possível adaptação fisiológica dos animais, devido ao grupo SFR serem menores que o grupo CO e MFR. É sabido que a restrição proteico-calórica, durante 3 semanas em cães, promove atrofia dos miócitos que reflete na redução do volume do débito cardíaco, com a contratilidade reduzida sem refletir em outras propriedades do coração. Além desses achados, houve redução da massa do coração assim como do peso corporal dos animais restritos, isso indica que a contratilidade deprimida foi devido à perda de massa muscular (ALDEN et al., 1987; CICOGNA et al., 1999).

Em seguida, foi realizado o registro invasivo em animais não anestesiados para avaliação da pressão arterial e da frequência cardíaca dos animais na fase adulta. Surpreendentemente, os machos do grupo MFR apresentaram aumento da PAS, PAD e PAM, sem alteração na FC, enquanto os animais SFR não apresentaram nenhuma variação na pressão arterial, chegando a ser semelhante ao grupo CO. É sabido que a desnutrição proteica intrauterina promove aumento da pressão arterial sistólica nos filhotes com idade de 4 semanas após o desmame, quando comparados aos seus respectivos controles. O fenômeno foi observado tanto nos machos quanto nas fêmeas (LANGLEY-EVANS; PHILLIPS; JACKSON, 1994). A restrição alimentar de 30% durante a fase intrauterina também foi capaz de aumentar a PAS, os níveis plasmáticos de insulina e leptina da prole ao 100 dias de idade (VICKERS et al., 2000). Outro estudo com o modelo de restrição proteico-calórica, durante 6 semanas em ratos, mostraram aumento dos níveis de catecolaminas (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980). Na gênese de patologias cardiovasculares, como a hipertensão e hipertrofia cardíaca, é observado aumento da atividade simpática e dos níveis circulantes de catecolaminas (ESLER; KAYE, 2000). A hipertensão gerada pela desnutrição pode ser consequência além do

aumento da atividade simpática, pela disfunção endotelial (DE BELCHIOR et al., 2012), é sabido que alteração endotelial é uma característica precoce associada a desnutrição fetal, que está associada a resistência à insulina e desenvolvendo a hipertensão (GOODFELLOW et al., 1998).

Por outro lado, as fêmeas na fase adulta não apresentaram nenhuma alteração pressórica, mostrando provável fator cardioprotetor inerente ao sexo. Estudo com modelo de restrição proteica de 9% durante 14 dias na fase adulta, não promoveu alterações na PAS em fêmeas (LANGLEY-EVANS; PHILLIPS; JACKSON, 1994). Sabe-se que existem diferenças nas respostas cardiovasculares entre os sexos, e no geral as mulheres acabam sendo mais protegidas de doenças cardíacas do que os homens, e o estrogênio atua como um importante fator cardioprotetor (CRESCIOLI, 2021). Nesse sentido, recentemente mostramos que o estrógeno de fato apresenta efeito cardioprotetor em fêmeas pertencentes a prole de mães obesas, quando comparadas com seus irmãos machos. No referido estudo, os filhotes machos desenvolveram disfunção cardíaca e não foram constatadas nas fêmeas (ARAÚJO et al., 2022).

A fim de saber como estaria o funcionamento de um dos mecanismos responsáveis pelo controle da pressão arterial, realizamos o teste do barorreflexo. Foi observado que tanto os machos MFR e SFR apresentaram diminuição na sensibilidade dos barorreceptores. Entretanto ao avaliar as fêmeas, não encontramos nenhuma alteração no barorreflexo. Isso mostra que a restrição alimentar moderada durante a lactação foi capaz de gerar hipertensão arterial e diminuir a sensibilidade na prole na fase adulta dos machos, e novamente que as fêmeas não apresentaram alterações. É sabido que indivíduos e animais hipertensos apresentam redução da sensibilidade do barorreflexo devido a disfunção autonômica, com desequilíbrio simpátovagal em relação a hiperatividade simpática (JOHNSON, 2019).

Corroborando os dados pressóricos, observamos aumento da fibrose intersticial, perivascular e da espessura dos cardiomiócitos nos machos MFR, quando comparado ao grupo CO. Contudo, nas fêmeas não encontramos nenhuma alteração histológica. Isso mostra que os machos MFR apresentaram remodelamento cardíaco. A fibrose cardíaca é o acúmulo de proteínas da matriz extracelular na musculatura cardíaca, e é encontrado em doença cardíaca hipertensiva. O aumento da deposição de colágeno gera desarranjo na arquitetura do miocárdio, promove rigidez da câmara principalmente no ventrículo esquerdo e promove prejuízo da função cardíaca causando anormalidades

da condução de sinal e disfunção sistólica e diastólica ventricular e atrial (FRANGOIANNIS, 2019; NWABUO; VASAN, 2020).

No modelo de restrição alimentar moderada encontramos menor resposta contrátil em anéis intactos, com ou sem o PVAT. Entretanto, em anéis cujo endotélio foi lesionado, observamos uma ampliação na resposta contrátil na ausência de PVAT, quando comparado ao grupo CO. Estudo com modelo de desnutrição pós-desmame mostrou que os animais apresentaram aumento da pressão arterial sistólica e disfunção endotelial (DE BELCHIOR et al., 2012). O quadro de hipertensão devido a desnutrição tem sido associado ao comprometimento da função endotelial (DE BELCHIOR et al., 2012) e/ou aumento da atividade simpática (FERREIRA et al., 2022). Além da disfunção endotelial, o PVAT também possui influência na contratilidade dos vasos, onde estudos mostraram que a administração de angiotensina II e fenilefrina na aorta diminuíram a resposta contrátil após a sua remoção (LÖHN et al., 2002). É sabido que a disfunção vascular pode ser mediada pela inflamação do tecido adiposo, entretanto a resposta funcional do PVAT, principalmente na regulação do tônus vascular, depende da sua integridade para evitar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (AGABITI-ROSEI et al., 2018; HUANG CAO; STOFFEL; COHEN, 2017).

A figura 37 resume os principais efeitos observados em machos e fêmeas CO, MFR e SFR durante a lactação e a fase adulta.

| Resultados                                 | CO ♂                                 | MFR ♂   | SFR ♂  | CO ♀                                 | MFR ♀   | SFR ♀   |
|--|--------------------------------------|---|--|--------------------------------------|---|---|
| Massa corporal (lactação)                  | ↑ massa corporal                     | ↓ massa corporal  | ↓ ↓ massa corporal   | ↑ Ganho de massa corporal            | ↓ massa corporal  | ↓ ↓ massa corporal                                |
| Massa corporal e crescimento (fase adulta) | ↑ massa corporal; Crescimento normal | ↑ massa corporal, chegando ao peso do grupo CO; Crescimento normal;       | ↓ ↓ massa corporal, quando comparado ao MFR e CO; Retardo no crescimento | ↑ massa corporal; Crescimento normal | Variações do ganho de massa corporal; Crescimento normal                  | ↓ ↓ massa corporal, quando comparado ao MFR e CO; |
| Ecocardiograma (parâmetros morfológicos)   | Inalterado                           | Inalterado  | ↓ DIVEs e DIVEs  | Inalterado                           | Inalterado  | ↓ SIVd  |
| Ecocardiograma (parâmetros funcionais)     | Inalterado                           | Inalterado  | ↓ VSF, VDF, VS e DC  | Inalterado                           | Inalterado  | ↓ VS  |
| Registro invasivo                          | Inalterado                           | ↑ PAS, PAD e PAM  | Inalterado   | Inalterado                           | Inalterado  | Inalterado  |
| Sensibilidade do barorreflexo              | Inalterado                           | ↓ da sensibilidade  | ↓ da sensibilidade   | Inalterado                           | Inalterado  | Inalterado  |
| Histologia do coração                      | Inalterado                           | Remodelamento cardíaco  | Inalterado   | Inalterado                           | Inalterado  | Inalterado  |
| Reatividade Vascular                       | Inalterado                           | ↓ Constrição (com endotélio e PVAT); ↑ Constrição (sem endotélio e PVAT); | Inalterado   | Inalterado                           | ↓ Constrição (com endotélio e PVAT); ↑ Constrição (sem endotélio e PVAT); | Inalterado  |

Figura 37. Resumo dos resultados encontrados na prole de progenitoras CO, MFR e SFR.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Em suma, nossos dados mostram que a restrição alimentar moderada durante a lactação é mais prejudicial para a função e morfologia cardíaca nos machos adultos, do que a restrição alimentar severa, gerando quadro de hipertensão arterial e disfunção vascular, e as fêmeas provavelmente não desenvolvem alterações pressóricas devido ao fator cardioprotetor conferido pelo estrógeno. Entretanto, ainda é necessário avaliar os possíveis mecanismos envolvidos na hipertensão gerada pela restrição alimentar moderada.

## REFERÊNCIAS

ACCORSI-MENDONÇA, D.; MACHADO, B. H. Synaptic transmission of baro- and chemoreceptors afferents in the NTS second order neurons. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 175, n. 1–2, p. 3–8, 2013.

AGABITI-ROSEI, C. et al. Modulation of Vascular Reactivity by Perivascular Adipose Tissue (PVAT). **Current Hypertension Reports**, v. 20, n. 5, 2018.

AGNOUX, A. M. et al. Perinatal protein restriction affects milk free amino acid and fatty acid profile in lactating rats: Potential role on pup growth and metabolic status. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 7, p. 784–795, 2015.

AHIMA, R. S.; PRABAKARAN, D.; FLIER, J. S. Postnatal Leptin Surge and Regulation of Circadian Rhythm of Leptin by Feeding. **Theriogenology**, v. 76, n. 6, p. 1022–1026, 2011.

AHLMA, R. S. et al. **Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting** *Nature*, 1996.

ALDEN, P. B. et al. Left ventricular function in malnutrition. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 253, n. 2, 1987.

ARAÚJO, L. et al. Maternal postnatal early overfeeding induces sex-related cardiac dysfunction and alters sexually hormones levels in young offspring. v. 103, 2022.

BARASH, I. A. et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. **Endocrinology**, v. 137, n. 7, p. 3144–3147, 1996.

BEREITER, D. A.; JEANRENAUD, B. Altered neuroanatomical organization in the central nervous system of the genetically obese (ob/ob) mouse. **Brain Research**, v. 165, n. 2, p. 249–260, 1979.

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, 2017.

BING, O. H.; FANBURG, B. L. **The influence of dietary protein deficiency on the performance of isolated muscle preparations from the rat left ventricle**, 1985.

BORNSTEIN, S. R. et al. Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: Leptin inhibits cortisol release directly. **Diabetes**, v. 46, n. 7, p. 1235–1238, 1997.

CHRISTIANS, J. K.; SHERGILL, H. K.; ALBERT, A. Y. K. Sex-dependent effects of prenatal food and protein restriction on offspring physiology in rats and mice: systematic review and meta-analyses. **Biology of Sex Differences**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2021.

CICOGNA, A. C. et al. Effects of protein-calorie restriction on mechanical function of hypertrophied cardiac muscle. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 72, n. 4, p. 436–440, 1999.

CRESCIOLI, C. The role of estrogens and vitamin D in cardiomyocyte protection: A female perspective. **Biomolecules**, v. 11, n. 12, 2021.

DA SILVA LIMA, N. et al. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 9, p. 1405–1413, 2011.

DE BELCHIOR, A. C. S. et al. Post-weaning protein malnutrition increases blood pressure and induces endothelial dysfunctions in rats. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. 1–9, 2012.

DE LOLIO, C. A. Epidemiologia da hipertensão arterial. **Revista de Saude Publica**, v. 24, n. 5, p. 425–432, 1990.

DE OLIVEIRA, J. C. et al. Low-protein diet in puberty impairs testosterone output and energy metabolism in male rats. **Journal of Endocrinology**, v. 237, n. 3, p. 243–254, jun. 2018.

DOBACZEWSKI, M.; GONZALEZ-QUESADA, C.; FRANGOGIANNIS, N. G. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, n. 3, p. 504–511, 2010.

ESLER, M.; KAYE, D. Sympathetic nervous system activation in essential hypertension, cardiac failure and psychosomatic heart disease. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 35, n. SUPPL. 4, 2000.

FERREIRA, A. R. O. et al. Protein Restriction in the Peri-Pubertal Period Induces Autonomic Dysfunction and Cardiac and Vascular Structural Changes in Adult Rats. **Frontiers in Physiology**, v. 13, abr. 2022.

FILIPOVIĆ, M.; ĐORIĆ, M. The Left or the Right: Old Paradigms and New Governments. **Serbian Political Thought**, v. 2, n. 1–2, p. 121–144, 2010.

FRANGOGIANNIS, N. G. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 65, n. July, p. 70–99, 2019.

GOODFELLOW, J. et al. Endothelial function is impaired in fit young adults of low birth weight. **Cardiovascular Research**, v. 40, n. 3, p. 600–606, 1998.

GRIGOR, M. R. et al. Effect of dietary protein and food restriction on milk production and composition, maternal tissues and enzymes in lactating rats. **Journal of Nutrition**, v. 117, n. 7, p. 1247–1258, 1987.

HONVO-HOUÉTO, E.; TRUCHET, S. Indirect Immunofluorescence on Frozen Sections of Mouse Mammary Gland. **Journal of Visualized Experiments**, n. 106, dez. 2015.

HOWIE, G. J.; SLOBODA, D. M.; VICKERS, M. H. Maternal undernutrition during critical windows of development results in differential and sex-specific effects on postnatal adiposity and related metabolic profiles in adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 2, p. 298–307, 2012.

HUANG CAO, Z. F.; STOFFEL, E.; COHEN, P. Role of Perivascular Adipose Tissue in Vascular Physiology and Pathology. **Hypertension**, v. 69, n. 5, p. 770–777, 2017.

HUMERES, C.; FRANGOIANNIS, N. G. Fibroblasts in the Infarcted, Remodeling, and Failing Heart. **JACC: Basic to Translational Science**, v. 4, n. 3, p. 449–467, 2019.

JIANG, X.; CHEN, Y.; WANG, J. Global Food Security under COVID-19: Comparison and Enlightenment of Policy Responses in Different Countries. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2850, nov. 2021.

JOHNSON, H. M. Anxiety and Hypertension: Is There a Link? A Literature Review of the Comorbidity Relationship Between Anxiety and Hypertension. **Current Hypertension Reports**, v. 21, n. 9, p. 22–26, 2019.

KERMACK, W. O.; MCKENDRICK, A. G.; MCKINLAY, P. L. Death-Rates in Great Britain and Sweden Some General Regularities and Their Significance. **The Lancet**, v. 223, n. 5770, p. 698–703, 1934.

KLEBANOV, S.; HERLIHY, J. T.; FREEMAN, G. L. Effect of long-term food restriction on cardiac mechanics. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 273, n. 5 42-5, p. 2333–2342, 1997.

KLIEWER, R. L.; RASMUSSEN, K. M. Malnutrition during the reproductive cycle: Effects on galactopoietic hormones and lactational performance in the rat. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, n. 6, p. 926–935, 1987.

KULSKI, J. K.; HARTMANN, P. E. CHANGES IN HUMAN MILK COMPOSITION DURING THE INITIATION OF LACTATION. v. 59, p. 101–114, 1980.

LANGLEY-EVANS, S. C.; PHILLIPS, G. J.; JACKSON, A. A. In utero exposure to maternal low protein diets induces hypertension in weanling rats, independently of maternal blood pressure changes. **Clinical Nutrition**, v. 13, n. 5, p. 319–324, 1994.

LEE, S.; KELLEHER, S. L. Biological underpinnings of breastfeeding challenges: The role of genetics, diet, and environment on lactation physiology. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 311, n. 2, p. E405–E422, 2016.

LÖHN, M. et al. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. **The FASEB Journal**, v. 16, n. 9, p. 1057–1063, 2002.

NUTTER, D. O. et al. The effect of chronic protein-calorie undernutrition in the rat on myocardial function and cardiac function. **Circulation Research**, v. 45, n. 1, p. 144–152, 1979.

NWABUO, C. C.; VASAN, R. S. Pathophysiology of Hypertensive Heart Disease: Beyond Left Ventricular Hypertrophy. **Current Hypertension Reports**, v. 22, n. 2, 2020.

OELKRUG, R.; POLYMEROPOULOS, E. T.; JASTROCH, M. Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 185, n. 6, p. 587–606, 2015.

PISSAIA, O.; ROSSI, M. A.; OLIVEIRA, J. S. M. The heart in protein-calorie malnutrition in rats: morphological, electrophysiological and biochemical changes. **Journal of Nutrition**, v. 110, n. 10, p. 2035–2044, 1980.

RAVELLI, G.-P. RAVELLI, G.P; STEIN, Z.A; SUSSER, M.W. Obesity in young men after famine exposure. **The New England Journal of Medicine**, v. 295, 1976.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, nov. 1993.

RIBEIRO-SILVA, R. DE C. et al. Implicações da pandemia COVID-19 para a segurança alimentar e nutricional no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 9, p. 3421–3430, set. 2020.

RODRIGUEZ-GONZALEZ, G. L. et al. Importance of the lactation period in developmental programming in rodents. **Nutrition Reviews**, v. 78, p. 32–47, 2020.

SAWAYA, A. L. et al. Association between chronic undernutrition and hypertension. **Maternal and Child Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 155–163, 2005.

SESSO, R. et al. Malnutrition is associated with increased blood pressure in childhood. **Nephron - Clinical Practice**, v. 97, n. 2, p. 61–67, 2004.

SILVEIRA, P. P. et al. Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 6, p. 494–504, 2007.

SVED, A.; GORDON, F. Amino Acids as Central Neurotransmitters in the Baroreceptor Reflex Pathway. **Physiology**, v. 9, n. 6, p. 243–246, 1994.

VERHEY, J. L.; PAR, S. Binaural frequency selectivity in humans. **European Journal of Neuroscience**, v. 51, n. 5, p. 1179–1190, mar. 2020.

VICKERS, M. H. et al. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 279, n. 1 42-1, p. 83–87, 2000.

WATTEZ, J. S. et al. Maternal perinatal undernutrition modifies lactose and serotranferrin in milk: Relevance to the programming of metabolic diseases? **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 308, n. 5, p. E393–E401, 2015.

WIDDOWSON, E. M.; MCCANCE, R. A. Some effects of accelerating growth. I. General somatic development. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers of a Biological character. Royal Society (Great Britain)**, v. 152, p. 188–206, 1960.

WU, R. et al. The postnatal leptin surge is critical for the transient induction of the developmental beige adipocytes in mice. 2020.