



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

Sumário

Resumo	16
<i>Abstract</i>	18
Introdução	20
Conclusões.....	31
Referências Bibliográficas.....	32

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* 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 caracterizados 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), macrosomia (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.

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 Diabetesd2020. [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.
- ARENDT, 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: <[pmc/articles/PMC4924043/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33150362/)>. 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: <<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: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24111111/>>. 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/24811111/). 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/34811111/). 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.

MOLENDÁ, 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: <<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: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33111111/>>. 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.