

**UFRRJ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**EFEITO DO CONSUMO MATERNO DE DIETA HIPERLIPÍDICA SOBRE O  
REMODELAMENTO E METABOLISMO DO VENTRÍCULO ESQUERDO NA  
PROLE DE RATOS AO DESMAME**

**FABIANA TROCADES PARREIRA**

**2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**EFEITO DO CONSUMO MATERNO DE DIETA HIPERLIPÍDICA SOBRE O  
REMODELAMENTO E METABOLISMO DO VENTRÍCULO ESQUERDO NA  
PROLE DE RATOS AO DESMAME**

**FABIANA TROCADES PARREIRA**

**Sob a Orientação da Professora**

**Norma Aparecida dos Santos Almeida**

Dissertação submetida  
como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Fisiológicas, no  
Programa de Pós Graduação em  
Ciências Fisiológicas, área de  
concentração em Fisiologia e  
Farmacologia

**Seropédica, RJ  
Agosto de 2017**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P843e

Parreira, Fabiana Trocades, 1981-  
Efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre o remodelamento e metabolismo do ventrículo esquerdo na prole de ratos ao desmame / Fabiana Trocades Parreira. - 2017.  
86 f. : il.

Orientadora: Norma Aparecida dos Santos Almeida.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de pós graduação em ciências fisiológicas, 2017.

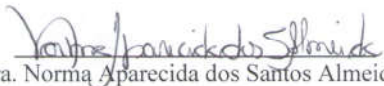
1. Metabolismo Cardíaco. 2. Dieta Hiperlipídica. 3. Hipertrofia cardíaca. 4. Ventrículo esquerdo. I. Almeida, Norma Aparecida dos Santos, 1976-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de pós graduação em ciências fisiológicas III. Título.

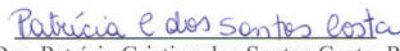
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

FABIANA TROCADES PARREIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Área de Concentração em Fisiologia/Farmacologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 01/08/2017

  
Dra. Norma Aparecida dos Santos Almeida. Ph.D. - UFRRJ  
(Orientador)

  
Dra. Patrícia Cristina dos Santos Costa. Ph.D. - UNIRIO

  
Dr. Fábio Fagundes da Rocha. Ph.D. - UFRRJ

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho ao meu esposo, Heber Jr., amigo e companheiro de todas as horas. Aos meus pais, que sempre me incentivaram a seguir em frente. Ao meu filho Benício, sementinha de amor planejada por 11 anos.

## AGRADECIMENTOS

Obrigada meu Deus por me manter motivada e me ajudar a vencer os obstáculos do caminho.

Ao meu esposo amado, por toda paciência, compreensão e estímulo.

Aos meus pais e irmãos. Especialmente aos sobrinhos pela compreensão de não poder dar a atenção sempre que me solicitavam.

Sou grata a minha orientadora Norma Aparecida dos Santos Almeida pela oportunidade.

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Rosane Nora, pela colaboração com a técnica de HPLC, solicitude e carinho.

À equipe do laboratório Laboratório de Endocrinologia Molecular da UFRJ, pela colaboração com as análises histológicas.

Aos irmãos científicos, principalmente ao irmão e amigo Rômulo por me ajudar e auxiliar nos primeiros passos na execução do Western Blotting. A irmã científica Selma, sempre ao meu lado e pronta para me animar nos momentos difíceis da pesquisa.

À Suelen Guedes e George Eduardo Gabriel Kluck pela contribuição durante a execução da técnica de TLC.

A todos os professores do DCFis. Obrigada por compartilhar o conhecimento. Especialmente ao Prof<sup>º</sup>. Dr<sup>º</sup>. Luis Carlos Reis, pelos conselhos e encorajamento.

À Mírian, amiga de sala de aula e companheira de viagem.

Aos alunos do DCF. Claudinho, Robertinho e especialmente Iracema e Lívia. Sempre prontos a ouvir, motivar e auxiliar em todos os momentos, minha eterna gratidão.

À amiga e irmã Raquel. Minha fada madrinha. Uma amizade que vou levar para o resto da vida.

Às instituições de fomento FAPERJ, CNPq E CAPES por apoiarem financeiramente a execução deste trabalho.

À amiga Débora Amarante, pelo carinho, apoio e estímulo, para seguir em frente mesmo nos piores momentos do mestrado.

Ao amigo Luís Fernandes, do Hospital Nossa Senhora da Piedade, pelo incentivo e encorajamento nesta trajetória.

## RESUMO

Parreira, Fabiana Trocades. **Efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre o remodelamento e metabolismo do ventrículo esquerdo na prole de ratos ao desmame.** 2017. 86 p. Dissertação. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2017.

O sobrepeso em mulheres em idade fértil e durante a gestação tem consequências perniciosas na vida fetal e adulta da prole. Isto tem sido demonstrado através de estudos com modelos experimentais de obesidade materna. Dados anteriores do nosso grupo demonstraram que o consumo materno de dieta hiperlipídica (DH) induziu, ao desmame, aumento de massa corporal da prole, adiposidade e hiperleptinemia. A função cardíaca aos 30 dias de vida demonstrou prejuízo na função sistólica (diminuição da fração de ejeção e aumento do volume sistólico final). Estes resultados demonstram que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove alterações precoces na função cardíaca de ratos independentemente do sexo do filhote. Este estudo teve como objetivo verificar se o consumo materno de dieta hiperlipídica pode alterar a morfologia e o metabolismo dos cardiomiócitos de animais machos e fêmeas da prole ao desmame. Para isso, ratas *Wistar* consumiram dieta controle (9% lipídeos, grupo C) ou hiperlipídica (29% lipídeos, grupo DH) durante 7 semanas antes do acasalamento, e durante a gestação e lactação. Ao desmame, 21 dias de vida, as proles foram pesadas e eutanasiadas por punção cardíaca. O coração e os tecidos adiposos branco (retroperitoneal, inguinal e perigonadal) foram pesados. Análises histológicas (cortes corados com HE) e bioquímicas (TLC e HPLC) foram realizadas utilizando amostras do ventrículo esquerdo (VE) e a expressão cardíaca dos receptores Ir $\beta$  e PI3K foi avaliada através da técnica de Western Blotting (Protocolo IBCCF- 114, UFRJ). A prole DH apresentou maior peso corporal e hipertrofia cardíaca. Dentre os lipídeos neutros mensurados (monoacilglicerol, colesterol, colesterol esterificado, triacilglicerol, ácidos graxos e fosfolipídeos) o colesterol apresentou-se diminuído nos machos (13%) da prole DH, enquanto o colesterol esterificado estava diminuído nos machos (52%) e fêmeas (29%) da prole DH. O conteúdo de triacilglicerol estava aumentado em ambos os sexos da prole DH (52% nos machos e 48% nas fêmeas). A quantificação de ácidos orgânicos (ácido oxaloacético, láctico e succínico) não demonstrou nenhuma variação entre as prole C e DH. Não houve alteração na expressão cardíaca dos receptores Ir $\beta$  e PI3K. Estes resultados sugerem que o consumo materno de dieta hiperlipídica altera a morfologia dos cardiomiócitos do VE e o metabolismo cardíaco de ratos independentemente do sexo da prole, o que pode explicar a diminuição da função sistólica observada em ratos juvenis.

Palavra Chave: Dieta hiperlipídica, hipertrofia cardíaca, metabolismo cardíaco.

## ABSTRACT

Parreira, Fabiana Trocades. **Effect of maternal consumption of high fat diet on remodeling and metabolism of the left ventricle in rat offspring at weaning.** 2017.86 p. Dissertation. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2017

Overweight in women of childbearing age and during pregnancy has consequences of fetal and adult life of offspring. This fact has been demonstrated through studies with experimental models of maternal obesity. Previous data from our group showed that maternal consumption of a high fat diet (HF) induced, at weaning, increase body mass of offspring, adiposity and hyperleptinemia. Cardiac function at 30 days of life showed lower systolic function (decreased ejection fraction and increased final systolic volume). These data demonstrate that the maternal consumption of the high fat diet promotes early changes in the cardiac function of rats regardless of sex of the offspring. This study aimed to investigate if maternal consumption of HF diet can alters cardiac structure or metabolism in male and female at weaning. For this purpose, Wistar female rats consumed control (9% lipids, C group) or HF diet (29% lipids, HF group) for 7 consecutive weeks before mating and during pregnancy and lactation. At weaning, 21 days-old, puppies were weighted and euthanized by cardiac puncture. Heart and white adipose tissues (retroperitoneal, inguinal and perigonadal) were weighted. Histological (Hematoxilin-Eosin) and biochemical (TLC and HPLC) analysis were performed using LV samples. The ventricular expression of Ir $\beta$  and PI3K receptors were analysed by Western blotting (Protocol IBCCF- 114, UFRJ). HF offspring had higher body weight, adiposity and cardiac hypertrophy. Among the neutral lipids measured (monoacylglycerol, cholesterol, esterified cholesterol, triacylglycerol, fatty acids and phospholipids) the cholesterol was decreased in male HF offspring (13%), whereas the esterified cholesterol was decreased in male (52%) and female (29%) HF offspring. The triacylglycerol content was increased in both sexes of the HF offspring (52% in male and 48% in female). The quantification of the organic acids (oxaloacetic, lactic and succinic acid) did not show any alteration between C and HF offspring. There were no difference in the cardiac expression of the Ir $\beta$  and PI3K receptors. These results suggest that the maternal consumption of high fat diet changes the morphology of LV cardiomyocytes and the cardiac metabolism in rats regardless of the sex of the offspring, which can explain the decreased systolic function observed in juvenile rats.

Key words: High fat diet, cardiac hypertrophy, cardiac metabolism.



## LISTA DE ABREVIATURAS

- μL:** Microlitro  
**μm:** Micrômetro  
**μg:** Microgrma  
**11 βHSD-1:** 11-β hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1  
**ACC:** Acetil CoA carboxilase  
**ACC1:** Acetil CoA carboxilase 1  
**AG:** Ácidos Graxos  
**AKT ou PKB:** do inglês, Protein Kinase B  
**ATP:** Trifosfato de adenosina  
**BNIP3:** do inglês, BCL2 interacting protein 3  
**BNP:** do inglês, Brain Natriuretic Peptide  
**C:** Controle  
**cAMP:** Adenosina 3', 5'- monofosfato cíclico  
**CC:** Circunferência da Cintura  
**CD36:** do inglês, Cluster of differentiation  
**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono  
**CoA:** Coenzima A  
**Complexo IV:** Enzima citocromo c oxidase  
**CPT1 e 2 :** Carnitina palmitoil transferase 1 e 2  
**DAG:** Diacilglicerol  
**DC:** Dieta Controle  
**DCE:** Dieta Controle Estresse  
**DGAT:** Diacilglicerol acetiltransferase  
**DH:** Dieta Hiperlipídica  
**DHE:** Dieta Hiperlipídica e Estresse  
**DM2:** Diabetes mellitus do tipo 2  
**DOHaD:** Hipótese do desenvolvimento da doença  
**ECM:** Matriz Extracelular  
**ERK:** do inglês, Extracellular signal regulated kinases  
**EROS:** Espécies reativas de oxigênio

**FADH<sub>2</sub>**: Dinucleotídeo de flavina e adenina  
**FATP**: do inglês, Placental fatty acid transporter  
**g**: Grama  
**G6P**: Glicose 6 fosfato  
**GLUTs**: Transportadores específicos de glicose  
**GPR91**: Receptor 91 acoplado a proteína G  
**HDL** : High Density Lipoprotein  
**HE**: Hematoxilina e eosina  
**HIF-1 $\alpha$** : Fator indutível por hipóxia 1 $\alpha$   
**HPLC**: do inglês, High Performance Liquid Chromatography  
**ICV**: Intracerebroventricular  
**IL**: Interleucina  
**IM**: Infarto do Miocárdio  
**IMC**: Índice de Massa Corporal  
**IR**: Receptor de insulina  
**IRS**: Substrato do receptor de insulina  
**IV**: Intravenosa  
**JAK**: do inglês, Janus Thyrosine Kinase 2  
**LDL**: Lipoproteína de baixa densidade  
**LPL**: Lipoproteína lipase  
**MAPK**: do inglês, Mitogen Activated Protein Kinases  
**MCAD**: do inglês, Medium chain acyl- CoA dehydrogenase  
**mCPT-1**: do inglês, Mast cell protease 1  
**mg**: miligrama  
**mGS**: do inglês, muscle- glycogen synthase  
**MHC  $\beta$** : Cadeia pesada de miosina do tipo  $\beta$   
**Mir- 133 $\alpha$** : micro RNA- 133  $\alpha$   
**mL**: Mililitro  
**mm**: Milímetro  
**mRNA**: RNA mensageiro  
**NADH**: Dinucleotídeo adenina nicotinamida  
**NADPH**: Dinucleotídeo adenina nicotinamida fosfato  
**nm**: Nanômetro

**NO:** Óxido Nítrico

**Ob-R:** Receptor de leptina

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

**PA:** Puro para análise

**PDC:** Complexo piruvato desidrogenase

**PDK-1:** do inglês, Phosphoinositide dependent kinase 1

**PDK2:** Piruvato desidrogenase cinase 2

**PDPs:** Pyruvate dehydrogenase phosphate phosphatases

**PGC-1:** Transcriptional peroxisome proliferator- activated receptor  $\gamma$  coactivator- 1

**pH:** Potencial de hidrogênio

**PI3K:** Fosfatidilinositol 3- kinase

**PLAGC:** Proteínas ligadas aos ácidos graxos do tipo cardíaco

**PPAR $\alpha$ :** do inglês, Peroxisome proliferator- activated receptor  $\alpha$

**PTN:** Proteína

**PVDF:** do inglês, Polyvinylidene Difluoride

**RCIU:** Restrição ao crescimento intra-uterino

**RCQ:** Relação Cintura Quadril

**RP:** Restrita de proteínas

**RyR:** Receptor de rianodina

**SERCA-2:** Bomba de Ca<sup>2+</sup> do retículo sarcoplasmático

**SGLTs:** Cotransportadores de sódio- glicose

**SNC:** Sistema Nervoso Central

**STAT3:** do inglês, Phosphorylated- signal transducer and activator of transcription-3

**T3:** Triiodotironina

**T4:** Tiroxina

**TCA:** Ácido tricarbóxico

**TG:** Triacilglicerol

**Timing:** Expressão do inglês que faz referência ao momento em que cada órgão é formado durante a gestão.

**TLC:** do inglês, Thin Layer Chromatography

**TR $\alpha$ :** Receptor tireoideano do tipo  $\alpha$

**TSH:** Hormônio estimulante da tireóide

**UFRJ:** Universidade Federal do Rio de Janeiro

**UFRRJ:** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

**VE:** Ventrículo Esquerdo

**VLDL:** Lipoproteína de baixa densidade

**VTA:** Área Tegmental Ventral

**$\beta$ 1-AR:** Receptor adrenérgico do tipo

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do posicionamento dos Sarcômeros em Células Cardíacas Hipertrofiadas.....	11
Figura 2 - Representação Esquemática do Metabolismo do Substrato Energético do Miocárdio Adulto.....	19
Figura 3 - Representação Esquemática do Metabolismo dos Ácidos Graxos e Pool de Triacilglicerol nas Células Cardíacas.....	20
Figura 4 - Representação da Separação das Proles a Serem Analisadas.....	29
Figura 5 - Representação do Desenho Experimental .....	30
Figura 6 - Evolução da Massa Corporal de Filhotes Fêmeas das Proles C e DH, do Nascimento ao desmame (21 dias de idade) .....	36
Figura 7 - Evolução da Massa Corporal de Filhotes Machos das Proles C e DH, do Nascimento ao Desmame (21 dias de idade).....	36
Figura 8 - Fotomicrografia e Representação Gráfica do Diâmetro dos Cardiomiócitos da Parede Livre do VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....	39
Figura 9 - Conteúdo de Monoacilglicerol no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade .....	40
Figura 10 - Conteúdo de Diacilglicerol no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....	41
Figura 11 - Conteúdo de Colesterol no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....	42
Figura 12 - Conteúdo de Colesterol Esterificado no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....	43
Figura 13 - Conteúdo de Triacilglicerol no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....	44
Figura 14 - Conteúdo de Ácido Graxo Livre no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....	45

<b>Figura 15- Conteúdo de Fosfolípidios no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 16 - Conteúdo de Ácidos Oxaloacético no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 17 - Conteúdo de Ácido Láctico no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 18 - Conteúdo de Ácido Succínico no VE das Proles C e DH, aos 21 dias de idade.....</b>	<b>48</b>
<b>Figura 19 - Expressão Proteica da Isoforma <math>\beta</math> do Receptor da Insulina (Ir<math>\beta</math>) no VE das Proles C e DH, aos 21 Dias de Idade.....</b>	<b>49</b>
<b>Figura 20 - Expressão Proteica da Enzima Fosfatidilinositol-3 cinase (PI3K p85) no VE das Proles C e DH aos 21 dias de Idade.....</b>	<b>50</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- <b>Composição da Dieta Hiperlipídica Purificada 5400 cal/Kg (prag Soluções)</b> .....	28
Tabela 2- <b>Condições estabelecidas após padronização dos Anticorpos para Western Blotting</b> .....	34
Tabela 3- <b>Peso Relativo dos Tecidos Adiposos Retroperitoneal, Perigonadal e Iguinal de Filhotes das Proles C e DH aos 21 Dias de Idade</b> .....	37
Tabela 4- <b>Peso relativo do Coração e dos Ventrículos de Filhotes das Proles C e DH aos 21 Dias de Idade</b> .....	38

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Obesidade Materna</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Interface Materno Fetal</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Programação Metabólica</b>	<b>6</b>
<b>1.4 Hipertrofia Cardíaca</b>	<b>9</b>
<b>1.5 Metabolismo Cardíaco</b>	<b>15</b>
1.5.1 Catabolismo dos principais substratos cardíacos	17
<b>1.6 Programação Metabólica por Manipulação da Dieta</b>	<b>22</b>
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>26</b>
<b>2.1 Objetivo geral</b>	<b>26</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b>	<b>26</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
<b>3.1 Animais</b>	<b>27</b>
3.1.1 Modelo Experimental	27
<b>3.2 Avaliação indireta da hipertrofia cardíaca</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Análise histológica</b>	<b>30</b>
<b>3.4 Quantificação de lipídeos neutros</b>	<b>31</b>
<b>3.5 Avaliação bioquímica dos ácidos oxaloacético, láctico e succínico</b>	<b>32</b>
<b>3.6 Análise da expressão proteica do receptor de insulina Ir<math>\beta</math>1 e PI3K</b>	<b>33</b>
<b>3.7 Análise estatística</b>	<b>34</b>



<b>4. RESULTADOS</b>	<b>35</b>
4.1 Evolução da massa corporal das proles do nascimento até o desmame	35
4.2 Análise dos pesos dos tecidos adiposos brancos aos 21 dias	37
4.3 Avaliação da hipertrofia no coração das proles aos 21 dias de idade	37
4.4 Quantificação dos lipídeos neutros no ventrículo esquerdo das proles aos 21 dias de idade	40
4.5 Quantificação de ácidos orgânicos no ventrículo esquerdo das proles aos 21 dias de idade	46
4.6 Expressão de Ir $\beta$ e PI3K no ventrículo esquerdo da prole.	48
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>51</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>60</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>61</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a obesidade é decorrente do acúmulo de gordura excessiva e anormal que podem desencadear doenças metabólicas como a diabetes que gera riscos à saúde. Vários termos são utilizados para se referir à obesidade, tal como, obesidade abdominal, adiposidade visceral, percentual de gordura corporal dentre outras (VAZQUEZ *et al.*, 2007). No Brasil, em 2014, 55% dos homens acima dos 18 anos e 53% das mulheres acima dos 18 anos apresentavam o índice de massa corporal (IMC) acima ou igual a 25 (WHO, 2014). A obesidade está associada ao significativo aumento de doenças cardiovasculares e mortalidade por comorbidades relacionadas, diabetes, doenças renais e hipertensão (FLEGAL *et al.*, 2007). Além disso, é o principal fator no desenvolvimento da síndrome metabólica (BRAY, 2004).

De acordo com FERNANDEZ- TWINN & OZZANE (2010), a síndrome metabólica caracteriza-se como uma associação de sintomas, tais como resistência à insulina, inflamação sistêmica, hipertensão, obesidade central ou visceral, redução do colesterol HDL (do inglês *high density lipoprotein*) e elevação de triacilglicerol (TG). Um indivíduo com 3 ou mais destes sintomas é diagnosticado como portador da síndrome metabólica (BRAY, 2004). Estas alterações promovem aumento da gordura visceral acarretando aumento na liberação de ácidos graxos (AG) e prejuízo na depuração da insulina pelo fígado modificando assim o metabolismo periférico (HAN & LEAN, 2016). Os mecanismos relacionados às desordens metabólicas não estão totalmente compreendidos, sabe-se que há uma discreta inflamação associada à obesidade (SEGOVIA *et al.*, 2014).

A obesidade pode ser mensurada através do IMC que leva em consideração o peso corporal do indivíduo (em quilogramas) dividido pelo quadrado da sua altura (em metros). Uma pessoa com IMC maior ou igual a 25 é considerada obesa (WHO, 2017). Entretanto, estudos epidemiológicos tem demonstrado que outros indicadores de obesidade podem ser mais fidedignos que o IMC. Esses indicadores são obtidos através de diferentes medidas antropométricas para a obesidade abdominal tal como circunferência da cintura (CC) e relação cintura-quadril (RCQ) sendo consistentes indicadores para doenças não comunicantes tal como diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) (VAZQUEZ *et al.*, 2007) e doenças cardiovasculares (PANIAGUA *et al.*, 2008). De acordo com a OMS a avaliação da circunferência da cintura, a RCQ e relação peso-cintura (RPC) são consideradas medidas mais fidedignas do que o IMC (WHO, 2008).

Um levantamento realizado entre os anos de 1977-2006 com crianças nos Estados Unidos demonstrou que o tipo de alimento consumido e a sua origem, tem um impacto na ingestão diária de calorias. Os chamados “*Fast Foods*” preparados ou não fora de casa aumentam a ingestão de calorias (POTI & POPKIN, 2011). A escassez de tempo na vida moderna tem contribuído para o aumento do consumo de alimentos industrializados, hipercalóricos e com baixo teor nutricional (SMITH *et al.*, 2013). Quando associado ao sedentarismo, estes fatores potencializam a obesidade.

O desenvolvimento de estratégias para combater a obesidade tornou-se um grande desafio, já que há poucas estratégias de intervenção bem sucedidas para reduzir sua incidência (O’BRIEN *et al.*, 2014).

### **1.1. Obesidade materna**

A prevalência da obesidade em mulheres em idade reprodutiva em todo o mundo vem aumentando consideravelmente (DONG *et al.*, 2013), e este fato tem tornado urgente a necessidade de se compreender a relação entre o metabolismo materno, a vida uterina e a influência do sobrepeso materno, tanto na vida pueril quanto na vida adulta da prole (ROBERTS, 2015).

Dados epidemiológicos demonstram que o aumento da massa corporal materna está associado ao maior risco de defeitos congênitos no coração da prole (GUANG- JU *et al.*, 2014). Vários mecanismos incluindo elevação hormonal, sobretudo leptina e insulina, nutrientes, ácidos graxos (AG), triacilglicerol (TG), glicose e citocinas inflamatórias ocupam um papel chave nos efeitos cardiovasculares no pós-nascimento, induzidos pela obesidade materna. Já os efeitos causados tardiamente estão relacionados à lipotoxicidade (acúmulo de metabólitos lipídicos), que é capaz de ativar cascatas de sinalização do estresse tais como citocinas pró- inflamatórias e estresse oxidativo (DONG *et al.*, 2013). Os mecanismos associados à obesidade materna e doenças cardiovasculares da prole são complexos e multifatoriais (ROBERTS, 2015).

Um estudo com 13345 homens e mulheres nascidos entre 1934 e 1944 avaliou o IMC de suas mães durante as respectivas gestações e demonstrou associação entre a elevação do IMC da gestante e doenças tardias na prole, como doenças cardiovasculares e DM2, esta última correlação demonstrou-se mais forte nas mulheres (ERIKSSON *et al.*, 2014).

Além de elevar os riscos para desenvolvimento de doenças cardiovasculares, há indícios de que a obesidade materna eleva o risco de desenvolvimento de maior adiposidade e

compromete o metabolismo glicídico na prole adulta (DRAKE, 2010). O sobrepeso materno durante a gestação está associado ao crescimento anormal do feto (macrossomia) (GAUDET *et al.*, 2014). O elevado risco de asma na infância também está associado ao ganho de peso da gestante (FORNO *et al.*, 2014).

Em relação ao sistema nervoso central (SNC), GODFREY e colaboradores (2017) sugerem que o aumento da adiposidade materna comprometa o desempenho cognitivo e eleve o risco de desordens neuronais, tal como paralisia cerebral. Além disso, parece haver uma relação entre a dieta materna, desequilíbrio intestinal, plasticidade da área tegmental ventral (VTA) e anormalidades comportamentais específicas associadas a desordens do espectro autista (BUFFINGTON *et al.*, 2016).

## **1.2. Interface materno fetal**

A placenta é a interface entre a mãe e o feto, apesar do sangue materno e fetal nunca estarem em contato direto. Os nutrientes da mãe, tal como oxigênio e glicose devem deixar os vasos sanguíneos materno e entrar no tecido placentário, passando através deste tecido para a corrente sanguínea fetal (GLUCKMAN & HANSON, 2005).

Como a placenta tem importante papel nutricional, o crescimento fetal é dependente da disponibilidade e transporte destes nutrientes provenientes da mãe. A atividade de um número diversificado de transportadores tem sido associada tanto a desnutrição quanto a supernutrição fetal. Sendo assim, mudanças nos transportadores de nutrientes podem contribuir diretamente no desenvolvimento anormal do feto (LAGER & POWELL, 2012). Além disso, alterações no fluxo sanguíneo umbilical influenciam o transporte através da placenta (CARTER, 2009).

O principal substrato energético para o feto é a glicose. No entanto, a síntese de glicose fetal é mínima, sendo quase que em sua totalidade fomentada pela glicose oriunda da circulação materna (BAUMANN *et al.*, 2002). Em relação ao transporte da glicose sabe-se que é intermediado através de transportadores específicos para glicose (GLUTs). Na membrana microvilosa placentária encontra-se elevada incidência de GLUTs, além de uma ampla área de superfície que somados possibilitam rápido transporte de glicose pela placenta (BAUMANN *et al.*, 2002).

Segundo ERICSSON e colaboradores (2005b) a isoforma do tipo GLUT1 é o principal transportador de glicose placentário em humanos e roedores, e sua expressão é aumentada na gestação (TAKATA *et al.*, 1994). A placenta humana também expressa

GLUT3, GLUT8, GLUT9, GLUT10 e GLUT 12. Durante o primeiro trimestre, a interface externa da placenta também expressa a isoforma GLUT4, sensível à insulina (ERICSSON *et al.*, 2005b; GUDE *et al.*, 2003). O transporte de glicose através da placenta vai gradativamente aumentando de acordo com o avançar da gestação, a regulação placentária do transporte de glicose difere entre os trimestres (ERICSSON *et al.*, 2005b).

Os ácidos graxos ocupam importante papel no desenvolvimento fetal em humanos e roedores. São estruturas essenciais das membranas celulares, e importantes precursores de bioativos, sendo assim, fundamentais para o desenvolvimento de tecidos e órgãos como é constatado no terceiro trimestre gestacional de humanos, quando são rapidamente acumulados no tecido adiposo fetal e cérebro (CETIN *et al.*, 2009; HAGGARTY, 2010).

Os AG obtidos pela placenta e encaminhados ao feto originam-se de duas fontes de gorduras predominante na circulação materna: ácidos graxos não esterificados e ácidos graxos esterificados em TG carregados pelas lipoproteínas. Tem sido proposto que os TG materno sejam a fonte primária de AG devido seu significativo aumento no final da gestação (HAGGARTY, 2010). Eles são transportados em lipoproteínas maternas e disponibilizados para o transporte transplacentário pela hidrólise em ácidos graxos não esterificados. Este processo ocorre através da atuação das lipases expressas na placenta associadas às microvilosidades placentárias (LINDEGAARD *et al.*, 2006). É possível que a transferência de ácidos graxos da mãe para o feto seja dirigida pelo gradiente de concentração materno-fetal (HAGGARTY, 2010).

Modelos experimentais de obesidade materna induzida por dieta hipercalórica tem demonstrado aumento na expressão de mRNA das FATP (do inglês *placental fatty acid transporter*) do tipo 1 e 4. Estas proteínas encontram-se integras na placenta e são responsáveis por transportar ácidos graxos de cadeia longa (KAZANTZIS & STAHL, 2012; ZHU *et al.*, 2010; STRAKOVSKY & PAN, 2012).

Estudos *in vitro* com trofoblastos humanos e de ovelhas têm demonstrado que a nutrição materna afeta as adaptações vasculares (MA Y *et al.*, 2010). Durante a gravidez, os esteroides sexuais regulam as adaptações vasculares. O tônus vascular placentário no lado fetal é regulado e mantido pela síntese e liberação de moduladores vasoativos do endotélio (NO, L-arginina, guanilato ciclase) (HALL *et al.*, 2001; MYATT, 2010), por isso este órgão é suscetível à obesidade materna e desequilíbrios endoteliais. Estas disfunções endoteliais placentárias podem influenciar no remodelamento da artéria espiral no momento da invasão

trofoblástica, promovendo um inadequado estabelecimento da placenta e, conseqüentemente originando uma placenta insuficiente (ROBERTS *et al.*, 2015).

SABEN e colaboradores (2014) demonstraram que gestantes obesas apresentam 50% a mais de lipídeos no ambiente placentário, o que diminui os reguladores de angiogênese. Além disso, modelos de obesidade materna com roedores através da ingestão de dieta hiperlipídica têm demonstrado invasão trofoblástica inadequada e prejuízos no estabelecimento da placenta (HAYES *et al.*, 2012). A insuficiência vascular placentária altera a hemodinâmica fetal a fim de preservar o crescimento de órgãos vitais do feto (ROBERTS *et al.*, 2012; WLADIMIROFF *et al.*, 1987). Estas adaptações vasculares provocam modificações estruturais e fisiológicas que prejudicam o desenvolvimento cardiovascular (ROBERTS *et al.*, 2015; GUTTMACHER *et al.*, 2014).

A placenta apresenta duas faces: a externa, voltada para o lado materno e a interna voltada para o lado fetal. A face externa é formada por uma membrana microvilosa onde há aumento na superfície placentária e um elevado número de variados tipos de transportadores de nutrientes, no qual se destaca o sistema A (LAGER & POWELL, 2012). Este sistema de transporte de aminoácidos facilita o transporte de aminoácidos neutros não essenciais tais como a alanina, a glicina e a serina (JASSON, 2001). A insulina estimula a atividade do sistema A a curto e longo prazo (JASSON *et al.*, 2003). O ácido oleico, também aumenta a atividade do sistema A (LAGER *et al.*, 2010).

O tecido adiposo, especialmente no compartimento visceral, tem sido considerado não apenas um tecido de armazenamento de energia, mas também um órgão que libera uma variedade de moléculas biologicamente ativas conhecidas como adipocinas ou adipocitocinas (AHIMA & FLIER, 2000), como a leptina, adiponectina, lipocalina-2, resistina e vifastina (CONDE *et al.*, 2011).

A presença de adiponectina, de cadeia longa, é capaz de inibir o efeito estimulatório da insulina sobre o sistema A, porém a forma da adiponectina também é importante, uma vez que a adiponectina globular aumenta a atividade do sistema A, enquanto a adiponectina de cadeia longa sozinha não o faz (JONES *et al.*, 2010). Esse enunciado foi ratificado por ROSARIO e colaboradores (2012), através da infusão de adiponectina de cadeia longa em camundongos prenhas, o que resultou em redução da atividade do sistema A placentário e do crescimento fetal. A leptina exerce efeito somente a curto prazo no sistema A (JANSSON *et al.*, 2003).

O receptor de insulina (IR) é altamente expresso na membrana microvilosa placentária, desta forma a insulina materna pode ativar estes receptores afetando o transporte de glicose para o feto (RUIZ-PALCIOS *et al.*, 2017). De acordo com ERICSSON e colaboradores (2005), não se observa o efeito da insulina no início da gravidez, seu estímulo sobre o sistema A é observado a partir do terceiro trimestre.

A transferência de lipídeos da mãe para o sangue do feto por intermédio placentário é um processo regulado pelos níveis de insulina, tanto nas grávidas saudáveis quanto nas portadoras de DM2. Isto foi evidenciado quando células trofoblásticas de gestantes normais foram incubadas com insulina e AG (processo que se assemelha com o que ocorre no DM2) o que resultou no aumento da formação de micelas. Isto sugere que os trofoblastos estejam envolvidos no empacotamento de lipídeos. A superexpressão de adipofilina (proteína envolvida no transporte e estocagem de ácidos graxos em adipócitos) foi constatada durante o processo (ELCHALAL *et al.*, 2005).

### **1.3. Programação metabólica**

O conceito de programação metabólica surgiu a partir da hipótese fetal de BARKER (1995). Esta hipótese emergiu após anos de estudos experimentais com animais que demonstraram que a desnutrição antes do nascimento, do meio até o final da gestação, programa de modo persistente mudanças na fisiologia da prole. Observações em humanos demonstraram que a desnutrição nestes períodos promoviam baixo peso ou tamanho ao nascer, ou crianças pequenas em relação ao tamanho da placenta com aumento na taxa de doenças cardíacas (BARKER, 1995). Quando o feto é submetido à subnutrição neste período, ocorrem padrões específicos de crescimento fetal desproporcional (BARKER *et al.*, 1993; BARKER, 1994).

Estudos têm demonstrado que o período intrauterino e a lactação são fases de desenvolvimento do indivíduo, em que este está vulnerável aos insultos (ambiental, hormonal ou nutricional) (BARKER *et al.*, 2014; GODFREY *et al.*, 2000; ROSEBOOM *et al.*, 2001). Desde a concepção, as características fisiológicas e psicológicas do organismo estão sendo determinadas pelas condições nas quais estão sendo submetidas durante o período de formação, desde o início da divisão dos blastocistos, a implantação no endométrio materno e invasão trofoblástica, todos são harmonizados pela quantidade e qualidade dos nutrientes obtidos através da placenta (FERNANDEZ- TWINN & OZANNE, 2010). Insultos de origem nutricional durante períodos decisivos do desenvolvimento do indivíduo pode promover

alterações na organogênese, tanto na formação tecidual ou no metabolismo, podendo levar a alterações na fase adulta (LANGLEY- EVAN & MCMULLEN, 2010; SEGOVIA *et al.*, 2014).

Durante a gestação, da concepção até o nascimento, cada órgão e tecido diferenciam-se e crescem em períodos diferentes, este momento é denominado de “período crítico” o que faz com que cada tecido tenha um “*timing*” para o período crítico (WIDDOWSON & MCCANCE, 1975). A carência nutricional retarda a divisão celular através da concentração de fatores de crescimento ou hormônios, dos quais a insulina e os hormônios do crescimento são particularmente importantes. O crescimento desproporcional pode ocorrer porque diferentes tecidos possuem períodos críticos de desenvolvimento em momentos diferentes (BARKER, 1995). Alguns estudos experimentais demonstraram que a subnutrição, mesmo em curtos períodos durante a gestação levam a mudanças persistentes na pressão arterial, no metabolismo do colesterol, na resposta da glicose à insulina, e em uma série de outros parâmetros metabólicos, endócrinos e imunológicos (BARKER, 1994).

A “hipótese do fenótipo poupador” foi postulada por HALES e BARKER em 2001. Esta hipótese propõe que adaptações fetais que visam a otimização e uso reduzido de suprimentos pode garantir a sobrevivência em um ambiente intra- uterino adverso. Contudo, favorecendo o desenvolvimento de alguns órgãos em relação a outros, ocasionando alterações persistentes no crescimento e função do desenvolvimento tecidual. As observações baseadas na hipótese do fenótipo poupador têm sido validadas a partir de estudos experimentais e epidemiológicos e dão suporte à “teoria do desenvolvimento da saúde e da doença”, teoria conhecida como DOHaD, do inglês *developmental origins on the health and disease* (HALES & BARKER, 2001; SIMMONS, 2005).

A nutrição subótima durante períodos críticos do desenvolvimento (gestação e lactação) afeta a saúde a longo prazo (FERNANDEZ- TWINN, 2012), podendo influenciar na vida adulta, tornando este organismo mais suscetível a doenças (FERNANDEZ- TWINN & OZANNE, 2010). A disfunção orgânica na síndrome metabólica e no DM2 é coerente com o que ocorre na plasticidade orgânica delineada pela hipótese poupadora. Apesar de mais de 45 genes estarem associados ao DM2, estes representam apenas 10% da origem constitucional do DM2, indicando que as principais causas do DM2 tem como responsável um fator não genético que poderia estar relacionado ao início da vida (VAAG *et al.*, 2012). A programação fetal apresenta importante papel na origem da síndrome metabólica, DM2 e



doenças cardiovasculares em decorrência da resistência à insulina (HALES & BARKER, 2001).

As observações de David Baker e colaboradores em uma série de estudos epidemiológicos têm proporcionado evidências para a associação entre insultos ambientais e nutricionais no início da vida e os principais fatores de risco (hipertensão, resistência à insulina e obesidade). Além disso, existem indícios de que uma sucessão de adaptações moleculares, metabólicas, neuroendócrinas e fisiológicas ocorra mediante desequilíbrios ambientais que resultam em alterações perpétuas no padrão de desenvolvimento tecidual e celular (MCMILLEN & ROBINSON, 2005) o que está exteriorizando-se como doenças não transmissíveis na vida adulta.

O estudo com modelos experimentais tem demonstrado a semelhança biológica na população humana e na causalidade entre a exposição nos primórdios da vida de cada ser e os fatores de risco metabólico no término da vida (LANGLE & MACMULLEN, 2010). Estudos com ratas *Wistar* alimentadas com dieta controle (C, 18% de proteína) ou dieta restrita de proteínas (RP, 9% de proteínas) durante a gestação e lactação originou prole RP macho com doenças cardiovasculares aos 4 meses de vida, demonstrando mudança fenotípica em resposta adaptativa à carência proteica no período de desenvolvimento (RODFORD *et al.*, 2008).

A influência da obesidade materna na pressão sanguínea da prole foi demonstrada através de estudos com ratas fêmeas (*Sprague-Dawley*) com obesidade induzida por dieta hipercalórica (20% de gordura e 10% açúcar simples) antes da prenhez. A hipertensão na prole manifestou-se aos 30 dias de idade e pode ter sido promovida pela persistente hiperresponsividade simpato- excitatória associada à hiperleptinemia neonatal adquirida nos estágios iniciais do desenvolvimento (SAMUELSSON *et al.*, 2010).

Outro estudo de SAMUELSSON e colaboradores (2013) demonstrou que filhotes de ratas (*Sprague-Dawley*) magras quando tratadas com leptina entre 9º e 15º dia pós natal, apresentaram alterações permanentes na pressão arterial, estrutura e função cardíaca desde o período neonatal até a vida adulta. Este modelo mimetiza o excesso de leptina observada na prole de parturientes obesas.

YEE e colaboradores (2016) programaram a prole de ratas (*Sprague-Dawley*) para restrição do crescimento intra-uterino (RCIU) após submissão das matrizes a dieta isocalórica rica em gordura durante a gestação e lactação. A RCIU, é causada por alguma deficiência na passagem de nutrientes e/ou oxigênio através da placenta ou carência nutricional, e leva a

obesidade na fase adulta e resistência à insulina. A prole macho RCIU, aos 6 meses de idade, demonstrou aumento na síntese de ácidos graxos *de novo* (ácidos graxos sintetizados a partir de carboidratos pela atuação da enzima acetil CoA carboxilase 1 (ACC1) que converte acetil-CoA em malonil CoA e posteriormente em AG) no tecido adiposo subcutâneo prematuramente e tardiamente no tecido adiposo visceral, porém fêmeas RCIU não exibiram o mesmo fenótipo (aos 9 meses de idade), demonstrando dimorfismo sexual. Apesar do processo de formação de AG *de novo* ocorrer a partir da ingestão de carboidratos, este processo pode ser suprimido pela ingestão de dieta rica em gordura. No entanto, isto não ocorreu nos machos da prole RCIU submetidos à dieta rica em gordura. É possível que a síntese de AG *de novo* seja um efeito intrínseco a programação que persiste até a idade adulta e não é suprimido em resposta à dieta rica em gordura.

Um modelo experimental com a prole de ratas *Wistar* que foram submetidas à dieta hiperlipídica durante o período pré-gestacional e até o final da lactação foram divididas em dois grupos, os que foram submetidos a um período de duas semanas de estresse (DHE) e outro que não sofreu estresse (DH). Outra prole de ratas *Wistar* alimentadas com dieta controle do período pré-gestacional até o final da lactação foi dividido em dois grupos, os que foram submetidos ao estresse (DCE) pelo período de duas semanas e a prole que não foi submetida ao estresse (DC). Os grupos submetidos ao estresse foram colocados em câmaras de acrílico para a retenção por estresse com uma comunicação com outra caixa para estresse por choque nas patas (10s a cada 1 min por 1h) e superlotação em caixa acrílica (8 ratos por caixa durante 24 horas). Aos 70 dias de idade a prole hiperlipídica submetida a estresse (DHE) demonstrou maior secreção de insulina (e consequente elevação da glicemia) e expressão de mRNA e de proteínas dos transportadores de glicose do tipo 2 (GLUT2) do que a prole hiperlipídica não submetida ao estresse (DH). Quando a prole DHE foi comparada a prole DCE observou-se que a dieta rica em gordura parece intensificar a resposta ao estresse pela mudança na programação do sistema neuroendócrino da prole (KARBASCHI *et al.*, 2017).

#### **1.4. Hipertrofia cardíaca**

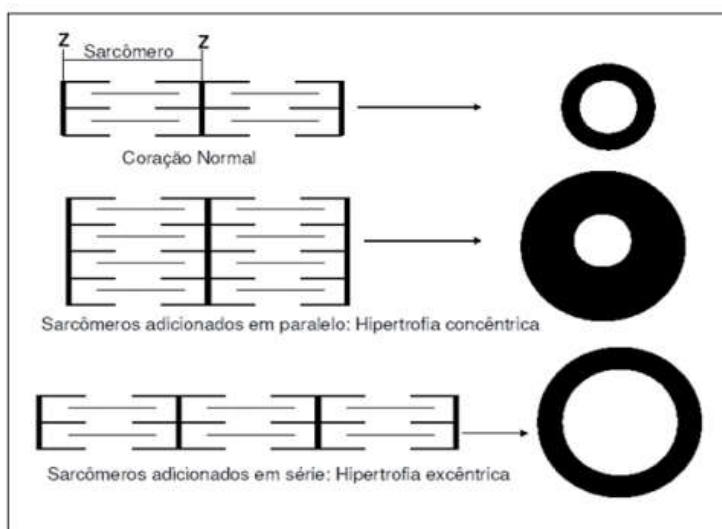
O coração precisa bombear continuamente sangue para que distribua oxigênio e nutrientes para todo corpo. Para desempenhar seu papel o coração possui um complexo sistema biológico que permite adaptações para mudanças no sistema de demanda. Estas adequações cardíacas podem ocorrer através do processo de crescimento ou remodelamento

(hipertrofia), angiogênese e plasticidade metabólica e estão intrinsicamente envolvidas na manutenção da homeostasia cardíaca (SHIMIZU & MINAMINO, 2016).

Vale ressaltar que quando o coração é submetido a uma elevada carga de trabalho por determinado período de tempo há o remodelamento. A hipertrofia cardíaca é uma das formas de remodelamento em resposta à sobrecarga pressórica. O processo hipertrófico é caracterizado pelo alargamento individual dos cardiomiócitos. Para tal, há alterações moleculares, celulares e intersticiais estratégicas, a fim de reduzir o estresse de parede sofrido pelo coração (KEHAT *et al.*, 2010; CONH *et al.*, 2000).

Além da hipertrofia decorrente de sobrecarga pressórica, a doença inflamatória (miocardite), cardiomiopatia idiopática dilatada e a sobrecarga de volume (regurgitação valvar) também induzem remodelamento cardíaco. Apesar das causas destas doenças serem diferentes elas compartilham entre si eventos moleculares, bioquímicos e celulares que juntos alteram a morfologia do miocárdio (KEHAT *et al.*, 2010).

Existem dois tipos de hipertrofia, distintas morfologicamente: a hipertrofia excêntrica e a concêntrica. A presença de sobrepeso pode influenciar no tipo de hipertrofia desenvolvida. Por exemplo, em indivíduos magros, a hipertensão arterial induz hipertrofia cardíaca concêntrica, no entanto, em indivíduos com sobrepeso, a hipertensão promove hipertrofia excêntrica, ambos com aumento de espessamento de parede ventricular (BRAY, 2004). A hipertrofia excêntrica caracteriza-se pelo aumento do comprimento em relação à largura do cardiomiócito, promovendo aumento do raio interno do ventrículo. Este tipo de crescimento é bem evidenciado na dilatação cardíaca, onde o coração aumenta de tamanho com a adição dos sarcômeros em série, perda da largura celular e alongamento dos cardiomiócitos. A hipertrofia concêntrica é caracterizada pela montagem das unidades contráteis em paralelo, resultando no aumento individual da largura dos cardiomiócitos, levando a diminuição do raio interno do ventrículo (HUNTER & CHIEN, 1999; GAASCH, 1979) (Fig. 1).



**Figura 1: Representação do posicionamento dos sarcômeros em células cardíacas hipertrofiadas (OPIE *et al.*, 2006).**

Além dos remodelamentos padrões excêntrico e o concêntrico há um terceiro tipo de remodelamento, o infarto do miocárdio (IM), onde diferentes padrões podem atuar tornando o tecido infartado dilatado, promovendo aumento do volume ventricular esquerdo associado ao aumento de carga pressórica em áreas não infartadas (OPIE, 2004). Após o infarto do miocárdio, o comprimento do cardiomiócito e a largura estão aumentados e possivelmente a espessura da parede dos ventrículos pode estar reduzida. A aparente divergência pode ser explicada pela diminuição no número dos cardiomiócitos e deslizamento entre os cardiomiócitos e a matriz extracelular (ECM), e mudanças na trama da parede (ANVERSA *et al.*, 1991).

A resposta do coração à injúria e ao estresse pode ser visualizada macroscopicamente e de maneira diversificada. Logo após o IM a área lesionada expande-se, seguida por dilatação regional e adelgaçamento da área infartada. Em seguida o coração escarifica e remodela de tal forma que as alterações na simetria tornam o coração menos elíptico e esférico com as paredes mais delgadas (BRAUNWALD & PFEFFER, 1991).

A hipertrofia ventricular esquerda pode ser adaptativa, compensatória ou maladaptativa, como sugerido pelos padrões de vias de sinalização, modelos com animais geneticamente modificados e observações clínicas. A transição de hipertrofia supostamente compensatória para falência cardíaca indica mudança entre o balanço de metaloproteinases e seus inibidores, efeito das espécies reativas de oxigênio (EROS), resposta neuro-humoral e morte celular (OPIE, 2006).

A hipertrofia cardíaca pode ser classificada como fisiológica quando está aliada à função cardíaca normal ou patológica quando associada à disfunção cardíaca. A hipertrofia fisiológica ocorre em resposta ao crescimento normal de crianças ou durante a gravidez, bem como em atletas nos quais se constata aumento na dimensão da câmara e aumento proporcional ou ausência de mudanças no espessamento da parede sem indução de fibrose ou reativação de genes da programação fetal, além de não ser fator de risco para arritmia, reduções na função cardíaca ou futura falência cardíaca (PERRINO *et al.*, 2006; BEISVAG *et al.*, 2009; KEHAT *et al.*, 2010; SHIMIZU & MINAMINO, 2016).

A hipertrofia cardíaca fisiológica é amplamente mediada por sinalização do fator 1 de crescimento ligado à insulina e hormônio de crescimento e são transduzidos via sinalização PI3K/ AKT (DORN & FORCE, 2005), o que foi demonstrado pelo trabalho de SHIO e colaboradores (2000), onde a hipertrofia induzida por exercícios foi demonstrada em camundongos expressando constitutivamente a forma ativa PI3K e outro grupo de camundongos dominantes negativos para PI3K especificamente no coração. Os camundongos que expressavam de maneira constitutiva PI3K cardíaco exibiram um fenótipo com coração aumentado, enquanto os que expressavam dominância de PI3K negativo exteriorizaram corações pequenos. O aumento ou diminuição destes corações estavam intrinsecamente relacionados ao tamanho nos cardiomiócitos além de não apresentarem disfunções contráteis e fibrose intersticial.

A hipertrofia patológica é impelida por fatores tal como estresse hemodinâmico prolongado e anormal provocado por distúrbios como hipertensão, infarto do miocárdio dentre outros. É notório na hipertrofia patológica associações com fibrose, rarefação capilar, aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias e disfunção celular, comprometimento da sinalização, supressão de autofagia, e interações anormais entre os cardiomiócitos e outros tipos celulares, bem como alterações epigenéticas levando ao remodelamento maladaptativo e falência cardíaca (SHIMIZU & MINAMINO, 2016).

Há indução de crescimento dos cardiomiócitos quando ocorre superexpressão por tempo prolongado de AKT no coração, promovendo crescimento cardíaco patológico (CONDORELLI *et al.*, 2002).

No miocárdio além de regular a utilização do substrato, a insulina também está envolvida no processo de hipertrofia cardíaca. A regulação do tamanho do miocárdio e as respostas do miocárdio ao estresse hemodinâmico são mais comumente mediadas via ativação da via PI3K/AKT (ABEL, 2004).

Estímulo excessivo de receptor adrenérgico do tipo  $\beta_1$  ( $\beta_1$ -AR), aumento na secreção de hormônios como T3 (Triiodotironina) e leptina também estão envolvidos no processo de remodelamento cardíaco (ENGELHARDT *et al.*, 1999; KLEIN & OJAMAA, 2001; HALL *et al.*, 2015).

Aumento na estimulação e síntese dos  $\beta_1$ -AR estão associados à hipertrofia dos cardiomiócitos, fibrose miocárdica, comprometimento na contração e função cardíaca (KUDEJ *et al.*, 1997; LEOPOLDO *et al.*, 2010; WOO & XIAO, 2012). Estas associações foram observadas em pacientes obesos e em modelos experimentais com programação metabólica (RIDER *et al.*, 2012; LEOPOLDO *et al.*, 2010; SAMUELSSON *et al.*, 2010). O hormônio T3 estimula a síntese de  $\beta_1$ -AR nas células cardíacas tornando-as mais responsivas às catecolaminas, desta forma atua indiretamente sobre a fosforilação dos canais de cálcio do tipo L, RyR (receptor de rianodina) e SERCA-2 (bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo sarcoplasmático) promovendo aumento na velocidade de contração e relaxamento do miocárdio e aumento de força durante a contração cardíaca, tornando o débito cardíaco maior (KLEIN & OJAMAA, 2001).

Além de induzir hipertrofia cardíaca através de estimulação dos receptores  $\beta_1$ , os hormônios tireoideanos podem mediar a fase inicial da hipertrofia fisiológica com aumento nos níveis de SERCA-2 e diminuição na expressão de  $\beta$ -MHC (cadeia pesada de miosina do tipo  $\beta$ ), porém quando este processo é duradouro, a sobrecarga pressórica induz falência cardíaca o que ocasiona hipertrofia patológica (DILMANN, 2009).

Estudos clínicos têm relacionado hiperleptinemia com o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca em obesos. Esta adipocina eleva o crescimento celular em culturas de cardiomiócitos (PAOLISSO *et al.*, 2001; HALL *et al.*, 2015). Porém, não está bem estabelecido se a indução de hipertrofia pela hiperleptinemia ocorre em decorrência do aumento na frequência cardíaca e consequente aumento no trabalho cardíaco ou pela contribuição da leptina na função endotelial e rigidez vascular, o que também contribui com a hipertrofia cardíaca. (CARLYLE *et al.*, 2002; SINGHAL *et al.*, 2002). Um estudo com ratos machos *Spragley Dawley* submetidos à infusão crônica de leptina demonstrou aumento de pressão arterial com aumento na pós carga cardíaca. Isso ocorre porque a hiperleptinemia estimula o sistema simpático (SHEK *et al.*, 1998).

A compreensão do mecanismo de atuação da leptina na hipertrofia cardíaca é complexa, pois a hiperleptinemia é acompanhada de obesidade (MAFFEI *et al.*, 1995). A obesidade quase sempre é acompanhada por hipertensão, que é a causa mais comum de

hipertrofia cardíaca (VASAN , 1996). Além da hipertensão, o aumento de massa corporal pode promover a hipertrofia através de outros mecanismos: neuro-humoral (sistema renina-angiotensina-aldosterona), ativação do sistema nervoso simpático, resistência à insulina e hiperglicemia (VASAN , 2003; HALL *et al.*, 2010).

A leptina estimula o metabolismo cardíaco através da oxidação de glicose e ácidos graxos e protege o coração do acúmulo de lipídeos e lipotoxicidade cardíaca (PAOLISSO *et al.*, 2001; HALL *et al.*, 2015). Os receptores de leptina são altamente expressos no coração (GREEN *et al.*, 1995). Deleções dos receptores de leptina resultam em diminuição da função contrátil e do metabolismo da glicose (MCGAFFN *et al.*, 2011). A infusão intravenosa aguda de leptina aumentou a taxa de *turnover* de glicose e estimulou o transporte de glicose em órgãos periféricos, inclusive no coração. O aumento de 6 vezes no transporte de glicose no miocárdio não altera significativamente a frequência cardíaca (BURCELIN *et al.*, 1999). Tanto a infusão intravenosa quanto a intracerebroventricular (ICV) de leptina promoveram aumento na taxa de *turnover* de glicose em camundongos C57BL/6J (HAQUE *et al.*, 1999). Já uma única injeção *in bolus* de leptina no hipotálamo ventromedial de ratos jovens *Sprague Dawley* resultou em aumento de 4 vezes no transporte de glicose (MINOKOSHI *et al.*, 1999).

Deleções nos receptores de leptina no coração promovem choque cardiogênico e morte dos animais, possivelmente este resultado pode estar relacionado com prejuízos no metabolismo energético do miocárdio (HALL *et al.*, 2012).

Corações de ratos, *Sprague Dawley*, perfundidos com palmitato e glicose na presença de uma dose de leptina (60 ng/ mL) aumentaram suas taxas de oxidação de palmitato em 60% e diminuiu o conteúdo de TG em 33%. Não foi observada nenhuma diferença na oxidação de glicose. Apesar da leptina não afetar o trabalho cardíaco, foi notada elevação no consumo de O<sub>2</sub> em 30% e redução na eficiência cardíaca (ATKINSON *et al.*, 2002). A elevação no consumo de O<sub>2</sub> já era esperada, pois o metabolismo de ácidos graxos pelo coração aumenta o consumo de O<sub>2</sub> (FILLMORE & LOPASCHUCK, 2011). A incubação de cardiomiócitos de ventrículos de ratos neonatos com leptina por 72h induziu a expressão de PPAR $\alpha$  (do inglês, *the peroxisome proliferator- activated receptor  $\alpha$* ), ativador chave do metabolismo dos AG no coração (HOU *et al.*, 2010).

FRANCO e colaboradores (2012) utilizando um modelo de programação através do consumo materno de dieta hiperlipídica demonstraram que a prole de machos ao desmame desenvolveu obesidade, hiperleptinemia e comprometimento da ativação da via de sinalização

da leptina no núcleo arqueado, o que indica resistência central a este hormônio. Além disso, o aumento no conteúdo de catecolaminas na medula adrenal e o aumento nos níveis séricos de T3 total e T4 livre, sugerem que essas alterações a longo prazo possam comprometer a função cardíaca da prole.

A hipertrofia cardíaca foi demonstrada em alguns modelos experimentais de programação metabólica, tais como o desenvolvido por BLACKMORE e colaboradores (2014), nos quais o consumo de dieta materna rica em lipídeos e açúcar não alterava a massa corporal dos filhotes, porém, induziam hipertrofia ventricular esquerda (detectada na 3<sup>a</sup> e 8<sup>a</sup> semanas de vida da prole). Apesar disso, no 3<sup>o</sup> mês de vida da prole não se observou mais hipertrofia cardíaca, porém verificou-se diminuição na pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo e na velocidade de relaxamento, além de aumento na resposta simpática cardíaca (BLACKMORE *et al.*, 2014). Dietas que promovem a obesidade materna também promovem aumento nas concentrações séricas de insulina com resistência insulínica e hipertrofia cardíaca em filhotes de 2 meses de idade sem alteração da massa corporal da prole (SAMUELSSON *et al.*, 2008).

### **1.5. Metabolismo cardíaco**

O metabolismo cardíaco não utiliza apenas um tipo de substrato para sua manutenção, ele conta com sua plasticidade metabólica para modificar a fonte energética de acordo com a oferta de nutrientes e adversidades ambientais. A primeira transição metabólica ocorre naturalmente no coração fetal (TAEGTMAYER *et al.*, 2010). O metabolismo cardíaco antes do nascimento faz uso de carboidratos para sua subsistência, onde o glicogênio é a principal fonte de armazenamento de energia (PEDERSON *et al.*, 2004). Após o nascimento há mudança na preferência cardíaca para os ácidos graxos, o que é acompanhado pela expressão de isoformas de enzimas e proteínas envolvidas no metabolismo do coração de adultos (AKKI *et al.*, 2008; YOUNG *et al.*, 2001).

A mudança na preferência de glicose por ácidos graxos é possível porque além da disponibilidade de variados substratos, o coração conta com o auxílio de mecanismos regulatórios complexos como regulação transcricional e modificações pós traducionais de proteínas importantes como a PGC-1 (do inglês, *transcriptional peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator- 1*) e PPAR $\alpha$ , envolvidas em cada via metabólica bem como na regulação alostérica pelos substratos e seus metabólitos (ALAYNICK *et al.*, 2007; LEHMAN *et al.*, 2000; MICHALIK *et al.*, 2002).



Durante a falência cardíaca os corações adultos reduzem a expressão de genes transcricionais metabólicos de um coração adulto tornando-se semelhante a um coração fetal. A expressão de proteínas como os transportadores GLUT1 e GLUT4, a piruvato desidrogenase cinase 2 (PDK2), mGS (do inglês, *muscle- glycogen synthase*), mCPT-I, MCAD (do inglês, *medium chain acyl- CoA dehydrogenase*) e acetil CoA carboxilase (ACC) estão alteradas nos corações em falência quando comparados a corações adultos saudáveis, mimetizando assim o metabolismo fetal (RAZEGHI *et al.*, 2001).

Há também estímulos transcricionais diferentes de acordo com a disponibilidade de oxigênio no perfusato, por exemplo, a regulação da transcrição pelo fator indutível por hipóxia 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) é responsável por adaptações metabólicas em caso de hipóxia e isquemia. Este processo pode ser visualizado através da exposição de fibroblastos deficientes de HIF-1  $\alpha$  na hipóxia crônica onde há morte celular devido à presença excessiva de EROs. HIF-1 $\alpha$  reduz a produção de EROs sob condições de hipóxia por múltiplos mecanismos incluindo: aumento na eficiência do complexo IV (enzima citocromo *c* oxidase); indução da BNIP3 (proteína mitocondrial que desencadeia a autofagia mitocondrial seletiva); indução de microRNA-210 no qual bloqueia a montagem de grupos Fe/S que são requeridos para a fosforilação oxidativa (SEMENZA, 2011).

O metabolismo dos lipídeos e carboidratos são essenciais no coração. A glicose e o lactato são os carboidratos utilizados pelos cardiomiócitos, enquanto os ácidos graxos (principalmente ácido oleico e ácido palmítico) são os lipídeos essencialmente oxidados. Além destas fontes metabólicas, em condições anaeróbias, os corpos cetônicos e os aminoácidos também podem ser utilizados como substrato cardíaco (LOPASCHUK *et al.*, 1994), visto que a presença destes substratos é baixa sob condições fisiológicas adequadas (MCNULTY *et al.*, 2000). Glicogênio e o triacilglicerol são as formas de armazenamento de carboidratos e lipídeos, respectivamente (GOODWIN *et al.*, 1998). Uma variedade de condições patofisiológicas, como hipóxia, isquemia, hipertrofia, atrofia, diabetes, hipotireoidismo podem promover a reprogramação gênica do metabolismo cardíaco adulto para o fetal (TAEGTMEYER *et al.*, 2010).

Apesar do suprimento energético primordial no coração não fetal ser composto por ácidos graxos livres (ligado à albumina) e ésteres de gordura (presente nos quilomicrons e lipoproteínas de baixa densidade) (LOPASCHUK *et al.*, 1994), durante aumento de trabalho cardíaco, hipóxia e isquemia, o coração aumenta a preferência por glicose tornando este carboidrato seu principal combustível nestas ocasiões (OPIE, 2004), sendo crucial para a

sobrevivência celular (SCHAEFER & RAMASAMY, 1997). A  $\beta$ -oxidação, por outro lado, é suprimida na isquemia cardíaca, levando ao acúmulo de acetil coenzima A (CoA) e dos níveis de triglicérides intracelular (NEELY & MORGAN, 1974).

A preferência por carboidratos ou ácidos graxos também é influenciada por taxas de consumo e produção de compostos de elevada energia no músculo cardíaco. A maior oferta de AG suprime a utilização de glicose pela inibição de vários passos da via glicolítica, tais como: redução da expressão de GLUTs e da atividade das enzimas, hexoquinases, fosfofrutoquinase, gliceraldeído 3-P desidrogenase, piruvato quinase, piruvato desidrogenase e glicogênio sintase (NEELY & MORGAN, 1974). Tal preferência também pode ser influenciada por alterações na concentração de ATP, de elementos da via glicolítica e mudança de pH. Quando a necessidade energética de corações bem oxigenados está elevada, o consumo de ácidos graxos/ ou glicose é acelerado, porém a disponibilidade de oxigênio no coração pode ser restringida pela diminuição ou redução à zero da tensão de oxigênio do perfusato, causando hipóxia ou anóxia, ou pela restrição do fluxo de perfusato contendo elevadas tensões de oxigênio induzindo isquemia. Na hipóxia ou anóxia cardíaca, a oxidação dos ácidos graxos é abolida e a glicólise é estimulada e a aceleração da glicólise pode ser de 10 a 20 vezes maior, já na isquemia o aumento da glicólise é apenas transiente (NEELY & MORGAN, 1974).

A escolha pela fonte energética cardíaca depende de flexibilidade metabólica para derivar esta energia de substratos predominantes no plasma (LOPASCHUK *et al.*, 1994). Após alimentação (pós-prandial), a principal condição energética é derivada de lipídeos na dieta (HAUTON *et al.*, 2001).

### **1.5.1. Catabolismo dos principais substratos cardíacos**

Quando a glicose e os ácidos graxos são transformados em grupo acetil de 2 carbonos unidos de maneira covalente a coenzima A, estão aptos para entrar no ciclo de Krebs e ativar as vias metabólicas. Sendo assim, a quebra e ressíntese faz parte do processo do metabolismo (OPIE, 1992).

A glicose é uma molécula hidrofílica e como tal não se difunde livremente através das membranas celulares. As duas famílias de transportadores de glicose são os cotransportadores de sódio-glicose (SGLTs) e os transportadores GLUT de difusão facilitada (YULI *et al.*, 1981). O GLUT4 é um GLUT dependente de insulina que é expresso primariamente no músculo e no tecido adiposo. Em resposta à sinalização por insulina, o

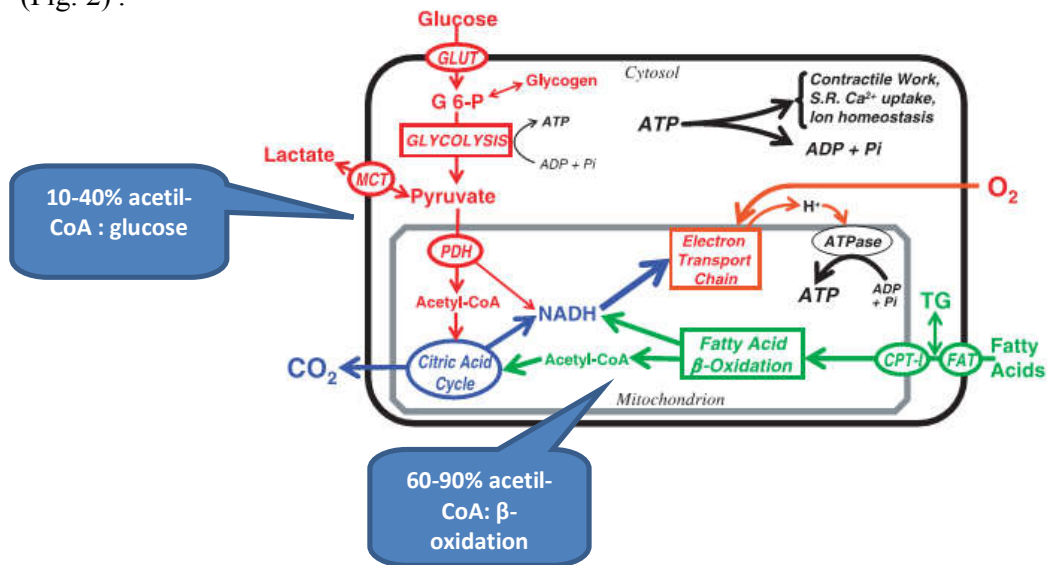
GLUT4 é inserido na membrana plasmática (SLOT *et al.*, 1991). No jejum, os transportadores GLUT4 são continuamente reciclados entre a membrana celular e os vários compartimentos intracelulares. Na presença do estímulo de insulina, a taxa de translocação para a membrana plasmática com subsequente fusão das vesículas contendo GLUT4 na membrana aumenta intensamente, além de ocorrer pequena redução da taxa de internalização (MARÍN-GARCIA & GOLDENTHAL, 2002).

Uma vez que a insulina se liga a seu receptor, IR, este sofre autofosforilação. Em seguida, este fosforila substratos proteicos em tirosina. Atualmente, dez substratos do receptor de insulina já foram identificados. Quatro desses pertencem à família dos substratos do receptor de insulina, as proteínas IRS (do inglês, *insulin receptor substrate*). A fosforilação em tirosina das proteínas IRS cria sítios de reconhecimento para moléculas, dentre as quais se destaca a PI3K. O produto fosfatidilinositol-3,4,5- trifosfato gerado pela PI3K que pode regular a PDK- 1 (do inglês, *phosphoinositide kinase 1*), uma serina/treonina cinase que fosforila e ativa a AKT ou PKB, uma outra cinase, promovendo o direcionamento das vesículas contendo GLUT4 para a membrana plasmática (YVONNE *et al.*, 2008).

Ainda que o catabolismo da glicose resulte principalmente em piruvato para subsequente oxidação, intermediários glicolíticos podem participar em várias vias adicionais que não cumprem a finalidade de gerar ATP. Apesar do pequeno fluxo, estas vias são de relevância biológica no coração, tal como ocorre na conversão da glicose em glicose 6 fosfato (G6P) pela hexoquinase, a primeira enzima limitante da via pentose fosfato. A G6P ingressa na via pentose fosfato, rendendo dinucleotídeo adenina nicotinamida fosfato (NADPH) durante a fase oxidativa e açúcar de 5 carbonos na fase subsequente não oxidativa (ZIMMER, 1996). A deficiência de G6P desidrogenase (enzima que converte a G6P a ribose- 5- fosfato, CO<sub>2</sub> e NADPH, desviando-a da glicólise) agrava a injúria em consequência da isquemia e reperfusão em camundongos (JAIN *et al.*, 2004), indicando o papel protetor da via pentose fosfato contra a injúria oxidativa (ZIMMER, 1992).

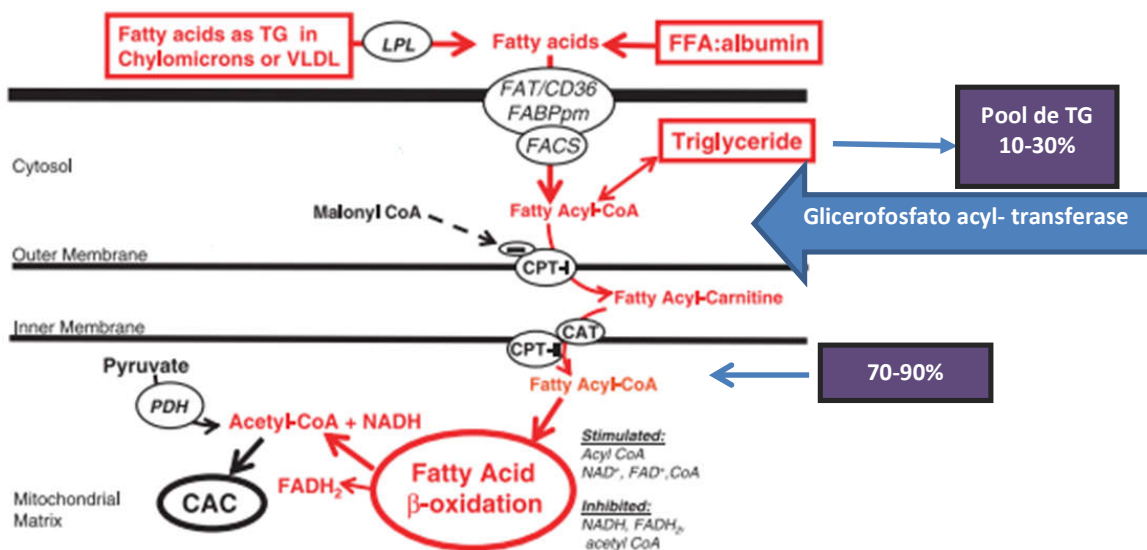
O piruvato formado a partir da glicólise pode ser convertido em lactato ou ser transportado para a mitocôndria e sofrer descarboxilação à acetil-CoA, ou carboxilação à oxaloacetato ou malato (RANDLE, 1995). A oxidação do piruvato é aumentada pela supressão da oxidação dos ácidos graxos, como observado na diminuição dos níveis plasmáticos de ácidos graxos livres de cadeia leve, ou pela inibição direta da oxidação de AG (KARBOWSKA *et al.*, 2003). A taxa de *turnover* do pool de glicogênio é baixa sob condições normais em corações saudáveis de adultos (GOODWIN *et al.*, 1998). No coração

adulto bem perfundido, aproximadamente 60-90% da acetil-CoA vem da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, e 10-40% é proveniente da oxidação do piruvato (STANLEY *et al.*, 1997) (Fig. 2).



**Figura 2: Representação esquemática do metabolismo do substrato energético do miocárdio adulto.** GLUT, Transportador de glicose; G6P, Glicose 6 fosfato; MCT, transportadores de ácidos carboxílicos; PDH, Piruvato desidrogenase; S.R, Reticulo sarcoplasmático; CPT-I, Carnitina palmitoil transferase I; FAT, Transportador de ácidos graxos; TG, Triacilglicerol (adaptado de STANLEY *et al.*, 2005).

O transporte de ácidos graxos para o coração e o transporte através dos cardiomiócitos são mecanismos altamente regulados (LOPASCHUK *et al.*, 1994) que ocorre a partir da hidrólise de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) e quilomicrons de triacilglicerol através da lipoproteína lipase (LPL) presente no lado luminal de células endoteliais. A lipoproteína lipase, encontrada em vários tecidos (BRAUN & SEVERSON, 1992), hidrolisa o núcleo central de triglicerídeos dos quilomicrons e VLDL para ácidos graxos e monoglicerídeos. Os ácidos graxos livres assim liberados dos triglicerídeos pelas LPL podem então ser usados para atividades anabólicas, tal como estoque de gordura ou atividades catabólicas, tal como metabolismo oxidativo nos músculos (ECKEL, 1989; MERKEL *et al.*, 2002) (Fig 3).



**Figura 3: Representação esquemática do metabolismo dos ácidos graxos e pool de triacilglicerol nas células cardíacas.** ACC, Acetil- CoA carboxilase; AMPK, Proteína kinase ativada por AMP; CAT, Carnitina aciltranslocase, CPT-I, Carnitina palmitoil transferase I, CPT-II, Carnitina palmitoil transferase II; FABP<sub>PM</sub>, Proteína ligadora de ácidos graxos a membrana; FAT, Proteína transportadora de ácidos graxos; FFA, Ácidos graxos livres; LPL, Lipoproteína lipase, MCD, Malonil CoA descarboxilase; TG, Triacilglicerol, VLDL, Lipoproteína de muito baixa densidade (STANLEY *et al.*, 2005, modificado).

De acordo com o estudo de JEFFREY e colaboradores (1995), durante a  $\beta$ -oxidação, os ácidos graxos dentro do citoplasma ligam-se as PLAGC (proteínas ligadas aos ácidos graxos do tipo cardíaco) e são convertidas em acil-CoA de cadeia longa pela acil-CoA sintetase. As porções de acil são transferidas para dentro da mitocôndria por um complexo enzimático envolvendo carnitina palmitoil transferase (CPT1), acilcarnitina translocase, e carnitina palmitoil transferase 2 (CPT2) (JEFFREY *et al.*, 1995; MCNULTY *et al.*, 2000; WENTZ *et al.*, 2010). Uma vez na matriz mitocondrial, a acil-CoA de cadeia longa passa pelo sistema de  $\beta$ -oxidação para produzir acetil-CoA. Cada ciclo sucessivo de  $\beta$ -oxidação espiral resulta em um encurtamento de 2 carbonos de ácidos graxos e formação de 1 NADH (Dinucleotídeo adenina nicotinamida) e 1 FADH<sub>2</sub> (Dinucleotídeo de flavina e adenina). A acetil-CoA derivada de  $\beta$ -oxidação, em seguida entra no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), resultando na liberação de 2 CO<sub>2</sub>, 3 NADH e 1 FADH<sub>2</sub> (LOPASCHUK *et al.*, 1994)

Embora o papel funcional do *turnover* de TG no coração seja pouco compreendido, sabe-se que ele ocorre com maior intensidade do que do glicogênio (BANK *et al.*, 2012;

CARLEY *et al.*, 2013). Pressupõe-se que os AG derivados do *pool* de triacilglicerol do miocárdio possa ser oxidado e contribuir com aproximadamente 10% da produção total de ATP sob condições fisiológicas normais (O'DONELL *et al.*, 2008; SADDIK & LOPASCHUK, 1991). Nos corações de ratos em falência observa-se significativa perda no *turnover* de triacilglicerol (BANK *et al.*, 2012), enquanto em ratos diabéticos o *turnover* foi acelerado (O'DONELL *et al.*, 2006) demonstrando o dinamismo do *pool* intracelular de triacilglicerol (KOLWICZ, 2016) e sua renovação um importante mecanismo regulatório do metabolismo dos ácidos graxos no miocárdio.

Estudos em camundongos utilizando manipulação genética da diacilglicerol acetiltransferase (DGAT), a enzima final na síntese do triacilglicerol demonstra expressivas mudanças no transporte e oxidação de ácidos graxos no coração. A principal DGAT expressa no coração é a DGAT1, a deleção desta isoforma não gera redução significativa do conteúdo de triacilglicerol nos cardiomiócitos, sendo correlacionada com redução de ácidos graxos oxidados e aumento do transporte da glicose (LIU *et al.*, 2011). No entanto, o aumento na expressão de DGAT1 no coração é capaz de dobrar a concentração cardíaca de TG e oxidação de AG endógenos (LIU *et al.*, 2009).

BODEN e colaboradores (2001) abordaram a hipótese metabólica dos lipídeos baseada em indícios de que o aumento nas concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres resulta em acúmulo intramiocelular e intra-hepático de triglicerídeos, além de vários metabólitos da via de reesterificação de ácidos graxos livres, incluindo acil-CoA e diacilglicerol (DAG). Além disso, a elevação prolongada de AG livres aumenta a gliconeogênese.

Em um coração saudável, as mitocôndrias são fomentadas por acetil-CoA dos AG e piruvato, além de outros substratos, incluindo lactato, corpos cetônicos e aminoácidos que podem entrar na mitocôndria diretamente por oxidação. O metabolismo de corpos cetônicos fornece acetil-CoA, enquanto o catabolismo de aminoácidos fornece cetoácidos, que são ainda metabolizados para entrar no ciclo do TCA (JEFFREY *et al.*, 1995; MCNULTY *et al.*, 2000; WENTZ *et al.*, 2010).

A mudança na preferência pelo substrato ocorre através da regulação do complexo piruvato desidrogenase (PDC) que catalisa a descarboxilação oxidativa do piruvato, ligando a glicólise ao ciclo do TCA e a síntese de AG. A inativação do PDC ocorre quando a glicose é escassa, conservando assim a glicose, enquanto a atividade da PDC permite a produção de AG a partir da glicose. O mecanismo que controla a atividade do PDC inclui sua fosforilação

(inativação) pela família da piruvato desidrogenase cinase (PDKs 1-4) e sua desfosforilação (ativação) pela PDPs 1 e 2 (do inglês, *pyruvate dehydrogenase phosphate phosphatases*). Apesar dos mecanismos transcricionais contribuírem para o estabelecimento de mudanças na predileção por substrato, as modificações pós traducionais de enzimas relevantes na via metabólica é o que efetivamente regula o fluxo. É o que ocorre na fosforilação e inativação da piruvato desidrogenase pela PDC cinase 4 quando esta última promove a troca da oxidação do substrato entre glicose e AG no coração (SUGDEN & HOLNESS, 2003).

Tem sido discutido se o aumento na entrada e na utilização da glicose pode prejudicar a função cardíaca, visto que, cardiomiócitos em meio rico em açúcar desenvolve glicotoxicidade (DAVIDOFF *et al.*, 2004; MAKINO *et al.*, 2011; REN *et al.*, 1997; SUAREZ *et al.*, 2008). Entretanto, de acordo com LUPTAK e colaboradores (2007), camundongos geneticamente modificados para aumento de expressão do GLUT1 apresentam função cardíaca inalterada, o que sugere que a alteração no metabolismo cardíaco glicídico em corações saudáveis não prejudica sua função.

No entanto, animais hiperglicêmicos com hipertrofia cardíaca apresentam aumento no transporte de glicose e glicogênese no miocárdio (NASCIMBEN *et al.*, 2004) associados eventualmente à redução na oxidação de glicose (LEONG *et al.*, 2002; WAMBOLT *et al.*, 2000). Portanto, em indivíduos com hipertrofia cardíaca pode haver acúmulo de glicogênio em diversos órgãos, o que pode resultar em prognóstico ruim em algumas patologias (OZEN, 2007).

A resistência à insulina em alguns casos de falência cardíaca poderia limitar a disponibilidade da glicose e comprometer a capacidade de síntese de ATP (NIKOLAIDIS *et al.*, 2004; SWAN *et al.*, 1997). LIAO e colaboradores (2002) demonstraram que pode ocorrer um atraso na transição entre hipertrofia e insuficiência cardíaca quando o transporte de glicose ocorre independente da presença de insulina. Em modelos de falência cardíaca tem sido demonstrado a preservação da função quando o metabolismo é sustentado por ácidos graxos ou pelo aumento na síntese de ATP (CHESS *et al.*, 2009; GRUPTA *et al.*, 2012) indicando que a capacidade de síntese de ATP é mais importante do que a seleção do substrato na manutenção da função cardíaca (KOLWICZ, 2016).

## **1.6. Programação metabólica por manipulação da dieta**

Tem sido extensivamente estudada a importância da nutrição materna pré-natal para a programação metabólica da prole. Dados na literatura indicam que tanto a má nutrição quanto o fornecimento de dietas hiperlipídicas durante a gestação causam distúrbios no crescimento

da prole, o que é observado por maiores taxas de desenvolvimento e doenças cardiovasculares e metabólicas nos filhotes (LIANG *et al.*, 2009).

Vários modelos experimentais têm sido estudados com o objetivo de compreender as influências da supernutrição materna na vida fetal. Estes modelos variam de acordo com número de indivíduos na ninhada, duração da dieta e momento em que a dieta é fornecida (FISCHBECK & RASMUSSEN, 1967; RODRIGUES *et al.*, 2009) e com a dieta materna (hipercalórica, isocalórica hiperlipídica, isocalórica hiperglicídica, hiperlipídicas e hiperglicídicas) (LIANG *et al.*, 2009; SAMUELSSON *et al.*, 2008; FERNADEZ-TWINN *et al.*, 2012; SAMUELSSON *et al.*, 2013).

A supernutrição que é comum em ninhadas pequenas, no qual a disputa pelo leite materno é menor parece ser um fator de risco para o desenvolvimento da obesidade na vida adulta podendo desenvolver hiperinsulinemia, hiperfagia, hiperleptinemia e hipertensão quando adultos. Inclusive o modelo de obesidade por supernutrição desenvolvido por RODRIGUES e colaboradores (2009) baseia-se na redução do número de filhotes na ninhada. No terceiro dia de lactação o tamanho da ninhada foi reduzido para três filhotes por matriz. No grupo controle, o tamanho da ninhada foi ajustado para 10 filhotes por matriz. A supernutrição no início da vida pós natal induz efeitos a curto prazo (21 dias, após o desmame) como aumento de peso corporal, acompanhado de aumento de gordura visceral, elevação sérica de leptina, TSH, T3 e T4, elevação dos receptores para leptina (Ob-R), JAK 2 (do inglês, *Janus Thyrosine Kinase 2*), p-STAT3 (do inglês, *phosphorylated- signal transducer and activator of transcription-3*) na hipófise e diminuição no conteúdo de JAK2 e STAT3 também na hipófise, com redução na expressão tireoideana de Ob-R. A longo prazo (180 dias) foi observado aumento de peso corporal acompanhado de aumento no depósito adiposo visceral, redução sérica dos hormônios tireoideanos, sem alteração do TSH, redução da proteína JAK2 e p-STAT3 no hipotálamo, e elevação do conteúdo de Ob-R e JAK-2 na tireoide. Estas mudanças ajudam a explicar o desenvolvimento de disfunções metabólicas e endócrinas tardias, tal como síndrome metabólica e hipotireoidismo.

Muitos modelos experimentais de supernutrição materna tem resultado em proles com alterações cardíacas, tal com hipertrofia cardíaca (ROBERTS *et al.*, 2015).

Quando fêmeas de camundongos C57BL/6J foram alimentadas com dieta padrão (3% gordura, 7% açúcar) ou dieta obesogênica palatável (16% gordura, 33% açúcar) por 6 semanas antes do acasalamento e durante toda a gravidez e lactação deram origem a proles com características diferentes de acordo com a dieta materna. A prole derivada de matrizes



tratadas com dieta obesogênica apresentou hiperfagia da 4<sup>o</sup> a 6<sup>o</sup> semana de idade e aos 3 meses diminuição de atividade locomotora e aumento de adiposidade abdominal, este último estava associado com hipertrofia dos adipócitos e expressão de mRNA alterada para  $\beta$ -adrenoreceptor 2 e 3, 11  $\beta$ HSD-1, e PPAR- $\gamma$ . Esta mesma prole apresentou disfunção na resistência endotelial aos 3 meses de vida e hipertensão. Aos 3 meses houve aumento na insulinemia em jejum e aos 6 meses a glicose plasmática durante o jejum estava aumentada. Quando adulta, esta prole, apresentou disfunções metabólicas, cardiovascular e adiposidade (SAMUELSSON *et al.*, 2008).

Em outro estudo camundongos fêmeas (C57BL/6J) com 4 semanas de idade foram alimentadas *ad libitum* com dieta padrão (7% de açúcar simples, 3% de gordura) ou dieta obesogênica (33% de açúcar simples, 16 % de gordura animal) suplementada com mix de mineral e vitaminas (AIN93G) (SAMUELSSON *et al.*, 2008) durante 6 semanas antes do acasalamento. As proles foram observadas com 8 semanas de idade, e nenhuma diferença na massa corporal ou composição corporal foi observada entre as proles, porém a dieta materna obesogênica induziu aumento na massa cardíaca de sua prole, aumento do peso cardíaco em relação ao comprimento da tíbia, aumento da área e espessura da parede livre do VE e aumento da largura dos cardiomiócitos. Estas mudanças foram acompanhadas pelo aumento na expressão de marcadores moleculares de hipertrofia cardíaca: BNP (do inglês, *Brain Natriuretic Peptide*),  $\beta$ MHC (do inglês, *Beta Miosin Heavy Chain*) e  $\alpha$ MHC (do inglês, *Alfa Miosin Heavy Chain*) e mir-133 $\alpha$  (micro RNA-133  $\alpha$ ). Esta prole também apresentou hiperinsulinemia e aumento na expressão cardíaca de AKT e ERK. A fosforilação de p38MAPK também estava aumentada, sugerindo remodelamento patológico. O aumento do estresse oxidativo também foi observado através do aumento na expressão de Ncf2 e prejuízo nos níveis de superóxido dismutase. Sendo assim, este modelo experimental induz hipertrofia induzida por ativação de AKT, ERK e estresse oxidativo (SAMUELSSON *et al.*, 2008).

A partir da 4<sup>o</sup> semana de vida, camundongos fêmeas C57BL/6 foram alimentadas com dieta padrão e dieta hiperlipídica até o período de gestação e lactação. Aos 10 dias de vida das proles, observou-se aumento na glicemia, insulinemia, corticosteroide e da pressão arterial na prole oriunda da matriz que consumiu a dieta hiperlipídica. As ilhotas pancreáticas estavam aumentadas em 155% (BRINGHENTI *et al.*, 2013).

Resultados anteriores do nosso grupo utilizando modelo experimental de dieta materna hiperlipídica (29% de lipídeos) demonstrou que filhotes machos e fêmeas apresentam maior adiposidade e são hiperleptinêmicos (ZECA 2015). Em 2015, Zeca demonstrou que o

consumo materno de dieta hiperlipídica promoveu alterações na expressão cardíaca dos receptores  $\beta$ 1-AR e TR $\alpha$  ao desmame. E aos 30 dias de idade, a prole apresentou disfunção ventricular esquerda, observada através da diminuição da fração de ejeção e aumento do volume sistólico final.

O presente trabalho tem o intuito de investigar possíveis alterações na estrutura cardíaca e no metabolismo cardíaco da prole promovidas pelo consumo materno de dieta hiperlipídica, que possam estar relacionadas com o surgimento tardio de alterações na função cardíaca da prole.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a morfologia e o metabolismo ventricular da prole fêmeas e macho, ao desmame.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar o diâmetro dos cardiomiócitos da prole, através de cortes histológicos.
- Avaliar o conteúdo de lipídeos neutros (monoacilglicerol, diacilglicerol, colesterol, colesterol esterificado, triacilglicerol, ácido graxo livre e fosfolipídios) no coração da prole.
- Avaliar o conteúdo dos ácidos orgânicos, oxaloacético, láctico e succínico no coração da prole.
- Avaliar a expressão proteica do receptor de insulina ( $Ir\beta$ ) e da PI3K no coração da prole.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Animais**

Todos os animais utilizados nesta dissertação foram provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências e da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), acondicionados em biotério com temperatura ( $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e fotoperíodo (7:00-19:00h) controlados. Água e ração foram ofertadas *ad libitum* durante o protocolo experimental. O cuidado com os animais seguiu os princípios vigentes no *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, após aprovação pelo Comitê de Ética Institucional (Protocolo IBCCF-114, UFRJ).

##### **3.1.1. Modelo Experimental**

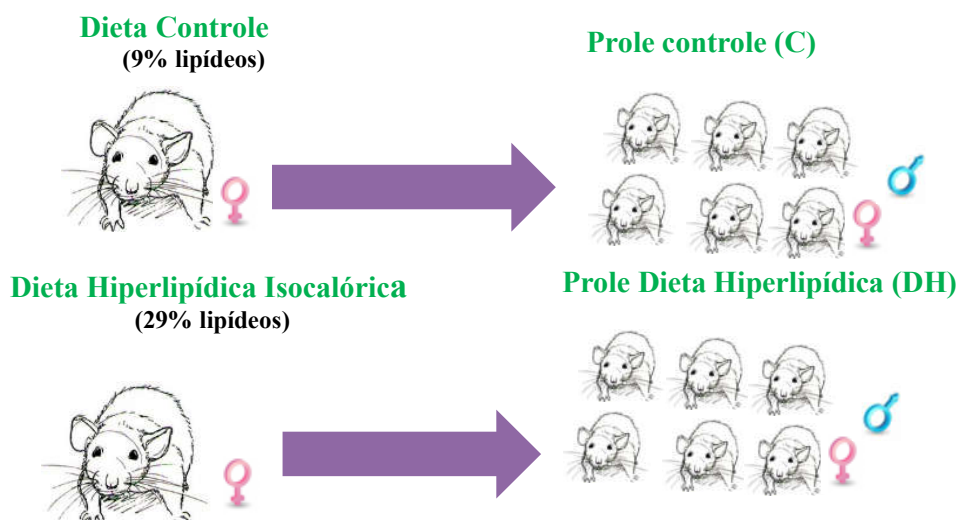
Ratas *Wistar* com 60 dias de idade foram divididas em dois grupos: (C) controle e (DH) dieta hiperlipídica. O primeiro grupo recebeu dieta normolipídica (contendo 9% de lipídeos) e o segundo grupo recebeu dieta hiperlipídica isocalórica (contendo 29% de lipídeos). A composição da ração hiperlipídica está descrita na Tabela 1. Este modelo experimental foi adaptado de FRANCO (2012).

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

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

Após sete semanas as ratas foram acasaladas com machos não obesos e permaneceram com as respectivas dietas até o final da lactação.

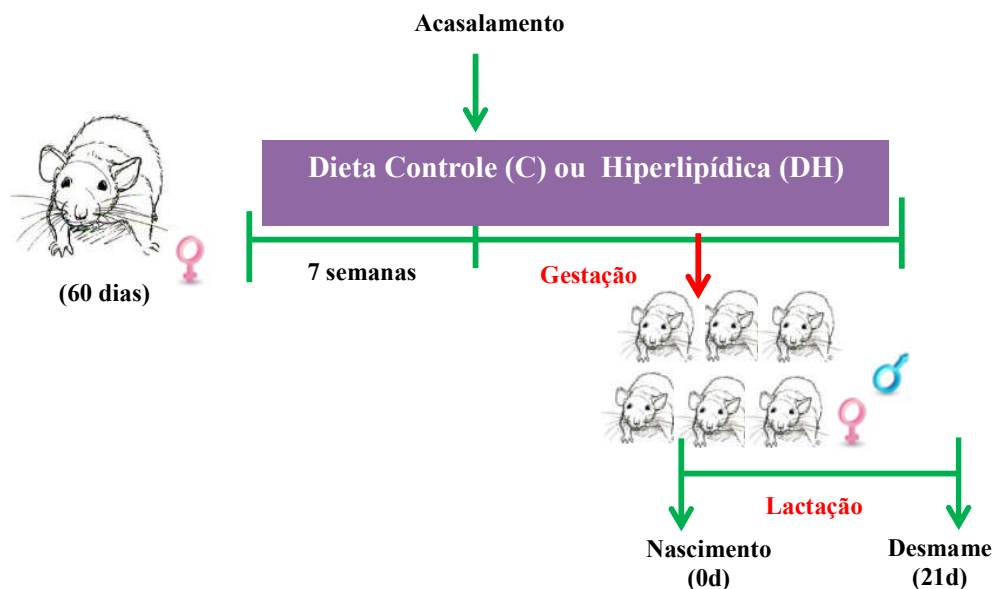
Após o nascimento, cada ninhada foi reduzida a seis filhotes, composta por 3 filhotes fêmeas e 3 filhotes machos. Os filhotes foram escolhidos aleatoriamente. As matrizes que receberam dieta normolipídica deram origem à prole Controle (C) e as matrizes que receberam dieta hiperlipídica deram origem à prole dieta hiperlipídica (DH), figura 4.



**Figura 4: Representação da separação das proles a serem analisadas.** As matrizes dos grupos experimentais originaram a prole denominada Controle (C) e as matrizes do grupo dieta hiperlipídica (DH) originaram a prole Dieta Hiperlipídica (DH).

A evolução do peso corporal das proles foi acompanhada desde o nascimento até o desmame, no 21º dia de idade.

Aos 21 dias de idade, os filhotes foram pesados e, anestesiados com uma solução contendo cloridrato de dextrocetamina (Ketamin<sup>®</sup>, Cristália) e cloridrato de xilasina (Xilasin<sup>®</sup>, Syntec), através da via intraperitoneal, nas doses de 50-100 mg/Kg e 1-5 mg/Kg, respectivamente. Na sequência, os filhotes foram eutanasiados por punção cardíaca, os tecidos adiposos branco retroperitoneal, perigonadal e inguinal foram retirados e pesados, assim como os corações. O comprimento da tíbia foi utilizado como fator de normalização. Amostras de ventrículo foram destinadas à análises histológicas, bioquímicas e moleculares. O modelo experimental está representado na figura 5.



**Figura 5: Representação do desenho experimental.** Ratas *Wistar* com 60 dias de vida foram separadas em dois grupos. Durante 7 semanas um grupo foi submetido à dieta normolipídica (9% de lipídeos) (Grupo C) e o outro à dieta hiperlipídica (29% de lipídeos) (Grupo DH), em seguida foram acasaladas, com machos não obesos e permaneceram em dieta durante a gestação e lactação. Cada fêmea matriz amamentou 6 filhotes, 3 fêmeas e 3 machos. A prole foi eutanasiada aos 21 dias de idade (ZECA, 2015).

### 3.2. Avaliação indireta da hipertrofia cardíaca

O coração dos animais foi retirado e lavado em salina (NaCl 0,9%) gelada para remoção de sangue e coágulos, o peso do coração foi obtido em miligramas e normalizado pelo comprimento da tíbia em centímetros, que foi medida através do instrumento paquímetro. Em seguida apenas os ventrículos foram isolados e pesados. Desta forma, foi obtido o peso relativo do coração e dos ventrículos (OTTEN *et al.*, 1986; SJAASTAD *et al.*, 2000; VAN DIJK-OTTENS *et al.*, 2010).

### 3.3. Análise histológica

Os corações foram cortados transversalmente ao nível dos músculos papilares de ambos os ventrículos, e os tecidos foram fixados em solução de paraformol 4%. Posteriormente, as amostras foram desidratadas por gradiente crescente de etanol (Vetec) (80/100%), por 50 min cada, diafanizados em xilol (Vetec) por duas vezes e em seguida, realizamos impregnação com parafina a 60°C (parafina histológica; Pró-Cito®, Porto Alegre, RS, Brasil), durante 50 minutos cada e repetimos este processo mais uma vez. Os cortes foram obtidos com auxílio de micrótomo (RM 2125 RT, Leica Biosystems, Germany) com

espessura de 5 µm e escalonados a uma distância de 130 µm, a fim de evitar medidas repetidas do mesmo cardiomiócito.

A desparafinação e hidratação dos cortes foi realizada através de 3 banhos de xilol com duração de 15 min cada e álcoois em concentrações decrescentes (100/ 100/ 90 / 80 / 70%), por 5 min cada. As lâminas foram lavadas em água destilada por duas vezes, por 5 minutos. Em seguida, as lâminas foram coradas com hematoxilina (Vetec) por 8 min, posteriormente lavadas em água corrente e rapidamente em álcool clorídrico (álcool etílico a 99,5% (Vetec) 940 mL/L, ácido clorídrico PA (Vetec) 20 mL/L, água deionizada 40 mL) e depois lavadas novamente, por 5 minutos em água corrente e água destilada. As lâminas foram mergulhadas por 3 minutos em eosina (Vetec) e lavadas em água destilada e corrente por 5 minutos.

Foram realizadas análises do diâmetro de 3 a 6 cardiomiócitos por campo, sendo 10 campos por corte, e 3 cortes escalonados por animal. Fotomicrografias foram obtidas em microscópio (modelo FWL- 1200 T, Feldmann Wild Leitz, Germany), e analisadas utilizando o *Software Image J* (versão, 1.49, Maryland, USA).

### **3.4. Quantificação de lipídeos neutros**

A quantificação dos lipídeos neutros (monoacilglicerol, colesterol, colesterol esterificado, triacilglicerol, ácidos graxos e fosfolipídios), foi realizada através da técnica de Cromatografia em camada delgada monodimensional ou do inglês *Thin Layer Chromatography* (TLC).

Cinquenta miligramas de cada amostra de ventrículo esquerdo foram maceradas em 100 µL de tampão de lise (TRIS 50 mM; EDTA 5 mM; Nonidet P-40 1%; TLCK 0,1 mM; PMSF 2 mM). Após a maceração, os homogeneizados foram centrifugados a 2520 xg por 3 minutos. O conteúdo proteico da fase sobrenadante foi determinado de acordo com Lowry modificado (MARKWELL *et al.*, 1978), utilizando albumina sérica bovina como padrão. As amostras foram normalizadas para 300 µg de proteína total e então submetidas à extração de lipídeos, conforme descrito por BLIGH & DYER (1959). As classes de lipídeos neutros foram separadas por cromatografia de camada fina, em placas de sílica gel 60 (Merck, Germany) utilizando hexano, éter etílico e ácido acético (60:40:1 por volume) como eluentes (KAWOOYA & LAW, 1988). Após a corrida a placa de sílica foi imersa em solução de Charring (10% de sulfato de cobre e 8% de ácido fosfórico (v / v) e aquecida a 150°C por 10



minutos (RUIZ & OCHOA, 1997). Após a carbonização, as placas de TLC foram analisadas por densitometria utilizando o Software *Image Master Total Lab* (Amersham, USA).

### **3.5. Avaliação bioquímica dos ácidos oxaloacético, láctico e succínico**

O conteúdo dos ácidos orgânicos oxaloacético, láctico e succínico, foi avaliado no ventrículo esquerdo das proles através da técnica de cromatografia líquida de alto desempenho ou do inglês *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Cerca de 28mg de ventrículo esquerdo de cada filhote foi homogeneizado em solução aquosa com auxílio do homogeneizador Turrax. Posteriormente as amostras foram desproteinizadas de acordo com Método de Nelson, (Nelson, 1944) para posterior liofilização.

A liofilização foi realizada em liofilizador LioTop L101 (Liobrás- Brasil), à -55°C durante 48 horas. Em seguida o liofilizado foi congelado à -20°C até análise cromatográfica.

A determinação dos ácidos orgânicos foi realizada com o uso de um sistema contendo um cromatógrafo a líquido (Shimadzu- Proeminence, Japan) equipado com duas bombas (LC-20AT, Shimadzu- Japão), detector de fotodiodos (SPD-M20A, Shimadzu- Japão), injetor automático (SIL-10A, Shimadzu- Japan) e forno para coluna (CTO-20A, Shimadzu- Japan), sistema controlador (CBM, Shimadzu- Japan) e *Software LCSolution*, Shimadzu- Japão. A separação dos ácidos orgânicos (ácidos oxaloacético, láctico e succínico) foi realizada em uma coluna de fase reversa C18 (25cm X 4,6 mm x 5 µm de tamanho de partícula, Restek- Allure Acids), sendo a fase móvel composta por tampão Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20mmol/L, pH 2,2 ajustado com ácido fosfórico (solvente A, 99%) e acetonitrila (solvente B,1%). A fase móvel foi filtrada através de uma membrana de acetato de celulose 0,45 µm Millipore (Millipore, São Paulo, Brasil) para remover todas as impurezas. A temperatura da coluna foi mantida à 35°C durante todas as análises. A amostra injetada no sistema cromatográfico foi submetida a uma eluição isocrática empregando um fluxo de 1,1 mL/ min com detecção a 208 nm. O volume de injeção foi de 20µL para ambos. Todas as amostras foram solubilizadas em 500 µL na fase móvel. Foram realizadas injeções duplicadas e áreas médias de pico foram utilizadas para quantificação. Os picos foram identificados através da comparação dos tempos de retenção das amostras com os dados espectrais obtidos a partir dos padrões. Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura, obtida pelo sistema de purificação Millipore (Millipore, São Paulo, Brasil). As soluções estoque (1000 mg/L) dos ácidos oxaloacético, láctico e succínico (Sigma-Aldrich, Brasil), com níveis de pureza de 99,5; 99,0, 99,5 e 99,9%,

respectivamente) foram preparados pela diluição apropriada de uma massa obtida de seus respectivos padrões de grau analítico (PA). Para obtenção das curvas analíticas, as soluções de referência foram preparadas por diluição serial das soluções estoque dos respectivos ácidos orgânicos em fase móvel.

### **3.6. Análise da expressão proteica do receptor de insulina Irβ1 e PI3K**

A análise da expressão proteica do Irβ1 e PI3K foi realizada em amostras de ventrículo esquerdo, através da técnica de *Western Blot*.

A extração proteica foi realizada com base no protocolo adaptado por TOLMACHOV *et al.*, 2006. Após a homogeneização de aproximadamente 20 mg de ventrículo esquerdo em 60 µL de solução gelada de tampão Hepes 50 mM, contendo MgCl<sub>2</sub> (1mM), EDTA (10 mM), 1% de Triton X e 10% de coquetel de inibidores de proteases (Complete, Roche<sup>®</sup>, Germany), pH 6,4. O tecido foi homogeneizado com auxílio do homogeneizador Turrax, em seguida o homogenato foi centrifugado a 16100 x g por 30 minutos, a 4°C, posteriormente o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C. A concentração de proteínas das amostras foi determinada utilizando Pierce<sup>®</sup> BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific<sup>®</sup>, Brasil).

As concentrações de proteínas injetadas em cada poço variaram de acordo com o tipo de proteína a ser analisada (tabela 2). O fracionamento foi realizado em gel de poliacrilamida desnaturante a 10% (10% de SDS, 30% de acrilamida mix, 10% de persulfato de amônio e 0,02% de TEMED) a 150 V, durante uma hora e 30 minutos em tampão de corrida 1X- pH 8,3 (1,9% de glicina, 0,3% de Tris Base ,0,1% de SDS). Ao término da corrida as amostras foram transferidas para membrana de PVDF (*Polyvinylidene Difluoride*), em sistema úmido com tampão de transferência- pH 8,3 (0,6% de Tris Base, 0,3 % de glicina, 20% de metanol) durante 1 hora e trinta minutos.

Após a transferência as membranas para análise de Irβ e PI3K foram bloqueadas em tampão TBS com albumina a 3% por 2 horas em temperatura ambiente. Posteriormente, a membrana foi incubada com anticorpo policlonal para Irβ (anti insulín Rβ C-19, SC-711) e PI3K (anti PI3K p85α Z-8, SC-423). Os anticorpos primário Irβ e PI3K foram diluídos em TBS-T com albumina a 5% e incubados com as respectivas membranas por aproximadamente 18 horas (*overnight*) a 4°C. Em seguida, a membrana foi lavada em TBS-T, por cinco minutos cada, 5 vezes para Irβ e 8 vezes para PI3K. Logo depois, a membrana foi incubada com anticorpo secundário diluído em TBS-T contendo 5% de albumina para cada anticorpo primário por 2 horas à temperatura ambiente e agitação moderada. Após este período a

membrana foi lavada em TBS-T por 5 minutos cada lavagem, sendo 5 vezes para Irβ e 8 vezes para PI3K .

A revelação foi realizada utilizando o método de quimioluminescência não-radioativa com o reagente Clarity Western ECL Substrate (Biorad<sup>®</sup>, CA, USA) em *Gel Imaging Systems-Chemiodoc* (Biorad<sup>®</sup>, CA, USA) e análise densiométrica com Software Image Lab 5.2.1. Na sequência foi utilizado o corante Ponceau (0,5% vermelho de Ponceau e 1% de ácido acético) para coloração da membrana e normalização do carregamento de proteínas.

**Tabela 2:** Condições estabelecidas após padronização dos anticorpos para Western Blotting.

Anticorpo Primário	Diluição Padronizada Anticorpo Primário	Anticorpo secundário e diluição	Concentração de proteínas por poço
<sup>1</sup> Irβ SC-711	1:1000	<sup>2</sup> Anti rabbit IgG HRP 1:3000	10 µg
<sup>1</sup> PI3K p85α SC-423	1:1000	<sup>2</sup> Anti rabbit IgG HRP 1:3000	15 µg

<sup>1</sup> Santa Cruz Biotechnology<sup>®</sup> (CA, USA); <sup>2</sup> Cell Signaling<sup>®</sup>, (MA, USA).

### 3.7. Análise estatística

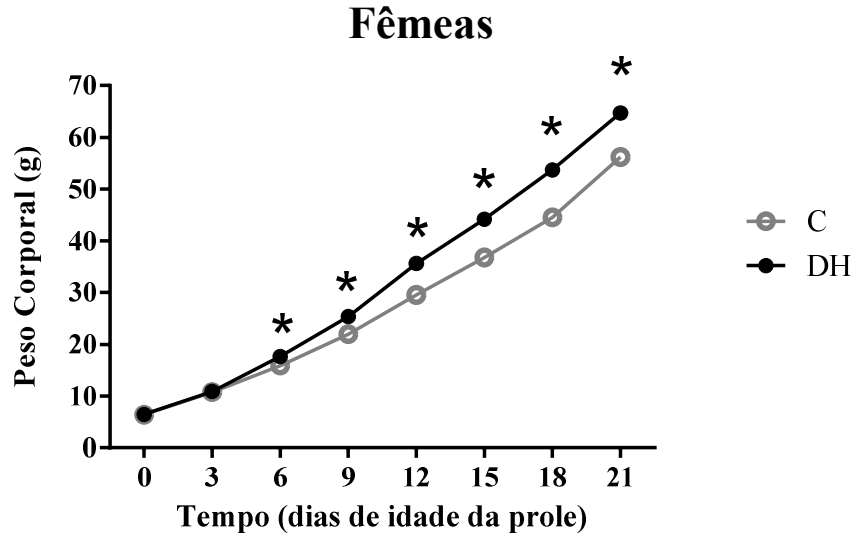
Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média. Para avaliar se os dados seguem a distribuição normal, foi feito o teste de normalidade Shapiro-Wilk com o software *Past* versão 3.4 (disponível em <http://folk.uion.no/ohammer/past/>). Para análise de dois grupos experimentais foi utilizado o Teste t -Student. Estas análises estatísticas foram realizadas com o Software *GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 6* (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Diferenças foram consideradas significativas quando p<0,05.

## 4. RESULTADOS

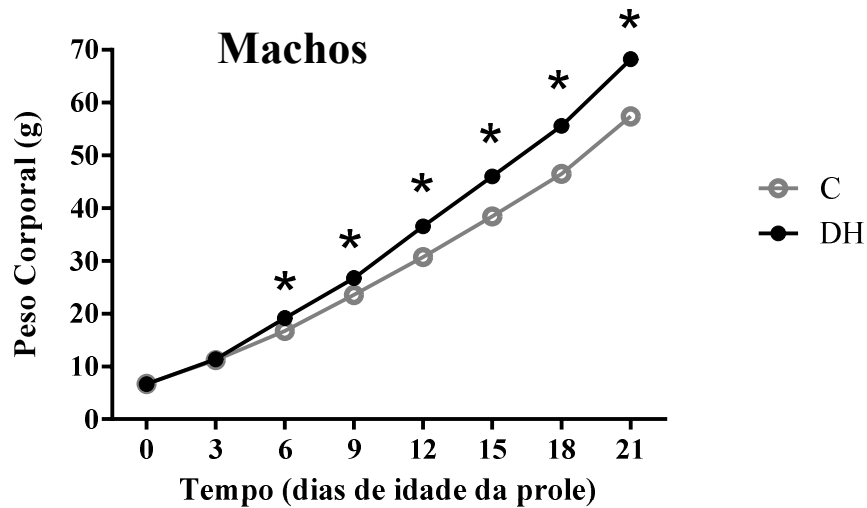
### 4.1. Evolução da massa corporal das proles do nascimento até o desmame

Para verificar se o consumo materno de dieta hiperlipídica influenciaria o ganho de peso da prole, avaliamos a evolução do peso corporal das proles desde o nascimento até o desmame (aos 21 dias de vida). Todos os filhotes foram pesados a cada 3 dias.

Ao nascimento não observamos diferenças significativas no peso tanto da prole fêmea quanto da prole macho DH, conforme observado no dia 0 (Dia 0: Fêmea C=6,4 ±0,2g; DH= 6,4 ± 0,1g. Macho C= 6,7 ±0,1g; DH= 6,6 ± 0,1g). Nenhuma diferença significativa foi observada no 3º dia de vida da prole (Dia 3: Fêmea C= 10,8 ±0,3g; DH= 10,9 ± 0,2g. Macho C= 11,2 ± 0,3g; DH= 11,3 ± 0,3g). A partir do 6º dia de vida fêmeas e machos da prole DH apresentaram aumento de 10% e 13% respectivamente na massa corporal quando comparados a prole C (Dia 6: Fêmea C= 15,9 ± 0,3g; DH= 17,6 ± 0,3g. Macho C= 16,7 ± 0,3; DH= 19,2 ± 0,6g). No 9º dia de vida foi observado aumento de 13% nas fêmeas e 12% nos machos da prole DH (Dia 9: Fêmea C= 22 ± 0,5g; DH= 25,3 ± 0,4g. Macho C= 23,5 ± 0,5; DH= 26,7 ± 0,5). No 12º dia de vida da prole DH o aumento nas fêmeas foi de 17% e nos machos 16% (Dia 12: Fêmea C= 29,6 ± 0,7; DH= 35,6 ± 0,4; Macho C= 30,7 ± 0,6g; DH= 36,5 ± 0,5g). O aumento de peso da prole DH tanto de fêmeas quanto dos machos foi de 17% no 15º dia de vida (Dia 15: Fêmea C= 36,8 ± 0,8g; DH= 44,2 ± 0,5g. Macho C= 38,4 ± 0,8g; DH= 46 ± 0,5g), no 18º dia de vida da prole DH fêmea o aumento de peso evidenciado foi de 31% e dos machos 17% (Dia 18: Fêmea C= 44,5 ± 1,0g; DH= 64,7 ± 0,6g. Macho C= 46,5 ± 1g; DH= 55,6 ± 0,5g) e no 21º dia de vida o aumento nas fêmeas foi de 13% e nos machos foi de 16% (Dia 21: Fêmea C= 56,2 ± 1,1g; DH= 64,7 ± 0,6 g. Macho C= 57,4 ± 1g; DH= 68,2 ± 0,9g). As figuras 6 e 7 demonstram a evolução da massa corporal dos filhotes fêmeas e machos, respectivamente.



**Figura 6:** Evolução da massa corporal de filhotes fêmeas das proles C e DH, do nascimento ao desmame (21 dias de idade). C= Prole Controle (n=18); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=21). \*= P<0,05. Dados expressos como média ± erro padrão. Teste t-Student.



**Figura 7:** Evolução da massa corporal de filhotes machos das proles C e DH, do nascimento ao desmame (21 dias de idade). C= Prole Controle (n=18); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=18). \*= P<0,05. Dados expressos como média ± erro padrão. Teste t-Student.

Esses resultados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica promoveu maior ganho de massa corporal na prole.

#### 4.2. Análise dos pesos dos tecidos adiposos brancos aos 21 dias

Com o intuito de verificar se o aumento de massa corporal da prole DH ao desmame ocorreu devido ao aumento de adiposidade, foram pesados os reservatórios de tecidos adiposos viscerais (retroperitoneal e perigonadal) e subcutâneo (tecido inguinal).

Ao avaliarmos o reservatório de tecido adiposo branco retroperitoneal, observamos que os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram aumento de aproximadamente 2,4 vezes em relação ao seu controle. Ao avaliarmos os filhotes machos observamos que a prole DH aumentou aproximadamente 3,7 vezes em relação ao seu controle.

A avaliação do tecido perigonadal demonstrou que a prole fêmea DH apresentou aumento de 72% em relação à prole C. Em relação aos animais machos, a prole DH apresentou aumento de 60% em relação à prole C.

Ao avaliarmos o reservatório inguinal, observamos aumento de 3 vezes no peso do tecido adiposo branco inguinal das fêmeas da prole DH em relação às fêmeas da prole C. Em relação aos animais machos, observamos que a prole DH apresentou aumento de 2,5 vezes em relação à prole C.

Nossos resultados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove aumento da adiposidade na prole e conseqüentemente maior peso corporal como demonstrado na tabela 3.

**Tabela 3:** Peso relativo dos tecidos adiposos retroperitoneal, perigonadal e inguinal de filhotes das proles C e DH aos 21 dias de idade.

Peso relativo (mg/mm)	Fêmea		Macho	
	C (n= 5-6)	DH (n = 7)	C (n = 5-6)	DH (n = 6)
TA Retroperitoneal	7,2 ± 1,1	17 ± 0,4*	7,3 ± 0,9	21,7 ± 1*
TA Perigonadal	4,5 ± 0,95	13,3 ± 1,9*	7,8 ± 0,5	19,1 ± 1,4*
TA Inguinal	47,6 ± 4	95,2 ± 3,4*	39,2 ± 3,8	102,1 ± 10,3*

C= Prole controle; DH= Prole Dieta Hiperlipídica; n=número de animais/grupo. Os valores estão expressos como média ± erro padrão. \*=P<0,05. Teste t-Student.

### 4.3. Avaliação da hipertrofia no coração das proles aos 21 dias de idade

Para avaliarmos possíveis alterações do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a massa e estrutura cardíaca da prole, utilizamos o peso do coração como uma medida indireta de hipertrofia e em seguida foi realizada quantificação do diâmetro dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo através de análises histológicas.

Os filhotes fêmeas da prole DH apresentaram aumento de 22% da massa cardíaca em relação à prole controle. Os machos da prole DH apresentaram aumento de 27% de massa em relação aos filhotes machos da prole C (Tabela 4).

Ao avaliarmos a massa dos ventrículos observamos que a massa ventricular da prole fêmea DH aumentou 18%. Ao avaliarmos os animais machos observamos aumento de 21% em relação à prole macho C (Tabela 4).

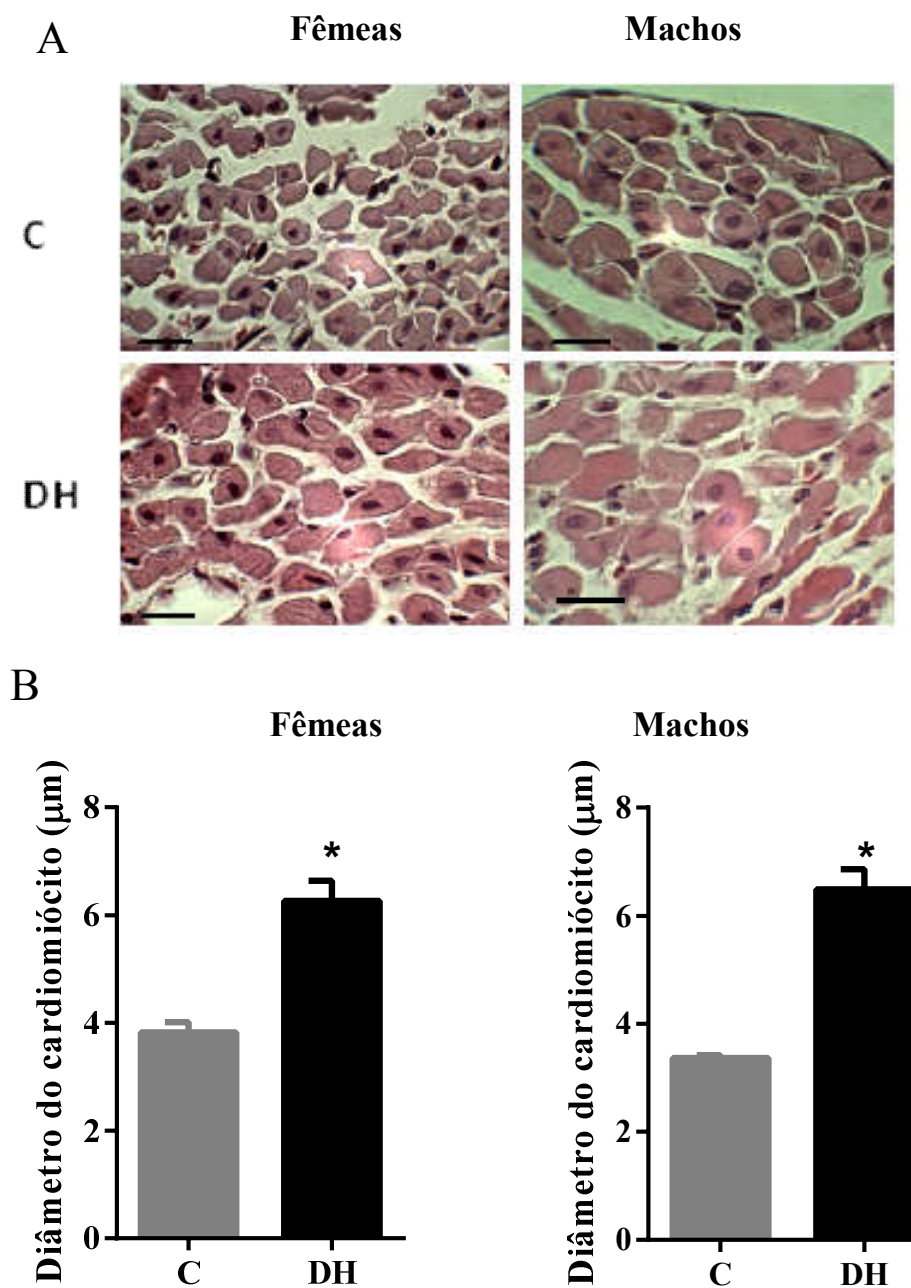
**Tabela 4:** Peso relativo do coração e dos ventrículos de filhotes das proles C e DH aos 21 dias de idade.

Peso relativo (mg/mm)	Fêmeas		Machos	
	C (n= 6)	DH (n = 7)	C (n = 6)	DH (n = 6)
<b>Coração</b>	13,1 ± 0,3	16 ± 0,5 *	13,6 ± 0,5	17,3 ± 0,5 *
<b>Ventrículos</b>	12,2 ± 0,2	14,8 ± 0,5 *	12,8 ± 0,4	16,3 ± 0,5 *

C= Prole Controle; DH= Prole Dieta Hiperlipídica; n= número de animais/grupo. Dados expressos como média ± erro padrão. \*= P<0,05. Teste t-Student.

Após avaliarmos o peso dos corações como uma medida indireta de hipertrofia cardíaca, cortes histológicos dos ventrículos foram corados com hematoxilina e eosina (HE) para avaliarmos o diâmetro dos cardiomiócitos conforme demonstrado na figura 8.

A figura 8 demonstra a fotomicrografia das paredes livre do VE das proles C e D, possibilitando análise comparativa da forma e tamanho celular entre os cardiomiócitos.



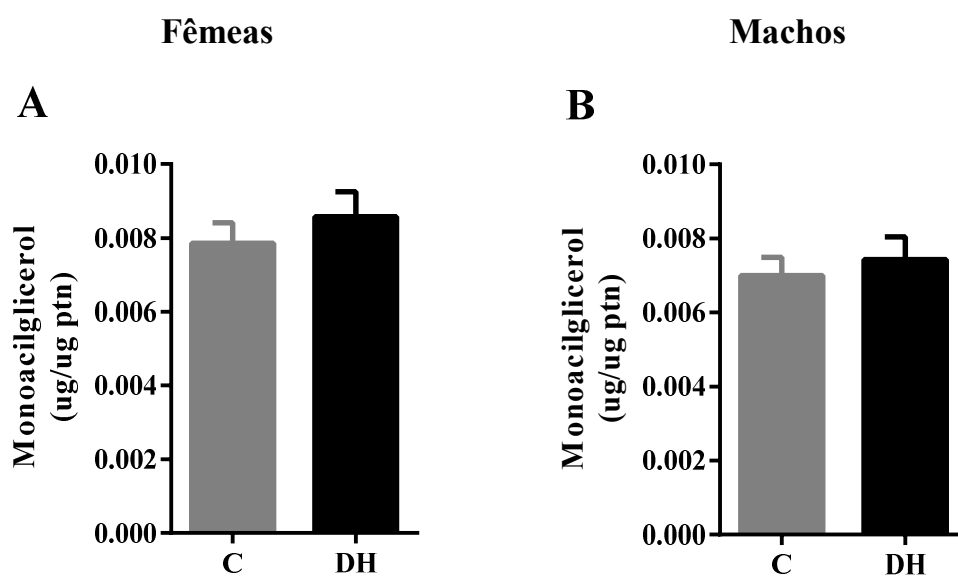
**Figura 8:** Fotomicrografia e representação gráfica do diâmetro dos cardiomiócitos da parede livre do VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Fotomicrografias representativas da parede livre do ventrículo esquerdo (VE) de filhotes fêmeas e machos das proles C e DH aos 21 dias de idade, coradas com Hematoxilina-Eosina. Barra de calibração: 10  $\mu\text{m}$ . B) Representação gráfica do diâmetro dos cardiomiócitos da parede livre do VE dos filhotes fêmeas (C, n=6; DH, n=7) e machos (C, n=5; DH, n=7). C= Prole Controle; DH= Prole Dieta Hiperlipídica. \* =  $P < 0,05$ . Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.



#### 4.4. Quantificação dos lipídeos neutros no ventrículo esquerdo das proles aos 21 dias de idade

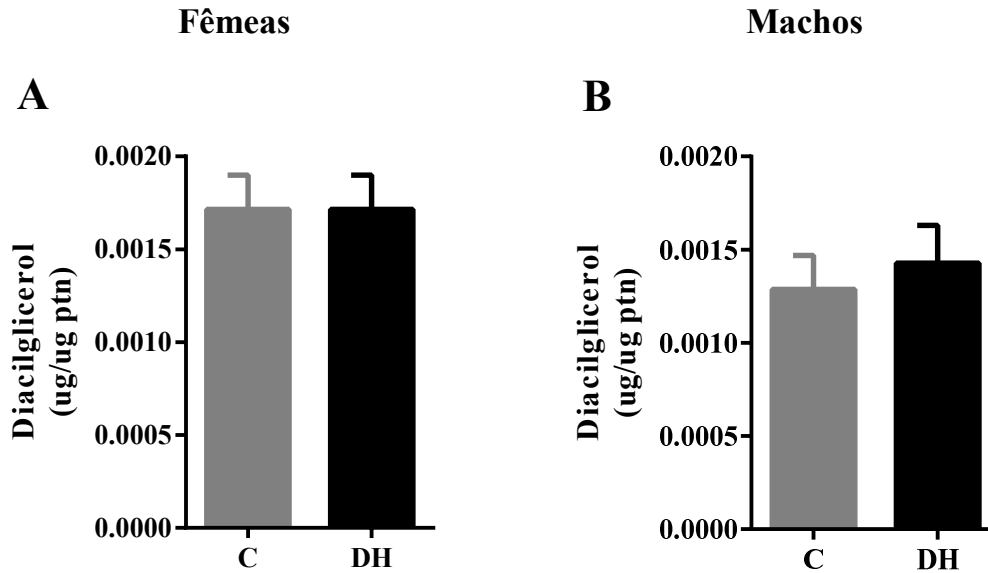
Com o objetivo de avaliarmos se o consumo materno de dieta hiperlipídica promoveu alterações no conteúdo de lipídeos neutros no coração da prole, avaliamos o conteúdo de monoacilglicerol, colesterol, colesterol esterificado, triacilglicerol, ácidos graxos e fosfolípidios no VE da prole.

Ao avaliarmos o conteúdo de monoacilglicerol no coração das proles não observamos diferença significativa entre os grupos experimentais (Figura 9).



**Figura 9:** Conteúdo de monoacilglicerol no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de monoacilglicerol nos filhotes fêmeas (n=7). B) Conteúdo de monoacilglicerol nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

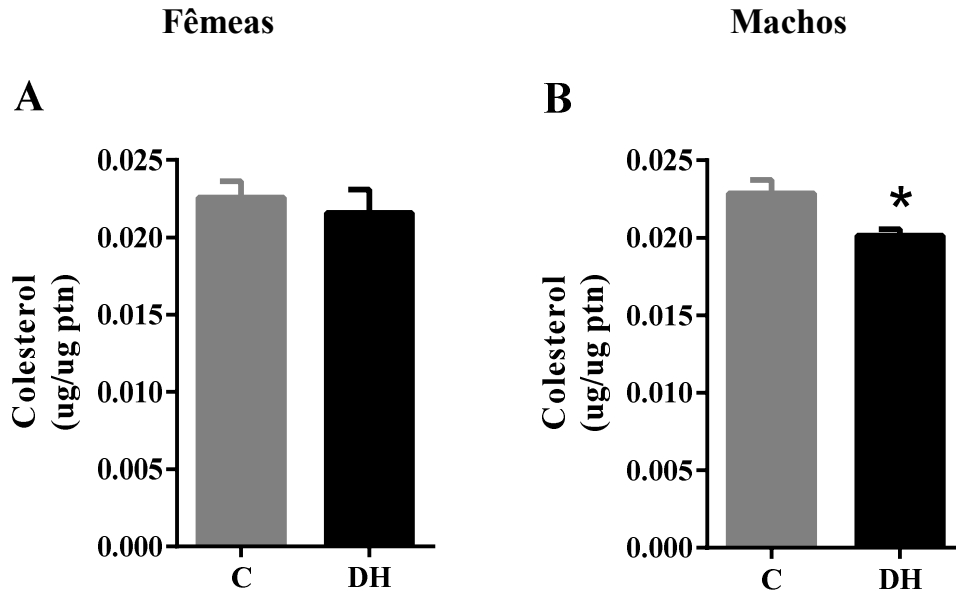
Ao quantificarmos o conteúdo de diacilglicerol no coração da prole, não observamos nenhuma diferença significativa (Figura 10).



**Figura 10:** Conteúdo de diacilglicerol no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de diacilglicerol nos filhotes fêmeas (n=7). B) Conteúdo de diacilglicerol nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

Ao avaliarmos o conteúdo de colesterol no ventrículo esquerdo das proles, não observamos diferença significativa entre as fêmeas (Fêmea C=  $0,023 \pm 0,001$  ug/ug ptn; DH=  $0,023 \pm 0,015$ ug/ug ptn). Ao avaliarmos o conteúdo de colesterol total nos animais machos, verificamos que a prole DH apresenta redução de 13% em relação à prole controle (Macho C=  $0,023 \pm 0,001$  ug/ug ptn; DH=  $0,020 \pm 0,0004$  ug/ug ptn) (Figura 11).

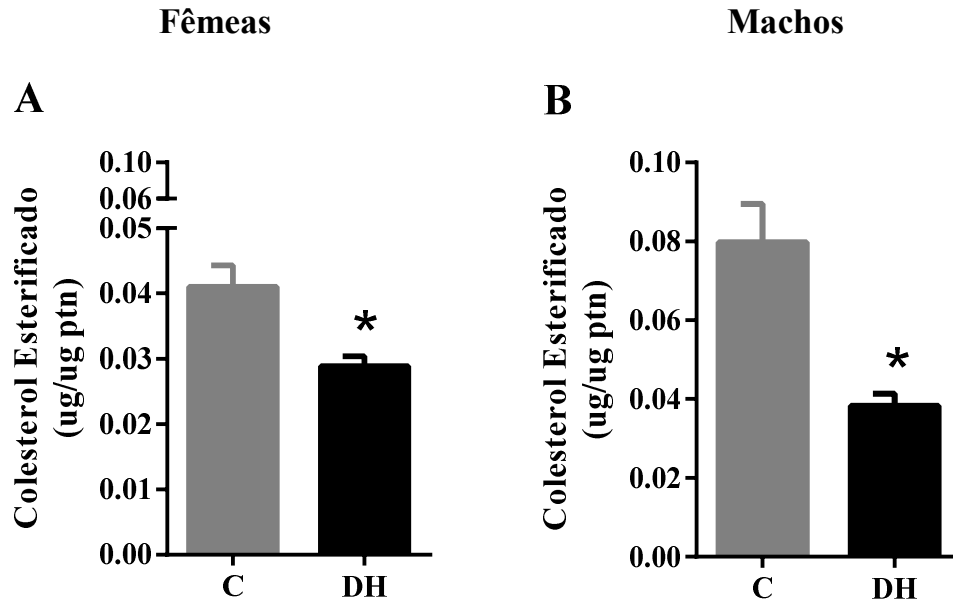
Esses resultados demonstram que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove redução no conteúdo de colesterol da prole de modo sexo-específico.



**Figura 11:** Conteúdo de colesterol no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de colesterol nos filhotes fêmeas. B) Conteúdo de colesterol nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. \* $P < 0,05$ . Teste t-Student.

A análise do conteúdo de colesterol esterificado demonstrou redução de aproximadamente 29% no ventrículo esquerdo das fêmeas da prole DH em relação ao seu controle (Fêmea C=0,041  $\pm$  0,003 ug/ug ptn, DH=0,029  $\pm$ 0,001 ug/ug ptn). Ao realizarmos a mesma avaliação nos ventrículos esquerdo dos animais machos, observamos redução de aproximadamente 52% em relação aos machos da prole Controle (Macho C= 0,08  $\pm$ 0,01 ug/ug ptn, DH=0,038  $\pm$ 0,003 ug/ug ptn).

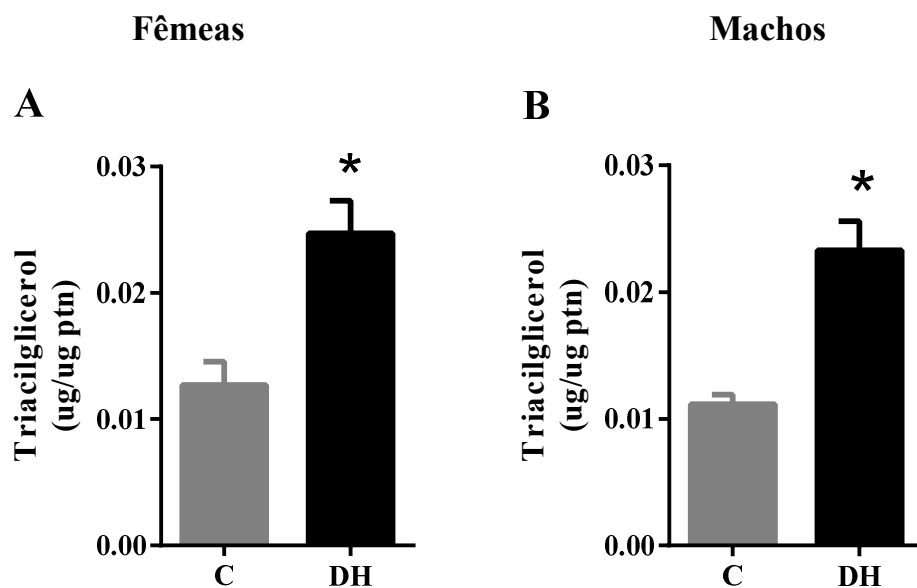
Estes resultados demonstram que o consumo de dieta hiperlipídica promove redução no conteúdo de colesterol esterificado no coração da prole (Figura 12).



**Figura 12:** Conteúdo de colesterol esterificado no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de colesterol esterificado nos filhotes fêmeas (n=7). B) Conteúdo de colesterol esterificado nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. \*=P<0,05. Teste t-Student.

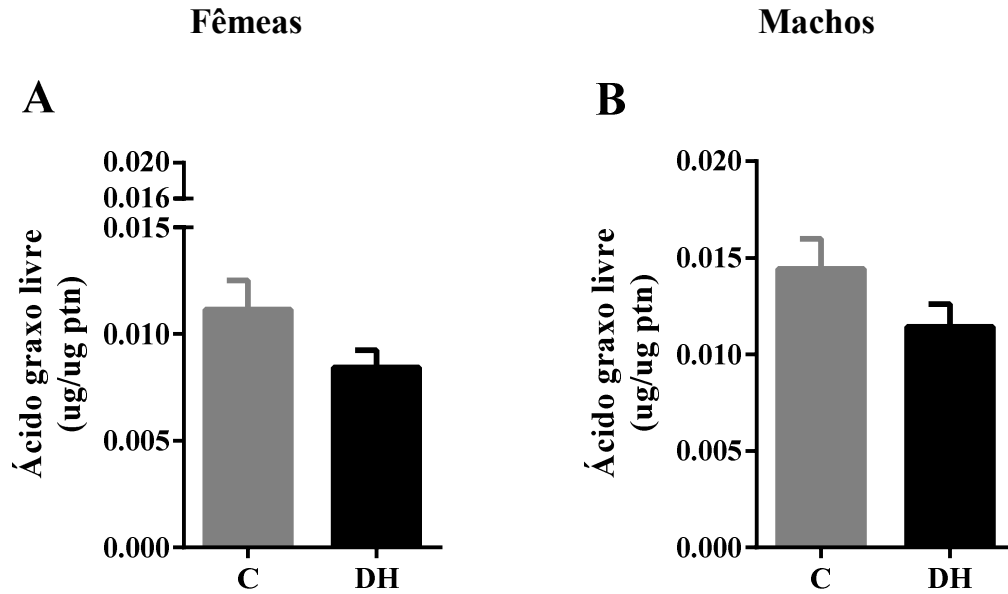
Ao avaliarmos o conteúdo de triacilglicerol no VE das proles, observamos aumento de aproximadamente 48% no VE da prole DH fêmeas em relação à prole C fêmea, (Fêmea C=  $0,013 \pm 0,002$  ug/ug ptn, DH=  $0,025 \pm 0,003$  ug/ug ptn). Em relação ao conteúdo de TG nos animais machos observamos aumento de aproximadamente 52% na prole DH em relação à prole C (Macho C=  $0,011 \pm 0,001$  ug/ug ptn, DH=  $0,023 \pm 0,002$  ug/ug ptn).

Esses resultados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica promove aumento do conteúdo de triacilglicerol no VE da prole (Figura 13).



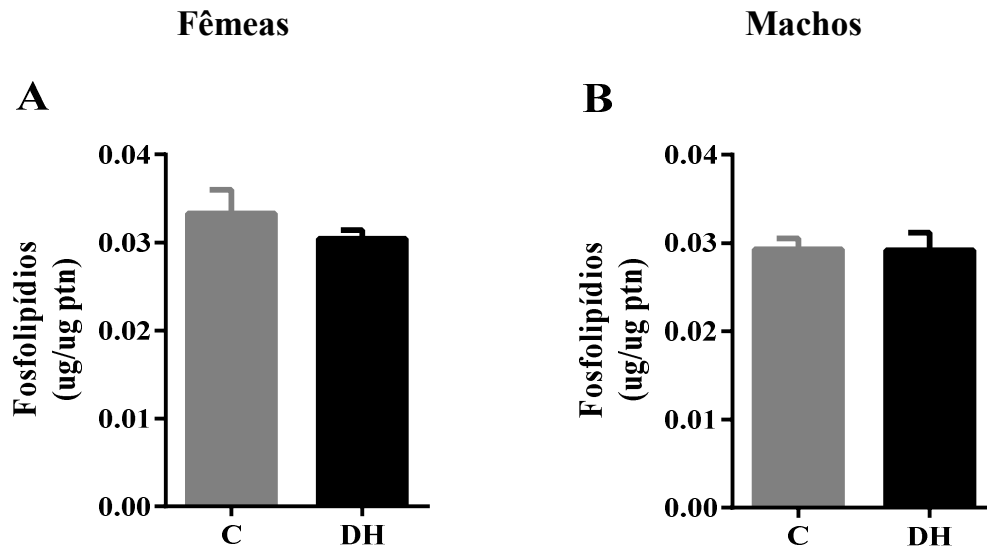
**Figura 13:** Conteúdo de triacilglicerol (TG) no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de TG nos filhotes fêmeas (n=7) . B) Conteúdo de TG nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. \*=  $P < 0,05$ . Teste t-Student.

A análise do conteúdo de ácidos graxos livres no VE das proles não indicou diferença significativa entre os grupos experimentais (Fêmeas C=  $0,011 \pm 0,001$  ug/ug ptn; DH=  $0,008 \pm 0,001$  ug/ug ptn. Macho C=  $0,014 \pm 0,001$  ug/ug ptn; DH=  $0,011 \pm 0,001$  ug/ug ptn) como demonstrado na figura 14.



**Figura 14:** Conteúdo de ácido graxo livre no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de ácido graxo livre nos filhotes fêmeas (n=7). B) Conteúdo de ácido graxo livre nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

Ao avaliarmos o conteúdo de fosfolipídios no VE das proles, nenhuma diferença significativa foi observada (Fêmeas C=  $0,033 \pm 0,002$  ug/ug ptn; DH=  $0,030 \pm 0,001$  ug/ug ptn; Machos C=  $0,029 \pm 0,001$  ug/ug ptn; DH=  $0,029 \pm 0,002$  ug/ug ptn) (Figura 15).



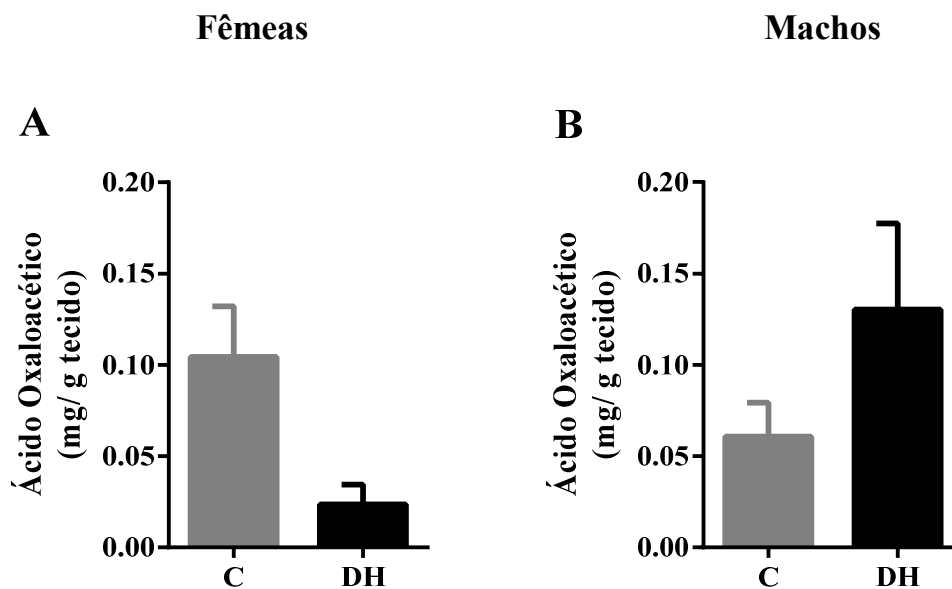
**Figura 15:** Conteúdo de fosfolipídios no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de fosfolipídios nos filhotes fêmeas (n=7). B) Conteúdo de fosfolipídios nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=7); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=7). Os dados foram normalizados de acordo com a concentração de proteína (ug/ug de proteína). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

#### 4.5. Quantificação de ácidos orgânicos no ventrículo esquerdo das proles aos 21 dias de idade

Com o objetivo de avaliarmos se o consumo materno de dieta hiperlipídica promoveu alterações na concentração dos ácidos orgânicos envolvidos no metabolismo do coração da prole, avaliamos o conteúdo de ácido oxaloacético, ácido lático e ácido succínico no VE da prole através da técnica de HPLC.

Ao analisarmos o conteúdo de ácido oxaloacético no VE das proles não observamos diferenças significativas (Fêmea C= 0,104 ± 0,028 mg/g tecido, DH= 0,024 ± 0,011 mg/g tecido; Macho C= 0,061 ± 0,019 mg/g tecido, DH= 0,130 ± 0,047 mg/g tecido) (Figura 16).

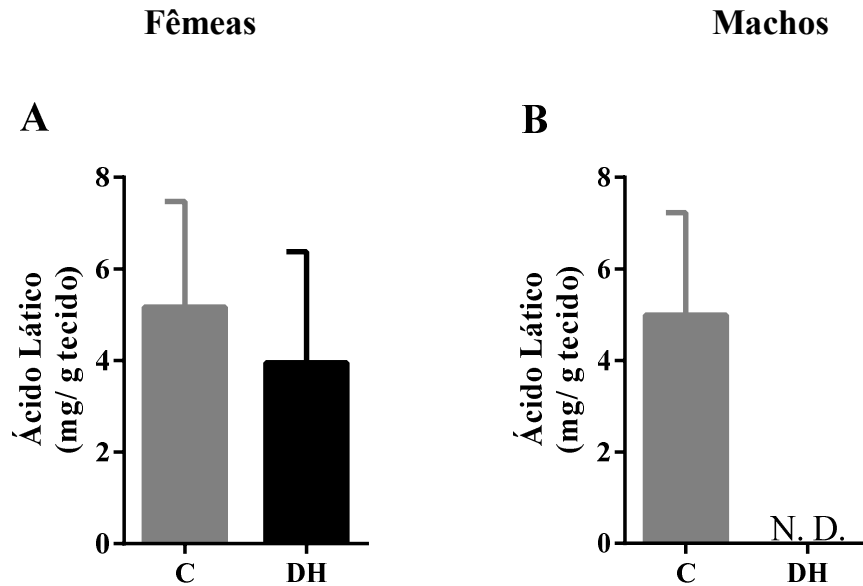
Esses resultados demonstram que o consumo materno de dieta hiperlipídica não promove mudanças significativas no conteúdo de ácido oxaloacético da prole DH.



**Figura 16:** Conteúdo de ácido oxaloacético no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de ácido oxaloacético nos filhotes fêmeas. C= Prole Controle (n=6); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=5). B) Conteúdo de ácido oxaloacético nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=6); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=6). Os dados foram normalizados de acordo com a massa de tecido (mg/g de tecido). Dados expressos como média ± erro padrão. Teste t-Student.

A avaliação do conteúdo de ácido lático não demonstrou diferença significativa entre as fêmeas das proles C e DH (C= 5,168 ± 2,312 mg/g tecido; DH= 3,956 ± 2,422 mg/g tecido).

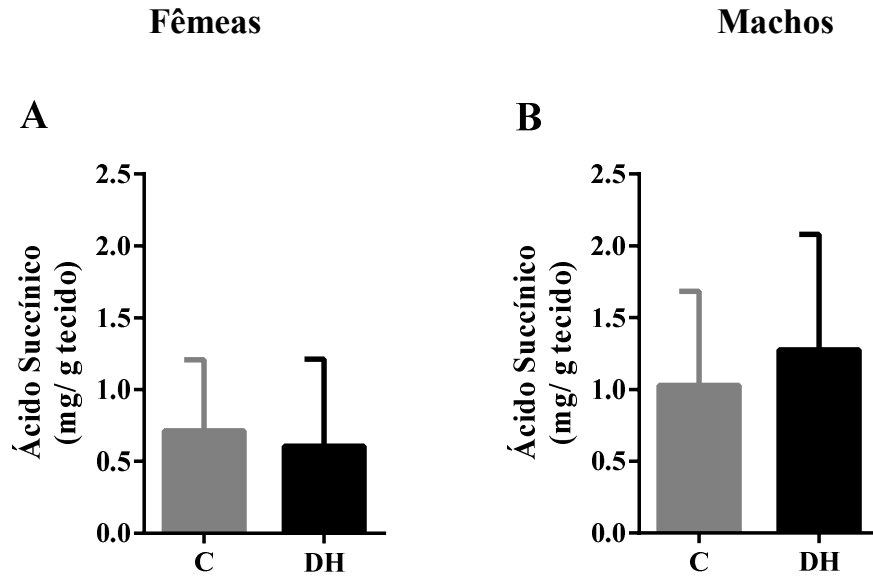
Ao analisarmos o conteúdo de ácido láctico no VE dos animais machos a presença deste ácido não foi detectada na prole DH (C=  $4,994 \pm 2,234$  mg/g tecido; DH= não detectado) (Figura 17).



**Figura 17:** Conteúdo de ácido láctico no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de ácido láctico nos filhotes fêmeas, C= Prole Controle (n=6); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=5). B) Conteúdo de ácido láctico nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=6); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=5); N.D. = não detectado. Os dados foram normalizados de acordo com a massa de tecido (mg/g de tecido). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

A avaliação do conteúdo de ácido succínico no VE das proles não demonstrou diferença significativa entre os grupos (Fêmea C=  $0,714 \pm 0,493$  mg/g tecido; DH=  $0,606 \pm 0,606$  mg/g tecido; Macho C=  $1,030 \pm 0,651$  mg/g; DH=  $1,274 \pm 0,806$  mg/g tecido) (Figura 18).



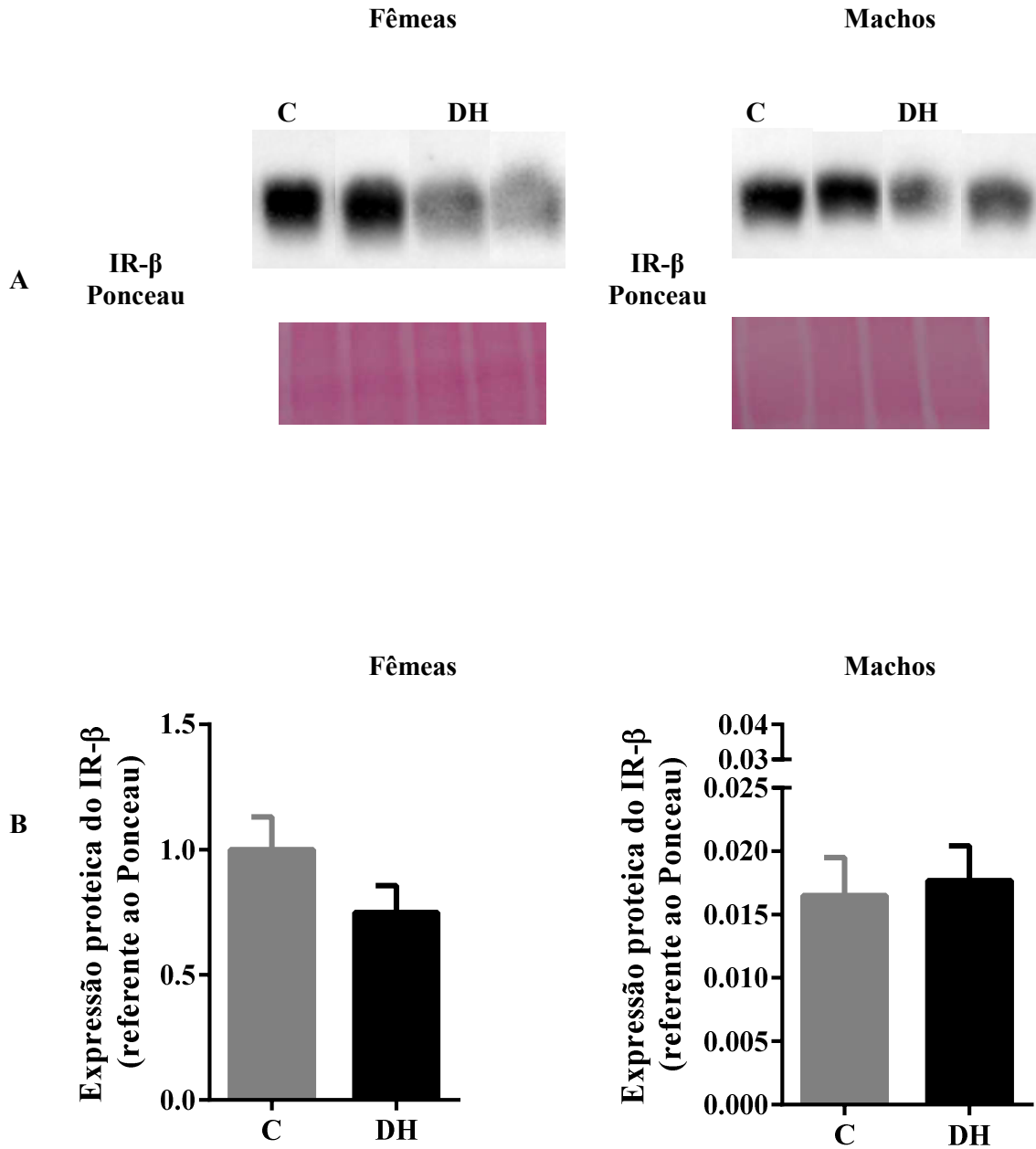


**Figura 18:** Conteúdo de ácido succínico no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Conteúdo de ácido oxaloacético nos filhotes fêmeas. C= Prole Controle (n=6); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=5). B) Conteúdo de ácido oxaloacético nos filhotes machos. C= Prole Controle (n=6); DH= Prole Dieta Hiperlipídica (n=6). Os dados foram normalizados de acordo com a massa de tecido (mg/g de tecido). Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

#### 4.6. Expressão de Ir $\beta$ e PI3K no ventrículo esquerdo da prole

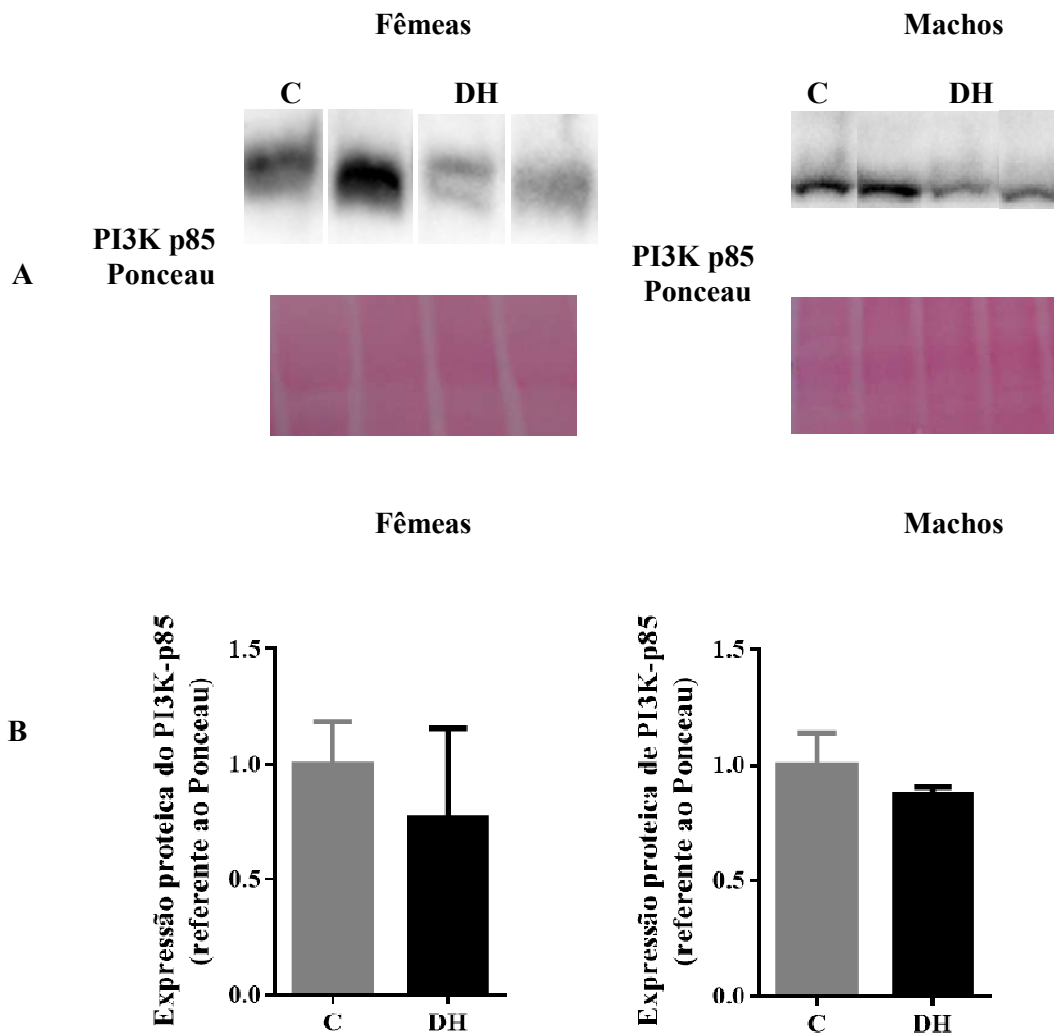
Foram realizadas análises da expressão proteica de Ir $\beta$  e PI3K no VE das proles utilizando a técnica de *Western blotting*.

Ao analisarmos a expressão do receptor IR $\beta$  no ventrículo das proles C e DH, nenhuma diferença significativa foi observada, conforme demonstrado na figura 19.



**Figura 19:** Expressão proteica da isoforma  $\beta$  do receptor da insulina (IR- $\beta$ ) no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Imagens da membrana de PVDF da expressão proteica nos filhotes fêmeas e machos (C= Prole Controle n=6; DH= Prole Dieta Hiperlipídica n=7). A coloração Ponceau foi utilizada para normalizar os dados. B) Análise densitométrica da expressão proteica do IR- $\beta$  nos filhotes fêmeas e machos. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

A análise da expressão proteica de PI3K p-85 no VE das proles, C e DH, não demonstrou diferença significativa (Figura 20).



**Figura 20:** Expressão proteica da enzima fosfatidilinositol-3 cinase (PI3K p 85) no VE das proles C e DH, aos 21 dias de idade. A) Imagens da membrana de PVDF da expressão proteica da PI3K p 85 nos filhotes fêmeas e machos (C= Prole Controle n=8; DH= Prole Dieta Hiperlipídica n=4). A coloração Ponceau foi utilizada para normalizar os dados. B) Análise densitométrica da expressão proteica da PI3K p 85 nos filhotes fêmeas e machos. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão. Teste t-Student.

Esses resultados indicam que o consumo materno de dieta hiperlipídica não alterou a expressão proteica de  $I\text{r}\beta$  e PI3K no VE das proles.

## 5. DISCUSSÃO

O consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a função cardíaca de ratos *Wistar* machos e fêmeas, induziu ao desmame (21 dias) aumento na massa corporal, com elevação de adiposidade corporal, hipertrofia cardíaca e alterações em alguns elementos envolvidos no metabolismo cardíaco. Nossos resultados demonstram que o consumo materno de dieta hiperlipídica além de promover aumento de adiposidade corporal e hipertrofia cardíaca, também promove alterações nas concentrações de alguns lipídeos neutros no VE da prole com redução dos níveis de colesterol no coração de animais machos da prole, redução do conteúdo de colesterol esterificado nos filhotes de ambos os sexos e aumento no conteúdo de triacilglicerol em ambos os sexos. As alterações na concentração destas substâncias envolvidas no metabolismo energético sugerem que a dieta hiperlipídica nas matrizes é capaz de promover mudanças no metabolismo cardíaco da prole.

Dietas enriquecidas com gordura têm sido utilizadas em modelos de obesidade, induzindo alterações nas concentrações lipídicas e resistência à insulina em roedores. Nestes modelos tem sido observado que estas dietas induzem desordens semelhantes à síndrome metabólica e pode se estender a doenças cardiovasculares (MANI *et al.*, 2012). Proles de ratos, em que as matrizes foram submetidas à dieta rica em gordura no período perinatal demonstraram aumento sérico de colesterol, triglicerídeos, LDL, HDL, VLDL e glicemia, na fase adulta, sugerindo que o insulto promovido pela dieta na vida perinatal contribui para o desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Ratas diabéticas da linhagem *Spraguey- Dawley* quando submetidas à dieta rica em gordura, originam prole com prejuízos na função cardíaca provocada pelo estresse oxidativo metabólico e mitocondrial. Trabalhos da literatura demonstram aumento no número de duplicações de clones mitocondriais, aumento na peroxidação de lipídeos e evidencia de disfunção mitocondrial. Quando a dieta hiperlipídica é associada a diabetes afeta mais severamente a prole e demonstra o acúmulo de lipídeos no coração, disfunções diastólica e sistólica mimetizando a cardiomiopatia diabética (mudanças estruturais e funcionais dos cardiomiócitos observadas na presença de DM2) em adultos (HAYAT *et al.*, 2010; MDAKI *et al.*, 2016).

Dados do nosso grupo de pesquisa demonstraram que o consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de promover aumento da massa corporal, adiposidade, hiperleptinemia e aumento da massa cardíaca em filhotes machos e fêmeas ao desmame. Quando a função

cardíaca desses animais foi avaliada na fase jovem (30 dias de vida) verificamos que a prole apresenta diminuição da fração de ejeção e aumento do volume sistólico final.

Há divergências na literatura no que tange a relação entre mudança na preferência do metabolismo cardíaco e aumento no tamanho dos cardiomiócitos e consequente hipertrofia cardíaca. De acordo com KOLWICZ & TIAN (2011), a maior mudança no perfil metabólico de corações hipertrofiados está no aumento da dependência de glicose com redução na sobrecarga do metabolismo oxidativo, ou seja, reaparecimento do padrão de metabolismo fetal. Porém GUZZARDI & IOZZO (2011) relatam associação entre o acúmulo de triacilglicerol, hipertrofia e disfunção no ventrículo esquerdo.

O estudo do nosso modelo experimental demonstrou aumento no diâmetro das células cardíacas e consequente hipertrofia cardíaca. SUNG e colaboradores (2017) demonstraram que dieta rica em gordura induz a hipertrofia, e altera a localização subcelular de CD36 (proteína responsável pela captação de ácidos graxos no sarcolema). Evidências sugerem que a realocação do CD36 no sarcolema é induzida pela sobrecarga de ácidos graxos através da ativação de PPAR $\alpha$  (receptor ativado do proliferador de peroxissomo) que regula a diferenciação celular e o metabolismo.

Todas essas alterações supracitadas precedem o início da disfunção cardíaca, e está relacionado com a fosforilação e ativação da sinalização da proteína cinase B (PKB/AKT), que regula a sensibilidade à insulina. OUWENS e colaboradores (2007) relataram que ratos alimentados com dieta rica em gordura por 8 semanas exibiram aumento no acúmulo de TG, hipertrofia nos cardiomiócitos, diminuição na fração de encurtamento e fração de ejeção no ventrículo esquerdo.

Ao nascimento os machos e as fêmeas da prole DH quando comparados com a prole C não apresentaram alterações significativas na massa corporal o que condiz com o que já foi demonstrado por FRANCO e colaboradores (2012). O aumento de massa corporal na prole DH foi observado a partir do 6º dia de vida e perpetuou até o desmame.

Foi demonstrado que o leite de ratas *Sprague Dawley* submetidas à dieta hiperlipídica e hiperglicídica apresentou índices elevados de colesterol, ácidos graxos livres, triglicerídeos e glicose entre o 9º e 11º dia de lactação (KIRK *et al.*, 2009). De acordo com FRANCO e colaboradores (2012) o leite de ratas submetidas à dieta hiperlipídica apresentou elevação nas taxas de colesterol e triacilglicerol do 11º dia de lactação até o desmame, possibilitando a inferência de que a presença de macronutrientes no leite materno possa ser responsável pelo ganho de massa corporal na prole DH.

O aumento da massa corporal da prole DH foi acompanhado pelo aumento da massa dos tecidos adiposos avaliados (retroperitoneal, perigonadal e inguinal) indicando que o aumento da massa corporal está relacionado com a maior adiposidade desses animais. Este resultado também foi retratado em outros estudos com modelos experimentais parecidos (WHITE *et al.*, 2009; EMILIANO *et al.*, 2011), reforçando a hipótese de que o consumo materno de dieta hiperlipídica induz a obesidade prematura independente da presença de obesidade materna (FRANCO *et al.*, 2012). A obesidade resulta do desequilíbrio entre a ingestão alimentar e gasto energético o que leva a um acúmulo excessivo de tecido adiposo (JUNG & CHOI, 2014). Com possíveis alterações clínicas que são fatores de risco para doença cardiovascular como resistência à insulina, dislipidemia e esteatose hepática (MITTENDORER, 2011).

O monoacilglicerol (classe de glicerídeos composto por uma molécula de glicerol ligado a um ácido graxo) contribui para a produção de energia através da produção de piruvato e é possível que o aumento do trabalho cardíaco possa requerer monoacilglicerol como fonte energética. O monoacilglicerol pode compensar a perda dos ácidos graxos como substrato energético. Não se sabe até que ponto o monoacilglicerol é fisiologicamente utilizado como substrato energético quando comparado com os ácidos graxos e glicose no trabalho cardíaco (HIBUSE *et al.*, 2009). Não houve variação no conteúdo de monoacilglicerol no VE de ambos os sexos da prole DH quando comparados com a prole C, possibilitando inferir que não houve redução ou elevação na produção de piruvato a partir de monoacilglicerol nem supressão na oxidação de ácidos graxos no coração. GAMBERT e colaboradores (2007) demonstrou que o aumento do transporte de monoacilglicerol suprime a oxidação de ácidos graxos no coração.

O diacilglicerol é um glicerídeo composto de duas cadeias de ácidos graxos ligados covalentemente a uma molécula de glicerol. A função do diacilglicerol no coração está associada à melhora na disfunção do miocárdio em ratos diabéticos (HAYASHI *et al.*, 2001), e sua elevação no músculo esquelético tem sido proposta por ativar a cascata de cinases que estão envolvidas na diminuição da ação da insulina (ATKINSON *et al.*, 2003; TURINSKY *et al.*, 1990). Nossos resultados demonstraram que não houve diferença no conteúdo de diacilglicerol no VE da prole de ratos tanto machos como fêmeas DH sugerindo que a função cardíaca não foi influenciada por qualquer alteração no metabolismo de diacilglicerol.

Manifestações clínicas do acúmulo do colesterol nas artérias que chegam ao músculo cardíaco causam mais morte e distúrbios do que todos os tipos de cânceres combinados (LLOYD- JONES *et al.*, 2009).

O colesterol é uma fração lipídica do corpo humano. Ele é um álcool insaturado da família dos esteroides; é essencial para a função normal de todas as células animais e é um elemento fundamental de sua membrana celular. Ele também é precursor de várias substâncias críticas tal como hormônios esteróides adrenal e gonadal, e ácidos biliares (COX & GARCIA-PALMIERI,1990).

As células transportam apenas colesterol livre, não esterificado (CHEN, 2001). No presente trabalho a prole macho DH apresentou redução de 13% no conteúdo de colesterol no ventrículo esquerdo, enquanto as fêmeas da prole DH não apresentaram mudanças significativas no conteúdo de colesterol no VE quando comparadas com a prole fêmea C. Demonstrando que há divergência na utilização do colesterol no VE entre machos e fêmeas quando sofrem insulto hiperlipídico.

O colesterol liberado pelas células está na forma esterificada (CHEN, 2001), este por sua vez pode circular pela corrente sanguínea. O aumento na taxa sérica de colesterol esterificado aumenta o risco de doença coronariana (TANAKARA *et al.*, 2013).

No presente estudo observamos redução de 25% no conteúdo de colesterol esterificado no VE da prole fêmea DH e redução de 50% no VE da prole macho DH.

Estudos sugerem que os ácidos graxos esterificados são a principal fonte energética de lipídeos no coração. Na circulação, a maioria dos ácidos graxos estão presentes ou como ácidos graxos esterificados com glicerol como um componente da lipoproteína de triacilglicerol e fosfolipídeos, ou não esterificada, como ácidos graxos livres circulantes ligados à albumina. Alguns ácidos graxos são adquiridos pelo tecido, incluindo o coração, como um componente ou total das partículas de lipoproteínas ou pequenas vesículas lipídicas que dissociam de grandes lipoproteínas durante a lipólise. Estudos em humanos demonstrou a extração de esterificados por ex., lipoproteínas associadas aos ácidos graxos pelo coração (BALLARD *et al.*, 1960).

Os triglicerídeos são tri- esterés oriundos da combinação entre glicerol e ácidos graxos e representam o principal componente lipídico da gordura da dieta e depósito nos animais (COX & GARCIA-PALMIERI,1990).

É proposto que o acúmulo de triacilglicerol e aumento de adiposidade ao redor do coração e dos vasos podem prejudicar a sinalização do cálcio, a  $\beta$ -oxidação e a utilização da

glicose, levando ao dano da função mitocondrial e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, moléculas pró-apoptóticas e inflamatórias e finalmente a inflamação e disfunção cardíaca. Além disso, há aumento no acúmulo de triacilglicerol nos cardiomiócitos (GUZZARDI & IOZZO, 2011).

À medida que a oxidação de ácidos graxos torna-se saturada, os ácidos graxos dentro dos depósitos promovem um mecanismo protetor, que previne a incorporação de excesso de ácidos graxos (especialmente ácidos graxos de cadeia longa saturado como palmitato) dentro de espécies lipotóxicas, como as ceramidas e diacilglicerol evitando assim a lipotoxicidade cardíaca. Porém, o acúmulo massivo de TG intracelular promove a hipertrofia ventricular, disfunção cardíaca, resistência à insulina e marcadores inflamatórios (GUZZARDI & IOZZO, 2011).

É controverso se o acúmulo do TG nos músculos é o resultado do aumento do suprimento dos ácidos graxos ou da diminuição da oxidação dos ácidos graxos, ou a combinação de ambos (LEWIS *et al.*, 2002). O TG cardíaco está associado com a redução no transporte da glicose estimulado pela insulina através do GLUT4 (ATKINSON *et al.*, 2003).

Elevadas concentrações de TG no coração tem sido associadas com depressão na contratilidade, arritmias, hipertrofia, falência cardíaca e apoptose (REGAN & WEISSE, 2001; CORR *et al.*, 1989).

Nosso estudo tem demonstrado que a prole fêmea DH aumentou o conteúdo cardíaco de triacilglicerol em 48% e nos machos da prole DH o aumento foi de 56%. Muitos estudos não conseguiram estabelecer se o acúmulo de TG é tóxico, porém o aumento nos níveis de TG correlacionam-se com distúrbios associados à obesidade como a síndrome metabólica. Experimentos sugerem que o TG por si só é um bom marcador para a sobrecarga lipídica nas células (DROSATOS *et al.*, 2011; LISTENBERGER *et al.*, 2003; OKERE *et al.*, 2006). A elevação do TG nos corações da prole DH demonstra sobrecarga lipídica nestes corações e sugere distúrbios no transporte glicolítico já que a prole DH apresentada por FRANCO e colaboradores (2012) demonstrou hiperglicemia.

Em corações com lipotoxicidade, o aumento na disponibilidade dos ácidos graxos plasmáticos é o primeiro e mais comum evento correlacionado com a hipertrofia e disfunção cardíaca (GUZZARDI & IOZZO, 2011). Em nosso modelo experimental apesar de as concentrações plasmáticas de ácidos graxos não terem sido avaliadas, nos VE da prole DH não foi observado diferença na concentração de ácidos graxos, sugerindo que em nosso modelo experimental os lipídeos estão estocados na forma de triacilglicerol.



A obesidade e a diabetes podem ser resultado da mudança no metabolismo tóxico para mais ácidos graxos e menos oxidação de glicose com concomitante acúmulo de lipídeos tóxicos. Os lipídeos podem diretamente alterar a estrutura celular e ativar vias levando a toxicidade. Alguns estudos têm associado o aumento de ácidos graxos, acil coenzima A das gorduras, diacilglicerol e ceramidas à lipotoxicidade celular (DROSATOS & SCHULZE, 2013).

O prejuízo induzido pelos ácidos graxos na via da insulina/ IRS1/ PI3K/ AKT tem sido sugerido ser o fator causador da cardiomiopatia diabética (HOUSTIN *et al.*, 2006).

Enquanto muitos estudos sobre lipotoxicidade no coração focam na patogênese da cardiomiopatia associada ao excesso de lipídeos em doenças com estoque de lipídeos tal como obesidade, uma hipótese alternativa para a causa da lipotoxicidade que não tem sido explorada em detalhes no coração é a relação entre a homeostasia das camadas fosfolipídicas das membranas plasmáticas e disfunção cardíaca induzida por lipídeos. O crescimento corporal revela o prejuízo significativo no sistema de sinalização mediada pelo fosfolípido na hipertrofia cardíaca, cardiomiopatia diabética, e falência cardíaca (TAPPIA & SINGAL, 2008), todos do qual poderiam estar associados com excesso de acúmulo de lipídeo no coração. Estudos *in vitro* tem dado suporte a esta noção de uma associação entre distúrbio no metabolismo fosfolipídico e lipotoxicidade cardíaca (OSTRANDER *et al.*, 2001). No entanto, não houve diferença significativa na concentração de fosfolípido nas proles DH macho e fêmea.

O piruvato ou pode ser carboxilado pela piruvato carboxilase produzindo oxaloacetato, este por sua vez pode participar do fluxo anaplerótico promovendo o aumento no conteúdo tecidual de malato ou sair da mitocôndria e ser convertido em fosfoenolpiruvato (precursor do piruvato) (POUND *et al.*, 2009). O oxaloacetato é o material de partida para a gliconeogênese.

Ele é um importante intermediário no metabolismo, ligando carboidrato, lipídeos, aminoácidos e nucleotídeo (WALLACE, 2010; OWEN *et al.*, 2002). O oxaloacetato e o citrato também suportam as principais vias biossintéticas da gliconeogênese e lipogênese, respectivamente (CHUNG *et al.*, 2012).

A dosagem de ácido oxaloacético no VE da prole DH não apresentou diferença significativa, no entanto, o nível de ácido oxaloacético observado nas fêmeas DH estava reduzido sugerindo que a permanência do insulto hiperlipídico poderia promover danos no metabolismo do ácido oxaloacético no VE das fêmeas. De acordo com GRAY e

colaboradores (2014) a falta de oxaloacetato estimula a degradação de lipídeos quando não é mais possível conseguir energia através de carboidratos (GRAY *et al.*, 2014). No entanto, em corações perfundidos com baixa concentração de O<sub>2</sub> (hipóxia) seria inviável a utilização apenas de lipídeos como fonte energética (KASSIOTIS *et al.*, 2008).

O transporte de lactato em corações *in vivo* é diretamente proporcional a sua concentração no soro. Em corações isolados perfundidos, observou-se que o lactato contribui significativamente para a formação de acetil CoA. A oxidação de lactato ocorre em baixas tensões de oxigênio no perfusato (CHATAM *et al.*, 1999).

Embora a produção e o efluxo de lactato esteja aumentado em corações hipertrofiados, a taxa global de oxidação é similar a de corações não hipertrofiados (AKKI *et al.*, 2008). Observamos que não houve diferença na concentração de ácido láctico no VE da prole das fêmeas DH.

Em nosso modelo experimental não observamos diferenças significativas no conteúdo de ácido succínico no VE da prole. O ácido succínico ou succinato é um intermediário da via metabólica do ciclo do ácido tricarboxílico, além disso, é um ligante e ativador do receptor 91 acoplado a proteína G (GPR91), este receptor foi inicialmente identificado nos rins, e mais tarde no coração (HE *et al.*, 2004).

A ativação do GPR91 pelo ácido succínico está associada à hipertrofia de cardiomiócitos (AGUIAR *et al.*, 2014). A ativação da via de sinalização pelo GPR91 (receptor acoplado a proteína G) inclui aumento na concentração de Ca<sup>2+</sup> intracelular e cAMP, bem como a ativação de proteína cinases ativadas por mitógenos e cinases reguladas por sinais extracelulares 1/ 2 (MAPK- ERK 1/ 2) (HE *et al.*, 2004; ROBBEN *et al.*, 2009). A fosforilação de ERK1/ 2 é uma via clássica da MAPK envolvida na hipertrofia cardíaca (BUENO *et al.*, 2002; KEHAT *et al.*, 2011).

Apesar da ativação do GPR91 pelo succinato ativar a via da MAPK e ERK 1/ 2 e promover hipertrofia nos cardiomiócitos, a hipertrofia presente no VE da prole DH não foi acarretada via succinato - GPR91.

Estudos em modelos animais sugerem que a hipertrofia ventricular esquerda pode estar associada à resistência à insulina e alterações no transporte glicolítico. A avaliação do transporte de glicose dependente de insulina pode ser realizada com a avaliação dos elementos da via glicolítica responsáveis pela inserção do transportador GLUT4 na membrana dos cardiomiócitos, tais como Irf $\beta$ , PI3K, AKT, GLUT4 entre outros (PATERNOSTRO *et al.*, 1999).

Todas as respostas celulares pleitrópicas para insulina, incluindo a ativação do transporte de glicose, são mediadas por um receptor de superfície membranar. O receptor de insulina é uma enzima alostérica (inserida na membrana celular) composta de dois tipos de subunidade ( $\alpha$  e  $\beta$ ) que são estabilizadas em estrutura tetramérica  $\beta$ - $\alpha$ - $\alpha$ - $\beta$  pela ligação por subunidades de dissulfeto. Assim, a subunidade  $\alpha$  que é exteriorizada na membrana plasmática, contém sítios de ligação, enquanto a subunidade  $\beta$ , que atravessa a membrana plasmática, contém o domínio catalítico cinase da proteína citoplasmática tirosina específica envolvido na via de transdução (ROSEN, 1987). A análise da expressão do Ir $\beta$  em nosso modelo experimental não apresentou diferença significativa, sugerindo que o aumento do consumo de dieta hiperlipídica pelas matrizes não altera a expressão dos receptores de insulina  $\beta$ .

PI3K é ativado pelo receptor de tirosina cinase (ex., receptores de insulina e fator 1 de crescimento ligado à insulina). O PI3K ocupa importante papel em vários mecanismos de transdução de sinais tais como organização do citoesqueleto, crescimento celular e apoptose (AOYAGI, 2011). A família PI3K pode ser dividida em 3 classes principais de acordo com sua sequência de aminoácidos. Destes, a classe PI3K Ia e Ib são altamente expressas no coração. A isoforma da classe Ia está envolvida na mediação da hipertrofia fisiológica, enquanto a isoforma da classe Ib, PI3K $\gamma$ , controla a contratilidade do miocárdio através da sinalização do receptor da proteína acoplada a proteína G (FRUMAN & ROMMEL, 2014). As PI3Ks de classe Ia são moléculas heterodiméricas, que incluem a subunidade catalítica 110-KDa (p110 $\alpha$  e  $\delta$ ) e a subunidade regulatória 85- ou 55-KDa (p85/ p55). Nas células de mamíferos, a interação entre p110 e p85/p55 são importantes para efetuar a atividade máxima de PI3K (SHIOI *et al.*, 2000).

LUO e colaboradores (2005) demonstraram que camundongos com deleções músculo-específica na subunidade p85 $\alpha$  e na linhagem germinativa exibiam atenuação da sinalização de AKT no coração, tamanho reduzido do órgão e expressão gênica cardíaca alterada (LUO *et al.*, 2005).

Apesar de haver associação entre hipertrofia cardíaca e PI3K p85, nenhuma alteração na expressão de PI3K p85 foi observada no VE da prole. Sugerindo que a hipertrofia cardíaca presente na prole DH não esteja associada à via da insulina.

No coração adulto os lipídeos são os principais combustíveis mitocondriais para a síntese de ATP e geração de energia para a contração dos cardiomiócitos. O acúmulo de TG nos cardiomiócitos pode estar associado à promoção de distúrbio mitocondrial através do

bloqueio na CPT1 (carnitina palmitoil transferase 1), responsável pela conversão de acil CoA de cadeia longa, oriunda dos ácidos graxos, em acilcarnitina e entrada na mitocôndria para posterior síntese de ATP (AON *et al.*, 2014). Novos experimentos são necessários para avaliação da expressão de CPT1 no VE da prole DH para elucidação desta hipótese.

Apesar da expressão proteica dos elementos associados à inserção de transportador de glicose dependente de insulina (GLUT4) na membrana dos cardiomiócitos no VE não apresentarem diferença na prole DH, é possível que o transporte de glicose nos cardiomiócitos possa ocorrer através de outros transportadores não dependentes de insulina.

O acúmulo do TG possibilita inferir que há prejuízo no metabolismo cardíaco destes animais o que também justifica os prejuízos na função cardíaca. O acúmulo de lipídeos ocasiona disfunção sistólica. A hipertrofia cardíaca e o acúmulo de TG no VE da prole DH podem ser responsáveis pelas disfunções cardíacas (diminuição da fração de ejeção e aumento no volume sistólico final) observadas por ZECA (2015).

## **6. CONCLUSÃO**

Os nossos resultados demonstraram que o consumo materno de dieta hiperlipídica é capaz de promover aumento de massa corporal, maior adiposidade, hipertrofia cardíaca, redução do conteúdo cardíaco de colesterol esterificado e aumento de triacilglicerol no ventrículo esquerdo da prole, independente do sexo, ao desmame. Estas alterações podem estar relacionadas a mudanças no perfil metabólico cardíaco e associados à hipertrofia podem desencadear disfunções cardíacas na prole.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL ED, O' SHEA KM, RAMASAMY R. **Insulin resistance: Metabolic mechanisms and consequences in the heart.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* V. 32, p. 2068- 2076, 2004.

AGUIAR CJ, ROCHA- FRANCO JA, SOUSA AK, LADEIRA M, ROCHA- RESENDE C, LADEIRA LO, RESENDE RR, BOTONI FA, BARROUIN MELO M, LIMA CX, CARBALLIDO JM, CUNHA TM, MENEZES GB, GUATIMOSIM S, LEITE MF. **Succinate causes pathological cardiomyocyte hypertrophy through GPR91 activation.** *Communication and Signaling.* V. 12, p. 78-83, 2014.

AHIMA; FLIER. **Adipose tissue as an endocrine organ.** *TEM,* V. 11, 2000.

AKKI A, SMITH K, SEYMOUR AM. **Compesated cardiac hypertrophy is characterized by a decline in palmitate oxidation.** *Moll Cell Biochem.* V, 311, p. 215- 224, 2008.

ALAYNICK WA. KONDO RP, XIE W, HE W, DUFOUR CR, DOWNES M, JONKER JW, GILLES W, NAVIAUX RK, GIQUERE V, EVANS RM. **ERRgamma directs and maintains the transition to oxidative metabolism in the postnatal heart.** *Cell Metab.* V.6, p. 13- 24, 2007.

ANVERSA P, OLIVETTI G, CAPASSO JM. **Cellular basis of ventricular remodeling after myocardial infarction.** *Am J Cardiol.* V. 68, p. 7- 16, 1991.

AON MA, BHATT N, COSTASSA SC. **Mitochondrial and cellular mechanisms for managing lipid excess.** *Front Physiol.* V. 5, p. 1- 13, 2014.

AOYAGI T. **Phosphoinositide-3 kinase signaling in cardiac hypertrophy and heart failure.** *Curr Pharm Des.* V. 17, p. 1818- 1824, 2011.

ARTURA, PETRONIS. **Epigenetics as a unifying principle in the aetiology of complex traits and diseases.** *Nature,* V.465,p. 721- 727, 2010.

ATKINSON LL, FISCHER MA, LOPASCHUCK GD. **Leptin activates cardiac fatty acid oxidation independent of changes in the AMPactivated protein kinase acetyl CoA carboxylase-malonyl-CoA axis.** *J Biol Chem.* V. 277, p. 29424- 29430, 2002.

ATKINSON LL, KOZAK R, KELLY SE, ONAY BESIKCI A, RUSSELL JC, LOPASCHUK GD. **Potential mechanisms and consequences of cardiac triacylglycerol accumulation in insulin- resistant rats.** *Am J Physiol Endocrinol Metab.* V. 284, E923- E930, 2003.

AUGUSTUS AS, KAKO Y, YAGYU H, GOLDBERG IJ. **Routes of FA delivery to cardiac muscle: modulation of lipoprotein lipolysis alters uptake of TG- derived FA.** *Am J Physiol.* V. 284, p. E331- E339, 2003.

BALLARD FB, DANFORTH WH, NAEGLE S, BING RJ. **Myocardial metabolism of fatty acids**. J Clin Invest. V. 39, p. 717- 723, 1960.

BANKE NH, YAN L, POUND KM, DHAR S, REINHARDT H, DE LORENZO MS, VATNER SF, LEWANDOWSKI ED. **Sexual dimorphism in cardiac triacylglycerides dynamics in mice on long term caloric restriction**. J Mol Cell Cardiol. V. 52, p. 733-740, 2012.

BARKER D. J. **The developmental origins of adults disease**. J. Am. Coll Nutr V.23, p.588s- 595S, 2004.

BARKER DJ, GLUCKMAN PD, GODFREY KM, HARDING JE, OWENS JA, ROBINSON JS. **Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life**. Lancet. V. 341, p. 938- 941, 1993.

BARKER DJ. **Fetal origins of coronary heart disease**. BMJ. V. 311, p. 171- 174, 1995.

BARKER DJ. **Mothers, babies and disease in later life**. BMJ. 1994.

BATESON P, GLUCKMAN P, HANSON M . **The biology of developmental plasticity and the predictive adaptative response hypothesis**. J Physiol. V. 592, p. 2357- 2368, 2014.

BAUMANN MU, DEBORDE S, IISLEY NP. **Placental glucose transfer a fetal growth**. Endocrine. V. 19, p. 13- 22, 2002.

BEISVAG V, KEMI OJ, ARBO I, LOENNECHEN JP, WISLOFF U, LANGAAS M, SANDVIK AK, ELLINQSEN O. **Pathological and physiological hypertrophies are regulated by distinct gene programs**. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. V.16, p. 690- 697, 2009.

BELKE DD. et al. **Altered metabolism causes cardiac dysfunction in perfused hearts from diabetic (db/ db) mice**. Am J Physiol Endocrinol Metab. V. 279, p. E1104- E1113, 2000.

BLACKMORE HL, NIU Y, FERNANDEZ- TWINN, TARRY- ADKINS JL, GIUSSANI DA, OZANNE SE. **Maternal Diet-induced Obesity Programs Cardiovascular Dysfunction in Adult Male Mouse Offspring Independent of Current Body Weight**. Endocrinology. V. 155, p. 3970- 3980, 2014.

BLIGH EG; DYER WJ. **A rapid method of total lipid extraction and purification**. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. V. 37, p. 911- 917, 1959.

BODEN G, LEBED B, SCHATZ M, HOMKO C, LEMIEUX S . **Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects**. Diabetes. V. 50, p. 1612- 1628, 2001.

BODEN G. **Obesity, insulin resistance and free fatty acids**. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. V. 18, p. 139- 143, 2011.

BOTTGER I, WIELAND O, BRDICZKA D, PETTE D . **Intracellular localization of pyruvate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rat liver.** Eur J Biochem. V. 8, p. 113- 119, 1969.

BOUNDINA S, SENA S, THEOBALD H, SHENG X, WRIGHT JJ, HU XX, AZIZ S, JOHNSON JL, BUGGER H, ZAHA VG, ABEL ED. **Mitochondrial energetics in the heart in obesity- related diabetes: direct evidence for increased uncoupled respiration and activation of uncoupling proteins.** Diabetes. V. 56, p. 2457- 2466, 2007.

BRAUN JEA; SEVERSON DL. **Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase.** Biochem J. V. 287, p. 337- 347, 1992.  
BRAUNWALD E; PFEFFER MA. **Ventricular enlargement and remodeling following acute myocardial infarction: mechanisms and management.** Am J Cardiol. V. 68, p. 1D- 6D, 1991.

BRAY, GA. **Medical consequences of obesity.** J clinical endocrinol metabolism, V. 89, p. 2583- 2589, 2004.

BRINGHENTI I, MORAES- TEIXEIRA JA, CUNHA MR, ORNELLAS F, MANDARIM- DE- LACERDA CA, AQUILLA MB. **Maternal obesity during the preconception and early life periods alters pancreatic development in early and adult life in male mouse offspring.** Plos one. V. 8, p. 1- 11, 2013.

BUCHANA J, MAZUMDER PK, HU P, CHAKRABARTI G, ROBERTS MW, YUN UJ, COOKSEY RC, LITWIN SE, ABEL ED. **Reduced cardiac efficiency and altered substrate metabolism precedes the onset of hyperglycemia and contractile dysfunction in two mouse models of insulin resistance and obesity.** Endocrinology. V. 146, p. 5341- 5349, 2005.

BUENO OF; MOLKENTIN JD. **Involvement of extracellular signal-regulated kinases 1/2 in cardiac hypertrophy and cell death.** Circ Res. V. 91, p. 776- 781, 2002.

BUFFINGTON SA, DI PRISCO GV, AUCTIONG TA, AJAMI NJ, PETROSINO JF, COSTA- MATTIOLI M. **Microbial reconstitution reverses maternal diet- induced social and synaptic deficits in offspring.** Cell, V. p. 1762- 1775, 2016.

BURCELIN R, KAMOHARA S, LI J, TANNENBAUM GS, CHARRON MJ, FRIEDMAN MJ. **Acute intravenous leptin infusion increases glucose turnover but not skeletal muscle glucose uptake in ob/ob mice.** Diabetes. V.48, p. 1264- 1269, 1999.

BURKHOFF D, WEISS RG, SCHULMAN SP, KALIL- FILHO R, WANNENBURG T, GERSTENBLITH G. **Influence of metabolic substrate on rat heart function and metabolism at different coronary flows.** Am J Physiol. V. 261, p. H741- H750, 1991.

CARLEY AN, BI J, WANG X, BANKE NHM, DYCK JR, O DONNEL JM, LEWANDOWSKI ED. **Multiphasic triacylglycerol dynamics in the intact heart during acute in vivo overexpression of CD36.** J Lipid Res. V. 54, p. 97- 106, 2013.



CARLYLE M, JONES OB, KUO JJ, HALL JE. **Chronic cardiovascular and renal actions of leptin: role of adrenergic activity.** Hypertension. V. 39, p.496- 501, 2002.

CARTER AM. **Evolution of factores affecting placental oxygen transfer.** Placenta. V.30, p. 19- 25, 2009.

CETIN I, ALVINO G, CARDELLICCHIO M. **Long chain fatty acids and dietary fats in fetal nutrition.** J Physiol., V. 587, n. 14, p. 3441- 3451, 2009.

CHATHAM JC, GAO ZP, BONEN A, FORDER JR. **Preferential inhibition of lactate oxidation relative to glucose oxidation in the rat heart following diabetes.** Cardiovasc Res. V. 43, p. 96- 106, 1999.

CHEN HC. **Molecular mechanisms of sterol absorption.** J Nutr. V. 131, p. 2603- 2605, 2001.

CHENG T, SUDDERTH J, YANG C, MULLEN AR, JIN ES, MATÉS JM, DEBERARDINIS RJ. **Pyruvate carboxylase is required for glutamine- independent growth of tumor cells.** Proc Natl Acad Sci USA. V.108, p. 8674- 8679, 2011.

CHESS DJ, KHAIRALLAH RJ, O'SHEAN KM, XU W, STANLEY WC. **A high- fat diet increases adiposity but maintains mitochondrial oxidative enzymes without affecting development of heart failure with pressure overload.** Am J Physiol Heart circ Physiol. V. 297, p. H1585- H 1593, 2009.

CHIU HC, KOVACS A, FORD DA, HSU FF, GARCIA R, HERRERO P, SAFFITZ JE, SCHAFFER JE. **A novel mouse model of lipotoxic cardiomyopathy.** J Clin Invest. V. 107, p. 813- 822, 2000.

CHUNG J, CHEN C, PAW BH. **Heme metabolism and erythropoiesis.** Curr Opin Hematol. V. 19, p. 156- 162, 2012.

COLE MA, MURRAY AJ, COCHLIN LE, HEATHER LC, MCALEESE S, KNIGHT NS, SUTTON E, JAMIL AA, PARASSOL N, CLARKE K. **A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart.** Basic res Cardiol. V. 106, p. 447- 457, 2011.

CONDE J, SCOTECE M, GÓMEZ R, LÓPEZ V, GÓMEZ- REINO JJ, LAGO F, GUALILLO O. **Adipokines: biofactors from White adipose tissue. A complex hub among inflammation, metabolism, and immunity.** Biofactors. V.37, p. 413- 420, 2011.

CONDORELLI G, DRUSCO A, STASSI G, BELLACOSA A, RONCARAU R, IAARINO G, RUSSO MA, GU Y, DALTON N, CHUNG C, LATRONICO MV, NAPOLI C, SADOSHIMA J, CROCE CM, ROSS J JR. **Akt induces enhanced myocardial contractility and cell size in vivo in transgenic mice.** Proc Natl Acad Sci USA. V. 99, p. 12333- 12338, 2002.

CONH JN, FERRARI R, SHARPE N. **Cardiac remodeling-- concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling.** J Am Coll Cardiol, V. 35, p. 569- 582, 2000.

CORR PB, CREER MH, YAMADA KA, SAFFITZ JE, SOBEL BE. **Prophylaxis or early ventricular fibrillation by inhibition of acylcarnitine accumulation.** J Clin Invest. V. 83, p. 927- 936, 1989.

COX RA; GARCIA- PALMIERI MR. **Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations.** Cholesterol, triglycerides, and associated lipoproteins. 3rd. edition, 1990.

CREWS D, GORE AC, HSU TS, DANGLEBEN NL, SPINETTA M, SCHALLERT T, ANWAY MD, SKINNER M. **Transgenerational epigenetic imprints on mate preference.** Proc Natl Acad Sci. V. 104, p. 5942- 5946, 2007.

DAVIDOFF AJ, DAVIDSON MB, CARMODY MW, DAVIS ME, REN J. **Diabetic cardiomyocyte dysfunction and myocyte insulin resistance: role of glucose- induced PKC activity.** Mol Cell Biochem. V. 262, p. 155- 163, 2004.

DIJIK, SJV, TELLAM RL, MORRISON JL, MUHLHAUSLER BSM MOLLOY PL. **Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease.** Clinical Epigenetics, p. 7:6, 2015.

DILMANN W. **Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling.** Heart Fail Rev. V15, p. 125-132, 2010.

DONG M, ZHENG Q, FORD SP, NATHANIELSZ PW, REN J. **Maternal obesity, lipotoxicity and cardiovascular disease in offspring.** Journal of molecular and cellular cardiology, V. 55 , p.111- 116, 2013.

DORN GW, FORCE T. **Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy.** J Clin Invest. V. 115, p. 527- 537, 2005.

DRAKE AJ, REYNOLD RM. **Impact of Maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk.** Reproduction, V140, p.387- 389, 2010.

DROSATO K, SCHULZE C. **Cardiac lipotoxicidade: Molecular pathways and therapeutic implications.** NIH. V. 10, p. 109- 121, 2013.

DROSATOS K, BHARADWAJ KG, LYMPEROPOULOS A, IKEDA S, KHAN R, HU Y, AGARWAL R, YU S, JIANG H, STEINBERG SF, BLANER WS, KOCH WJ, GOLDEBERG IJ. **Cardiomyocytes lipids impair beta- adrenergic receptor function via PKC activation.** Am J Physiol Endocrinol Metab. V. 300, p. E489- 499, 2011.

ECKEL RH. **Lipoproteina lipase: a multifunctional enzyme relevant to common metabolic disease.** N Engl J Med. V.320, p. 1060- 1068, 1989.

ELCHALAL U, SCHAIFF WT, SMITH SD, RIMON E, BILDIRICI I, NELSON DM, SADOVSKY Y. **Insulin and fatty acids regulate the expression of the fat droplet-associated protein adipophilin in primary human trophoblasts.** Am J Obstet Gynecol, V- 193, p. 1716- 1723, 2005.

EMILIANO AF, DE CARVALHO LC, DA SILVA CCV, QUEIROZ EF, BOAVENTURA GT, RESENDE AC. **Metabolic disorders and oxidative stress programming in offspring of rats fed a high- fat diet during lactation: Effects of a Vinifer Grape Skin (ACH09) extract.** J Cardiovasc Pharmacol. V. 58, p. 319- 328, 2011.

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

ERICSSON A, HAMARK B, POWELL TL, JANSSON T. **Glucose transporter isoform 4 is expressed in the syncytiotrophoblast of first trimester human placenta.** Human Reproduction. V.20, p. 521- 530, 2005.

ERICSSON A, HAMARK B, JANSSON N, JOHANSSON BR, POWELL TL, JANSSON T. **Hormonal regulation of glucose and system A amino acid transport in first trimester placental villous fragments.** American the Journal of Physiology. V. 288, p- R656- R662, 2005b.

ERIKSSON JG, SANDBOGE S, SALONEN MK, KAJANTIE E, OSMOND C. **Long-term consequences of maternal overweight in pregnancy on offspring later health: Findings from Helsink Birth Cohort Study.** Annals of medicine, V. 46, p.1-5, 2014.

FAN L, LINDSLEY SR, COMSTOCK SM, TAKAHASHI DL, EVANS AE, HE GW, THORNBURG KL, GROVE KL. **Maternal high-fat diet impacts endothelial function in nonhuman primate.**International journal of obesity, V. 37, p. 254- 262, 2013.

FERNANDEZ- TWINN DS, BLACKMORE HL, SIGGENS L, GIUSSANI DA, CROSS CM, FOO R, OZANNE SE. **The programming of cardiac hypertrophy in the offspring by maternal obesity is associated with hyperinsulinemia, AKT, ERK, and mTOR activation.** Endocrinology. V. 153, p. 5961- 5971, 2012.

FERNANDEZ- TWINN DS, OZANNE SE. **Ealy life nutrition and metabolic programming.** Annals of New York academy of sciences. V. 1212, p. 78- 96, 2010.

FILLIMORE N, LOPASCHUCK GD. **Impact of fatty acid oxidation on cardiac efficiency.** Heart Metab. V. 53, p. 33- 37, 2011.

FINCK BN, LEHMANN JJ, LEONE TC, WELCH MJ, BENNETT MJ, KOVACS A, HAN X, GROSS RW, KOZAK R, LOPASCHUK GD, KELLY DP. **The cardiac phenotype induced by PPARalpha overexpression mimics that caused by diabetes mellitus.** J Clin Invest. V. 109, p. 121- 130, 2002.

FISCHBECK KL, RASMUSSEN KM. **Effect of repeated reproductive cycles on maternal nutrition status, lactation performance and litter growth in as libitum- fed and chronically food- restricted rats.** The Journal of Nutrition. V. 117, p. 1967- 1975, 1987.

- FLEGAL KM, GRAUBARD BI, WILLIAMSON DF, GAIL MH. **Cause- specific excess deaths associated with underweight, overwhight, and obesity.** JAMA, V. 298, p. 2028-2037, 2007.
- FORNO E, YOUNG OM, KUMAR R, SIMHAN H, CELEDÓN JC. **Maternal obesity in pregnancy, gestacional weight gain, and risk of childhood asthma.** Pediatrics, V. 134 p.535- 547, 2014.
- FRANCO JG, FERNANDES TP, ROCHA CP, CALVINO C, PRAZOS- MOURA CC, LISBOA PC, MOURA EG, TREVENZOLI IH. **Maternal high- fat induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning.** The journal of physiology, V. 21, p. 5503- 5518, 2012.
- FRUMAN DA, ROMMEL C. **PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities.** Nat Rev Drug Discov. V. 13, p. 140- 156, 2014.
- FURUKAWA S, FUJITA T, SHIMABUKURO M, IWAKI M, YAMADA Y, NAKAJIMA Y, NAKAYAMA O, MAKISHIMA M, MATSUDA M, SHIMOMURA I. **Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome.** J Clin Invest. V. 114, p. 1752-1761, 2004.
- GAASCH WH. **Left ventricular radius to wall thickness ratio.** Am J Cardiol, V 43, p.1189- 1194, 1979.
- GAMBERT S, HÉLIES- TOUSSAINT C, GRYNBERG A. **Extracellular glycerol regulates the cardiac energy balance in a working rat heart model.** Am J Physiol Heart Circ Physiol. V. 292, p. H1600- 1606, 2007
- GAUDET L, FERRARO ZM, WEN SW, WALKER M. **Maternal obesity and occurrence of fetal macrosomia: A systematic review and meta- analysis.** BioMed research international, V. 64, p.1-23, 2014.
- GHOSSH P, BITSANIS D, GHEBREMESKEL K, CRAWFORD MA, POSTON L. **Abnormal aortic fatty acid composition and small artery function in offspring of rats fed a high fat diet in pregnancy.** Journal of physiology, V. 533, p. 815- 822, 2001.
- GINSBERG HN. **Insulin resistance and cardiovascular disease.** J Cclin Invest. V. 106, p. 453- 458, 2000.
- GLUCKMAN PD, HANSON MA. **Developmental plasticity and human disease: research directions.** J. Intern. Med. V. 261, p. 461- 471, 2007 a.
- GLUCKMAN PD, HANSON MA. **The fetal matrix.** Cambridge: Cabridge University Press, 2005.
- GODFREY KM, BARKER DJ. **Fetal nutrition and adult disease.** Am J Clin Nutr. V. 71, p. 1344S- 1352S, 2000.

GODFREY KM, KEITH RM, PRESCOTT SL, NYIRENDA M, JADDOE VWV, ERIKSSON JG, BROEKMAN BFP. **Influence of maternal obesity on long-term health of offspring.** The Lancet Diabetes Endocrinol, V5, p.53- 64, 2017.

GOODWIN GW, TAYLOR CS, TAEGTMEYER H. **Regulation of energy metabolism of the heart during acute increase in heart work.** J Biol Chem. V. 273, p. 29530- 29539, 1998.

GOODWIN GW, TAEGTMEYER H. **Improved energy homeostasis of the heart in the metabolic state of exercise.** Am J Physiol Heart Circ Physiol. V. 279, p. H1490- 1501, 2000.

GRADMAN AH, ALFAYOUMI F. **From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease.** Prog Cardiovasc Dis. V. 48, p.326- 341, 2006.

GRAY LR, TOMPKINS SC, TAYLOR EB. **Regulation of pyruvate metabolism and human disease.** Cel Mol LifeSci. V. 71, p. 2577- 2604, 2014.

GREEN ED, MAFFEI M, BRADEN VV, PROENCE R, DESILVA U, ZHANG Y, CHUA SC JR, LEIBEL RL, WEISSENBACH J, FRIEDMAN JM. **The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7.** Genome Res. V. 5, p. 5-12, 1995.

GUANG- JU CAI, SUN XX, ZHANG L, HONG Q. **Association between maternal body mass index and congenital heart in offspring: a systematic review.** American Journal of obstetrics & gynecology, V.46, p. 434- 438, 2014.

GUBERMAN C, JELLYMAN JK, HAN G, ROSS MG, DESAI M. **Maternal high-fat programs rat offspring hypertension and activates the adipose renin- angiotensin system.** American journal of obstetrics & gynecology, V. 209, p. 262- 269, 2013.

GUDE NM, STEVENSON JL, ROGERS S, BEST JD, KALIONIS B, HUISMAN MA, ERWICH JJ, TIMMER A, KING RG. **GLUT12 expression in human placenta in first trimester and term.** Placenta. V. 24, p. 566- 570, 2003.

GUPTA A, AKKI A, WANG Y, LEPPA MK, CHACKO VP, FOSTER DB, CACERES V, SHI S, KIRK JA, LAI S, PAOLOCCI N, STEENBERGEN C, GERSTENBLITH G, WEISS RG. **Creatine kinase- mediated improvement of function in failing mouse hearts provide causal evidence the failing heart is energy starved.** J Clin Invest. V.1 22, p. 291- 302, 2012.

GUTTMACHER AE, MADDOX YT, SPONG CY. **The human placenta project: placental structure, development, and function in real time.** Placenta. V. 35, p. 303- 304, 2014.

GUZZARDI MA, IOZZO P. **Fatty heart, cardiac damage, and inflammation.** Rev Diabet Stud. V. 8, p. 403- 417, 2011.

HAEMMERLE G, MOUSTAFA T, WOELKART G, BUTTNER S, SCHIMIDT A, VAN DE WEIJER T, HESSELINK M, JAEGER D, KIENESBERGER PC, ZIERLER K, SCHREIBER R, EICHMANN T, KOLB D, KOTZBECK P, SCHWEIGER M, KUMARI M, EDER S,

SCHOISWOHL G, WONGSIRIROJ N, POLLAK NM, RADNER FP, PREISS- LANDL, KOLBE T, RULICKE T, PIESKE B, TRAUNER M, LASS A, ZIMMERMANN R, HOEFLER G, CINTI S, KERSHAW EE, SCHRAUWEN P, MADEO F, MAYER B, ZECHNER R. **ATGL- mediated fat catabolism regulates cardiac mitochondrial function via PPAR- $\alpha$  and PGC-1.** Nat Med. V. 17, p. 1076- 1085, 2011.

HAGGARTY P. **Fatty acid supply to the human fetus.** Annual Review of Nutrition. V. 30, p. 237- 255, 2010.

HALES CN, BARKER DJ. **The thrifty phenotype hypothesis.** Br Med BullV.60, p. 5-20, 2001

HALL JE, DA SILVA AA, DO CARMO JM, DUBINION J, HAMZA S, MUNUSAMY S, SMITH G, STEC DE. **Obesity-induced hypertension: role of sympathetic nervous system, leptin, and melanocortins.** J Biol Chem. V. 285, p. 17271- 17276, 2010.

HALL JM, COUSE JF, KORACH KS. **The multifaceted mechanism of estradiol and estrogen receptor signaling.** J Biol Chem. V. 276, p. 36869- 36872, 2001.

HALL ME, SMITH G, HALL JE, STEC DE. **Cardiomyocyt especific deletion of leptin receptors causes lethal heart failure in Cre-recombinase-mediated cardiotoxicity.** Am J Physiol Regul Integr Comp. Physiol. V. 303, p. R1241- R1250, 2012.

HALL HE, HARMANCEY R, SEC DE. **Lean heart: role of leptin in cardiac hypertrophy and metabolism.** World J Cardiol. V. 9, p. 511- 524, 2015.

HAN TS, LEAN ME. **A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease.** V. 5, p. 1- 13, 2016.

HAN TS, LEAN ME. **A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease.** JRSM Cardiovascular Disease, V. 5, p. 1- 13, 2016.

HAQUE MS, MINOKOSHI Y, HAMAI M, IWAI M, HORIUCHI M, SHIMAZU T. **Role of the sympathetic nervous system and insulin in enhancing glucose uptake in peripheral tissues after intrahypothalamic injection of leptin in rats.** Diabetes. V. 48, p. 1706- 1712, 1999.

HAUTON D, BENNETT MJ, EVANS RD. **Utilisation of triacylglycerol and nonesterified fatty acid by the working rat heart: myocardial lipid substrate preference.** Biochim Biophys Acta. V. 1533, p. 99- 109, 2001.

HAYASHI K, OKUMURA K, MATSUI H, MURASE K, KAMIYA H, SABURI Y, NUMAGUCHI Y, TOKI Y, HAYAKAWA T. **Involvement of 1,2- diacylglycerol in impromvement of heart function by etomoxir in diabetic rats.** Life Sciences. V. 68, p. 1515- 1526, 2001.

HAYAT SA, PATEL B, KHATTAR RS, MALIK RA. **Dibetic cardiomyopathy: mechanisms, diagnosis and treatment.** Clin Sci (Lond)., V. 107, n. 6, p. 539- 557, 2004.

HAYES EK, LECHOWICZ A, PETRIK JJ, STOROZHUK Y, PAEZ PARENT S, DAI Q, SAMJOO I, MANSELL M, GRUSLIN A, HOLLOWAY AC, RAHA S . **Adverse fetal and neonatal outcomes associated with a lifelong high fat diet: Role of altered development of the placental vasculature.** Plos One. V. 7, p. e33370, 2012.

HE W, FREDERICK JP, MIAO, DANIEL C, CHENG JL, TIAN H, LING L. **Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein coupled receptors.** Nature. V. 429, p. 188- 193, 2004.

HEBERT AS, DITTENHAFFER- REED KE, YU W, BAILEY DJ, SELEN ES, BOERSMAN MD, CARSON JJ, TONELLI M, BALLON AJ, HIGBEE AJ, WESTPHALL MS, PAGLIARINI DJ, PROLLA TA, ASSADI- PORTER F, ROY S, DENU JM, COON JJ. **Calorie restriction and SIRT3 trigger global reprogramming of the mitochondrial protein acetylome.** Mol Cell. V. 49, p. 186- 199, 2013.

HECKER PA, LIONETTI V, RIBEIRO RF JR, RASTOGI S, BROWN BH, O' CONNELL KA, SHEKAR KC, GAMBLE DM, SABBAH HN, LEOPOLD JA, GUPTA SA, RECCHIA FA, STANLY WC. **Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency increases redox stress and moderately accelerates the development of heart failure.** Circ Heart Fail. V. 6, p. 118- 126, 2013.

HENRY SL, BARZEL B, WOOD- BRADLEY RJ, BURKE SL, HEAD GA, ARMITAGE JA. **Developmental origins of obesity- related hypertension.** Clinical and experimental pharmacology and physiology, p. 799- 806, 2012.

HERRERA E, DESOYE G. **Maternal and fetal lipid metabolism under gestational diabetic conditions.** Horm Mol Biol Clin Investig. V. 26, p. 109- 127, 2016.

HIBUSE T, MAEDA N, NAKATSUJI H, TOCHINO Y, FUJITA K, KIHARA S, FUNAHASHI T, SHIMOMURA I. **The heart requires glycerol as an energy substrate through aquaporin 7, a glycerol facilitator.** Cardiovascular research. V.83, p. 34- 41, 2009.

HOCHBERG Z. **Developmental plasticity in child growth and maturation.** Frontiers in Endocrinology. V.2, p. 1-5, 2011.

HOUN N, LUO MS, LIU SM, ZHANG HN, XIAO Q, SUN P, ZHANG GS, LUO JD, CHEN MS. **Leptin induces hypertrophy through activating the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes.** Clin Exp Pharmacol Physiol. V. 37, p. 1087- 1095, 2010.

HOUSTIN N, NICHOLAS E. **Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance.** Nature. V. 440, p. 944- 948, 2006.

HUNTER JJ, CHEIN KR. **Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure.** N Engl J Med. V.341, p. 1276- 1283, 1999.

HUSSEN HI, PERSSON M, MORADI T. **Maternal overweight and obesity are associated with increased risk of type 1 diabetes in offspring of parents without diabetes regardless of ethnicity.** Diabetologia, V. 58, p. 1464- 1473, 2015.

IKEDA S, MIYAZAKI H, KAI Y, KAMEI Y, MIURA S, TSUBOYAMA- KASAOKA, EZAKI O. **Up-regulation of SREBP-1c and lipogenic genes in skeletal muscle after exercise training.** Biochem Biophys Res Commun. V. 296, p. 395- 400, 2002.

INGWALL JS. **Energy metabolism in heart failure and remodeling.** Cardiovasc Res. V. 81, p. 412- 419, 2009.

ISGANAITIS E, WOO M, MA H, CHEN M, KONG W, LYTRASS A, SALES V, DECOSTE- LOPEZ J, LEE KJ, LEATHERWOOD C, LEE D, FITZPATRICK C, GALL W, WATKINS S, PATTI ME. **Developmental programming by maternal insulin resistance: hyperinsulinemia, glucose, and dysregulated lipid metabolism in male offspring of insulin- resistance mice.** Diabetes, V. 2, 688- 700, 2014.

JAIN M, CUI L, BRENNER DA, WANG B, HANY DE, LEOPOLD JA, LOSCALZO J, APSTEIN CS, LIAO R. **Increased myocardial dysfunction after ischemia- reperfusion in mice lacking glucose-6-phosphate dehydrogenase.** Circulation. V. 109, p. 898- 903, 2004.

JASSON N, GREENWOOD SL, JOHANSSON BR, POWELL TL, JANSSON T. **Leptin stimulates the activity of the system A amino acid transporter in human placental villous fragments.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. V. 88, p. 1205- 1211, 2003.

JASSON T. **Amino acid transporters in the human placenta.** Pediatric Research. V. 49, p. 141- 147, 2001.

JENSEN MD. **Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity.** J Clin Invest. V. 83, p. 1168- 1173, 1989.

JITRAPAKDEE S, WALKER ME, WALLACE JC. **Identification of novel alternatively spliced pyruvate carboxylase mRNAs with divergent 5'-untranslated regions which are expressed in a tissue-specific manner.** Biochem Biophys Res Commun. V. 223, p. 695- 700, 1969.

JOHNSON BF, NESTO RW, PFEIFER MA, SLATER WR, VINIK AI, CHYUN DA, LAW G, WACKERS FJ, YOUNG LH. **Cardiac abnormalities in diabetic patients with neuropathy: effects of aldose reductase inhibitor administration.** Diabetes Care. V. 27, p. 448-454, 2004.

JONES NH, JANSSON T, POWELL TL. **Full- length adiponectin attenuates insulin signaling and inhibits insulin stimulated amino acid transport in human primary trophoblast.** Diabetes. V. 59, p. 1161- 1170, 2010.

JUNG UJ, CHOI MS. **Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and relationship between obesity inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease.** Int J Mol Sci. V. 15, p. 6184- 6223, 2014.

KAIJSER L, BERGLUND B. **Myocardial lactate extraction and release at rest and during heavy exercise in healthy men.** Acta Physiol Scand. V. 144, p. 39- 45, 1992.



KARBASCHI R, ZARDOOZ H, KHODAGHOLI F, DARGAHI L, SALIMI M, RASHIDI F. **Maternal high- fat diet intensifies the metabolic response to stress in male rat offspring.** Nutrition & Metabolism. V. 14, p- 1- 12, 2017.

KASSIOTIS C, RAJABI M, TAEGTMEYER H. **Metabolic reserve of the heart: The forgotten link between contraction and coronary flow.** Prog Cardiovascu Dis, V. 51, n. 1, p. 74- 88, 2008.

KAWOOYA JK, LAW JH. **Role of lipophorin in lipid transport to the insect egg.** J Biol Chem. V. 263, p. 8748- 8753, 1988.

KAZANTZIS M, STAHL A. **Fatty acid transport proteins, implications in physiology and disease.** Biochimica et Biophysica Acta. V. 1821, p. 852- 857, 2012.

KEHAT I, DAVIS J, TIBURCY M, ACCORNERO F, SABA- EL- LEIL MK, MAILLET M, YORK AJ, LORENZ AJ, ZIMMERMANN WH, MELOCHE S, MOLKENTIN JD. **Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 regulate the balance between eccentric and concentric cardiac growth.** Circ Res. V. 108, p. 176- 183, 2011.

KEHAT I, MOLKENTIN JD. **Molecular pathways underlying cardiac remodeling during pathophysiological stimulation.** Circulation. V. 122, p. 2727- 2735, 2010.

KIENESBERGER PC, PULINIKUNNI T, SUNG MM, NAGENDRAN J, HAEMMERLE G, KERSHAW EE, YOUNG ME, LIGHT PE, OUDIT GY, ZECHENER R, DYCK JR. **Myocardial ATGL overexpression decrease the reliance on fatty acid oxidation and protects against pressure overload- induced cardiac dysfunction.** Mol Cell Biol. V. 32, p. 740- 750, 2012.

KIRIAZIS H, WANG K, XU Q, MING Z, SU Y, MOORE HL, LAMBERT G, GIBBS ME, DART AM, DU XJ. **Knockout of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2- adrenoceptors attenuates pressure overload- induced cardiac hypertrophy and fibrosis.** British journal of Pharmacology. V. 153, p. 684- 692, 2008.

KIRK SL, SAMUELSSON AM, ARGENTON M, DHONYE H, KALAMATIANOS T, POSTON L, TAYLOR PD, COEN CW. **Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring.** Plos One. V.4, p. 1- 13, 2009.

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

KOLWICZ SC JR, PUROHIT S, TIAN R. **Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes.** Circ Res. V. 113, p. 603- 616, 2013.

KOLWICZ SC JR, OLSON DP, MARNEY LC, GARCIA-MENENDEZ L, SYNOVEC RE, TIAN R. **Cardiac- specific deletion of acetyl CoA carboxylase 2 prevents metabolic remodeling during pressure- overload hypertrophy.** Circ Res. V. 111, p. 728- 738, 2012.

KORVALD C, ELVENES OP, MYRMEL T. **Myocardial substrate metabolism influences left ventricular energetics in vivo.** Am J Physiol Heart Circ Physiol. V. 278, p. H1345-1351, 2000.

KOVES TR, USSHER JR, NOLAND RC, SLENTZ D, MOSEDALE M, IIKAYEVA O, BAIN J, STEVENS R, DYCK JR, NEWGARD CB, LOPASCHUCK GD, MUOIO DM,. **Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance.** Cell Metab. V. 7, p. 45- 56, 2008.

KUDEJ RK, IWASE M, UECHI M., VATNER DE, OKA N, ISHIKAWA Y, SHANNON RP, BISHOP SP, VATNER SF. **Effects of chronic beta-adrenergic receptor stimulation in mice.** J Mol Cell Cardiol., V. 29, n. 10, p. 2735-46,1997.

LAGER S, POWELL TL. **Regulation of nutrient transport across the placenta.** J Pregnancy. 2012.

LAGER S, GACCIOLI F, RAMIREZ VI, JONES HN, JANSSON T, POWELL TL. **Oleic acid stimulates placental system A activity and increases phosphorylation of STAT3.** Reproductive Science. V. 17, p. 227A, 2010.

LANGLEY- EVANS SC, MCMULLEN S. **Developmental origins of adult disease.** Medical pronicles and practice, 2010.

LARSSON SC, WOLK A, HAKANSSON N, BACK M. **Overall and abdominal obesity and incident aortic valve stenosis two prospective cohort studies.** European Heart Journal. P. 1-6, 2017.

LEDDY MA, POWER ML, SCHULKIN J . **The impact of maternal obesity on maternal and fetal health.** Rev. on obstetrics & gynecology, V. ,p. 170- 178, 2008.

LEHMAN JJ, BARGER PM, KOVACS A, SAFFITZ JE, MEDEIROS DM, KELLY DP. **Peroxisome proliferator- activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis.** J Clin Invest. V. 106, p. 847- 856, 2000.

LEONG HS, GRIS M, PARSONS H, WAMBOLT RB, LOPASCHUCK GD, BROWNSEY R, ALLARD MF. **Accelerated rates of glycolysis in the hypertrophied heart: are they methodological artifact?** Am J Physiol Endocrinol Metab. V. 282, p. E1039- E1045, 2002.

LEOPOLDO AS, SUGIZAKI MM, LIMA-LEOPOLDO AP, DO NASCIMENTO AF, LUVIZOTTO RA, DE CAMPOS DH, OKOSHI K, PAISILVAM D, PADOVANI CR, CICOGNA AC. **Cardiac remodeling in a rat model of diet-induced obesity.** Can J Cardiol, V. 26, n. 8, p. 423-429, 2010.

LEWIS GF, CARPENTIER A, ADELI K, GIACCA A. **Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes.** Endocr Rev. V. 201, p. 201- 229, 2002.

LI SY, YANG X, CEYLAN- ISIK AF, DU M, SREEJAYAN N, REN J. **Cardiac contractile dysfunction in Lep/Lep obesity is accompanied by NADPH oxidase**

**activation, oxidative modification of sarco(endo)plasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase and myosin heavy chain isozyme switch.** *Diabetologia*. V. 49, p. 1434- 1446, 2006.

LIANG C, OEST ME, PRATER MR. **Intrauterine exposure to high saturated fat diet elevates risk of adult onset chronic diseases in C57BL/6 mice.** *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. V. 86, p. 377- 384, 2009

LIAO R, JAIN M, CUI D, AGOSTINO J, AIELLO F, LUPTAK I, NGOY S, MORTENSEN RM, TIAN R. **Cardiac-specific overexpression of GLUT1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice.** *Circulation*. V. 106, p. 2125- 2123, 2002.

LINDEGAARD ML, DAMM P, MATHIESEN ER, NIELSEN LB. **Placental triglyceride accumulation in maternal type 1 diabetes is associated with increase lipase gene expression.** *Journal of Lipid Research*. V. 47, p. 2581- 2588, 2006.

LISTENBERG LL, HAN X, LEWIS SE, CASES S, FARESE RV JR, ORY DS, SCHAFFER JE. **Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity.** *Proc Natl Acad Sci USA*. V. 100, p. 3077- 3082, 2003.

LIU L, YU S, KHAN RS, ABLES GP, BHARADWAJ KG, HUGGINS LA, ERIKSSON JW, BUCKETT LK, TURNBULL AV, GINSBERG HN, BLANER WS, HUANG LS, GOLDBERG IJ. **DGAT1 deficiency decreases PPAR expression and does not lead to lipotoxicity in cardiac and skeletal muscle.** *J Lipid Res*. V. 52, p. 732- 744, 2011.

LIU L, SHI X, BHARADWAJ KG, IKEDA S, YAMASHITA H, YAGYU H, SCHAFFER JE, YU YH, GOLDBERG IJ. **DGAT1 expression increases heart triglyceride content but ameliorates lipotoxicity.** *J Biol Chem*. V. 284, p. 36312- 36323, 2009.

LLOYD- JONES D, ADAMS R, CARNETHON M, DE SIMONE G, FERGUSON TB, FLEGAL K, FORD E, FURIE K, GO A, GREENLUND K, HAASE N, HAILPERN S, HO M, HOWARD V, KISSELA B, KITTNER S, LACKLAND D, LISABETH L, MARELLI A, MCDERMOTT M, MEIGS J, MOZAFFARIAN D, NICHOL G, O'DONNELL C, ROGER V, ROSAMOND W, SACCO R, SORLIE P, STAFFORD R, STEIBERGER J, THOM T, WASSERTHIEL- SMOLLER S, WONG N, WYLIE- ROSETT J, HONG Y. **Heart disease and stroke statistics—2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and stroke Statistics Subcommittee.** *Circulation*. V. 119, p. 480- 486, 2009.

LOPASCHUK GD, BELKE DD, GAMBLE J, SCHONEKES BO. **Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease.** *Biochimica et Biophysica Acta*. V. 1213, p. 262- 276, 1994.

LUO JI, MCMULLEN JR, SOBKIW CL, ZHANG L, DORFMAN AL, SHERWOOD MC, LOGSDON MN, HORNER JW, DEPINHO RA, IZUMO S, CANTLEY LC. **Class IA phosphoinositide 3-kinase regulates heart size and physiological cardiac hypertrophy.** *Molecular and Cellular*. V. 25, p. 9491- 9502, 2005.

LUPTAK I, YAN J, CUI L, LIAO R, TIAN R. **Long- term effects of increased glucose entry on mouse hearts during normal aging and ischemic stress.** *Circulation.* V. 116, p. 901- 909, 2007.

MA Y, ZHU MJ, ZHANG L, HEIN SM, NATHANIELSZ PW, FORD SP. **Maternal obesity and overnutrition alter fetal growth rate and cotyledory vascularity and angiogenic factor expression in the ewe.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* V. 299, p. R249- R258, 2010.

MACNULTY PH, JACOB R, DECKELBAUM LI, YOUNG LH. **Effect of hyperinsulinemia on myocardial amino acid uptake in patients with coronary artery disease.** *Metabolism.* V. 49, p. 1365- 1369, 2000.

MAFFEI M, HALLAS J, RAVUSSIN E, PRATLEY RE, LEE GH, ZHANG Y, FEI H, KIM S, LALLONE R, RANGANATHAN S. **Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight reduced subjects.** *Nat Med.* V.1, p. 1155- 1161, 1995.

MAKINO A, SUAREZ J, GAWLOWSKI T, HAN W, SCOTT BT, DILLMAN WH **Regulation of mitochondrial morphology and function by O-GlcNAcylation in neonatal cardiac myocytes.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* V. 300,p.R1296-R1302,2011.

MANI DN, BAWANKULE DU, SAROJ BK. **Hyperlipidemic model: studying lipid profile in small experimental animal.** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* V. 4, p. 337- 340, 2012.

MARKWELL MAK, HASS SM, BIEBER LL, TOLBERT NE. **A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples.** *Analytical Biochemistry.* V. 87, p. 206- 210, 1978.

MARSEGLIA L, MANTI S, D' ANGELO G, NICOTERA A, PARISI E, DI ROSA G, GITTO E, ARRIGO T. **Oxidative stress in obesity: A critical component in human diseases.** *International journal of molecular sciences,* V. 16, p. 378- 400, 2015.

MATSUI T, LI L, WU JC, COOK SA, NAGOSHI T, PICARD MH, LIAO R, ROSENZWEIG A. **Phenotypic spectrum caused by transgenic overexpression of activated Akt in the heart.** *J Biol Chem.* V. 277, p. 22896- 22901, 2002.

MCGAFFN KR, WITHAM WG, YESTER KA, ROMANO LC, O'DOHERTY RM, MCTIERNAN CF, O'DONNELL CP. **Cardiac-specific leptin receptor deletion exacerbates ischaemic heart failure in mice.** *Cardiovasc Res.* V.89, p. 60-71, 2011.

MCMILLEN CI, ROBINSON JS. **Developmental origin of the metabolic syndrome: Prediction, plasticity, and programming.** *American Physiological.* V. 85, p. 571- 633, 2005.

MDAKI KS, LARSEN TD, WACHAL AL, SCHIMELPFENING MD, WEAVER LJ, DOOYEMA SD, LOUWAGIE EJ, BAACK ML. **Maternal high- fat diet impairs cardiac**

**function in offspring of pregnancy through metabolic stress and mitochondrial dysfunction.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* V. 310, p. H681- H692, 2016.

MERKEL M, ECKEL RH, GOLDBERG IJ. **Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation.** *Journal of Lipid Res,* V. 43, p. 1997- 2006, 2002.

MICHALIK L, DESVERGNE B, DREYER C, GAVILLET M, LAURINI RN, WAHLI W. **PPAR expression and function during vertebrate development.** *Int J Dev Biol.* V. 46, p. 105- 114, 2002.

MINOKOSHI Y, HAQUE MS, SHIMAZU T. **Microinjection of leptin into the ventromedial hypothalamus increases glucose uptake in peripheral tissues in rats.** *Diabetes.* V. 48, p. 287- 291, 1999.

MITTENDORFER B. **Origins of metabolic complications in obesity: adiposity tissue and free fatty acid trafficking.** *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* V. 14, p. 535- 541, 2011.

MOREIRA AS, TEIXEIRA TEIXEIRA M, DA SILVEIRA OSSO F, PEREIRA RO, DE OLIVEIRA SILVA- JUNIRO G, GARCIA DE SOUZA EP, MANDARIM DE LACERDA CA, MOURA AS. **Left ventricular hypertrophy induced by overnutrition early in life.** *Nutrition, metabolism & cardiovascular diseases,* V.11, p. 805- 810, 2009.

MYATT L. **Review: Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of the placenta.** *Placenta,* V. 31, p. S66- S69, 2010.

NASCIMBEN L, INGWALL JS, LORELL BH, PINZ I, SCHULTZ V, TORNHEIN K, TIAN R. **Mechanisms for increased glycolysis in the hypertrophied rat heart.** *Hypertension.* V. 44, p. 662- 667, 2004.

NEELY JR, MORGAN HE. **Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle.** *Annu Rev Physiol.* V. 36, p. 413- 459, 1974.

NELSON N. **A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose.** *J Biol Chem.* V. 153, p. 375- 380, 1944.

NEUBAUER S. **The failing heart—an engine out of fuel.** *N Engl J Med.* V. 356, p. 1140- 1151, 2007.

NG M, FLEMING T, ROBINSON M, THOMSON B, GRAETZ, N, MARGONO C, MULLANY EC, BIRYUKOV S, ABBAFATI C, ABERA SF, ABRAHAM JP, ABURMEILEH NME, ACHOKI T, ALBUHAIRAN FS, ALEMU ZA, ALFONSO R, ALI MK, ALI R, GUZMAN NA, AMMAR W. **Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980- 2013: A systematic analysis for the global burden of disease study 2013.** *Lancet,* V.384, p. 766- 781, 2014.

NIKOLAIDIS LA, STURZU A, STOLARSKI C, ELAHI D, SHEN YT, SHANNON RP. **The development of myocardial insulin resistance in conscious dog with advanced dilated cardiomyopathy.** *Cardiovascular Res.* V. 61, p. 297- 306, 2004.

O'BRIEN KD, FERGUSON M, GORDON D, DEEB SS, CHAIT A. **Lipoprotein lipase is produced by myocytes rather than interstitial cells in human myocardium.** *Arterioscler Thromb.* V. 14, pp.1445- 1451, 1994.

O'DONNELL JM, FIELDS AD, SOROKINA N, LEWANDOWSKI ED. **The absence of endogenous lipid oxidation in early stage heart failure exposes limits in lipid storage and turnover.** *J Mol Cell Cardiol.* V. 44, p. 315- 322,2008.

O'DONNELL JM, ZAMPINO M, ALPERT NM, FASANO MJ, GEENEN DL, LEWANDOWSKI ED. **Accelerated triacylglycerol turnover kinetics in hearts of diabetic rats include evidence for compartmented lipid storage.** *Am J Physiol Endocrinol Metab.* V. 290, p. E448- E445, 2006.

O'REILLE JR, REYNOLDS RM. **The risk of maternal obesity to the long- term health of offspring.** *Endocrinology,* V. 78, p.9- 16, 2013.

OGAWA Y, ITOH H, NAKAO K. **Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family.** *Clin Exp Pharmacol Physiol* V. 22, p. 49- 53, 1995.

OKERE IC, CHANDLER MP, MCELFRISH TA, RENNISON JE, SHAROV V, SABBAH HN, TSENG KY, HOIT BDN ERNSBERGER P, YOUNG ME, STANLEY WC. **Differential effects of saturated and unsaturated fatty acid diets on cardiomyocyte apoptosis, adiposis, adipose distribution and serum leptin.** *Am J Physiol Heart Physiol.* V. 291, p. H38- 44, 2006.

OLIVEIRA TW, LEANDRO CG, DE JESUS DEIRÓ TC, DOS SANTOS PEREZ G, DA FRANA SILVA D, DRUZIAN JL, COUTO RD, BARRETO- MEDEIROS JM. **A perinatal palatable high fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adult rats.** *Lipids.* V. 46, p. 1071- 1074, 2011.

OPIE LH. **Cardiac metabolism- emergence, decline, and resurgence.** Part I. *Cardiovascular Research,* V. 26, p. 721- 733, 1992.

OPIE LH. **Heart physiology: From cell to circulation.** 4<sup>o</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2004.

OPIE LH, COMMERFORD PJ, GERSH BJ, PFEFFER MA. **Controversies in ventricular remodelling.** *Lancet.* V. 367, p. 356- 367, 2006

OSTRANDER DB, SPARAGNA GC, AMOSCATO AA, MCMILLIN JB, DOWHAN W. **Decreased cardiolipin synthesis corresponds with cytochrome c release in palmitate-induced cardiomyocyte apoptosis.** *J Biol Chem.* V. 276, p. 38061- 38067, 2001.

OTTEN JV, FITCH CD, WHEATLEY JB, FISCHER VW. **Thyrotoxic myopathy in mice: accentuation by a creatine transport inhibitor.** *Metabolism,* V. 35, n. 6, p. 481-4, Jun 1986.

Ouwens DM, Diamant M, Fodor M, Habets DD, Pelsers MM, El Hasnaoui M, Dang ZC, Van den Brom CE, Vlasblom R, Rietdijk A, Boer C, Coort SL, Glatz JF, Luiken JJ. **Cardiac contractile dysfunction in insulin- resistant rats fed**

**a high- fat diet is associated with elevated CD36- mediated fatty acid uptake and esterification.** Diabetologia. V. 50, p. 1938- 1948, 2007.

OWEN CG, MARTIN RM, WHINCUP PH, SMITH GD, COOK DG . **Effect of infant feeding on the risk of obesity across the life course: a quantitative review of published evidence.** Pediatrics. V. 115, p. 1367- 1377, 2005.

OZEN H. **Glycogen storage diseases: new perspectives.** World J Gastroenterol. V. 13, p. 2541- 2553, 2007.

PANIAGUA L, LOHSOONTHORN V, LERTMAHARIT S, JIAMJARASRANGSI W, WILLIAMS MA. **Comparison of waist circumference, body index, percent body fat and other measure of adiposity in identifying cardiovascular disease risks among Thai adults.** Obese Res Clin Pract. V. 2, p. 215- 223, 2008.

PAOLISSO G, TAGLIAMONTE MR, GALDERISI M, ZITO GA, D'ERRICO A, MARFELLA R, CARELLA C, DE DIVITIIS O, VARRICCHIO M. **Plasma leptin concentration, insulin sensitivity, and 24hour ambulatory blood pressure and left ventricular geometry.** Am J Hypertens. V. 14, p. 114- 120, 2001.

PARK SY, CHO YR, KIM HJ, HIGASHIMORI T, DANTON C, LEE MK, DEY A, ROTHERMEL B, KIM YB, KALINOWSKI A, RUSSELL KS, KIM JK. **Unraveling the temporal pattern of diet induced insulin resistance in individual organs and cardiac dysfunction in C57BL/6 mice.** Diabetes. V. 54, p. 3530- 3540, 2005.

PATERNOSTRO G, PAGANO D, GNECCHI- RUSCONE T, BONSER RS, CAMICI PG. **Insulin resistance in patients with cardiac hypertrophy.** Cardiovas Res., v. 42, n.1, p. 246- 253, 1999.

PEDERSON BA. CHEN H, SCHRODER JM, SHOU W, DEPAOLI- ROACH AA, ROACH PJ. **Abnormal cardiac development in the absence of heart glycogen.** Mol Cell Biol. V. 24, p. 7179-7187, 2004.

PERRINO C, NAGA PRASAD SV, MAO L, NOMA T, YAN Z, KIM HS, SMITHIES O, ROCKMAN HA. **Intermittent pressure overload triggers hypertrophy- independent cardiac dysfunction and vascular rarefaction.** J Clin Invest. V. 116, p. 1547- 1560, 2006.

PFEFFER JM, PFEFFER MA, BRAUNWALD E. **Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat.** Circ Res, V. 57, p. 84- 95, 1985.

PFEFFER MA, BRAUNWALD E. **Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications.** Circulation, V. 81, p. 1161- 1172, 1990.

POTI JM, POPKIN BM. **Trends in energy intake among US children by eating location and food source, 1977- 2006.** The American dietetic association, V.8, p.1156- 1164, 2011.

POUND KM, SOROKINA N, BALLAL K, BERKICH DA, FASANO M, LANOUE KF, TAEGTMEYER H, O' DONEL JM, LEWANDOWSKI ED. **Substrate- enzyme competition attenuates upregulated anaplerotic flux through malic enzyme in**

**hypertrophied rat heart and restores triacylglyceride content: attenuating upregulated anaplerosis in hypertrophy.** *Circulation Research*. V. 104, p. 805- 812, 2009.

PRIOR JL, HEAD GA, ARMITAGE JA. **Experimental models of maternal obesity and high- fat during pregnancy and programmed obesity in the offspring.** Springer Science, V. 30, p. 241- 259, 2011.

RAZEGHI P, YOUNG ME, ALCORN JL, MORAVEC CS, FRAZIER OH, TAEGQTMAYER H. **Metabolic gene expression in fetal and failing human heart.** *Circulation*.; V. 104, p. 2923- 2931, 2001.

REGAN TJ, WEISSE AB. **A novel mouse model of lipotoxic cardiomyopathy.** *J Clin Invest*. V. 107, p. 813- 822, 2001.

REN J, GINTANT GA, MILLER RE, DAVIDOFF AJ. **High extracellular glucose impairs cardiac E-C coupling in a glycosylation- dependent manner.** *Am J Physiol*. V. 273, p. H2876- H2883, 1997.

RIDER OJ, FRANCIS JM, ALI MK, HOLLOWAY C, PEGG T, ROBSON D, TYLER D, BYRNE J, CLARKE K, NEUBAUER S. **Effects of catecholamine stress on diastolic function and myocardial energetics in obesity.** *Circulation*, V. 125, p. 1511- 1519, 2012.

RIJZEWIJK LJ, MEER RW, LAMB HJ, JONG HWAM, LUBBERINK M, . **Altered myocardial substrate metabolism and decreased diastolic function in nonischemic human diabetic cardiomyopathy: studies with cardiac positron emission tomography and magnetic resonance imaging.** *J Am Coll Cardiol*. V. 54, p. 1524- 1532, 2009.

RITCHIE RH, DELBRIDGE MD. **Cardiac hypertrophy, substrate utilization and metabolic remodeling: cause or effect?** *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. V. 33, p. 159- 166, 2006.

ROBBEN JH, FENTON RA, VARGAS SL, SCHWEER H, PETI- PETERDI J, DEEN PM, MILLIGAN G. **Localization of the succinate receptor in the distal nephron and its signaling in polarized MDCK cells.** *Kidney Int*. V. 76, p. 1258- 1267, 2009.

ROBERTS VH, FRIAS AE, GROVE KL. **Impact of maternal obesity on fetal programming of cardiovascular disease.** *Physiology*. V. 30, p. 224- 231, 2015.

ROBERTS VH, RASANEN JP, NOVY MJ, FRIAS A, LOUEY S, MORGAN TK, THORNBURG KL, SPINDEL ER, GRIGSBY PL. **Restriction of placental vasculature in a non- human primate: a unique model to study placental plasticity.** *Placenta*. V. 33, p. 73- 76, 2012.

ROBERTS VH, FRIAS AE, GROVE KL. **Impact of maternal obesity on fetal programming of cardiovascular disease.** *Physiology*, V.30, p. 224- 231, 2015.

RODFORD JL, TORRENS C, SIOW RC, MANN GE, HANSON MA, CLOUGH GF. **Endothelial dysfunction and reduced antioxidant protection in animal model of developmental origins of cardiovascular disease.** *J Physiol*. V. 19, p. 4709- 4720, 2008.



RODRIGUES AL, MOURA EG, PASSOS MCF, DUTRA SCP, LISBOA PC. **Postnatal early overnutrition changes the leptin signal pathway in the hypothalamic- pituitary- thyroid axis of young and adult rats.** J Physiol. V. 587, p. 2647- 2661, 2009.

ROOS S, LAGERLOF O, WENNERGREN M, POWELL TL, JANSSON T. **Regulation of amino acid transporters by glucose and growth factors in cultures primary human trophoblast cells is mediated by mTOR signaling.** American The Journal of Physiology. V. 297, p. C723- C731, 2009.

ROSARIO FJ, SCAHAMACHER MA, JIANG J, KANAI Y, POWELL TL, JANSSON T. **Chronic maternal infusion of full- length adiponectin in pregnant mie down regulates placental amino acid transporter activity and expression and decreases fetal growth.** The Journal of Physiology. V. 590, p. 1495- 1509. 2012.

ROSEBOOM, TJ, VAN DER MEULEN JH, RAVELLI AC, OSMOND C, BARKER DJ, BLEKER OP. **Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in latter life: an overview.** Twin Res. V. 4, p. 293- 298, 2001.

ROSEN OM. **After insulin binds.** Science. V. 237, p. 1452- 1452, 1987.

RUIZ JI, OCHOA B. **Quantification in the subnanomolar range of phospholipids and neutral lipid by monodimensional thin- layer chromatography and image analysis.** V. 38, p. 1482- 1489, 1997.

RUIZ- PALCIOS M, RUIZ- ALCARAZ AJ, SANCHEZ- CAMPILLO M, LARGUÉ E. **Role of insulin in placental transport of nutrients in gestational diabetes mellitus.** Ann Nutr Metab. V. 70, p. 16- 25, 2017.

SABEN J, LINDSEY F, ZHONG Y, THAKALI K, BADGER TM, ANDRES A, GOMEZ- ACEVEDO H, SHANKAR K. **Maternal obesity is associated with a lipotoxic placental environment.** Placenta. V.35, n. 3, p. 171- 177, 2014.

SADDIK M, LOPASCHUK GC. **Myocardial triglyceride turnover and contribution to energy substrate utilization in isolated working rat hearts.** J Biol Chem. V. 266, p. 8162- 8170, 1991.

SAMBANDAM N, ABRAHANI MA, PIERRRE ES, AL- ATAR O, CAM MC, RODRIGUES B. **Localization of lipoprotein lipase in the diabetic heart: regulation by acute changes in insulin.** Arterioscler Thromb. V. 19, pp.1526- 1534, 1999.

SAMUELSSON AM, MATTHEWS PA, ARGENTON M, CHRISTIE MR, MCCONNELL JM, JANSEN EH, PIERSMA AH, OZANNE SE, TWINN DF, REMACLE C, ROWLERSON A, POSTON L, TAYLOR PD. **Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming.** Hypertension. V. 51, p. 383- 392, 2008.

SAMUELSSON AM, MORRIS A, IGOSHEVA N, KIRK SL, POMBO JMC, COEN CW, POSTON L, TAYLOR PD. **Evidence for sympathetic origins of hypertension in juvenile offspring of obese rats.** Hypertension. V. 55, p. 76- 82, 2010.

SAMUELSSON AM, CLARCK J, SHATTOCK MJ, BAE SE, SOUTH T, POMBO J, REDINGTON K, UPPAL E, COEN CW, POSTON L, TAYLOR PD. **Experimental hyperleptineia in neonatal rats leads to selective leptina responsiveness, hypertension, and altered myocardial function.** Hypertension. V. 62, p. 627- 633, 2013.

SCHAEFER S, RAMASAMY R. **Glycogen utilization and ischemic injury in the isolated rat heart.** Cardiovasc Res. V. 35, p. 90- 98, 1997.

SCHAPER J. et al. **Ultrastructural morphometric analysis of myocardium from dogs, rats, hamsters, mice, and from human hearts.** V. 56, p. 377- 391, 1985.

SCHAUER J, MEISER E, STAMMLER G. **Physiological cardiac hypertrophy corrects contractile protein abnormalities associated with pathological hypertrophy in rats.** J Clin Invest. V. 70, p. 1300- 1305, 1982.

SCHENK S, HOROWITZ JF. **Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid- induced insulin resistance.**J Clin Invest. V. 117, p. 1690- 1698,2007.

SZCZEPANIAK LS, VICTOR RG, ORCI L, UNGER RH. **Forgotten but not gone: the rediscovery of fatty heart, the most common unrecognized disease in America.** Circ Res. V. 101, p. 759- 767, 2007.

SEGOVIA SA, VICKERS MH, GRAY C, REYNOLDS CM. **Maternal obesity, inflammation, and developmental programming.** Biomed research international, V. 2014, p. 1- 14, 2014.

SEMENZA GL. **Hypoxia- inducible factor 1: regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning.**Biochim Biophys Acta. V. 1813, p. 1263-1268, 2011.

SHEK EW, BRANDS MW, HALL JE. **Chronic leptin infusion increases arterial pressure.** Hypertension. V. 31, p. 409- 414, 1998.

SHIMIZU I, MINAMINO T. **Physiological and pathological cardiac hypertrophy.** J Mol Cell Cardiol, V. 97, p. 245- 262, 2016.

SHIOI T, KANG PM, DOUGLAS PS, HAMPE J, YBALLE CM, LAWITTS J, CANTLEY LC, IZUMO S.. **The conserved phosphoinositide 3-kinase pathway determines heart size in mice.** EMBO J. V. 19, p. 2537- 2548, 2000.

SIMMONS R. **Developmental origins of adult metabolic disease: concepts and controversies.** Endocrinology and Metabolism. V. 16, p. 390- 394, 2005.

SINGHAL A, FAROOGI IS, COLE TJ, O' RAHILY S, FEWTREL M, KATTENHORN M, LUCAS A, DEANFIELD J. **Influence of leptin on arterial distensibility: a novel link between obesity and cardiovascular disease?** Circulation. V. 106, p. 19191-1924, 2002.

SJAASTAD I, SEJERSTED OM, IIEBEKK A, BJORNERHEIM R. **Echocardiographic criteria for detection of postinfarction congestive heart failure in rats.** J Appl Physiol (1985), v. 89, n. 4, p. 1445-54, Oct 2000.

SMITH LP, NG SW, POPKIN BM. **Trends in US home food preparation and consumption: analysis of national nutrition surveys and time use studies from 196- 1966 to 2007- 2008.** Nutrition Journal, V. 12, p. 12- 45, 2013.

SOROKINA N, O' DONNELL JM, MCKINNEY RD, POUND KM, WOLDEGIORGIS G, LANOUNE KF, BALLAL K, TAEGTMEYER H, BUTTRICK PM, LEWANDOWSKI ED.. et al. **Recruitment of compensatory pathways to sustain oxidative flux with reduced carnitine palmitoyl tranferase I activity characterizes inefficiency in energy metabolism in hypertrophied hearts.** Circulation. V. 115, p. 2033- 2041, 2007.

STANLEY WC, RECCHIA FA, LOPASCHUCK GD. **Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart.** Physiol Ver. V. 85, p. 1093- 1129, 2005.

STANLEY WC, LOPASCHUCK GD, HALL JL, MCCORMACK JG. **Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions.** Cardiovascular research. V. 33, p. 243- 2257, 1997.

STEIN AD, BARNHART HX, WANG MENG, HOSHEN MB, OLOGOUDOU K, RAMAKRISHNAN U, GRAJEDA R, RAMIREZ- ZEA M, MARTORELL R. **Comparison of linear growth patterns in the first three years of life across two generations in Guatemala.** Pediatrics. V. 113, p. e270- e275, 2004.

STRAKOVSKY RS; PAN YX. **A decrease in DKK1, a WNT inhibitor, contributes to placental lipid accumulation in an obesity- prone rat model.** Biology of Reproduction. V. 86, p.81, 2012.

SUAREZ J, HU Y, MAKINO A, FRICOVSKY E, WANG H, DILMANN WH. **Alterations in mitochondrial function and cytosolic calcium induced by hyperglycemia are restored by mitochondrial transcription factor A in cardiomyocytes.** Am J Physiol Cell Physiol. V. 295, p. C1561- C1568, 2008.

SUGDEN MC, HOLNESS MJ. **Recent advances in mechanisms regulating glucose oxidation at the level of the pyruvate dehydrogenase complex by PDKs.** Am J Physiol Endocrinol Metab. V. 284, p. E855- 862, 2003.

SUNG MM, BYRNE NJ, KIM TT, LEVASSEUR J, MASSON G, BOISVENUE JJ, FEBBRAIO M, DYCK JR. **Cardiomyocyte- specific ablation of CD36 accelerates the progression from compensated cardiac hypertrophy to heart failure.** Am J Physiol Heart Circ Physiol. V. 312, p. H552- H560, 2017.

SWAN JW, ANKER SD, WALTON C, GODSLAND IF, CLARCK AL, LEYVA F, STEVENSON JC, COATS AJ. **Insulin resistance in chronic heart failure: relation to severity and etiology of heart failure.** J Am Coll Cardiol. V. 30, p. 527- 532, 1997.

SZCZEPANIAK LS, DOBBINS RL, METZGER GJ, SARTONI-D' AMBROSIA G, ARBIQUE D, VONQPATANASIN W, UNGER R, VICTOR RG. **Myocardial triglycerides and systolic function in humans: in vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging.** Mag Reson Med. V. 49, p. 417- 423, 2003.

TAEGTMEYER H, SEN S, VELA D. **Return to the fetal gene program: A suggested metabolic link to gene expression in the heart.** Ann NY Acad Sci. V.1188, p. 191- 198, 2010

TAKATA K, KASAHARA T, KASAHARA M, EZAKI O, HIRANO H. **Immunolocalization of glucose transporter GLUT1 in the rat placental barrier: possible role of GLUT1 and gap junction in the transport of glucose across the placental barrier.** Cell Tissue Res., V. 276, n. 3, p. 411- 418, 1994.

TAMBOLI A, O' LOONEY P, VANDER MATEN M, VAHOUNY GV. **Comparative metabolism of free and esterified fatty acids by the perfused rat heart and rat cardiac myocytes.** Biochim Biophys Acta. V. 750, p. 404- 410, 1983.

TANAKARA S, YASUDA T, ISHIDA T, FUJIOKA Y, TSUJINO T, MIKI T, HIRATA K. **Increased serum cholesterol esterification rates predicts coronary heart disease and sudden death in a general population.** Arterioscler Tromb Vasc Biol. V. 33, p. 1098- 1104, 2013.

TAPPIA PS, SINGAL T. **Phospholipid- mediated signaling and heart disease.** Subcell Biochem. V. 49, p. 299- 324, 2008.

TENNANT PW, RANKIN J, BELL R . **Maternal body mass index an the risk of fetal and infant death: a cohort study from the north of England.** Human reproduction, V. 26, p 1501-15 11, 2011.

TOEMEN L, GISHTI O, VAN OSCH- GEVERS L, STEEGERS EZ, HELBING WA, FELIX JR, REISS IK, DUIJITS L, GAILLARD R, JADDOE VW. **Maternal obesity, gestacional weight and childhood cardiac outcomes: role of childhood body mass index.** International Journal of obesity, V.40, p. 1070- 1078, 2016.

TRUEBLOOD N, RAMASAMY R. **Aldose reductase inhibition improves altered glucose metabolism of isolated diabetic rat hearts.** Am J Physiol. V. 275, p. H75-83, 1998.

TURINSKY J, O' SULLIVAN DM, BAYLY BP. **1,2- Diacylglycerol and ceramide levels in insulin- resistant tissue of the rat in vivo.** J Bio Chem. V. 289, p. 2128- 2127, 2007.

USSHER JR, KOVES TR, JASWAL JS, ZHANG L, IILAYEVA O, DYCK JR, MUOIO DM, LOPASCHUCK GD. **Insulin- stimulated cardiac glucose oxidation is increased in high- fat diet- induced obese mice lacking malonyl CoA decarboxylase.** Diabetes. V. 58, p. 1766- 1775, 2009.

VAAG AA, GRUNNET LG, ARORA GP, BRONS C. **The thrifty phenotype hypothesis revisited.** Diabetologia. V. 55, p. 2085- 2088, 2012.

VAN DIJK-OTTENS M, VOS IH, CORNELISSEN PW, DE BRUIN A, EVERTS ME. **Thyroid hormone- induced cardiac mechano growth factor expression depends on beating activity.** Endocrinology. V. 151, p. 830- 838, 2010.

VASAN RS, LEVY D. **The role of hypertension in the pathogenesis of heart failure. A clinical mechanistic overview.** Arch Intern Med. V. 156, p. 1789- 1796, 1996.

VASAN RS. **Cardiac function and obesity.** Heart. V.89, p. 1127- 1129, 2003.

VAZQUEZ G, DUVAL S, JACOBS DR JR, SILVENTOINEN K. **Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/ hip ratio in predicting incident diabetes: A meta analysis.** Epidemiol Rev. V. 29, p. 115- 118, 2007.

WALLACE JC, OWEN OE, SATISSH C, HANSON RW. **The key role of anaplerosis and cataplerosis for citric acid cycle function.** J Biol Chem. V. 277, p. 30409- 30412, 2010.

WAMBOLT RB, LOPASCHUCK GD, BROWNSEY RWM ALLARD MF. **Dichloroacetate improves postischemic function of hypertrophied rat hearts.** J Am Coll Cardiol. V. 36, p. 1378- 1385, 2000.

WELLEN KE, HATZIVASSILIOU G, SACHDEVA UM, BUI TV, CROSS JR, THOMPSON CB. **ATP- citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation.** Science. V. 324, p. 1076- 1080, 2009.

WENTZ AE, D' AVIGNON DA, WEBER ML, COTTER DG, DOHERTY JM, KERNS R, NAGARAJAN R, REDDY N, SAMBANDAM N, CRAWFORD PA. **Adaptation of myocardial substrate metabolism to a ketogenic nutrient environment.** J Biol Chem. V. 285, p. 24447- 24456, 2010.

WHITE CL, PURPERA MN, MORRISON CD. **Maternal obesity is necessary for programming effect of high- fat diet on offspring.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. V. 296, p. R1464- R1472, 2009.

WHO, 2008: <http://www.who.int/whr/2008/en/>

WHO, 2014: <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A897A?lang=en>

WHO, 2017: <http://www.who.int/topics/obesity/en/>

WIDDOWSON EM, MCCANCE RA. **A review: new thoughts on growth.** Pediatr Res V.9, p. 154-156, 1975

WLADIMIROFF JW, VD WIJNGAARD JA, DEGANI S, NOORDAM MJ, VAN EYCK J, TONGE HM. **Cerebral and umbilical arterial blood flow velocity waveforms in normal and growth- retarded pregnancies.** Obstet Gynecol. V. 69, p. 705- 709, 1987.

WOO AYH, XIAO RP.  **$\beta$ -Adrenergic receptor subtype signaling in heart: From bench to bedside.** Acta Pharmacologica Sinica, V. 33, p. 335–341, 2012.

XIN M, GAO F, MAY WS, FLAGG T, DENG X. **Protein kinase kinase abrogates the proapoptotic function of Bax through phosphorylation.** J Biol Chem, V. 282, p 21268-21277, 2007.

YEE JK, HAN G, VEGA J, LEE WP, ROSS MG, DESASI M. **Fatty acid de novo synthesis in adult intrauterine growth- restricted offspring, and adult male response to a high fat diet.** Lipids. V. 51, p. 1339- 1351, 2016.

YOUNG ME, YAN J, RAZEGHI P, COOKSEY RC, GUTHRINE PH, STEPKOSKI SM, MCCLAIN DA, TIAN R, TAEGTMEYER H. **Proposed regulation of gene expression by glucose in rodent heart.** Gene Regul Syst Bio, V. 1, p. 251- 262, 2007.

YOUNG ME, LAWS FA, GOODWIN GW, TAEGTMEYER H. **Reactivation of peroxisome proliferator- activated receptor alpha is associated with contractile dysfunction in hypertrophied rat heart.** J Biol Chem. V. 276, p. 44390- 44395, 2001.

YU C, CHEN Y, CLINE GW, ZHANG D, ZONG H, WANG Y, BERGERON R, KIM JK, CUSHMAN SW, COONEY GJ, ATCHESON B, WHITE MF, KRAEGEN EW, SHULMAN GI. **Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation in insulin receptor substrate-1 (IRS-1) associated phosphatidylinositol 3- kinase activity in muscle.** J Biol Chem. V.277, p. 50230- 50236, 2002.

ZECA, S. **Efeito do consumo materno de dieta hiperlipídica sobre a função cardíaca da prole jovem.** 2015. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas)- Instituto de Biologia. Universidade Federal Rural o Rio de Janeiro. Seropédica. 2015.

ZHANG J, USSHER JR, OKA T, CADETE VJ, WAGG C, LOPASCHUK GD. **Cardiac diacylglycerol accumulation in high fat- fed mice is associated with impaired insulin-stimulated glucose oxidation.** Cardiovascular Research, V. 89, p. 148- 156, 2010.

ZHANG J, GAO Z, YIN J, QUON MJ, YE J. **S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-70 to promote insulin resistance in response to TNF- alpha signaling through IKK2.** J Biol Chem. V. 283, p. 35375- 35382, 2008.

ZHAO S, XU W, JIANG W, YU W, LIN Y, ZHANG T, YAO J, ZHAOU L, ZENG Y, LI H, LI Y, SHI J, HANCOCK SM, HE F, QIN L, CHIN J, YANG P, CHEN X, LEI Q, XIONG Y, GUAN KL. **Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation.** Science, V. 327, p. 1000- 1004, 2010.

ZHU MJ, MA Y, LONG NM, DU M, FORD SP. **Maternal obesity markedly increases placental fatty acid transporter expression and fetal blood triglycerides at midgestation in the ewe.** American the Journal of Physiology. V. 299, p. R1224- R1231, 2010.

ZIMMER HG, KOLBECK- RUHMKORFF C, ZIERHUT W. **Cardiac hypertrophy induced by alpha- and beta- adrenergic receptor stimulation.** Cardioscience. V.6, p. 47- 57, 1995.

ZIMMER HG. **Regulation of and intervention into the oxidative pentose phosphate pathway and cadenine nucleotide metabolism in the heart.** Mol Cell Biochem, V. 160, p. 101- 109, 1996.

ZIMMER HG. **The oxidative pentose phosphate pathway in the heart: regulation, physiological significance, and clinical implications.** Basic Res Cardiol. V. 87, p. 303- 316, 1992.