



Alessandra Gonçalves da Cruz

**Efeitos da infusão central crônica de leptina em
parâmetros reprodutivos de descendentes machos
de ratas com hiperglicemia moderada e nutrição
inadequada**

**Effects of chronic central leptin infusion on
reproductive parameters of male offspring of dams
with mild hyperglycemia and inadequate nutrition**

São Paulo

2021

Alessandra Gonçalves da Cruz

Efeitos da infusão central crônica de leptina em parâmetros reprodutivos de descendentes machos de ratas com hiperglicemia moderada e nutrição inadequada

Effects of chronic central leptin infusion on reproductive parameters of male offspring of dams with mild hyperglycemia and inadequate nutrition

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências, na Área de Fisiologia Geral.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Inhasz Kiss

São Paulo

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a) no formulário:
'<https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php>'

Cruz, Alessandra Gonçalves da
Efeitos da infusão central crônica de leptina em
parâmetros reprodutivos de descendentes machos de ratas
com hiperglicemia moderada e nutrição inadequada /
Alessandra Gonçalves da Cruz ; orientadora Ana Carolina
Inhasz Kiss -- São Paulo, 2021.
62 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em
Fisiologia.

1. hiperglicemia. 2. leptina. 3. reprodução. 4. descendente.
5. nutrição inadequada. I. Kiss, Ana Carolina Inhasz, orient.
II. Título.

Bibliotecária responsável pela catalogação:
Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

Comissão Julgadora:

Àqueles que sempre sonharam junto comigo: Joverci e Reverando. Obrigada por
fazerem por mim até o que parecia impossível.

“Uma pequena mudança
Às vezes traz esperança
E faz a gente seguir”

*Sendo eu um aprendiz,
Bráulio Bessa*

Agradecimentos

Aos meus pais, Joverci e Reverando, por serem fonte de inspiração pra mim. Obrigada pelo amor, carinho e confiança incondicionais. Vocês confiaram e investiram na minha formação e me deram o acesso à educação que vocês não puderam ter, pois sempre acreditaram que isso me transformaria. Eu não teria chegado até aqui se não fosse pelos seus esforços, sacrifícios e todas as coisas que abdicaram. Vocês me fortaleceram nas minhas dificuldades e me incentivaram nos momentos difíceis. A vocês, sou eternamente grata por tudo que sou.

Aos meus irmãos, Cristiane, Welber e Luiz Fernando; e aos meus sobrinhos, Maria Eduarda, Ana Laura e Lorenzo. A todos os finais de semana que eu voltava para a casa dos nossos pais e renovavam minhas energias para começar de novo a semana. Por todas as vezes que foram até Botucatu me dar colo quando eu não podia ir vê-los. Obrigada por entenderem minha ausência e comemorarem comigo cada passo da minha trajetória.

À minha orientadora Profa. Dra. Ana Carolina Inhasz Kiss. Ana, você foi peça chave para que eu ingressasse na pesquisa e na pós-graduação. A sua orientação sempre presente me fez acreditar que eu poderia evoluir e alcançar meus objetivos. Todas as vezes que foi para a bancada conosco me inspiravam a continuar. Obrigada por sempre estar aberta a me ouvir e trabalhar nos meus erros e acertos. Ser sua aluna me proporcionou o conhecimento que tenho hoje e representa uma parcela muito importante da minha formação.

À minha colega de mestrado, Giovana. Gi, você é minha metade na ciência. Trabalhamos juntas desde a iniciação científica e encontrei na minha colega de bancada, uma amiga pra vida. Você esteve presente em todos os passos da minha jornada na pesquisa e me fez admirar o seu encanto pela educação. Obrigada por ser meu furacão, a extensão das minhas ideias e minha fornecedora oficial de chocolate para os dias cinzas.

Aos meus colegas do Laboratório de Reprodução e Metabolismo (LabReM), Gustavo, Jéssica e Larissa, por toda ajuda nos experimentos. A execução desse projeto só foi possível pela dedicação de vocês e a sincronia da nossa parceria. Sem isso, fazer

experimentos em todos os períodos do dia durante a pandemia teria sido uma tarefa muito mais árdua, se não impossível. Um agradecimento especial à Marina, que me auxiliou, e muito, na minha escrita e sempre foi muito paciente em me ensinar.

Aos meus amigos, André, Evelyn, Gabriela, Jéssica e Vitor. Prins, vocês são essenciais. Botucatu não teria sido a mesma se não fosse pela presença de vocês. Me ouviram explicar inúmeras vezes sobre meu projeto, mesmo sem entenderem; e, todas as vezes que algo dava errado, me lembravam o porquê comecei e porque eu deveria continuar. Vocês são tanto a minha luz no fim do túnel quanto minha fuga para as colinas. Obrigada por estarem sempre comigo, torcendo, apoiando, tropeçando (“até aí tudo bem”) e dividindo essa fase da minha vida. Amo cada um de vocês.

Aos meus amigos mais antigos, Bruno, Gabrielle e Jaque. Não sei se vocês entendiam o que eu dizia que queria ser quando eu crescesse, mas me impulsionaram a me tornar o que sou. Desde bem antes do vestibular até agora na pós-graduação. Saber que posso fechar os olhos e pedir pra qualquer um de vocês contar minha história é um dos melhores sentimentos que tenho por vocês, além de muito amor.

Ao Vinícius e ao Maycon, pelos momentos passados na copa, as risadas que demos no departamento e as vezes que apareciam no vidro da porta do laboratório.

À minha filha felina, Asa Maria. Você chegou pra mim no meio de um tornado de sentimentos, mudanças de rotina e adaptações a nova normalidade e se fez presente do início ao fim da redação desse trabalho.

Às Profas. Dras. Clélia Akiko Hiruma-Lima, Lúcia Regina Machado da Rocha e Silvia Mitiko Nishida pela oportunidade de ter participado do curso de férias *Reprodução de A a Z*. Foi uma experiência ímpar na minha formação profissional e pessoal. Espero que continuem tendo muito sucesso com o projeto e desejo contribuir muitas outras vezes.

Também gostaria de agradecer às Profas. Dras. Barbara Woodside e Daniela Cristina Ceccatto Gerardin. Muito obrigada pelo tempo que dispenderam para ajudar na metodologia do projeto e na análise e discussão dos dados. A contribuição de vocês foi fundamental.

À Comissão Julgadora da Dissertação por se dispuserem a contribuir com comentários e avaliações para uma melhor conclusão desse trabalho.

À Comissão Examinadora do Exame de Qualificação: Profas. Dras. Renata Guimarães Moreira Whitton, Marianne Orlandini Klein e Daniela Cristina Ceccatto Gerardin. Todas as sugestões que vocês fizeram nesse momento foram de grande ajuda para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu, por ter sido minha casa desde o início da minha graduação e possibilitar a realização dos meus experimentos da iniciação científica e do mestrado em suas estruturas. Também, aos funcionários do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional – Setor Fisiologia pelos serviços administrativos e pelos cuidados com os animais.

Ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências (Fisiologia Geral) por me receber como aluna e me dar a assistência necessária para o recebimento desse título.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 130238/2019-8) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo 2019/01306-2) pelo suporte financeiro.

Sumário

Resumo	11
<i>Abstract</i>	13
Introdução	15
Objetivos.....	26
Materiais e Métodos	27
Resultados.....	33
Discussão	36
Conclusões.....	39
Referências Bibliográficas.....	40
Anexos e Apêndices	52
Biografia	59
Certificado do Comitê de Ética	61
Solicitação de Alteração de Título.....	62

Resumo

Diversos estudos mostram que a presença do diabetes e de condições nutricionais inadequadas no organismo materno podem levar a alterações nas funções reprodutivas dos descendentes. No entanto, os efeitos da associação de ambos os fatores maternos na reprodução dos descendentes ainda não foram explorados. Além disso, a leptina tem um papel fundamental na modulação da função reprodutiva e seus níveis séricos estão alterados na presença de alterações metabólicas e nutricionais maternas. No entanto, também não há estudos na literatura sobre os efeitos da leptina no comportamento sexual e trato reprodutor de descendentes de ratas com hiperglicemia moderada associada à nutrição inadequada durante a prenhez e a lactação. Dessa maneira, nosso objetivo foi avaliar os efeitos da infusão central crônica de leptina em parâmetros reprodutivos de descendentes machos de ratas com hiperglicemia moderada com nutrição inadequada durante a prenhez e a lactação. Para isso foram utilizadas fêmeas *Sprague-Dawley* distribuídas em dois grupos no dia de prenhez (DP) 0: Controle, que recebeu dieta padrão, e Dieta que, além da dieta padrão, recebeu *snacks* (batata *chips* e solução de sacarose 1,5% com sabor artificial de frutas vermelhas do DP 0 ao dia de lactação (DL) 14. No DP 7, a hiperglicemia moderada durante a prenhez foi induzida por meio da administração intraperitoneal de 35 mg/ kg de *streptozotocin* (STZ) diluído em tampão citrato 0,1 M e pH 4,5 em parte das fêmeas prenhes que compunham os dois grupos. Dessa forma, formaram-se os grupos: Controle, Controle-Dieta, STZ e STZ-Dieta. Por volta do DP 21, as fêmeas pariram e as ninhadas foram padronizadas para 4 machos e 4 fêmeas no dia pós-natal (DPN) 1. Por volta do DPN 82, dois machos de cada ninhada passaram pela cirurgia de estereotaxia para implantação de uma cânula no ventrículo lateral cerebral conectada a uma bomba osmótica para liberação de salina ou leptina (1 µg/dia) durante 7 dias consecutivos. Dessa forma, os grupos experimentais dos descendentes foram formados de acordo com o metabolismo materno (normo ou hiperglicêmica), nutrição materna (dieta padrão ou dieta padrão + *snacks*) e tratamento (salina ou leptina). Após o fim da infusão ICV crônica, os animais foram submetidos aos testes de preferência sexual com um macho e uma fêmea receptiva, seguido pelo protocolo com uma fêmea receptiva e uma não-receptiva. No dia seguinte, foi realizado o comportamento sexual dos animais. Após o fim das avaliações comportamentais, os animais foram anestesiados e mortos para a coleta das estruturas do trato reprodutor. Todos os procedimentos foram aprovados pela

Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA- IBB (protocolo 1134). Nossos resultados mostraram que a presença da hiperglicemia materna e a dieta inadequada foram capazes de modificar o trato reprodutor e comportamento sexual dos descendentes machos. No entanto, não houve maiores repercussões da associação da hiperglicemia à dieta inadequada nos parâmetros avaliados. Além disso, apesar de o tratamento central com leptina também ter modificado parâmetros do trato reprodutor e ter causado alterações na preferência sexual, não houve interação da infusão central de leptina com o estado metabólico ou nutricional materno. Em conclusão, ao contrário da hipótese inicial, a associação da hiperglicemia materna moderada com a nutrição inadequada não refletiu em maiores repercussões na reprodução dos descendentes, sejam comportamentais ou morfológicas. Tanto a hiperglicemia materna quanto a dieta modificaram aspectos do comportamento sexual e dos órgãos do trato reprodutor dos descendentes, sem modificar a preferência sexual. A ação central da leptina ocorreu de forma independente dos fatores maternos estudados, não estando sua ação associada à melhora, ou não, das alterações reprodutivas de descendentes de mães hiperglicêmicas ou que ingeriram uma dieta inadequada durante a prenhez e lactação. Cabe ressaltar que diferentes amostras biológicas foram coletadas e armazenadas durante o presente estudo para futura avaliação dos níveis séricos de testosterona, análise da histologia testicular e contagem espermática. Essas avaliações podem evidenciar alterações e auxiliar na compreensão de forma mais completa das repercussões dos fatores estudados para a reprodução dos descendentes.

Palavras-chave: hiperglicemia; leptina; reprodução; descendente; nutrição inadequada.

Abstract

Several studies show that the presence of maternal diabetes and inadequate nutritional conditions can lead to changes in the offspring reproductive functions. However, the effects of the association of both maternal factors in the offspring reproduction has not yet been explored. Furthermore, leptin has a fundamental role in the modulation of the reproductive function and its serum levels are altered in the presence of maternal metabolic and nutritional impairments. However, there are no studies in the literature regarding the effects of leptin on the sexual behavior and reproductive tract of offspring of dams with hyperglycemia and inadequate diet during pregnancy and lactation. Thus, our aim was to evaluate the effects of chronic central leptin infusion on the male offspring reproductive parameters of dams with mild hyperglycemia and inadequate nutrition during pregnancy and lactation. To do so, pregnant Sprague-Dawley female rats were divided into two groups on pregnancy day (PD) 0: Control, which received standard diet, and Diet which, in addition to the standard diet, received snacks (potato chips and 1.5% sucrose solution with artificial red fruit flavor from PD 0 to lactation day (LD) 14. On PD 7, mild hyperglycemia was induced by intraperitoneal administration of 35 mg/kg of streptozotocin (STZ) diluted in 0.1 M citrate buffer and pH 4.5 in part females from both experimental groups. Thus, the following groups were formed: Control, Control-Diet, STZ and STZ-Diet. Around PD 21, the females gave birth and, on postnatal day (PND) 1 the litters were culled to 4 males and 4 females. Around DPN 82, two males from each litter underwent stereotaxic surgery for implantation of a cannula in the lateral cerebral ventricle connected to an osmotic pump releasing saline or leptin (1 µg/day) for 7 consecutive days. Thus, offspring were divided into experimental groups according to maternal metabolism (normal or hyperglycemic), maternal nutrition (standard diet or standard diet + snacks) and treatment (saline or leptin). The day following the end of the chronic ICV infusion, the sexual preference test was conducted with a receptive male and a receptive female, followed by the protocol with one receptive and one non-receptive female. The next day, the sexual behavior analysis was performed. After the end of the behavioral assessments, the animals were anesthetized, killed and the reproductive tract was evaluated. All procedures were approved by the Ethics Committee on Animal Use CEUA-IBB (protocol 1134). Our results showed that the presence of maternal hyperglycemia and inadequate nutrition were able to modify the reproductive tract and

sexual behavior of male offspring. However, there were no major repercussions of the association of maternal hyperglycemia with inadequate nutrition in the evaluated parameters. Furthermore, although central leptin treatment modified some aspects of the reproductive tract and changed the sexual preference, there were no further effects associated with maternal metabolic or nutritional status. In conclusion, contrary to the initial hypothesis, the association of maternal mild hyperglycemia and inadequate nutrition did lead to further impairments offspring behavioral or morphological reproductive aspects. Both maternal hyperglycemia and nutrition changes some aspects of offspring sexual behavior and reproductive tract, without affecting sexual preference. Plus, those changes were not modulated by leptin central treatment. It is noteworthy that several biological samples were collected and stored during the present study for future assessment of serum testosterone levels, testicular histological analysis and sperm count. The results obtained with the evaluation of those parameters can help to provide a broader view of the effects of the studied maternal factors and central leptin to offspring reproduction.

Keywords: *hyperglycemia; leptin; reproduction; offspring; inadequate nutrition.*

Introdução

A fisiologia e o comportamento reprodutivo requerem o desenvolvimento adequado dos órgãos reprodutivos e de substratos neurais específicos regulados por hormônios (MOLENDÁ et al., 2003). Assim, a integração adequada de processos sensoriais, neurais e hormonais possibilitam a percepção de estímulos sexuais (MOLINA-JIMÉNEZ et al., 2019). A importância das influências hormonais no desenvolvimento do comportamento reprodutivo pode ser exemplificada pelo o que ocorre no desenvolvimento do núcleo sexualmente dimórfico da área pré-óptica medial (mPOA) no hipotálamo, envolvido no controle do comportamento sexual em roedores. Estudos revelam que ocorre a masculinização da região a partir da conversão de testosterona em estradiol pela enzima aromatase durante o desenvolvimento. O estradiol, então, atua nessa região, resultando no aumento do volume e da densidade celular, que chega a ser de três a quatro vezes maior em machos (MOLENDÁ et al., 2003). Isso mostra que hormônios esteroides, como andrógenos e estrógenos, possuem um papel essencial no desempenho do comportamento sexual masculino e também em seu componente motivacional (MOLINA-JIMÉNEZ et al., 2019).

Os hormônios esteroides exercem efeitos tanto na reprodução quanto no desenvolvimento e crescimento do organismo. Esses efeitos podem ser organizacionais, ocorrendo antes ou logo após o nascimento, como o desenvolvimento da mPOA; ou ativadores, como acontece no início da puberdade (MOLENDÁ et al., 2003). Durante a puberdade, ocorrem diversas alterações no organismo, principalmente relacionadas à maturação dos órgãos reprodutivos e mudanças físicas causadas pelos hormônios esteroides, que culminam no estabelecimento da capacidade reprodutiva e da maturidade sexual (DONATO et al., 2011). Além disso, um fator chave para o início da puberdade é a condição nutricional do organismo, principalmente com relação aos estoques energéticos disponíveis, já que muitas funções reprodutivas são energeticamente dependentes (ELIAS; PUROHIT, 2013).

Assim, a nutrição e a disponibilidade de reservas energéticas de um organismo estão diretamente relacionadas a seu estado metabólico e sua capacidade reprodutiva. O balanço energético é coordenado predominantemente pelo sistema nervoso central, que integra informações do sistema periférico a fim de manter a homeostasia (MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, 2020). Algumas dessas informações periféricas compreendem hormônios,

como a leptina, e exercem efeitos diretos ou indiretos na modulação do eixo reprodutivo, assim como sobre o metabolismo e a ingestão alimentar (CROWN; CLIFTON; STEINER, 2007).

A leptina é um hormônio proteico de 167 aminoácidos produzido e secretado principalmente pelo tecido adiposo branco (CUNNINGHAM; CLIFTON; STEINER, 1999; MALIK; DURAIRAJANAYAGAM; SINGH, 2019), que circula no plasma em concentrações proporcionais à adiposidade do organismo (CUNNINGHAM; CLIFTON; STEINER, 1999), exercendo seus efeitos no sistema nervoso central e em órgãos periféricos (MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, 2020). Logo após sua descoberta, seu papel na homeostase energética e na modulação de outros eixos neuroendócrinos foi evidenciado. Dentre seus efeitos, destacam-se seu papel na regulação da ingestão alimentar e do peso corporal, modulação do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (MALIK; DURAIRAJANAYAGAM; SINGH, 2019), atuação como fator de crescimento (TENA-SEMPERE; BARREIRO, 2002), e suas ações na função reprodutiva (CHEHAB, 2014; GUZMÁN et al., 2019), através da modulação do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (HHG) (CHILDS et al., 2021).

O eixo HHG compreende o hipotálamo, hipófise anterior e as gônadas, representadas pelos testículos no sexo masculino. O controle da reprodução e da ingestão alimentar é feito pelo hipotálamo, que atua como centro de integração de informações para a regulação da homeostase (GUZMÁN et al., 2019), sendo um elemento-chave para ambas as funções e o principal alvo de ação da leptina no sistema nervoso central (TENA-SEMPERE; BARREIRO, 2002). O receptor de leptina (*LEPR*) é um receptor da família de citocinas encontrado em 6 isoformas (ELIAS; PUROHIT, 2013), expresso em núcleos hipotalâmicos específicos (TENA-SEMPERE; BARREIRO, 2002), como o núcleo arqueado (ARC), núcleo pré-mamilar ventral (PMV) (CHILDS et al., 2021) e o núcleo ventromedial (VMN) (CUNNINGHAM; CLIFTON; STEINER, 1999); e também ao longo do eixo HHG (CUNNINGHAM; CLIFTON; STEINER, 1999). A isoforma *LEPR^b* possui uma conformação característica essencial para a ação da leptina no hipotálamo (MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, 2020) e, no contexto da reprodução, a leptina exerce seus efeitos através da estimulação indireta de neurônios do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) localizados no ARC (GUZMÁN et al., 2019), local onde se inicia a ativação do eixo HHG (KHODAMORADI et al., 2020).

A estimulação de neurônios GnRH no hipotálamo passa a ocorrer de maneira pulsátil a partir da puberdade (CLAVIJO; HSIAO, 2018) e, como essa estimulação ocorre

de maneira indireta (CHILDS et al., 2021), foi proposta a atuação de neurônios kisspeptina, que expressam LEPRb (MALIK; DURAIRAJANAYAGAM; SINGH, 2019) e participam da ativação do eixo HHG. Hoje em dia, sabe-se que o sistema kisspeptina atua como modulador positivo de neurônios GnRH e exerce papel na sinalização da disponibilidade de energia, uma vez que é local de ação da leptina, integrando tanto as informações de estoque energético quanto de capacidade reprodutiva do organismo (MECCARIELLO; FASANO; PIERANTONI, 2020). Dessa maneira, a leptina estimula neurônios kisspeptina que, por sua vez, estimulam os neurônios GnRH (MALIK; DURAIRAJANAYAGAM; SINGH, 2019).

Uma vez secretado, o GnRH alcança o sistema porta-hipofisário, um sistema de capilares sanguíneos responsável pela comunicação entre o hipotálamo e a hipófise anterior, e estimula a hipófise anterior a secretar duas gonadotrofinas, o hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH), além de outros hormônios como a prolactina, o hormônio do crescimento e o hormônio estimulador da tireoide (CLAVIJO; HSIAO, 2018). O LH e FSH exercem seus efeitos principalmente em dois tipos específicos de células testiculares: as células de Leydig e as células de Sertoli, respectivamente. As células de Sertoli sofrem ação principal do FSH, que estimula a produção de espermatozoides. Já as células de Leydig, estimuladas pelo LH, são responsáveis pela conversão da molécula de colesterol em testosterona (KHODAMORADI et al., 2020). Ambas as gonadotrofinas atuam na hipófise anterior e no hipotálamo através de *feedback* negativo, para controlar a liberação de gonadotrofinas, modulando o funcionamento do eixo HHG.

Dessa maneira, o sucesso reprodutivo de um organismo depende de um eixo HHG funcional (MOLENDÁ et al., 2003) sintonizado com o meio ambiente e o suprimento de nutrientes disponíveis (SHARPE, 2018). Diversos estudos mostram que várias funções reprodutivas podem ser alteradas sob influência de variações no ambiente pré-natal (GERARDIN et al., 2005; EASTON; REGNAULT, 2020). A exposição materna a desreguladores endócrinos, por exemplo o bisfenol-A, leva a uma diminuição na contagem espermática, redução na área de túbulos seminíferos e de células intersticiais, além de diminuir a concentração plasmática de testosterona dos descendentes (ULLAH et al., 2019). A exposição do organismo materno ao estresse também foi apontada como um fator que diminui o número de células germinativas na prole masculina (BERNHARD et al., 2020). Assim, o desenvolvimento adequado do eixo reprodutivo pode ser

comprometido quando há um desequilíbrio das funções fisiológicas do organismo materno.

Além dos fatores de exposição ambiental citados, a homeostasia do organismo materno é essencial para o correto desenvolvimento do conceito, sendo que desordens metabólicas podem afetar o desenvolvimento intrauterino. A hipertensão materna, por exemplo, foi associada à presença de hipospádia (SHERIFF et al., 2019) e de malformações cardíacas congênitas (RAMAKRISHNAN et al., 2015) na prole. A obesidade, por sua vez, foi descrita como um preditor para o desenvolvimento da síndrome metabólica nos descendentes (POWER; SCHULKIN, 2012). Além delas, o diabetes (TÜRK et al., 2018) e alterações nutricionais devido à má alimentação (DEARDEN; BOURET; OZANNE, 2018) também são descritos como fatores que levam a modificações no organismo materno que impactam o desenvolvimento dos descendentes.

O diabetes é uma desordem metabólica que afeta vários órgãos, caracterizada por hiperglicemia resultante de alterações na secreção e/ou na ação da insulina. Dentre os diversos tipos descritos de diabetes, os mais comuns são o diabetes *mellitus* (DM) tipo 1, tipo 2 e o gestacional. O DM 1 ocorre devido a uma destruição autoimune das células β -pancreáticas, o que geralmente leva a um quadro de deficiência absoluta de insulina e acomete de 5 a 10% da população diabética. (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019). Já o DM 2 é responsável por 90 a 95% dos casos de diabetes, sendo caracterizado por um quadro de resistência à ação da insulina e, em alguns pacientes, perda progressiva da função das células β -pancreáticas (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019), aumentando a síntese de insulina pelas restantes para manter a homeostase glicêmica (KAHN; COOPER; DEL PRATO, 2014; STUMVOLL; GOLDSTEIN; VAN HAEFTEN, 2005).

Quando presente durante a gestação, o diabetes leva a uma série de consequências para os descendentes, tanto a curto quanto a longo prazo (AERTS; VAN ASSCHE, 2006; BURLINA; DALFRÀ; LAPOLLA, 2019). O diabetes durante a gestação pode estar presente na forma de diabetes clínico, quando o DM1 ou DM2 já estava presente no organismo previamente, ou surgir como consequência dos ajustes do organismo materno à gestação, denominado diabetes *mellitus* gestacional (DMG). Durante a gestação, há uma diminuição fisiológica da sensibilidade à insulina no organismo materno, mediada por hormônios produzidos pela placenta (BAEYENS et al., 2016), como o lactogênio placentário e o hormônio de crescimento variante (HILL, 2018), que aumentam a

quantidade de glicose circulante direcionada para suprir as necessidades energéticas do feto em desenvolvimento (NGUYEN-NGO et al., 2019). No entanto, se esse aumento da resistência insulínica for exacerbado, as células β -pancreáticas não conseguem suprir a demanda por insulina do organismo e dá-se início ao quadro de DMG. Esse tipo de diabetes é diagnosticado através do teste de tolerância oral à glicose entre a 24^a e 28^a semana, em mulheres que não apresentam outro quadro de diabetes antes da gestação (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019). O diagnóstico e tratamento adequado do DMG é importante, pois esse distúrbio traz consequências para o descendente tanto no nascimento, como macrossomia (YANG et al., 2019), aumento da adiposidade neonatal (MAHAJAN et al., 2019), hiperglicemia e hiperleptinemia (PLAGEMANN, 2011); bem como na vida adulta, como tendência à obesidade, intolerância à glicose e resistência à insulina (FERNANDEZ-TWINN et al., 2019; PERNG; OKEN; DABELEA, 2019).

Diversos modelos animais são utilizados para estudar as consequências do diabetes durante a gestação, possibilitando entender seus efeitos tanto na mãe quanto na prole. Em roedores, o modelo de administração de *streptozocin* (STZ) se destaca. Sua administração induz a ablação das células β -pancreáticas (LENZEN, 2008) e, por ter uma relação dose-dependente, que pode ser modificada de acordo com o período da vida do animal, essa ablação pode ser total ou parcial, levando a um quadro de hiperglicemia grave ou moderada, respectivamente (CI KISS et al., 2009). Modelos de hiperglicemia grave são caracterizado por glicemia de jejum acima de 300 mg/ dl (CI KISS et al., 2009), quadro que raramente ocorre em humanos. Modelos de hiperglicemia moderada, com glicemia entre 120 e 300 mg/ dl, reproduzem o quadro glicêmico mais comumente encontrado nos pacientes diabéticos (KISS et al., 2012). Quando o STZ é administrado no final da primeira semana de prenhez, leva ao aparecimento de hiperglicemia moderada (OH; GELARDI; CHA, 1988), semelhante, em intensidade e período de surgimento ao de gestantes com DMG, sendo um bom modelo para o quadro hiperglicêmico desse estado patológico.

Os modelos de hiperglicemia grave e moderada levam a alterações materno-fetais, que contribuem para o comprometimento do desempenho reprodutivo de descendentes de mães hiperglicêmicas (CAMARGO et al., 2017), além de resistência hipotalâmica à leptina e à insulina do descendentes, principalmente no ARC (PLAGEMANN, 2011). Dentre as alterações reprodutivas, a presença da hiperglicemia materna pode comprometer o peso, estrutura e a função testicular (ARENDDT et al., 2018), bem como

reduzir os hormônios envolvidos no eixo reprodutivo, como testosterona, FSH e LH (TÜRK et al., 2018). Também foi relatado diminuição na quantidade e na motilidade de espermatozoides e em enzimas antioxidantes testiculares; aumento de espermatozoides com morfologia anormal e da apoptose de células germinativas (BAL et al., 2011). Outras estruturas do trato reprodutivo também são afetadas pelo diabetes materno, como o epidídimo e glândulas acessórias sexuais, que sofrem redução do peso absoluto (TÜRK et al., 2018), além da próstata, que é afetada negativamente em relação a sua maturação e sua atividade secretora (CAMARGO et al., 2017).

Além do metabolismo, as condições nutricionais maternas também possuem um importante papel no desenvolvimento dos descendentes (ALFARADHI; OZANNE, 2011; DEARDEN; BOURET; OZANNE, 2018) e em sua função reprodutiva (JACOBS et al., 2014; SABAU; FERKIN, 2014). Dessa forma, a nutrição inadequada durante a gestação pode agravar as consequências do diabetes gestacional para mães e descendentes. São diversos os modelos empregados para investigar o efeito da nutrição inadequada durante o período gestacional, e qual o seu impacto na vida e reprodução dos descendentes. Estudos feitos com humanos e modelos animais mostram que tanto desnutrição quanto supernutrição, durante a gestação, impactam negativamente a saúde da prole (PLAGEMANN, 2011; PERNG; OKEN; DABELEA, 2019).

Diversos estudos demonstram os efeitos a longo prazo da desnutrição materna para os descendentes. Estudos epidemiológicos que observaram descendentes de gestantes durante o Inverno da Fome na Holanda, em 1944, e que tinham acesso a uma quantidade muito baixa de calorias por dia mostraram que a desnutrição materna, dependendo do momento da gestação em que o organismo materno se encontrava, foi associada a maior incidência de obesidade na vida adulta (STEIN et al., 2019). Em relação à fertilidade dos descendentes, as mulheres tiveram maior incidência de filhos gêmeos em relação às filhas de mães que não foram submetidas à fome, mas a fertilidade dos filhos homens parece não ter sido comprometida (DUPONT et al., 2012).

Baker *et al* também desenvolveram estudos associando a desnutrição materna ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e DM2 na vida adulta dos descendentes (BARKER et al., 1993; HALES; BARKER, 1992). A teoria do fenótipo econômico foi posteriormente concebida para explicar esses achados. Ela propõe que a desnutrição durante a gestação induz ajustes no organismo fetal de forma a prepará-lo para um ambiente pós-natal com escassez de nutrientes e, dessa forma, aumentar suas chances de sobrevivência (HALES; BARKER, 2001; BARNES; OZANNE, 2011). Esses achados

serviram como base para a teoria da Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (DOHaD), que postula a associação de doenças metabólicas na vida adulta a alterações que ocorreram no ambiente intrauterino durante o desenvolvimento (FERNANDEZ-TWINN et al., 2019; HALES; BARKER, 1992).

Para compreender melhor esses achados, foram desenvolvidos diversos modelos animais que mimetizam os efeitos da nutrição materna, a fim de se observar seus impactos no desenvolvimento e na saúde dos descendentes. O uso de modelos animais, nos quais pode-se induzir distúrbios durante a prenhez e, posteriormente, monitorar os resultados fetais e pós-natais, são essenciais (LOPEZ-TELLO et al., 2019). Modelos de desnutrição materna compostos por desnutrição global, restrição proteica e restrição de crescimento uterino são bem descritos na literatura (CHAVATTE-PALMER; TARRADE; ROUSSEAU-RALLIARD, 2016).

Diversos trabalhos experimentais de modelos de subnutrição materna foram realizados ao longo dos anos, como uma maneira de induzir restrição de crescimento fetal (REYNOLDS et al., 2015). Essa abordagem possibilitou a identificação do papel dos nutrientes e dos mecanismos subjacentes envolvidos nos principais efeitos da restrição alimentar materna. Em modelos animais, a desnutrição materna durante a prenhez, além de estar associada ao desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta, também afeta o desenvolvimento do eixo HHG. Dependendo do momento e grau de desnutrição, a resposta da hipófise ao GnRH é alterada, impactando o desenvolvimento e a função gonadal (DUPONT et al., 2012). Reforçando esses achados, *Liang et al* também mostraram que descendentes expostos à desnutrição materna possuíam gônadas menores e concentrações mais baixas de hormônios esteroidais (LIANG; ZHANG; ZHANG, 2004).

No entanto, nos dias atuais, o consumo de dietas de alto valor energético vem aumentando na população (REES, 2019). A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) relatou que, após a crise financeira global de 2008, houve um aumento na ingestão de alimentos não-saudáveis e altamente calóricos, que são mais acessíveis e contribuem para o aumento da prevalência de obesidade, sendo que um dos grupos mais atingidos foram as mulheres em idade reprodutiva (WAHLQVIST et al., 2015). Compreender as consequências do consumo de dietas não-saudáveis para a saúde materna e de seus descendentes tornou-se um desafio para a ciência nutricional, já que tanto a supernutrição quanto a desnutrição podem coexistir (REES, 2019), além de ambas

possuírem mecanismos comuns de programação de vias neurais (WAHLQVIST et al., 2015).

Portanto, é necessário uma ingestão adequada de nutrientes para o desenvolvimento saudável do feto, já que, assim como a desnutrição, a supernutrição pode predispor os descendentes a desenvolverem diversas alterações metabólicas (MCMILLEN et al., 2008; ŞANLI; KABARAN, 2019) e reprodutivas (ZAMBRANO et al., 2014).

A ingestão materna excessiva de nutrientes durante o período fetal é capaz de levar ao crescimento e desenvolvimento fetal anormal, alterações na adipogênese (MAHIZIR et al., 2016), macrossomia (OPIE; NEFF; TIERNEY, 2016; WALKER et al., 2018), hiperinsulinemia e hiperleptinemia perinatal (PLAGEMANN, 2011), além de alterar vias centrais de controle do apetite nos descendentes, com efeitos no comportamento alimentar, resultando em um aumento do apetite, da ingestão energética e adiposidade, alteração das preferências alimentares (ŞANLI; KABARAN, 2019) e desenvolvimento de diabete na vida adulta (HIGGINS; MCAULIFFE, 2018).

Modelos animais facilitam o entendimento dos efeitos da supernutrição materno-fetal (RIBAROFF et al., 2017). Muitos modelos mimetizam um ambiente materno e neonatal supernutrido e as possíveis consequências no balanço energético da prole (REYNOLDS 2015). Dentre eles, há modelos de dietas com alto teor de gordura, do inglês *high-fat diet* (HFD), dietas com alta palatabilidade e densidade calórica, as chamadas dieta de cafeteria e, mais recentemente, dietas compostas por *snacks*, com pouco efeito sobre saciedade, mas que são consumidos em adição à dieta padrão, levando a um aumento da ingestão calórica total.

Utiliza-se o termo *high-fat diet* (HFD) para designar dietas com proporção de gordura de 30 a 85%. Dependendo do protocolo experimental, a gordura pode substituir os carboidratos e proteínas ou pode ser adicionada a uma ração padrão (PINHEIRO-CASTRO et al., 2019). Está bem estabelecido que a ingestão materna de HFD pode contribuir para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos na prole (ZHENG et al., 2020), pois cria um ambiente uterino desfavorável ao desenvolvimento fetal (ELSAKR et al., 2019), com impacto no desenvolvimento e na função placentária (SHARPE, 2018). Como consequência, o descendente pode apresentar aumento de peso ao nascimento e ao longo da vida, aumento na adiposidade, nos níveis séricos de triglicérides, colesterol e insulina (RIBAROFF et al., 2017); e desenvolvimento de obesidade, intolerância à glicose, resistência à insulina (ZHENG et al., 2020), além de hiperfagia (AINGE et al.,

2011) e síndrome metabólica (SHARPE, 2018) na vida adulta. Saben *et al* mostraram que metabólitos associados a esse tipo de dieta também são transferidos diretamente para a prole por meio de alterações na qualidade e/ ou quantidade de leite durante a lactação (SABEN et al., 2014). Além dessas alterações, descendentes de mães alimentadas com HFD durante a prenhez e lactação possuem um início precoce da puberdade, são hiperleptinêmicos e obesos quando adultos, mesmo sem acesso à dieta HFD após o desmame (CONNOR et al., 2012).

Em contrapartida, um tipo de modelo experimental mais próximo à dieta ao que é consumida na sociedade ocidental foi desenvolvido, a chamada dieta de cafeteria. Essa dieta possui alta palatabilidade e densidade calórica, envolvendo a ingestão de alimentos processados como açúcares, laticínios, chocolate, manteiga de amendoim, biscoitos, leite condensado, salsicha e refrigerantes (DE MACEDO; DE FREITAS; DA SILVA TORRES, 2016; PINHEIRO-CASTRO et al., 2019), dentre outros. Por conterem alta quantidade de sal, açúcares e especiarias, esses alimentos são altamente palatáveis (DE MACEDO; DE FREITAS; DA SILVA TORRES, 2016) e, como já demonstrado, seu consumo leva à hiperfagia, através da ingestão hedônica (PINHEIRO-CASTRO et al., 2019). Uma vez que a nutrição materna impacta diretamente o desenvolvimento dos descendentes, o consumo desse tipo de dieta também está relacionado à hiperfagia na vida adulta, aumento de níveis séricos de insulina, leptina (JACOBS et al., 2014), triglicerídeos e de estresse oxidativo (GUEDINE et al., 2020). Existem impactos além dos metabólicos, como alterações comportamentais na prole, com efeitos ansiogênicos (GUEDINE et al., 2020) e déficits na memória (RIBEIRO et al., 2018), além de alterações em parâmetros reprodutivos (JACOBS et al., 2014). A ingestão materna da dieta de cafeteria durante a prenhez possui impacto direto no desenvolvimento do eixo reprodutivo endócrino. Jacobs *et al* mostraram que esses descendentes apresentam redução nas concentrações plasmáticas de testosterona, LH e FSH, além menor frequência de intromissões e diminuição da porcentagem de animais que demonstraram tal parâmetro no comportamento sexual (JACOBS et al., 2014).

Um modelo alternativo à dieta de cafeteria que tem sido implementado é o de *snacks*. O modelo de *snacks* mimetiza a ingestão de alimentos ou bebidas entre as refeições regulares, independentemente de serem uma opção saudável ou não (HESS; JONNALAGADDA; SLAVIN, 2016). Porém, o consumo de *snacks* pobres em nutrientes e com alto teor calórico é considerado prejudicial para o organismo (NJIKE et al., 2016). É importante ressaltar que o modelo de oferecimento de *snacks* impõe uma escolha

influenciada por uma infinidade de fatores, como a capacidade de determinar se os alimentos são ou não saudáveis (NJIKE et al., 2016).

Nas sociedades ocidentais, o padrão alimentar é comumente composto por café da manhã, almoço e jantar, refeições socialmente estruturadas que ocorrem comumente em períodos específicos do dia (BELLISLE, 2014). Porém, entre uma refeição e outra, podem ocorrer outros eventos alimentares que afetam o balanço energético corporal (BELLISLE, 2014). Os *snacks* são frequentemente definidos como alimentos consumidos entre as refeições regulares (NJIKE et al., 2016), induzindo um consumo não-homeostático de energia, que leva à hiperfagia hedônica, ou seja, à ingestão alimentar independente de saciedade (HOCH; PISCHETSRIEDER; HESS, 2014). Contudo, ocorreu uma mudança no padrão de ingestão alimentar baseada em refeições, na qual o consumo de *snacks* vem se tornando comum (HOCH; PISCHETSRIEDER; HESS, 2014).

Alguns alimentos são geralmente mais associados a *snacks*, como bolos, biscoitos, batata *chips*, dentre outros produtos, que são ricos em gordura e carboidratos, com baixo teor de proteínas (WHYBROW et al., 2007). As escolhas alimentares que se baseiam no consumo de *snacks* são preocupantes, já que a ingestão de *snacks* leva a um aumento da ingestão calórica, com o aumento da prevalência de obesidade (BERTÉUS FORSLUND et al., 2005). Um estudo em roedores envolvendo o modelo de duas escolhas, com o oferecimento de ração padrão ou batata *chips*, mostrou que a ingestão dos *snacks* foi capaz de modular circuitos cerebrais que são envolvidos com mecanismos de recompensa e saciedade (HOCH et al., 2013). Assim, esse paradigma parece oferecer uma alternativa para exploração dos componentes alimentares relacionados à ingestão não-homeostática de alimentos (HOCH; PISCHETSRIEDER; HESS, 2014), além de mimetizar uma nutrição inadequada, baseada na alta ingestão calórica entre o período das refeições socialmente regulares.

Os estudos citados mostram claramente os efeitos deletérios de alterações no metabolismo, nutrição materna e balanço energético da prole. Além disso, esses efeitos não estão restritos somente ao metabolismo, podendo impactar também a reprodução desses descendentes. Sabe-se que durante o desenvolvimento intrauterino, alterações maternas podem impactar de forma direta ou indireta (por exemplo, através de alterações metabólicas), o desenvolvimento reprodutivo da prole, potencializando o efeito transgeracional de transmissão dessas alterações (KASPAR et al., 2020; ZAMBRANO et al., 2005). Dessa forma, investigar os aspectos reprodutivos desses descendentes para melhor compreender o impacto dessas alterações é relevante.

Tanto a hiperglicemia quanto a nutrição inadequada materna podem levar a alterações na reprodução dos descendentes. No entanto, os efeitos da associação de ambos os fatores maternos ainda não foram explorados. Além disso, a leptina tem um papel fundamental na modulação da função reprodutiva e seus níveis séricos estão alterados em descendentes de mães com alterações metabólicas e nutricionais. No entanto, também não há estudos na literatura sobre os efeitos da leptina na reprodução desses descendentes. Sendo assim, nosso objetivo é avaliar os efeitos da infusão central crônica de leptina em parâmetros reprodutivos de descendentes machos de ratas com hiperglicemia moderada e nutrição inadequada durante a prenhez e a lactação.

Nossa hipótese é que a hiperglicemia materna associada à nutrição inadequada irá modificar a função reprodutiva dos descendentes machos de maneira mais pronunciada do que as já vistas para modelos experimentais de hiperglicemia materna ou dieta hipercalórica isolados. Além disso, esperamos que a infusão central crônica de leptina contribua para modular os efeitos deletérios já conhecidos na reprodução desses animais.

Objetivos

1. Avaliar os efeitos da hiperglicemia materna associada à nutrição inadequada, durante a prenhez e lactação, no comportamento e preferência sexual e no trato reprodutor de descendentes machos.
2. Avaliar os efeitos da infusão intracerebroventricular de leptina nos parâmetros reprodutivos dos descendentes machos de mães hiperglicêmicas com nutrição inadequada durante a prenhez e a lactação.

Materiais e Métodos

Foram utilizados ratos da linhagem Sprague Dawley mantidos sob condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade ($50 \pm 10\%$), ciclo claro/escuro de 12/12 horas e água e ração à vontade. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Biociências de Botucatu – CEUA/ IBB (protocolo CEUA 1134).

Foram obtidas 52 fêmeas *Sprague-Dawley* prenhes, com a prenhez confirmada por meio da presença de espermatozoide na lâmina de esfregaço vaginal no dia posterior ao acasalamento com machos controles. No dia de prenhez (DP) 0, as ratas foram distribuídas em dois grupos: Controle ($n = 26$), que recebeu somente dieta padrão, e Dieta ($n = 26$) que, além da dieta padrão, recebeu uma suplementação composta por *snacks* (batata *chips* e solução de sacarose 1,5% com sabor artificial de frutas vermelhas do DP 0 ao dia de lactação (DL) 14 (MARTINS, 2021). A ingestão alimentar e o peso corporal materno foram acompanhados diariamente (dados não apresentados, pois referem-se a outro projeto em andamento no laboratório).

O modelo de hiperglicemia durante o período gestacional foi empregado. No DP 7, a hiperglicemia moderada durante a prenhez foi induzida por meio da administração intraperitoneal de 35 mg/ kg de STZ (SIGMA Chemical Company, St. Louis, Millstone) diluído em tampão citrato 0,1 M e pH 4,5 (adaptado de OH; GELARDI; CHA, 1988) em parte das fêmeas prenhes que compunham os grupos Controle e Dieta. Dessa forma, quatro grupos experimentais foram formados: Controle (mães normoglicêmicas e que receberam dieta padrão ($n = 13$)); Controle-Dieta (mães normoglicêmicas e que receberam além da dieta padrão, a dieta composta por *snacks* ($n = 14$)); STZ (mães hiperglicêmicas que receberam dieta padrão ($n = 13$)); e STZ-Dieta (mães hiperglicêmicas que receberam além da dieta padrão, a dieta composta por *snacks* ($n = 12$)).

No DP 18, a intolerância à glicose das fêmeas prenhes que receberam STZ foi confirmada pela realização do teste de tolerância oral à glicose, como descrito previamente por Martins et al (MARTINS et al., 2021). Martins et al mostraram que o oferecimento de *snacks* é eficaz para agravar o quadro de intolerância à glicose de ratas hiperglicêmicas (MARTINS et al., 2021). Nesse trabalho, apenas foram inclusos animais que apresentaram intolerância à glicose nos grupos STZ. Como esperado, o oferecimento

dos *snacks* agravou a intolerância à glicose das ratas hiperglicêmicas, validando o modelo experimental escolhido (dados não apresentados)

Por volta do DP 21, as fêmeas pariram naturalmente e as ninhadas foram padronizadas para 4 machos e 4 fêmeas no dia pós-natal (DPN) 1, a fim de garantir a uniformidade na alimentação e cuidado dos descendentes. As mães tiveram a ingestão alimentar acompanhada diariamente, até o DL 14, juntamente com o peso corporal da mãe e da ninhada, que foi acompanhado até o DL 21, momento em que o desmame foi realizado (dados não apresentados, pois fazem parte de outro projeto em andamento no laboratório).

Após os desmame, os animais foram separados de acordo com o sexo e mantidos em caixas que continham 4 machos ou 4 fêmeas de cada ninhada até alcançarem a vida adulta, por volta do DPN 75. Após o DPN 75, os descendentes machos foram individualizados para início dos experimentos, enquanto as fêmeas foram direcionadas para outros projetos do laboratório.

Para avaliar os efeitos da infusão central crônica de leptina no comportamento e preferência sexuais e seus efeitos no trato reprodutor masculino, foram utilizados dois descendentes machos escolhidos de forma aleatória dentro de cada ninhada. Cada um dos machos foi designado para um tipo de tratamento e, assim, foram formados 8 grupos experimentais:

- Controle Salina: machos descendentes de mães normoglicêmicas com dieta padrão que receberam infusão central crônica de salina (n = 12);
- Controle Leptina: machos descendentes de mães normoglicêmicas com dieta padrão que receberam infusão central crônica de leptina (n = 13).
- Controle-Dieta Salina: machos descendentes de mães normoglicêmicas com dieta padrão e de *snacks* que receberam infusão central crônica de salina (n = 11)
- Controle-Dieta Leptina: machos descendentes de mães normoglicêmicas com dieta padrão e de *snacks* que receberam infusão central crônica de leptina (n = 14).
- STZ Salina: machos descendentes de mães hiperglicêmicas com dieta padrão que receberam infusão central crônica de salina (n = 12).
- STZ Leptina: machos descendentes de mães hiperglicêmicas com dieta padrão que receberam infusão central crônica de leptina (n = 13).
- STZ-Dieta Salina: machos descendentes de mães hiperglicêmicas com dieta padrão e de *snacks* que receberam infusão central crônica de salina (n = 11).

- STZ-Dieta Leptina: machos descendentes de mães hiperglicêmicas com dieta padrão e de *snacks* que receberam infusão central crônica de leptina (n = 12).

Por volta do DPN 82, os machos foram anestesiados com anestesia inalatória com isoflurano (Isoforine®), com taxa de 4% a 0,7 L por 5 minutos para indução e, posteriormente, manutenção a 2,7% a 0,7 L durante o procedimento e passaram pela cirurgia de estereotaxia. Nessa cirurgia, uma cânula calibre 22 foi implantada no ventrículo lateral cerebral utilizando as seguintes coordenadas: anteroposterior -0,8 mm; lateral -1,4 mm e vertical -4,0 mm (PAXINOS; WATSON, 1986). A cânula foi ancorada ao crânio com auxílio de dois parafusos de aço inoxidável e conectada através de um tubo de polietileno a uma bomba osmótica (Alzet® modelo 2001, Cupertino, CA, EUA). Cada um dos machos recebeu um tipo de tratamento intracerebroventricular (ICV). A bomba osmótica foi preenchida por salina (NaCl 0,9%) ou leptina diluída em soro bovino fetal 0,1% (leptina murina recombinante, PeptoTech®, Cranbury, NJ, EUA), que, por sua vez, foi inserida de forma subcutânea na região do dorso do animal. As bombas osmóticas liberaram salina ou 1 µg de leptina por dia numa taxa de 1 µl/ hora durante 7 dias consecutivos (adaptado de ABIZAD; KYRIAZIS; WOODSIDE, 2004). Antes da escolha da dose de leptina utilizada, foi feito um estudo piloto com uma dose de 3,5 µg de leptina por dia, adaptada de um estudo com administração aguda (CLEGG et al., 2006). Porém, esta quantidade mostrou-se excessiva para os animais quando administrada de maneira crônica, levando-os a uma caquexia exacerbada. Assim, a dose de 1 µg de leptina por dia foi testada e adotada nos experimentos desse trabalho.

Após o fim da infusão ICV crônica de leptina, os animais foram submetidos aos testes de preferência e comportamento sexual. Para isso, fêmeas foram castradas para posterior utilização na avaliação dos machos do presente estudo. Brevemente, as fêmeas foram anestesiadas com anestesia inalatória com isoflurano (Isoforine®), com taxa de 4% a 0,7 L por 5 minutos para indução e, posteriormente, manutenção a 2,7% a 0,7 L durante o procedimento e seus ovários foram removidos. Todas as fêmeas passaram por um período de no mínimo 15 dias após a cirurgia para utilização nos procedimentos descritos a seguir. O estro comportamental para a realização dos testes comportamentais foi induzido nas fêmeas com uma injeção subcutânea de benzoato de estradiol (Sincrodiol® 50 µg /kg) 54 horas antes do início do teste e de progesterona (Sincrogest® 2 mg/ kg) 6h antes do início do teste (TEODOROV et al., 2002). Somente fêmeas com receptividade confirmada foram utilizadas.

Estudos mostram que o rato macho possui uma preferência significativa por uma fêmea com receptividade sexual induzida, numa situação de escolha entre esta fêmea e um macho ou fêmea não-receptiva (HEIJKOOP; HUIJGENS; SNOEREN, 2018). Para avaliarmos a motivação sexual, foi empregado o teste de preferência sexual, bem estabelecido na literatura com uso de uma fêmea receptiva e um macho como incentivos sexual e social, respectivamente (GOUVÊA et al., 2008; ATTILA; OKSALA; ÅGMO, 2010; HEIJKOOP; HUIJGENS; SNOEREN, 2018; RANGEL et al., 2020). Assim, no DPN 90 o macho em teste foi colocado no centro de uma arena retangular (100 x 50 cm) que, em lados opostos, estavam localizadas duas pequenas caixas (25 x 10 cm) de maneira diagonal, separadas fisicamente da arena por uma malha de aço, mas permitindo pistas visuais, auditivas e olfativas. Cada um dos incentivos, o macho (incentivo social) ou a fêmea receptiva (incentivo sexual) estavam localizados em uma das caixas. Além disso, foram determinadas duas áreas (30 x 20 cm) na arena em frente às caixas de incentivo denominadas zonas de incentivo (HEIJKOOP; HUIJGENS; SNOEREN, 2018). O comportamento foi gravado por 20 minutos durante as primeiras horas do ciclo escuro e a iluminação da sala foi feita com o auxílio de uma lâmpada vermelha. A partir disso, foi avaliada a preferência do macho entre socializar com outro macho ou com uma fêmea ovariectomizada com receptividade sexual induzida.

Como os machos possuem uma preferência pelo odor de fêmeas que estão receptivas em comparação a fêmeas não receptivas (CARR; LOEB; DISSINGER, 1965), sugeriu-se um protocolo de preferência sexual, adaptado do anterior, no qual em um lado havia uma fêmea ovariectomizada receptiva sexualmente e, no outro, uma fêmea castrada e, portanto, não receptiva. Assim, utilizando o mesmo aparato, foi avaliado como o macho em teste dividia seu tempo explorando a fêmea receptiva e a não-receptiva. Os animais também tiveram seu comportamento avaliado por um período de 20 minutos após o primeiro teste com o macho como incentivo social.

Para os dois tipos de preferência, os seguintes parâmetros foram analisados: número de entradas e tempo de permanência na zona de incentivo do macho ou da fêmea ovariectomizada; número de entradas e tempo de permanência na zona de incentivo da fêmea receptiva. O *score* de preferência de ambos os testes também foi calculado (tempo de permanência na zona de incentivo da fêmea receptiva/ soma do tempo de permanência nas duas zonas de incentivo) (GOUVÊA et al., 2008). Todos os testes foram filmados e avaliados posteriormente à sua execução.

No dia seguinte ao teste de preferência sexual (DPN 91) os animais foram submetidos ao teste de comportamento sexual. Diferentemente do teste de preferência sexual que avalia a fase pré-copulatória, no comportamento sexual é possível avaliar além desta, duas outras fases: a copulatória, que consiste, em partes, nos comportamentos de monta e intromissão que levam à ejaculação, também conhecida como fase de execução (HEIJKOOP; HUIJGENS; SNOEREN, 2018). Para avaliar esses parâmetros, o macho em teste foi colocado em uma caixa transparente (50 x 36 x 16 cm), com as mesmas dimensões que sua caixa-moradia, por um período de adaptação de 5 minutos até que uma fêmea ovariectomizada em estro induzido fosse inserida na caixa. Os animais tiveram seu comportamento sexual gravado por 40 minutos durante as primeiras horas do ciclo escuro (DE BARROS et al., 2017). Durante as gravações, uma lâmpada vermelha forneceu a iluminação da sala. Durante a análise dos vídeos, os seguintes parâmetros foram analisados: latências para primeira monta, intromissão e ejaculação, definidas como o tempo decorrido da introdução da fêmea na caixa até a primeira monta, intromissão e ejaculação, respectivamente; o número de montas e intromissões até a primeira ejaculação; latências para primeira intromissão e ejaculação após a primeira ejaculação, definidas como o tempo decorrido da primeira ejaculação até a primeira intromissão e ejaculação, respectivamente; o número intromissões após a primeira ejaculação; e o número total de montas, intromissões e ejaculações (GERARDIN et al., 2006; RANGEL et al., 2020). Caso o animal não apresentasse atividade sexual, o teste era repetido por até dois dias consecutivos. Dessa forma, cada animal teve ao menos 3 tentativas para apresentar atividade. Se o macho não apresentasse atividade durante os 10 primeiros minutos em nenhuma das três tentativas, ele era considerado sexualmente inativo (adaptado de DE BARROS et al., 2017). Posteriormente, a tentativa na qual o animal demonstrou atividade sexual foi avaliada

Após a análise do comportamento sexual (DPN 94), os machos foram individualmente colocados em uma caixa de indução anestésica a uma taxa de 4,0% de isoflurano durante 5 minutos. Após anestesia, os animais foram mortos por decapitação e aproximadamente 5 ml de sangue foram coletados. O sangue foi centrifugado a 4°C numa frequência de 1200 rotações por minuto durante 15 minutos para obtenção do plasma. Cada animal teve aproximadamente 2 ml de plasma armazenados que serão utilizados para dosagem hormonal de testosterona (dados não mostrados). Além disso, as gorduras retroperitoneal e perigonadal foram dissecadas e pesadas e seus pesos utilizados para o cálculo do percentual de gordura corporal.

A hipófise, próstata ventral, vesícula seminal, líquido seminal e ductos deferentes foram coletados e seus pesos absolutos foram determinados. O peso do conteúdo seminal foi obtido pela diferença dos pesos da vesícula cheia e vazia, porém, considerando a heterogeneidade dos dados obtidos, já que nem todos os animais ejacularam durante o comportamento sexual, os dados do conteúdo seminal devem ser interpretados com cautela. A literatura recomenda a análise do trato reprodutor após 15 dias da realização do comportamento sexual. No entanto, no presente estudo o objetivo era avaliar o trato reprodutor logo após a infusão crônica de leptina ser finalizada, não sendo possível aguardar o período recomendado. Testículos e epidídimos direito e esquerdo foram retirados para pesagem e armazenados para futura determinação de parâmetros histológicos e de contagem espermática (dados não mostrados). O índice gonadossomático, percentual do corpo ocupado pela gônada, também foi determinado.

Para todos os dados, foi estabelecido um limite mínimo de significância de 95% ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas através do programa SPSS (IBM, SPSS Statistics 23). Para avaliação do peso absoluto dos órgãos do trato reprodutor, foi feito o cálculo do *z score* para detectar animais outliers. Após exclusão dos animais *outliers*, uma ANOVA covariada com o peso corporal foi utilizada com o metabolismo materno (normoglicêmica ou hiperglicêmica), o tipo de dieta materna (dieta padrão ou dieta padrão + *snacks*) e o tipo de tratamento (salina ou leptina) como fatores para avaliar os pesos dos órgãos do trato reprodutor. Os parâmetros do comportamento e da preferência sexual foram avaliados de forma semelhante, mas, sem covariação com o peso, por uma ANOVA univariada com os mesmos fatores. Os valores de F, p e η foram descritos para todas as análises da ANOVA. Além disso, foi feito o teste de *chi-square* para avaliação de em qual tentativa os animais ejacularam e da proporção entre animais ativos e inativos no comportamento sexual.

Resultados

A seguir, iremos apresentar os resultados obtidos da análise reprodutiva dos descendentes. Somente diferenças significativas serão descritas e representadas nos gráficos. Sendo assim, de acordo com a presença ou ausência de diferença significativa em determinada análise, os dados podem ser representados de forma colapsada, em que os dados de dois ou mais grupos experimentais podem ser agrupados, para melhor interpretação e visualização dos achados do estudo. Os demais resultados obtidos podem ser consultados nas tabelas que seguem como material suplementar.

O metabolismo materno influenciou parâmetros do comportamento sexual e do trato reprodutor dos descendentes. Machos descendentes de mães STZ demonstraram um maior número de montas pré-ejaculação ($F(1, 71) = 5,845, p < 0,05, \eta = 0,076$) e do número total de montas ($F(1, 79) = 7,208, p < 0,05, \eta = 0,084$), além de apresentarem maior peso dos ductos deferentes ($F(1, 92) = 12,050, p < 0,05, \eta = 0,116$) e da vesícula seminal cheia ($F(1, 92) = 5,667, p < 0,05$). A diferença no peso da vesícula seminal cheia pode estar relacionada às questões metodológicas detalhadas anteriormente. Sendo assim, essa diferença estatística deve ser interpretada com cautela, uma vez que esse parâmetro pode sofrer alteração devido a coleta ter sido realizada feita logo após a análise do comportamento sexual.

A dieta materna também influenciou no trato reprodutor dos machos. A vesícula seminal vazia teve alteração em seu peso, pois seu peso foi maior nos descendentes de mães com nutrição inadequada ($F(1,92) = 4,035, p < 0,05, \eta = 0,042$).

A preferência sexual dos descendentes machos foi influenciada pelo tratamento com leptina. Na análise com um macho e uma fêmea receptiva, animais tratados com leptina apresentaram um maior tempo de permanência na zona de incentivo do macho ($F(1, 90) = 4,261, p < 0,05, \eta = 0,045$) em relação aos animais tratados com salina. Na preferência sexual com uma fêmea receptiva e uma não-receptiva, não houve diferença estatística entre os parâmetros analisados. Além disso, machos tratados com leptina apresentaram menos gordura retroperitoneal e perigonadal ($F(1, 92) = 41,693, p < 0,05, \eta = 0,312$), maior peso dos testículos ($F(1, 92) = 5,673, p < 0,05, \eta = 0,058$), ductos deferentes ($F(1,92) = 5,621, p < 0,05, \eta = 0,054$) e vesícula seminal vazia ($F(1, 92) = 4,209, p < 0,05, \eta = 0,044$).

Devido ao fato de que poucos animais ejacularam mais de uma vez, somente os dados referentes à primeira ejaculação foram avaliados, sendo que os dados de possíveis ejaculações subsequentes não foram analisados e não serão apresentados.

O teste de *chi-square* revelou que não houve diferença de qual tentativa os animais ejacularam e da proporção entre os animais ativos e inativos no comportamento sexual (dados não mostrados).

Figura 1. Número de montas pré-ejaculação. Dados apresentados como média \pm EPM. ANOVA univariada: efeito de metabolismo ($F(1, 71) = 5,845, p < 0,05, \eta = 0,076$).

Figura 2. Número total de montas. Dados apresentados como média \pm EPM. ANOVA univariada: efeito de metabolismo ($F(1, 79) = 7,208, p < 0,05, \eta = 0,084$).

Figura 3. Média dos pesos dos ductos deferentes. Dados apresentados como média \pm EPM. ANCOVA covariada com o peso corporal: efeito de metabolismo materno ($F(1, 92) = 12,050, p < 0,05, \eta = 0,116$).

Figura 4. Peso da vesícula seminal vazia. Dados apresentados como média \pm EPM. ANCOVA covariada com o peso corporal: efeito de dieta ($F(1,92) = 4,035, p < 0,05, \eta = 0,042$).

Figura 5. Tempo na zona incentivo do macho. Dados apresentados como média \pm EPM. ANOVA univariada: efeito de tratamento ($F(1, 90) = 4,261, p < 0,05, \eta = 0,045$).

Figura 6. Peso da gordura retroperitoneal e perigonadal. Dados apresentados como média \pm EPM. ANCOVA covariada com o peso corporal: efeito de tratamento ($F(1, 92) = 41,693, p < 0,05, \eta = 0,312$).

Figura 7. Média dos pesos dos testículos. Dados apresentados como média \pm EPM. ANCOVA covariada com o peso corporal: efeito de tratamento ($F(1, 92) = 5,673, p < 0,05, \eta = 0,058$).

Figura 8. Média dos pesos dos ductos deferentes. Dados apresentados como média \pm EPM. ANCOVA covariada com o peso corporal: efeito de tratamento ($F(1,92) = 5,621, p < 0,05, \eta = 0,054$).

Figura 9. Peso da vesícula seminal vazia. Dados apresentados como média \pm EPM. ANCOVA covariada com o peso corporal: efeito de tratamento ($F(1, 92) = 4,209, p < 0,05, \eta = 0,044$).

Figura 1. Número de Montas Pré-Ejaculação

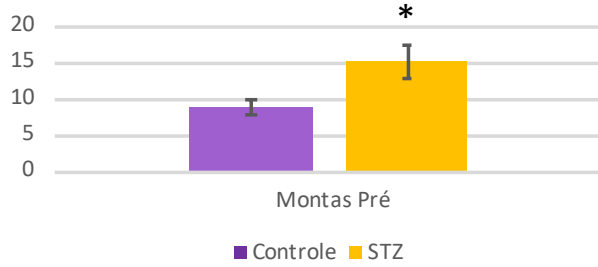


Figura 2. Total de Montas

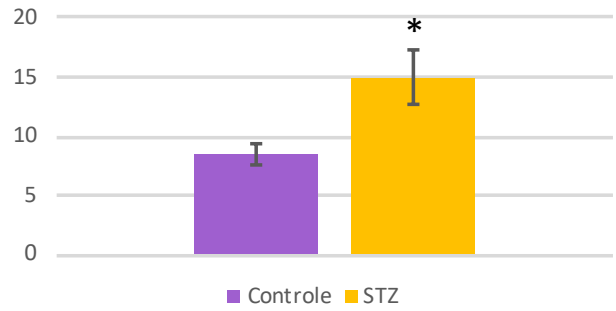


Figura 3. Peso Ductos Deferentes

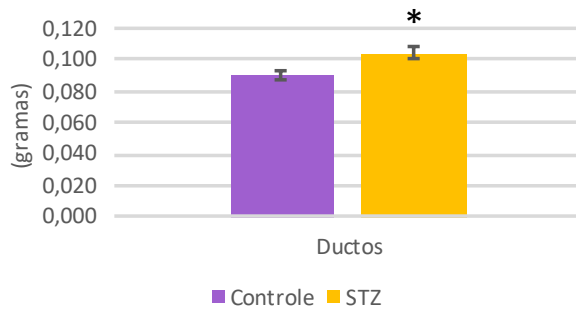


Figura 4. Peso Vesícula Seminal Vazia

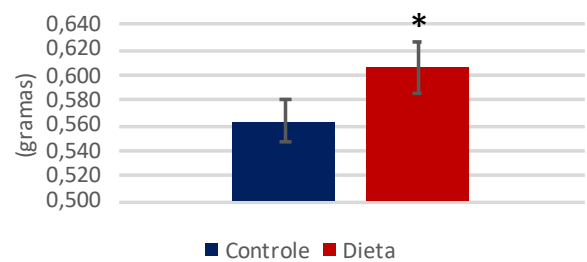


Figura 5. Tempo na Zona de Incentivo do Macho

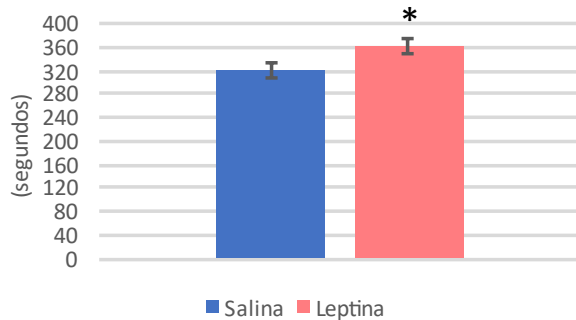


Figura 6. Peso Gordura Retroperitoneal e Perigonadal

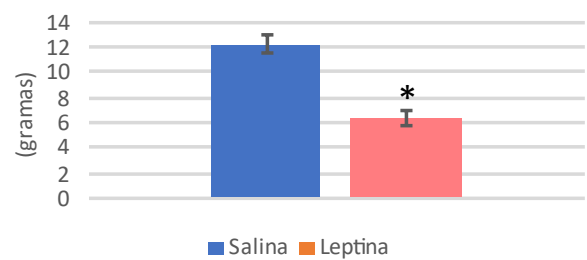


Figura 7. Peso Testículos

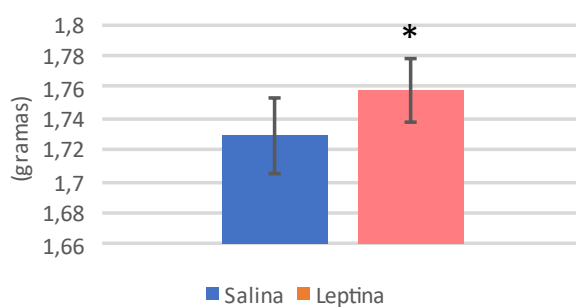


Figura 8. Peso Ductos Deferentes

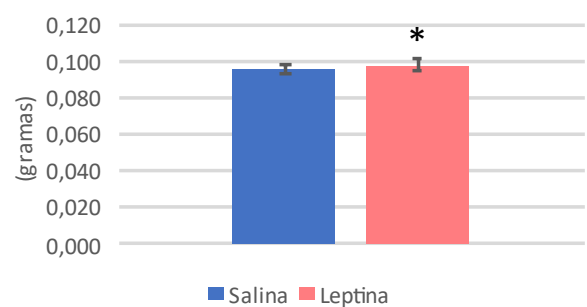
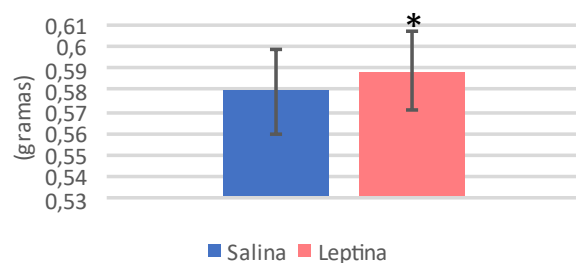


Figura 9. Peso Vesícula Seminal Vazia



Discussão

No presente estudo, avaliamos os efeitos da infusão central crônica de leptina no comportamento e preferência sexual e trato reprodutor de descendentes machos de mães hiperglicêmicas com nutrição inadequada durante a prenhez e lactação. Nossos resultados mostraram que a presença da hiperglicemia materna e a dieta inadequada foram capazes de modificar o trato reprodutor e comportamento sexual dos descendentes machos. No entanto, não houve maiores repercussões da associação da hiperglicemia à dieta inadequada nos parâmetros avaliados. Além disso, apesar de o tratamento central com leptina também ter modificado parâmetros do trato reprodutor e ter causado alterações na preferência sexual, não houve interação da infusão central de leptina com o estado metabólico ou nutricional materno.

A hiperglicemia materna alterou o comportamento sexual, aumentando o número de montas. O aumento do número de montas é interpretado como uma medida de motivação, contribuindo para a excitação e facilitando a ejaculação (HEIJKOOP; HUIJGENS; SNOEREN, 2018). Considerando-se que o componente básico da cópula é a monta e que a intromissão ocorre quando a monta está associada à ereção do pênis seguida pela penetração vaginal (PAREDES; ÁGMO, 2004), podemos sugerir que descendentes de mães hiperglicêmicas realizam mais montas para atingir o padrão de excitabilidade e, assim, iniciar as intromissões.

A dieta materna modificou aspectos do trato reprodutor dos descendentes, com aumento do peso da vesícula seminal, mas sem alteração em seu conteúdo. As glândulas sexuais acessórias dependem de androgênios para seu crescimento normal e a manutenção da função secretora (TSOUNAPI et al., 2018). Alterações na secreção de testosterona devido a modificações no funcionamento do eixo HHG por influência da dieta já foram relatadas (GAWALEK; SLIWOWSKA, 2015), sugerindo uma via pela qual pode ter ocorrido o aumento dessa estrutura.

A infusão central crônica de leptina teve efeitos na preferência sexual e nos órgãos do trato reprodutor dos descendentes, independentemente do metabolismo ou da dieta materna. A preferência sexual foi prejudicada pelo tratamento com leptina, aumentando o tempo de interação social durante o teste. A manifestação da motivação sexual em ratos deve-se a fatores e incentivos externos, como estímulos olfativos, auditivos e visuais (LE MOËNE; ÁGMO, 2019). Dada a escolha entre um incentivo sexual e social, ratos machos

possuem uma preferência significativa pelo incentivo sexual, ou seja, a fêmea em estro (HEIJKOOP; HUIJGENS; SNOEREN, 2018). Nesse sentido, o tratamento com leptina fez com que os machos demonstrassem maior motivação social em detrimento da motivação sexual, a qual possui potencial reprodutivo. Também houve efeito do tratamento com leptina nos testículos e ductos deferentes. A leptina ICV levou a um aumento do peso destes órgãos, possivelmente por sua ação central, a qual leva à ativação do eixo HHG (CHILDS et al., 2021). Dessa maneira, o funcionamento do eixo pode ter sido alterado, levando a alteração do funcionamento das gônadas e da secreção de testosterona, impactando o peso dessas estruturas. Dados como dosagens hormonais, análise da histologia testicular e contagem espermática, que serão posteriormente avaliados, podem evidenciar alterações e auxiliar na compreensão de forma mais completa das repercussões dos fatores estudados para a reprodução dos descendentes.

Além disso, ao contrário do demonstrado na literatura, o tratamento com leptina não modificou o comportamento sexual dos animais. Trabalhos prévios mostram que machos tratados com leptina apresentam alterações como redução na latência e aumento na frequência da ejaculação (AMMAR et al., 2000; MELA et al., 2016), o que não ocorreu no presente estudo. Cabe ressaltar que nos estudos citados as doses e tempo de tratamento foram diferentes, podendo explicar parcialmente as divergências nos achados. Ammar *et al* também fizeram infusão ICV com a mesma concentração utilizada neste trabalho, mas o tratamento foi agudo e a dose diária de leptina foi diferente, já que realizaram duas infusões de 5 µg de 4 a 6 horas antes do início da análise do comportamento sexual (AMMAR et al., 2000). Já Mela *et al* seguiram um protocolo de injeção subcutânea durante o período perinatal que, mesmo sendo um tratamento crônico (MELA et al., 2016), difere na dose, via de administração, período de desenvolvimento e tempo de tratamento.

Finalmente, como esperado, houve uma redução da gordura retroperitoneal e perigonadal nos animais tratados com leptina, resultados que estão de acordo com os de Soos et al (SOOS et al., 2010), que demonstram que a infusão central crônica de leptina é capaz de desempenhar efeitos anoréxicos e metabólicos nos animais, diminuindo a quantidade de gordura. A redução da gordura retroperitoneal e perigonadal pode estar associada à ação da leptina no ARC, que estimula o aumento da expressão de pró-opiomelanocortina (POMC) e do hormônio estimulante de α -melanócitos (α -MSH), neuropeptídeos de efeito anorexígeno (PARK et al., 2008).

Um dos pontos que deve ser ressaltado é a ausência de maiores efeitos resultantes da associação entre hiperglicemia materna e nutrição inadequada, uma vez que, apesar da hiperglicemia materna ser agravada pela nutrição inadequada, ainda está em um intervalo considerado moderado, não ficando evidentes maiores repercussões para a reprodução dos descendentes (KISS et al., 2012; MARTINS, 2021). Nosso grupo de pesquisa explorou outras repercussões para as mães e seus descendentes utilizando o mesmo modelo experimental e foram observadas alterações relacionadas à associação de ambos os fatores maternos no peso ao nascer (MARTINS et al., 2021) e comportamento dos descendentes (MARTINS, 2021). Além disso, os efeitos da infusão central crônica de leptina na ingestão alimentar desses descendentes também foi explorado e os dados obtidos mostram que a sensibilidade central à leptina é modificada pela associação dos fatores maternos estudados (OLIVEIRA et al., 2020). No entanto, as repercussões reprodutivas do presente estudo foram relacionadas ao metabolismo e nutrição materna e ao tratamento com leptina de maneira isolada.

Por fim, diferentes amostras biológicas foram coletadas e armazenadas durante o presente estudo para futura avaliação dos níveis séricos de testosterona, análise da histologia testicular e contagem espermática. Essas avaliações podem evidenciar alterações e auxiliar na compreensão de forma mais completa das repercussões dos fatores estudados para a reprodução dos descendentes.

Conclusões

1. Tanto a hiperglicemia materna quanto a dieta modificaram aspectos do comportamento sexual e dos órgãos do trato reprodutor dos descendentes, sem modificação na preferência sexual.
2. Ao contrário da hipótese inicial, a associação da hiperglicemia materna moderada com a nutrição inadequada não refletiu em maiores repercussões na reprodução dos descendentes, sejam comportamentais ou morfológicas.
3. A ação central da leptina ocorreu de forma independente dos fatores maternos estudados, não estando sua ação associada à melhora, ou não, das alterações reprodutivas de descendentes de mães hiperglicêmicas ou que ingeriram uma dieta inadequada durante a prenhez e lactação.

Referências Bibliográficas

- AERTS, L.; VAN ASSCHE, F. A. **Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus**, Pergamon, 2006.
- AINGE, H.; THOMPSON, C.; OZANNE, S. E.; ROONEY, K. B. **A systematic review on animal models of maternal high fat feeding and offspring glycaemic control**, 2011.
- ALFARADHI, M. Z.; OZANNE, S. E. Developmental programming in response to maternal overnutrition. **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 2, n. JUNE, 2011. Disponível em: <<https://pmc/articles/PMC3268582/?report=abstract>>. Acesso em: 23 jun. 2020.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2020. [s. l.], 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/dc20-S002>>. Acesso em: 9 jul. 2020.
- AMMAR, A. A.; SEDERHOLM, F.; SAITO, T. R.; SCHEURINK, A. J. W.; JOHNSON, A. E.; SÖDERSTEN, P. NPY-leptin: Opposing effects on appetitive and consummatory ingestive behavior and sexual behavior. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, [s. l.], v. 278, n. 6 47-6, 2000. Disponível em: <<http://www.ajpregu.org>>. Acesso em: 23 jun. 2021.
- ARENDRT, L. H.; LINDHARD, M. S.; HENRIKSEN, T. B.; OLSEN, J.; CNATTINGIUS, S.; PETERSSON, G.; PARNER, E. T.; RAMLAU-HANSEN, C. H. Maternal Diabetes Mellitus and Genital Anomalies in Male Offspring: A Nationwide Cohort Study in 2 Nordic Countries. **Epidemiology**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 280–289, 2018. Disponível em: <https://journals.lww.com/epidem/Fulltext/2018/03000/Maternal_Diabetes_Mellitus_and_Genital_Anomalies.16.aspx>. Acesso em: 30 maio. 2021.
- BAEYENS, L.; HINDI, S.; SORENSON, R. L.; GERMAN, M. S. **β -Cell adaptation in pregnancy**, Blackwell Publishing Ltd, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/dom.12716>>. Acesso em: 8 jul. 2020.
- BAL, R.; TÜRK, G.; TUZCU, M.; YILMAZ, O.; OZERCAN, I.; KULOGLU, T.; GÜR, S.; NEDZVETSKY, V. S.; TYKHOMYROV, A. A.; ANDRIEVSKY, G. V.; BAYDAS, G.; NAZIROGLU, M. Protective effects of nanostructures of hydrated C60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. **Toxicology**, [s. l.], v. 282, n. 3, p. 69–81, 2011. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21163323/>>. Acesso em: 8 jun. 2021.

BARKER, D. J. P.; GODFREY, K. M.; GLUCKMAN, P. D.; HARDING, J. E.; OWENS, J. A.; ROBINSON, J. S. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. **The Lancet**, [s. l.], v. 341, n. 8850, p. 938–941, 1993. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8096277/>>. Acesso em: 21 jul. 2020.

BARNES, S. K.; OZANNE, S. E. **Pathways linking the early environment to long-term health and lifespan**, Pergamon, 2011.

BELLISLE, F. Meals and snacking, diet quality and energy balance. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 134, n. C, p. 38–43, 2014. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.03.010>>. Acesso em: 25 nov. 2020.

BERNHARD, C. J.; SHARP, K. G.; SAFRANSKI, T. J.; LAMBERSON, W. R.; LUCY, M. C. Reproduction and reproductive tract morphology of male and female pigs whose mothers were heat stressed during the second month of gestation. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 98, n. 11, 2020. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33150362/>>. Acesso em: 31 maio. 2021.

BERTÉUS FORSLUND, H.; TORGERSON, J. S.; SJÖSTRÖM, L.; LINDROOS, A. K. Snacking frequency in relation to energy intake and food choices in obese men and women compared to a reference population. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 711–719, 2005.

BURLINA, S.; DALFRÀ, M. G.; LAPOLLA, A. **Short- and long-term consequences for offspring exposed to maternal diabetes: a review**, Taylor and Francis Ltd, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28969466/>>. Acesso em: 16 jul. 2020.

CAMARGO, A. C. L.; DOS SANTOS, S. A. A.; RINALDI, J. C.; CONSTANTINO, F. B.; COLOMBELLI, K. T.; SCARANO, W. R.; FELISBINO, S. L.; JUSTULIN, L. A. Streptozotocin-Induced Maternal Hyperglycemia Increases the Expression of Antioxidant Enzymes and Mast Cell Number in Offspring Rat Ventral Prostate. **Anatomical Record**, [s. l.], v. 300, n. 2, p. 291–299, 2017.

CHAVATTE-PALMER, P.; TARRADE, A.; ROUSSEAU-RALLIARD, D. Diet before and during pregnancy and offspring health: The importance of animal models and what can be learned from them. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 13, n. 6, 2016. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32444443/>>. Acesso em: 13 ago. 2020.

CHEHAB, F. F. **Leptin and reproduction: Past milestones, present undertakings,**

- and future endeavors**, BioScientifica Ltd., 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25118207/>>. Acesso em: 27 nov. 2020.
- CHILDS, G. V.; ODLE, A. K.; MACNICOL, M. C.; MACNICOL, A. M. **The Importance of Leptin to Reproduction**, Endocrine Society, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33165520/>>. Acesso em: 21 maio. 2021.
- CI KISS, A.; LIMA, P. H.; SINZATO, Y. K.; TAKAKU, M.; TAKENO, M. A.; RUDGE, M. V.; DAMASCENO, D. C. Animal models for clinical and gestational diabetes: maternal and fetal outcomes. [s. l.], 2009. Disponível em: <<http://www.dmsjournal.com/content/1/1/21>>. Acesso em: 15 jul. 2020.
- CLAVIJO, R. I.; HSIAO, W. **Update on male reproductive endocrinology**, AME Publishing Company, 2018. Disponível em: <[pmc/articles/PMC6087844/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33165520/)>. Acesso em: 28 maio. 2021.
- CONNOR, K. L.; VICKERS, M. H.; BELTRAND, J.; MEANEY, M. J.; SLOBODA, D. M. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. **Journal of Physiology**, [s. l.], v. 590, n. 9, p. 2167–2180, 2012. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3447158/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22111111/)>. Acesso em: 30 maio. 2021.
- CROWN, A.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Neuropeptide Signaling in the Integration of Metabolism and Reproduction. **Neuroendocrinology**, [s. l.], v. 86, n. 3, p. 175–182, 2007. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/109095>>. Acesso em: 27 nov. 2020.
- CUNNINGHAM, M. J.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Leptin's Actions on the Reproductive Axis: Perspectives and Mechanisms. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 60, n. 2, p. 216–222, 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biolreprod/article/2740806/Leptin's>>. Acesso em: 27 nov. 2020.
- DE MACEDO, I. C.; DE FREITAS, J. S.; DA SILVA TORRES, I. L. **The influence of palatable diets in reward system activation: A mini review**, Hindawi Limited, 2016. Disponível em: <[pmc/articles/PMC4818794/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33165520/)>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- DEARDEN, L.; BOURET, S. G.; OZANNE, S. E. **Sex and gender differences in developmental programming of metabolism**, Elsevier GmbH, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.04.007>>. Acesso em: 15 jul. 2020.
- DONATO, J.; CRAVO, R. M.; FRAZÃO, R.; ELIAS, C. F. Hypothalamic sites of

leptin action linking metabolism and reproduction. **Neuroendocrinology**, [s. l.], v. 93, n. 1, p. 9–18, 2011. Disponível em: </pmc/articles/PMC3066240/>. Acesso em: 27 maio. 2021.

DUPONT, C.; CORDIER, A. G.; JUNIEN, C.; MANDON-PÉPIN, B.; LEVY, R.; CHAVATTE-PALMER, P. **Maternal environment and the reproductive function of the offspring**, Theriogenology, 2012. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22925651/>. Acesso em: 2 dez. 2020.

EASTON, Z. J. W.; REGNAULT, T. R. H. **The impact of maternal body composition and dietary fat consumption upon placental lipid processing and offspring metabolic health**, MDPI AG, 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC7601624/>.

Acesso em: 20 maio. 2021.

ELIAS, C. F.; PUROHIT, D. **Leptin signaling and circuits in puberty and fertility**, Springer, 2013. Disponível em: </pmc/articles/PMC3568469/?report=abstract>. Acesso em: 27 nov. 2020.

ELSAKR, J. M.; DUNN, J. C.; TENNANT, K.; ZHAO, S. K.; KROETEN, K.; PASEK, R. C.; TAKAHASHI, D. L.; DEAN, T. A.; VELEZ EDWARDS, D. R.; MCCURDY, C. E.; AAGAARD, K. M.; POWERS, A. C.; FRIEDMAN, J. E.; KIEVIT, P.; GANNON, M. Maternal Western-style diet affects offspring islet composition and function in a non-human primate model of maternal over-nutrition. **Molecular Metabolism**, [s. l.], v. 25, p. 73–82, 2019. Disponível em:

</pmc/articles/PMC6599455/?report=abstract>. Acesso em: 27 ago. 2020.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; HJORT, L.; NOVAKOVIC, B.; OZANNE, S. E.; SAFFERY, R. Intrauterine programming of obesity and type 2 diabetes. **Diabetologia**, [s. l.], v. 62, n. 10, p. 1789–1801, 2019.

GAWALEK, M.; SLIWOWSKA, J. H. Neuronal basis of reproductive dysfunctions associated with diet and alcohol: From the womb to adulthood. **Reproductive Biology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 69–78, 2015.

GERARDIN, D. C. C.; PEREIRA, O. C. M.; KEMPINAS, W. G.; FLORIO, J. C.; MOREIRA, E. G.; BERNARDI, M. M. Sexual behavior, neuroendocrine, and neurochemical aspects in male rats exposed prenatally to stress. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 84, n. 1, p. 97–104, 2005.

GUEDINE, C. R. de C.; PORDEUS, L. C. de M.; RIUL, T. R.; JORDÃO, A. A.; ALMEIDA, S. S. Cafeteria diet during lactation and/or post-lactation altered lipid profile/lipid peroxidation and increased anxiety-like behavior in male rat offspring.

- Nutritional Neuroscience**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 526–536, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30289019/>>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- GUZMÁN, A.; HERNÁNDEZ-CORONADO, C. G.; ROSALES-TORRES, A. M.; HERNÁNDEZ-MEDRANO, J. H. Leptin regulates neuropeptides associated with food intake and GnRH secretion. **Annales d'Endocrinologie**, [s. l.], v. 80, n. 1, p. 38–46, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30243474/>>. Acesso em: 27 nov. 2020.
- HALES, C. N. and; BARKER, D. J. P. The thrifty phenotype hypothesis: Type 2 diabetes. **British Medical Bulletin**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 5–20, 2001.
- HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. **Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis**, Springer-Verlag, 1992. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00400248>>. Acesso em: 21 jul. 2020.
- HEIJKOOP, R.; HUIJGENS, P. T.; SNOEREN, E. M. S. Assessment of sexual behavior in rats: The potentials and pitfalls. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 352, n. October 2017, p. 70–80, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.029>>
- HESS, J. M.; JONNALAGADDA, S. S.; SLAVIN, J. L. **What is a snack, why do we snack, and how can we choose better snacks? A review of the definitions of snacking, motivations to snack, contributions to dietary intake, and recommendations for improvement**, American Society for Nutrition, 2016. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4863261/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30289019/)>. Acesso em: 30 maio. 2021.
- HIGGINS, M.; MCAULIFFE, F. Obesity and Pregnancy. In: **Dewhurst's Textbook of Obstetrics & Gynaecology**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2018. p. 207–218.
- HILL, D. J. Placental control of metabolic adaptations in the mother for an optimal pregnancy outcome. What goes wrong in gestational diabetes? **Placenta**, [s. l.], v. 69, p. 162–168, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29352600/>>. Acesso em: 9 jul. 2020.
- HOCH, T.; KREITZ, S.; GAFFLING, S.; PISCHETSRIEDER, M.; HESS, A. Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging for Mapping of Whole Brain Activity Patterns Associated with the Intake of Snack Food in Ad Libitum Fed Rats. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 55354, 2013. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC3567069/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29352600/)>. Acesso em: 27 nov. 2020.
- HOCH, T.; PISCHETSRIEDER, M.; HESS, A. Snack food intake in ad libitum fed rats

is triggered by the combination of fat and carbohydrates. **Frontiers in Psychology**, [s. l.], v. 5, n. MAR, p. 1–11, 2014.

JACOBS, S.; TEIXEIRA, D. S.; GUILHERME, C.; DA ROCHA, C. F. K.; ARANDA, B. C. C.; REIS, A. R.; DE SOUZA, M. A.; FRANCI, C. R.; SANVITTO, G. L. The impact of maternal consumption of cafeteria diet on reproductive function in the offspring. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 129, p. 280–286, 2014.

KAHN, S. E.; COOPER, M. E.; DEL PRATO, S. **Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: Perspectives on the past, present, and future**, Lancet Publishing Group, 2014. Disponível em: [https://pubmed/articles/PMC4226760/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24781111/). Acesso em: 9 jul. 2020.

KASPAR, D.; HASTREITER, S.; IRMLER, M.; HRABÉ DE ANGELIS, M.; BECKERS, J. Nutrition and its role in epigenetic inheritance of obesity and diabetes across generations. **Mammalian Genome**, [s. l.], v. 31, n. 5–6, p. 119–133, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00335-020-09839-z>. Acesso em: 2 dez. 2020.

KHODAMORADI, K.; PARMAR, M.; KHOSRAVIZADEH, Z.; KUCHAKULLA, M.; MANOHARAN, M.; ARORA, H. The role of leptin and obesity on male infertility. **Current opinion in urology**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 334–339, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32205811/>. Acesso em: 2 jul. 2020.

KISS, A. C. I.; WOODSIDE, B.; FELÍCIO, L. F.; ANSELMO-FRANCI, J.; DAMASCENO, D. C. Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development and behavior of Wistar rats. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 107, n. 3, p. 292–300, 2012.

LE MOËNE, O.; ÁGMO, A. Modeling Human Sexual Motivation in Rodents: Some Caveats. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [s. l.], v. 13, 2019. Disponível em: [https://pubmed/articles/PMC6719563/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34719563/). Acesso em: 23 jun. 2021.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, [s. l.], v. 51, n. 2, p. 216–226, 2008.

LIANG, H.; ZHANG, J.; ZHANG, Z. Food restriction in pregnant rat-like hamsters (*Cricetulus triton*) affects endocrine, immune function and odor attractiveness of male offspring. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 82, n. 2–3, p. 453–458, 2004.

LOPEZ-TELLO, J.; ARIAS-ALVAREZ, M.; GONZALEZ-BULNES, A.; SFERUZZI-PERRI, A. N. **Models of Intrauterine growth restriction and fetal programming in rabbits**, John Wiley and Sons Inc., 2019. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mrd.23271>>. Acesso em: 13 ago. 2020.

MAHAJAN, A.; DONOVAN, L. E.; VALLEE, R.; YAMAMOTO, J. M. **Evidenced-Based Nutrition for Gestational Diabetes Mellitus**, Current Medicine Group LLC 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11892-019-1208-4>>. Acesso em: 9 jul. 2020.

MAHIZIR, D.; BRIFFA, J. F.; HRYCIW, D. H.; WADLEY, G. D.; MORITZ, K. M.; WLODEK, M. E. Maternal obesity in females born small: Pregnancy complications and offspring disease risk. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 8–17, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.201500289>>. Acesso em: 4 ago. 2020.

MALIK, I.; DURAIRAJANAYAGAM, D.; SINGH, H. **Leptin and its actions on reproduction in males**, Wolters Kluwer Medknow Publications, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30539926/>>. Acesso em: 28 nov. 2020.

MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, N. There and back again: Leptin actions in white adipose tissue. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 17, p. 1–26, 2020.

MARTINS, M. G. **Maternal hyperglycemia and overnutrition: effects on maternal care and offspring development and behavior across life**. 2021. University of São Paulo, [s. l.], 2021.

MARTINS, M. G.; CRUZ, A. G.; OLIVEIRA, G. P.; WOODSIDE, B.; HORTA-JUNIOR, J. A. C.; KISS, A. C. . Effects of snack intake during pregnancy and lactation on reproductive outcome in mild hyperglycemic rats. **Physiology and Behavior (No prelo)**, [s. l.], 2021.

MCMILLEN, I. C.; MACLAUGHLIN, S. M.; MUHLHAUSLER, B. S.; GENTILI, S.; DUFFIELD, J. L.; MORRISON, J. L. Developmental origins of adult health and disease: The role of periconceptional and foetal nutrition. In: BASIC AND CLINICAL PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY 2008, **Anais...** : John Wiley & Sons, Ltd, 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1742-7843.2007.00188.x>>. Acesso em: 11 ago. 2020.

MECCARIELLO, R.; FASANO, S.; PIERANTONI, R. Kisspeptins, new local modulators of male reproduction: A comparative overview. **General and Comparative Endocrinology**, [s. l.], v. 299, n. September, p. 113618, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113618>>

MELA, V.; DÍAZ, F.; VÁZQUEZ, M. J.; ARGENTE, J.; TENA-SEMPERE, M.;

VIVEROS, M. P.; CHOWEN, J. A. Interaction between neonatal maternal deprivation and serum leptin levels on metabolism, pubertal development, and sexual behavior in male and female rats. **Biology of Sex Differences**, [s. l.], v. 7, n. 1, 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC4710050/>. Acesso em: 23 jun. 2021.

MOLEND, H. A.; KILTS, C. P.; ALLEN, R. L.; TETEL, M. J. **Nuclear Receptor Coactivator Function in Reproductive Physiology and Behavior**, NIH Public Access, 2003. Disponível em: </pmc/articles/PMC2683359/>. Acesso em: 27 maio. 2021.

MOLINA-JIMÉNEZ, T.; JIMÉNEZ-TLAPA, M.; BRIANZA-PADILLA, M.; ZEPEDA, R. C.; HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; BONILLA-JAIME, H. The neonatal treatment with clomipramine decreases sexual motivation and increases estrogen receptors expression in the septum of male rats: Effects of the apomorphine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 180, n. February, p. 83–91, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.03.004>

NGUYEN-NGO, C.; JAYABALAN, N.; SALOMON, C.; LAPPAS, M. **Molecular pathways disrupted by gestational diabetes mellitus**, BioScientifica Ltd., 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/JME-18-0274https://jme.bioscientifica.com>. Acesso em: 8 jul. 2020.

NJIKE, V. Y.; SMITH, T. M.; SHUVAL, O.; SHUVAL, K.; EDSHTEYN, I.; KALANTARI, V.; YAROCH, A. L. **Snack food, satiety, and weight**, American Society for Nutrition, 2016. Disponível em: </pmc/articles/PMC5015032/?report=abstract>. Acesso em: 25 nov. 2020.

OH, W.; GELARDI, N. L.; CHA, C. J. Maternal hyperglycemia in pregnant rats: Its effect on growth and carbohydrate metabolism in the offspring. **Metabolism**, [s. l.], v. 37, n. 12, p. 1146–1151, 1988.

OLIVEIRA, G. P.; CRUZ, A. G.; SILVA, G. V.; RODRIGUES, L. P.; MARTINS, M. G.; KISS, A. C. I.; WOODSIDE, B. Effects of leptin central infusion on food intake of offspring of rats with mild hyperglycemia. In: LATIN AMERICAN DOHAD CHAPTER MEETING 2020, **Anais...** [s.l: s.n.] Disponível em: <http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/busca.do>. Acesso em: 15 jul. 2021.

OPIE, R. S.; NEFF, M.; TIERNEY, A. C. A behavioural nutrition intervention for obese pregnant women: Effects on diet quality, weight gain and the incidence of gestational diabetes. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 364–373, 2016. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1111/ajo.12474>>. Acesso em: 4 ago. 2020.

PAREDES, R. G.; ÅGMO, A. **Has dopamine a physiological role in the control of sexual behavior? A critical review of the evidence**, Elsevier Ltd, 2004.

PARK, S.; SANG, M. H.; SO, R. S.; HYE, K. J. Long-term effects of central leptin and resistin on body weight, insulin resistance, and β -cell function and mass by the modulation of hypothalamic leptin and insulin signaling. **Endocrinology**, [s. l.], v. 149, n. 2, p. 445–454, 2008. Disponível em: <www.endo-society.org>. Acesso em: 10 jun. 2021.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 2nd. ed. [s.l.] : Academic Press, 1986. v. 3

PERNG, W.; OKEN, E.; DABELEA, D. **Developmental overnutrition and obesity and type 2 diabetes in offspring**, Springer Verlag, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00125-019-4914-1>>. Acesso em: 8 jul. 2020.

PINHEIRO-CASTRO, N.; SILVA, L. B. A. R.; NOVAES, G. M.; ONG, T. P. Hypercaloric Diet-Induced Obesity and Obesity-Related Metabolic Disorders in Experimental Models. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l.] : Springer New York LLC, 2019. v. 1134p. 149–161.

PLAGEMANN, A. Maternal diabetes and perinatal programming. **Early Human Development**, [s. l.], v. 87, n. 11, p. 743–747, 2011.

POWER, M. L.; SCHULKIN, J. Maternal obesity, metabolic disease, and allostatic load. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 106, n. 1, p. 22–28, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.09.011>>

RAMAKRISHNAN, A.; LEE, L. J.; MITCHELL, L. E.; AGOPIAN, A. J. Maternal Hypertension During Pregnancy and the Risk of Congenital Heart Defects in Offspring: A Systematic Review and Meta-analysis. **Pediatric cardiology**, [s. l.], v. 36, n. 7, p. 1442–1451, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25951814/>>. Acesso em: 10 jul. 2021.

REES, W. D. Interactions between nutrients in the maternal diet and the implications for the long-term health of the offspring. In: PROCEEDINGS OF THE NUTRITION SOCIETY 2019, **Anais...** : Cambridge University Press, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30378511/>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

REYNOLDS, C. M.; GRAY, C.; LI, M.; SEGOVIA, S. A.; VICKERS, M. H. **Early life nutrition and energy balance disorders in offspring in later life**, MDPI AG, 2015. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4586579/?report=abstract](https://pmc/articles/PMC4586579/?report=abstract)>. Acesso em: 13 ago.

2020.

RIBAROFF, G. A.; WASTNEDGE, E.; DRAKE, A. J.; SHARPE, R. M.; CHAMBERS, T. J. G. **Animal models of maternal high fat diet exposure and effects on metabolism in offspring: a meta-regression analysis**, Blackwell Publishing Ltd, 2017.

RIBEIRO, A. C. A. F.; BATISTA, T. H.; VERONESI, V. B.; GIUSTI-PAIVA, A.; VILELA, F. C. Cafeteria diet during the gestation period programs developmental and behavioral courses in the offspring. **International Journal of Developmental Neuroscience**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 45–52, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1016/j.ijdevneu.2018.05.001>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

SABAU, R. M.; FERKIN, M. H. Maternal food restriction during lactation affects body weight and sexual behavior of male offspring in meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). **Ethology**, [s. l.], v. 120, n. 8, p. 793–803, 2014. Disponível em: <[pmc/articles/PMC4829941/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24849657/)>. Acesso em: 30 maio. 2021.

SABEN, J. L.; BALES, E. S.; JACKMAN, M. R.; ORLICKY, D.; MACLEAN, P. S.; MCMANAMAN, J. L. Maternal obesity reduces milk lipid production in lactating mice by inhibiting acetyl-CoA carboxylase and impairing fatty acid synthesis. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 5, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24849657/>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

ŞANLI, E.; KABARAN, S. Maternal Obesity, Maternal Overnutrition and Fetal Programming: Effects of Epigenetic Mechanisms on the Development of Metabolic Disorders. **Current Genomics**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 419–427, 2019. Disponível em: <[pmc/articles/PMC7235386/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33111533/)>. Acesso em: 11 ago. 2020.

SHARPE, R. M. Programmed for sex: Nutrition-reproduction relationships from an inter-generational perspective. **Reproduction**, [s. l.], v. 155, n. 3, p. S1–S16, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1530/REP-17-0537>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

SHERIFF, F. R.; LOPEZ, A.; LUPO, P. J.; SETH, A.; JORGEZ, C.; AGOPIAN, A. J. Maternal hypertension and hypospadias in offspring: A systematic review and meta-analysis. **Birth defects research**, [s. l.], v. 111, n. 1, p. 9–15, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30411533/>>. Acesso em: 10 jul. 2021.

STEIN, A. D.; OBRUTU, O. E.; BEHERE, R. V.; YAJNIK, C. S. **Developmental undernutrition, offspring obesity and type 2 diabetes**, Springer Verlag, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31451877/>>. Acesso em: 21 jul.

2020.

STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; VAN HAEFTEN, T. W. Type 2 diabetes: Principles of pathogenesis and therapy. In: LANCET 2005, **Anais...** : Elsevier Limited, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15823385/>>. Acesso em: 9 jul. 2020.

TENA-SEMPERE, M.; BARREIRO, M. L. **Leptin in male reproduction: The testis paradigm**, Mol Cell Endocrinol, 2002. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11911940/>>. Acesso em: 28 nov. 2020.

TSOUNAPI, P.; HONDA, M.; DIMITRIADIS, F.; SHIMIZU, S.; SHIOMI, T.; HIKITA, K.; SAITO, M.; TOMITA, S.; SOFIKITIS, N.; TAKENAKA, A. Antioxidant treatment ameliorates diabetes-induced dysfunction of the vas deferens in a rat model.

Andrologia, [s. l.], v. 50, n. 1, p. e12795, 2018. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/and.12795>>. Acesso em: 9 jun. 2021.

TÜRK, G.; RIŞVANLI, A.; ÇERİBAŞI, A. O.; SÖNMEZ, M.; YÜCE, A.; GÜVENÇ, M.; ARSLAN ÖZKAN, H.; CANLI, N.; YAMAN, M. Effect of gestational diabetes mellitus on testis and pancreatic tissues of male offspring. **Andrologia**, [s. l.], v. 50, n. 4, 2018.

ULLAH, A.; PIRZADA, M.; JAHAN, S.; ULLAH, H.; RAZAK, S.; RAUF, N.; KHAN, M. J.; MAHBOOB, S. Z. Prenatal BPA and its analogs BPB, BPF, and BPS exposure and reproductive axis function in the male offspring of Sprague Dawley rats. **Human and Experimental Toxicology**, [s. l.], v. 38, n. 12, p. 1344–1365, 2019.

Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31514588/>>. Acesso em: 31 maio. 2021.

WAHLQVIST, M. L.; KRAWETZ, S. A.; RIZZO, N. S.; DOMINGUEZ-BELLO, M. G.; SZYMANSKI, L. M.; BARKIN, S.; YATKINE, A.; WATERLAND, R. A.; MENNELLA, J. A.; DESAI, M.; ROSS, M. G.; KREBS, N. F.; YOUNG, B. E.; WARDLE, J.; WRANN, C. D.; KRAL, J. G. Early-life influences on obesity: From preconception to adolescence. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 1347, n. 1, p. 1–28, 2015. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26037603/>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

WALKER, R.; KUMAR, A.; BLUMFIELD, M.; TRUBY, H. Maternal nutrition and weight management in pregnancy: A nudge in the right direction. **Nutrition Bulletin**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 69–78, 2018. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1111/nbu.12308>>. Acesso em: 4 ago. 2020.

WHYBROW, S.; MAYER, C.; KIRK, T. R.; MAZLAN, N.; STUBBS, R. J. Effects of Two Weeks' Mandatory Snack Consumption on Energy Intake and Energy Balance*.

Obesity, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 673–685, 2007. Disponível em:

<<http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2007.567>>. Acesso em: 27 nov. 2020.

YANG, W.; LIU, J.; LI, J.; LIU, J.; LIU, H.; WANG, Y.; LENG, J.; WANG, S.; CHEN, H.; CHAN, J. C. N.; YU, Z.; HU, G.; YANG, X. Interactive effects of prepregnancy

overweight and gestational diabetes on macrosomia and large for gestational age: A

population-based prospective cohort in Tianjin, China. **Diabetes Research and Clinical**

Practice, [s. l.], v. 154, p. 82–89, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.06.014>>. Acesso em: 8 jul. 2020.

ZAMBRANO, E.; GUZMÁN, C.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L.; DURAND-

CARBAJAL, M.; NATHANIELSZ, P. W. **Fetal programming of sexual development and reproductive function**, Elsevier, 2014.

ZAMBRANO, E.; MARTÍNEZ-SAMAYOA, P. M.; BAUTISTA, C. J.; DEÁS, M.;

GUILLÉN, L.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L.; GUZMÁN, C.; LARREA, F.;

NATHANIELSZ, P. W. Sex differences in transgenerational alterations of growth and

metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet

during pregnancy and lactation. **Journal of Physiology**, [s. l.], v. 566, n. 1, p. 225–236,

2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15860532/>>. Acesso em: 2 dez.

2020.

ZHENG, J.; ZHANG, L.; WANG, Z.; ZHANG, J. Maternal high-fat diet regulates

glucose metabolism and pancreatic β cell phenotype in mouse offspring at weaning.

PeerJ, [s. l.], v. 8, p. e9407, 2020.

Anexos e Apêndices

Tabela 1. Parâmetros analisados durante a preferência sexual com um macho e uma fêmea. Dados apresentados como média \pm EPM (ANOVA univariada, $p < 0,05$).

Tabela 2. Parâmetros analisados durante a preferência sexual com uma fêmea receptiva e uma fêmea não-receptiva. Dados apresentados como média \pm EPM (ANOVA univariada, $p < 0,05$).

Tabela 3. Parâmetros analisados durante o comportamento sexual masculino. Dados apresentados como média \pm EPM (ANOVA univariada, $p < 0,05$). O número de animais que desempenharam o parâmetro analisado está descrito, seguido do número total de animais do grupo.

Tabela 4. Pesos absolutos dos órgãos do trato reprodutor masculino. Dados apresentados como média \pm EPM por análise de covariância (ANCOVA) com o peso corporal ($p < 0,05$).

Tabela 1. Parâmetros Preferência Sexual Macho/Fêmea	Controle salina (n=12)	Controle leptina (n=13)	STZ salina (n=12)	STZ leptina (n=13)	Controle- Dieta salina (n=11)	Controle- Dieta leptina (n=14)	STZ- Dieta salina (n=11)	STZ- Dieta leptina (n=12)	Significância Estatística
Número de Entradas na Zona de Incentivo do Macho	25,417 ± 1,893	27,692 ± 1,140	25,583 ± 1,228	26,077 ± 2,120	24,273 ± 2,537	26,357 ± 1,151	25,091 ± 2,082	25,750 ± 1,859	Não significativo
Número de Entradas na Zona de Incentivo da Fêmea	23,667 ± 1,463	25,462 ± 0,882	25,750 ± 1,624	25,923 ± 2,477	24,455 ± 1,485	23,50 ± 1,217	27,364 ± 1,503	26,083 ± 1,495	Não significativo
Tempo na Zona de Incentivo do Macho	349,50 ± 18,196	* 362,923 ± 25,101	327,833 ± 31,231	* 347,846 ± 36,096	325,455 ± 31,966	* 383,0 ± 22,220	277,636 ± 20,563	* 346,50 ± 27,320	Efeito de Tratamento Leptina > Salina (p < 0,05)
Tempo na Zona de Incentivo da Fêmea	344,00 ± 30,836	372,769 ± 41,706	397,833 ± 35,581	422,692 ± 48,211	413,636 ± 46,774	385,143 ± 39,597	45,636 ± 24,710	381,50 ± 23,745	Não significativo
Score de Preferência	0,489 ± 0,030	0,497 ± 0,035	0,551 ± 0,037	0,537 ± 0,052	0,552 ± 0,044	0,490 ± 0,031	0,616 ± 0,026	0,528 ± 0,029	Não significativo

Tabela 2. Parâmetros Preferência Sexual Fêmea Receptiva/ Fêmea Não- Receptiva	Controle salina (n=12)	Controle leptina (n=13)	STZ salina (n=12)	STZ leptina (n=13)	Controle- Dieta salina (n=11)	Controle- Dieta leptina (n=14)	STZ- Dieta salina (n=11)	STZ- Dieta leptina (n=12)	Significância Estatística
Número de Entradas na Zona de Incentivo da Fêmea Receptiva	15,083 ± 1,443	13,308 ± 1,491	14,583 ± 1,535	13,923 ± 1,963	13,909 ± 1,760	12,0 ± 1,414	17,273 ± 1,869	17,50 ± 1,730	Não significativo
Número de Entradas na Zona de Incentivo da Fêmea Não- Receptiva	16,750 ± 1,702	16,077 ± 1,118	19,0 ± 1,441	16,308 ± 1,474	17,818 ± 0,851	15,786 ± 1,694	18,273 ± 1,590	17,083 ± 2,268	Não significativo
Tempo na Zona de Incentivo da Fêmea Receptiva	357,333 ± 47,677	291,538 ± 34,330	360,167 ± 59,222	364,769 ± 64,202	328,727 ± 51,718	386,0 ± 73,514	400,182 ± 52,897	390,0 ± 61,809	Não significativo
Tempo na Zona de Incentivo da Fêmea Não- Receptiva	382,667 ± 37,853	428,615 ± 39,312	474,333 ± 57,935	470,308 ± 63,579	426,364 ± 47,358	463,0 ± 56,701	453,455 ± 38,035	485,833 ± 67,268	Não significativo
Score de Preferência	0,466 ± 0,034	0,403 ± 0,041	0,431 ± 0,057	0,437 ± 0,063	0,430 ± 0,059	0,429 ± 0,063	0,457 ± 0,050	0,453 ± 0,064	Não significativo

Tabela 3. Parâmetros Comportamento Sexual	Controle salina (n=12)	Controle leptina (n=12)	STZ salina (n=9)	STZ leptina (n=11)	Controle- Dieta salina (n=9)	Controle- Dieta leptina (n=12)	STZ-Dieta salina (n=11)	STZ-Dieta ⁵⁵ leptina (n=11)	Significância Estatística
Nº de Montas Pré- Ejaculação	10,818 ± 2,031 (n=11/12)	6,727 ± 1,532 (n=11/12)	* 19,125 ± 8,147 (n=8/9)	* 14,30 ± 2,769 (n=10/11)	9,857 ± 1,945 (n=7/9)	7,818 ± 2,231 (n=11/12)	* 11,909 ± 2,521 (n=11/11)	* 14,30 ± 4,924 (n=10/11)	Efeito de Metabolismo STZ > Controle (p < 0,05)
Nº de Intromissões Pré- Ejaculação	30,667 ± 6,129 (n=12/12)	33,800 ± 3,258 (n=10/12)	30,444 ± 6,608 (n=9/9)	30,80 ± 4,101 (n=11/11)	34,714 ± 5,259 (n=7/9)	27,222 ± 5,835 (n=9/12)	37,455 ± 6,208 (n=11/11)	36,40 ± 7,046 (n=10/11)	Não significativo
Latência Primeira Monta Pré- Ejaculação (s)	128,909 ± 37,311 (n=11/12)	338,889 ± 155,303 (n=9/12)	76,429 ± 28,924 (n=7/9)	149,700 ± 70,800 (n=10/11)	174,286 ± 52,956 (n=7/9)	120,300 ± 38,371 (n=10/12)	96,111 ± 34,244 (n=9/11)	98,70 ± 39,479 (n=10/11)	Não significativo
Latência Primeira Intromissão Pré- Ejaculação (s)	466,667 ± 144,897 (n=12/12)	305,100 ± 84,281 (n=10/12)	437,556 ± 205,906 (n=9/9)	708,90 ± 253,806 (n=10/11)	379,0 ± 127,837 (n=7/9)	298,333 ± 82,251 (n=9/12)	322,182 ± 90,177 (n=11/11)	385,800 ± 91,129 (n=10/11)	Não significativo
Latência Primeira Ejaculação Pré- Ejaculação (s)	1465,000 ±219,350 (n=8/12)	1439,222 ± 174,035 (n=9/12)	1037,571 ± 198,760 (n=7/9)	1475,875 ± 118,963 (n=8/11)	1679,80 ± 281,739 (n=5/9)	1272,286 ± 215,439 (n=7/12)	1439,714 ± 265,603 (n=7/11)	1373,625 ± 194,261 (n=8/11)	Não significativo
Nº de Intromissões Pós- Ejaculação	24,667 ± 5,619 (n=6/12)	17,250 ± 3,416 (n=8/12)	28,333 ± 4,356 (n=6/9)	15,714 ± 2,561 (n=7/11)	14,333 ± 5,207 (n=3/9)	26,0 ± 5,323 (n=6/12)	24,40 ± 9,119 (n=5/11)	17,0 ± 5,508 (n=6/11)	Não significativo

Latência Primeira Intromissão Pós- Ejaculação (s)	1602 ± 175,967 (n=6/12)	1692,625 ± 134,736 (n=8/12)	1280,667 ± 224,823 (n=6/9)	1807,714 ± 124,770 (n=7/11)	1741,667 ± 344,374 (n=3/9)	1489,167 ± 221,710 (n=6/12)	1490,60 ± 240,956 (n=5/11)	1634,667 ± 204,595 (n=6/11)	Não significativo
Total de Montas	11,167 ± 1,965 (n=12/12)	6,33 ± 1,484 (n=12/12)	* 19,333 ± 7,312 (n=9/9)	* 14,273 ± 3,093 (n=11/11)	8,0 ± 2,007 (n=9/9)	7,917 ± 2,076 (n=12/12)	* 12,182 ± 2,554 (n=11/11)	* 13,182 ± 4,60 (n=11/11)	Efeito de Metabolismo STZ > Controle (p < 0,05)
Total de Intromissões	43 ± 7,335 (n=12/12)	39,667 ± 6,161 (n=12/12)	49,333 ± 8,238 (n=9/9)	38,0 ± 6,460 (n=11/11)	31,778 ± 6,956 (n=9/9)	33,417 ± 8,880 (n=12/12)	48,545 ± 6,834 (n=11/11)	42,364 ± 8,221 (n=11/11)	Não significativo
Total de Ejaculações	1,083 ± 0,260 (n=12/12)	1,083 ± 0,229 (n=12/12)	1,556 ± 0,444 (n=9/9)	1,182 ± 0,263 (n=11/11)	0,778 ± 0,324 (n=9/9)	1,167 ± 0,386 (n=12/12)	1,0 ± 0,270 (n=11/11)	1,182 ± 0,325 (n=11/11)	Não significativo

Tabela 4. Pesos trato reprodutor	Controle salina (n=14)	Controle leptina (n=14)	STZ salina (n=12)	STZ leptina (n=12)	Controle-Dieta salina (n=11)	Controle-Dieta leptina (n=14)	STZ-Dieta salina (n=12)	STZ-Dieta leptina (n=12)	Significância Estatística
Hipófise (g)	0,014 ± 0,001	0,014 ± 0,001	0,016 ± 0,001	0,013 ± 0,001	0,014 ± 0,002	0,015 ± 0,001	0,015 ± 0,001	0,016 ± 0,001	Não significativo
Gordura (g)	12,354 ± 0,746	* 5,416 ± 0,821	12,208 ± 1,831	* 5,903 ± 1,436	12,414 ± 1,400	* 7,630 ± 1,459	11,784 ± 1,264	* 6,099 ± 1,466	Efeito de Tratamento Leptina < Controle (p < 0,05)
Testículos (g)	1,756 ± 0,05	* 1,723 ± 0,042	1,719 ± 0,060	* 1,734 ± 0,044	1,725 ± 0,039	* 1,780 ± 0,032	1,710 ± 0,047	* 1,798 ± 0,040	Efeito de Tratamento Leptina > Controle (p < 0,05)
Epidídimos (g)	0,571 ± 0,019	0,537 ± 0,019	0,597 ± 0,016	0,562 ± 0,022	0,583 ± 0,023	0,579 ± 0,014	0,567 ± 0,021	0,584 ± 0,023	Não significativo
Ductos deferentes (g)	0,089 ± 0,006	* 0,082 ± 0,003	* 0,098 ± 0,005	* 0,107 ± 0,009	0,095 ± 0,005	* 0,094 ± 0,006	* 0,102 ± 0,006	* 0,111 ± 0,007	Efeito de Metabolismo e Tratamento
Próstata (g)	0,357 ± 0,027	0,403 ± 0,027	0,393 ± 0,029	0,433 ± 0,044	0,438 ± 0,037	0,370 ± 0,028	0,454 ± 0,042	0,479 ± 0,039	Não significativo
Vesícula seminal vazia (g)	0,520 ± 0,035	* 0,556 ± 0,030	0,605 ± 0,037	* 0,581 ± 0,035	* 0,617 ± 0,038	* 0,563 ± 0,034	* 0,590 ± 0,044	* 0,664 ± 0,043	Efeito de Dieta e efeito de Tratamento. Dieta > Controle (p < 0,05). Leptina > Salina (p < 0,05)
Vesícula seminal cheia (g)	1,325 ± 0,067	1,282 ± 0,087	1,492 ± 0,103	1,340 ± 0,071	1,353 ± 0,075	1,329 ± 0,064	1,462 ± 0,111	1,593 ± 0,079	Efeito de Metabolismo STZ > Controle (p < 0,05)

Conteúdo da vesícula seminal (g)	0,805 ± 0,062	0,727 ± 0,073	0,887 ± 0,086	0,759 ± 0,057	0,736 ± 0,054	0,766 ± 0,064	0,872 ± 0,076	0,930 ± 0,063	Não significativo
----------------------------------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------	-------------------

Biografia

Alessandra Gonçalves da Cruz ingressou no curso de graduação em Ciências Biomédicas no Instituto de Biociências de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” no ano de 2015. No ano seguinte, iniciou sua trajetória na pesquisa como aluna de iniciação científica e bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processos 42995 e 47428) do Laboratório de Reprodução e Metabolismo (LabReM) sob orientação da Profa. Dra. Ana Carolina Inhasz Kiss, com o projeto intitulado “Impacto da hiperglicemia e nutrição inadequada na atividade geral e ansiedade de ratas *Wistar* durante a lactação”. O trabalho rendeu o Prêmio Jovem Neurocientista pela Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento em 2018. Os dados do projeto estão inseridos no manuscrito “*Effects of snack intake during pregnancy and lactation on reproductive outcome in mild hyperglycemic rats*” recentemente aprovado para publicação na revista *Physiology and Behavior*.

No início de 2019, após obter o título de Bacharela em Ciências Biomédicas, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências (Fisiologia Geral) do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, também sob orientação da Profa. Dra. Ana Carolina Inhasz Kiss e bolsista do CNPq (Processo 130238/2019-8). Ministrou a aula intitulada “Controle Homeostático da Glicemia” durante o XV Curso de Inverno: Tópicos em Fisiologia Animal, participou de cursos do Programa de Capacitação e Treinamento em Comunicação Científica, oferecidos pela Faculdade de Medicina de Botucatu e foi monitora no Curso de Férias “Reprodução de A a Z”, do programa de extensão universitária “Difundindo e Popularizando a Ciência na UNESP”, última experiência presencial realizada antes do início da pandemia de COVID-19.

Mesmo com o início da pandemia, deu continuidade aos experimentos do mestrado, cumprindo todas as recomendações necessárias, e apresentou dados parciais no 55º Congresso Anual SBFIS *Online* | Encontro Luso Brasileiro de Fisiologia | *Symposium* Miguel Covian | *Latin American DOHaD Chapter*, realizado no formato *online*, participou do I Simpósio do PPG em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, além da realização do curso sobre Diabetes e Gestação oferecido pela Universidade Anhembi Morumbi. Após ter sido aprovada no exame de qualificação,

finalizou seus experimentos e se dedicou à análise dos dados e finalização da elaboração desta dissertação.

Devido à sua grande participação na vida acadêmica e execução de projetos de pesquisa, acredita que a educação, ciência e tecnologia são armas transformadoras. Fazer Ciência no Brasil é exemplo de força e coragem no combate ao negacionismo e *fake news*.

Certificado do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Certificado

Certificamos que o projeto intitulado "Impacto da hiperglicemia e nutrição inadequada materna no controle da ingestão alimentar e reprodução dos descendentes", Protocolo nº **1134-CEUA**, sob a responsabilidade de **Ana Carolina Inhasz Kiss**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 9 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e sua prorrogação foi aprovada *Ad referendum* da **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS** (CEUA), nesta data.

Finalidade:	<input type="checkbox"/> Ensino	<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência do Projeto:	Início: 1/3/2019	Término: 01/09/2022
Espécie/linhagem:	<i>Rato Sprague dawley</i>	
Nº de animais:	455	
Peso:	120g	Idade: 45 dias
Sexo:	<i>Macho e fêmea</i>	
Origem	<i>Biotério de Produção de Ratos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo-USP CNPJ: 63.025.530/0005-38</i>	

Botucatu, 1º de junho de 2021.

Prof. Assoc. Luis Fernando Barbisan
Vice-Coordenador da CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA
Instituto de Biociências da Unesp – Câmpus de Botucatu
Rua Prof. Dr. Antonio Celso Wagner Zanin, 250 - Distrito de Rubião Júnior - CEP 18618-689
Botucatu/SP Tel 14 3880 0851 mail: secda@ibb.unesp.br

Solicitação de Alteração de Título

São Paulo, 23 de junho de 2021.

Prezado Prof. Dr. Michael Hrnair
Presidente da CCP da Fisiologia

Eu, Alessandra Gonçalves da Cruz, nº USP 11125469, aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia do Instituto de Biociências, venho através deste solicitar alteração do título de dissertação de mestrado que será entregue brevemente. Este pedido se faz necessário, pois, durante a execução de meus experimentos, estava ocorrendo no laboratório um projeto financiado pela FAPESP, processo 2019/01306-2, intitulado “Impacto da hiperglicemia e nutrição inadequada materna no controle da ingestão alimentar dos descendentes”. O modelo de associação de hiperglicemia e nutrição inadequada materna obteve bons resultados em projetos de outros alunos do laboratório que avaliaram aspectos metabólicos dos descendentes. Achemos, portanto, que seria interessante analisar também parâmetros reprodutivos na prole dos grupos experimentais nos quais ocorreram essa associação. Dessa maneira, houve a adição de uma nova variável em meu projeto (a nutrição materna inadequada), o qual, inicialmente, avaliaria somente os descendentes de mães hiperglicêmicas.

Assim, gostaria de solicitar a alteração do título que passará de “Efeitos da infusão central crônica de leptina no comportamento sexual e trato reprodutor de descendentes de ratas com hiperglicemia moderada” para “Efeitos da infusão central crônica de leptina em parâmetros reprodutivos de descendentes machos de ratas com hiperglicemia moderada e nutrição inadequada” para melhor refletir o trabalho que desenvolvi no período.

Desde já agradeço a atenção concedida e solicito compreensão à situação excepcional.



Alessandra Gonçalves da Cruz (Nº USP 11125469)

Aluna de mestrado

De acordo,



Profa. Dra. Ana Carolina Inhasz Kiss

Orientador