



# AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TRANSGERACIONAIS DA RESTRIÇÃO PROTEICA NA FUNÇÃO PANCREÁTICA EM RATOS WISTAR ADULTOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

William Pereira Horst<sup>1</sup>, Taina Cristine Sieklicki<sup>2</sup>, Rodrigo Vargas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Medicinaa, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/ICETI-UniCesumar. williamhorst@hotmail.com

<sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Medicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. tainasieklicki@hotmail.com

<sup>3</sup>Orientador, Doutor, rodrigokockvargas@gmail.com

## RESUMO

Tendo em vista que esteja ocorrendo um aumento exponencial das alterações metabólicas e suas respectivas consequências, fez-se necessário estudar e esclarecer os prováveis fatores que levam a estas disfunções, para que seja possível a realização de intervenções preventivas e/ou farmacológicas. Estudos evidenciam uma origem fetal das doenças do adulto, fenômeno chamado de programação metabólica, no qual uma deficiência nutritiva, no decorrer da gestação e infância precoce, resulta em anomalias fisiológicas, que, por fim, levam a uma maior predisposição a estados patológicos - como diabetes. Ademais, estudos recentes reafirmam essa teoria, apresentando a relação da restrição proteica em ratas mães, aliada com uma alimentação hiperlipídica nos filhos, provando um aumento da produção e liberação de insulina desses animais; quando comparados aos animais que receberam dieta com porções normais de lipídios, posteriormente as mães apresentarem a restrição proteica, o que corrobora para o desenvolvimento de doenças e aumento dos gastos para com a saúde pública. Logo, este projeto visou avaliar o impacto transgeracional da limitação proteica sobre a homeostase da glicose da prole F2 alimentada com dieta hiperlipídica na vida adulta. Desse modo, serão analisados o metabolismo da glicose, da insulina e a histomorfologia do pâncreas; esperando-se elucidar como os efeitos perante a restrição proteica na prole (F1) seguida de uma dieta com alto teor lipídico da prole (F2) podem levar ao desenvolvimento de uma resistência à insulina e alterações metabólicas na prole (F2), possibilitando a produção de fármacos que desempenhem papel nas rotas da homeostase da glicose e promovendo a saúde.

**PALAVRAS-CHAVE:** biometria; programação fetal; síndrome metabólica.

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO), cerca de 422 milhões de pessoas em todo o mundo têm diabetes, a maioria vivendo em países de baixa e média renda, e 1,5 milhão de mortes são atribuídas diretamente à mesma. A Diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica multifatorial, causada por fatores genéticos e ambientais (MEZGHENNA et al., 2011), sendo classificada como uma síndrome clínica heterogênea de distúrbios metabólicos (ROSAS, 2010). A DM está associada a hiperglicemia crônica (UKPDS 33, 1998), devido aos defeitos na secreção de insulina (FRANZ, 2010), o que compromete o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (DIAS et al, 2004). A quebra da homeostase glicêmica leva, em longo prazo, a falhas, danos ou disfunções em órgãos, como coração, olhos e rins (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2008); assim como promove o surgimento de outros sintomas: perda de peso, poliúria, polidipsia, polifagia (KNECHTEL; SILVA; BALBO, 1998), visão turva, xerostomia e coagulopatias (IDF, 2021).

De acordo com International Diabetes Federation (IDF, 2021) e Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2012), os principais tipos de diabetes são: DM insulinodependente ou tipo 1 (DM1), DM não insulinodependente ou tipo 2 (DM2) e DM Gestacional (DMG). O DM1 é uma doença metabólica autoimune crônica, resultado do ataque contra as células  $\beta$  (beta)



pancreáticas (BARRETT, 2003), contra a insulina e contra a descarboxilase do ácido glutâmico (MANNA et al., 2011) pelos anticorpos. O DMG, que se inicia e é diagnosticado durante a gravidez (JONES, 2001), é definido como qualquer nível de intolerância a carboidratos que resulte em hiperglicemia (BRODY; HARRIS; LOHR, 2003), que pode ou não desaparecer após o parto. Ainda, o DMG pode ser acarretado pelo aumento dos hormônios contrarreguladores da insulina (BRASIL, 2000), pela injúria fisiológica causada pela gravidez (AYACH et al., 2005), por predeterminantes genéticos e fatores ambientais, entre outros desencadeantes.

Entretanto, é o DM2 a forma mais comum entre todos os tipos de diabetes existentes, chegando a atingir mais de 90% de todos os casos da doença (NARAYAN et al., 2000; CORREIA, 2010). O DM2 tem como característica o aumento da resistência à insulina (GELONEZE, 2009), o que leva à incapacidade dos tecidos periféricos em utilizar glicose como fonte de energia (MEDINA, 2008; FREEMAN, 2009). Consequentemente, o pâncreas tenta compensar a baixa ação da insulina por meio do aumento de sua produção, gerando um quadro de hiperinsulinismo (LIMA, 2010). Ao final, esta compensação poderá levar a uma diminuição da funcionalidade das células  $\beta$  pancreáticas (ARAUJO et al, 2012) de modo que, talvez, ocorra ainda uma diminuição da quantidade das mesmas pelo pâncreas (CNOP et al., 2005); além do aumento da lipólise e gliconeogênese, devido a resistência ao hormônio (LIMA, 2010), que afeta tecidos periféricos, prioritariamente o fígado, músculo e tecido adiposo (YADAV et al., 2011; OHLENDIECK, 2012).

Barker e seus colaboradores postularam a teoria da origem fetal das doenças do adulto, que apresenta o fenômeno conhecido como programação metabólica, onde uma deficiente nutrição, durante a gestação e infância precoce, desencadeia alterações metabólicas das quais levam a uma maior predisposição a estados patológicos, como o Diabetes tipo 2 (XAVIER, 2016). Essas alterações ocorrendo durante os períodos críticos do desenvolvimento não se limitam apenas a prole de primeira geração, mas também podem ser passados transgeracionalmente sem que estas sejam expostas ao fator ambiental (ZAMBRANO, 2009).

O estudo de Martins traz a relação da restrição proteica nas ratas Wistar mães, associado a uma alimentação rica em lipídios nos filhos, evidenciando aumento da secreção de insulina desses animais, quando comparado aos animais que receberam dieta com quantidades normais de lipídios após as mães apresentarem a restrição proteica (MARTINS, 2018). Portanto, o presente trabalho com base no exposto acima, hipotetiza que a alta secreção de insulina neste grupo resulte, na geração futura, em uma queda dessa produção da insulina, proveniente de alterações morfológicas das ilhotas pancreáticas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto contempla novas técnicas experimentais as quais foram desenvolvidas a partir de coletas de amostras biológicas conforme propostas no projeto de doutorado do orientador deste projeto, desenvolvido de acordo com as normas do Comitê de Ética para Uso e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá, aprovado sobre número 3723280918.

Para tal, foram utilizados, ratos adultos da linhagem Wistar, com 70-80 dias de vida, 4 machos e 12 fêmeas, os quais foram mantidos sob condições de luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas) e temperatura ( $23\pm2^{\circ}\text{C}$ ) controladas, onde foram mantidos por, aproximadamente, sete dias para aclimatação em caixas próprias de polipropileno (15x30x45) com forragem de maravilha, sendo trocadas três vezes por semana por caixas e forramentos limpos. Após este período, os animais foram induzidos ao cruzamento. Foi



adotada a proporção de um macho para cada três fêmeas, de maneira que se obteve linhagens diferentes entre os animais analisados. Após o cruzamento, detectada a prenhez, as fêmeas prenhas foram acondicionadas em caixas individuais até o nascimento natural das ninhadas, que foi considerado o dia 0. No dia 0, as matrizes foram divididas em dois grupos, o primeiro recebeu dieta normoproteica (NP) padrão (Nuvital®, Curitiba/PR, Brasil) para roedores (23,3% de proteína), enquanto que o segundo grupo recebeu dieta hipoproteica (low protein diet; LP; 4% de proteína) (MARTINS, I. P. et al, 2018) do dia 0 ao dia 14, retornando a alimentação com dieta NP ad libitum durante todo período experimental. No dia pós natal 2 (PND 2), as ninhadas (F1) tiveram seu tamanho adequados para 8 animais (4 machos e 4 fêmeas). Os filhotes não utilizados sofreram eutanásia com dose letal de Tiopental (150mg/kg) mais lidocaína (10 mg/ml). Esta configuração deu origem a dois grupos experimentais: 1) Grupo NP-F1 (n=6) que recebeu dieta normoproteica e; 2) Grupo LP-F1 (n=6) que recebeu dieta hipoproteica durante os primeiros 14 dias da lactação. Somente filhotes fêmeas foram utilizados nesta etapa do projeto. Filhotes machos foram utilizadas quando necessário para completar as ninhadas.

Os filhotes permaneceram com as progenitoras até os 21 dias de vida quando então foram desmamados. Filhotes excedentes e as ratas (progenitoras) sofreram eutanásia com dose letal de Tiopental (150mg/kg) mais lidocaína (10 mg/ml). Foi padronizado o número de 4 animais por caixa para todos os grupos, a fim de garantir as mesmas condições de acesso à comida e água. Aos 70-80 dias de vida, os filhotes fêmeas (F1) foram induzidos ao cruzamento com machos adultos alimentados com dieta NP. Detectada a prenhez, as progenitoras fêmeas mantiveram os padrões alimentares, recebendo dieta NP até o desmame. As proles F2 foram adequadas para 8 animais (4 machos e 4 fêmeas) por caixa e somente filhotes machos foram utilizados nesta etapa do projeto. Filhotes excedentes e as ratas (progenitoras) sofreram eutanásia com dose letal de Tiopental (150mg/kg) mais lidocaína (10 mg/ml). Os filhotes machos (F2) mantiveram a suplementação alimentar NP até os 60 dias de vida. Dos 60 aos 90, as proles foram subdivididas de acordo com a origem materna e a suplementação alimentar dando origem a 4 grupos: 1) Grupo NPNF-F2, oriundos de matrizes que receberam dieta NP durante a lactação e mantiveram a mesma suplementação alimentar durante todo período experimental, inclusive para a prole; 2) Grupo NPHF-F2, oriundos de matrizes que receberam dieta NP durante a lactação e demais períodos, e a prole recebeu dieta hiperlipídica (Barella et al, 2015) dos 60 aos 90 dias; 3) Grupo LPNF-F2, oriundos de matrizes que receberam dieta LP durante a lactação e dieta NP após o desmame, mantendo a mesma suplementação alimentar durante todo período experimental para a prole e; 4) Grupo LPHF-F2, oriundos de matrizes que receberam dieta LP durante a lactação e a prole recebeu dieta NP até os 60 dias de vida, onde foram suplementados com dieta HFD dos 60 aos 90 dias.

As matrizes e ninhadas foram pesadas e foi aferido o consumo alimentar diariamente do 1º ao 21º PND. A partir do 21º PND os parâmetros biométricos, assim como o consumo alimentar, foram aferidos semanalmente.

Aos 90 dias de idade, os animais foram pesados e anestesiados com uma mistura de Ketamina/Xilazina 75mg + 15mg/kg de peso corporal via intramuscular. Em seguida foram submetidos à cirurgia para o implante de uma cânula de silicone na veia jugular externa direita. Através de uma incisão na região cervical anterior, proceder-se-á a dissecção dos tecidos até a visualização da veia, em seguida, a cânula de silicone foi inserida dentro da veia, com o auxílio de uma agulha adaptada. A cânula foi fixada ao músculo peitoral maior através de uma sutura simples com fio de algodão. A cânula foi preenchida com solução de heparina a 10% (Liquemine®) diluída em salina (0,9% de NaCl) para evitar a entrada de sangue na cânula e a consequente formação de coágulos no seu interior. Após a cirurgia os animais receberam uma injeção subcutânea de analgésico



(Ácido Acetilsalicílico, Aspirina®, 20mg/kg de massa corpórea, s.c., 2 vezes/dia); uma dose logo após a cirurgia e outra 8h depois. Após o procedimento cirúrgico, os animais permaneceram no biotério em caixas individuais e ficaram em jejum por 12 horas antes da realização do ivGTT que ocorreu 24 horas após os procedimentos cirúrgicos. Antes do início do ivGTT os animais foram pesados para se estabelecer a dose de glicose a ser administrada. Para iniciar o ivGTT foi feita uma primeira retirada de sangue (400µL) pela cânula que corresponde ao tempo zero. Em seguida, infundiu-se uma solução de glicose na dose de 1g/kg de PC. Após a administração da solução de glicose foram retiradas amostras de sangue (400µL) nos tempos 5, 15, 30 e 45 minutos. Após cada retirada de sangue a cânula foi preenchida com solução de heparina.

O ITT foi realizado em animais submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico para a realização do ivGTT. Porém, foi administrada intraperitonealmente uma injeção de insulina (1U/Kg de PC) após a retirada de 300µL de sangue para quantificação da glicemia basal. Após 5, 15, 30 e 45 minutos da administração de insulina, amostras sanguíneas foram coletadas. Em seguida, foi calculado o Kitt para a quantificação da velocidade com que a glicose decai na corrente sanguínea no intervalo de tempo de duração do teste.

Aos 90 dias de vida e após 12 horas de jejum, os animais foram dessensibilizados com gás carbônico em uma câmera de CO<sub>2</sub> para roedores (Insight®, Ribeirão Preto, SP, BRA) e, depois de constatada a sedação, os animais sofreram eutanásia.

Aproximadamente 500 mg do pâncreas foram coletados e fixados em paraformoldeído 4% por 24 horas. Após fixação, o tecido foi lavado, em água corrente, por 24 horas e foi desidratado em concentrações ascendentes de álcool, diafanizado em xitol e em seguida, embebido em parafina histológica. Então, foram realizados cortes de 5 µm e os mesmos foram corados pela técnica convencional de Hematoxilina e Eosina para verificar a evolução a área da ilhota pancreática.

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Para avaliação estatística entre os grupos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguido do pós-teste de Duncan. O nível de significância adotado foi de p<0,05. O software utilizado para as análises estatísticas foi o GraphPad Prism versão 6.00 para Windows (GraphPad Software®).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, investigamos a transmissão transgeracional do fenótipo programado pela restrição protéica (LP) durante os primeiros 14 dias de lactação. Observamos que a restrição protéica afetou a homeostase da glicose nos descendentes LPNF-F2, resultando em níveis mais baixos de glicemia em jejum e área reduzida dos ilhéus pancreáticos. No entanto, a sensibilidade à insulina não foi afetada, mas os níveis de insulina estavam aumentados. Essas alterações indicam os efeitos transgeracionais da dieta de baixo teor proteico na saúde metabólica dos descendentes. Esses resultados confirmam a hipótese de Barker, que sugere que a programação metabólica durante períodos críticos de desenvolvimento pode levar a alterações no metabolismo pós-natal e aumentar a suscetibilidade a doenças em futuras gerações, como a geração F2 (BARKER, 2007; HALES, 2001, QASEM, 2012).

Em ratas adultas, a exposição a uma dieta pobre em proteínas durante períodos críticos de desenvolvimento pode afetar os comportamentos alimentares (SILVA et al., 2016). Isso pode levar a malformações no hipotálamo que persistem na vida adulta (BAUTISTA et al., 2019). No entanto, em fêmeas da geração F1 que foram alimentadas com uma dieta pobre em proteínas durante a fase de amamentação, não foram observadas alterações no ganho de peso corporal e na ingestão calórica.



Além disso, foi observado que o ambiente intrauterino tem um impacto significativo na saúde dos filhotes (AERTS et al., 2006). Nesse sentido, o estudo mencionado revelou que as fêmeas descendentes da linhagem materna alimentada com dieta de baixo teor proteico (LP) apresentaram hiperglicemia em jejum e intolerância à glicose durante a gravidez. A gravidez é considerada uma situação diabetogênica devido a alterações hormonais e adaptações metabólicas. A hiperglicemia e o diabetes maternos podem afetar o suprimento de nutrientes ao feto, resultando em adaptações no desenvolvimento pancreático fetal e no transporte de glicose através da placenta (AERTS et al., 2006). Essas alterações podem levar a complicações, como filhotes com peso ao nascer normal ou baixo, mas com comprometimento na tolerância à glicose na idade adulta. Esses achados indicam que o estado nutricional das mães durante a gravidez e a amamentação pode ter efeitos transgeracionais na saúde e no metabolismo dos filhotes, destacando a importância de uma nutrição adequada durante esses períodos críticos para garantir o desenvolvimento saudável das gerações futuras (AERTS et al., 2006; TALTON et al., 2019).

A intolerância à glicose materna pode afetar o metabolismo lipídico e contribuir para o acúmulo de gordura na prole, devido à regulação positiva de genes como Insr, Lpl, Pparg e Adipoq. O acúmulo de gordura nos adipócitos está associado ao aumento dos níveis de IL-6, o que prejudica a sinalização da insulina. No presente estudo, o grupo LPHF-F2 mostrou ganho de gordura nos depósitos adiposos e um perfil lipídico alterado, embora em menor magnitude em comparação com o grupo NPHF-F2. Essa transmissão transgeracional de alterações metabólicas pode contribuir para a crescente pandemia de obesidade e diabetes tipo 2 em todo o mundo (GOMEZ-DELGADO et al., 2020).

O pâncreas desempenha um papel crucial na regulação do metabolismo da glicose, principalmente através das células beta pancreáticas, responsáveis pela produção e secreção de insulina. A restrição de proteínas durante as fases iniciais da gravidez pode comprometer o desenvolvimento adequado das células beta pancreáticas devido à sua dependência da glicose para a maturação. Isso pode resultar em alterações na estrutura e função pancreáticas (RODRIGUEZ-TREJO et al., 2012). No entanto, no final da gestação, o feto desenvolve mecanismos adaptativos para controlar seus próprios níveis de glicose, por meio de ajustes na produção e ação da insulina (AERTS et al., 2006; KISS et al., 2012). Estudos demonstraram que uma oferta inadequada de carboidratos durante a lactação pode alterar a estrutura das ilhotas pancreáticas e levar à involução pancreática, especialmente em ninhadas de mães com diabetes. A prole de mães com níveis elevados de glicose durante a gestação pode apresentar intolerância à glicose na idade adulta. No entanto, na idade adulta, a massa pancreática tende a se normalizar. Nesse estudo específico, foi demonstrado o efeito transgeracional de uma dieta pobre em proteínas na homeostase da glicose. O grupo de descendentes LPNF-F2 apresentou hipoglicemia e hiperinsulinemia em comparação com o grupo NPNF-F2. Além disso, o grupo LPHF-F2 apresentou menor intolerância à glicose e hiperinsulinemia em comparação com o grupo NPHF-F2, embora a sensibilidade à insulina não tenha sido alterada. A área das ilhotas pancreáticas também foi menor nos descendentes LPHF-F2. Essas alterações estruturais observadas podem ser mecanismos compensatórios adotados pelo organismo para manter a homeostase da glicose precocemente na vida. No entanto, é importante destacar que essas alterações podem ter implicações para a saúde metabólica a longo prazo e podem contribuir para a predisposição ao desenvolvimento de distúrbios relacionados à glicose, como a intolerância à glicose e o diabetes tipo 2 na idade adulta (DUMORTIER et al., 2007).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, as questões levantadas neste trabalho acerca dos efeitos transgeracionais decorrentes da restrição proteica durante a amamentação foram devidamente abordadas.



Sendo constatado que tais efeitos podem tornar a prole hepática mais suscetível a lesões relacionadas à nutrição na vida adulta. Essas conclusões ressaltam a importância crucial da nutrição nos estágios iniciais da vida para determinar a saúde metabólica a longo prazo e destacar os potenciais riscos associados a um desalinhamento entre a programação metabólica precoce e as exposições dietéticas futuras.

Este estudo reforça a necessidade de estratégias de intervenção nutricional voltadas para a melhoria da saúde metabólica desde a infância. É fundamental garantir uma nutrição adequada durante as fases críticas de desenvolvimento, além de promover conscientização sobre os efeitos a longo prazo resultantes da adoção de determinados hábitos alimentares em todas as fases da vida. Essas medidas são essenciais para prevenir o desenvolvimento de doenças metabólicas, as quais impõem grandes ônus financeiros ao sistema de saúde. Em suma, espera-se que os resultados obtidos estimulem novas discussões e pesquisas, ampliando assim o conhecimento disponível e aprimorando a prática desse conhecimento.

## REFERÊNCIAS

AERTS, L.; VAN ASSCHE, F.A.. Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. **The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology**, [S.L.], v. 38, n. 5-6, p. 894-903, maio 2006. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2005.07.006>.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v 31(1), 2008.

AYACH, W.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C.; COSTA, R. A. A. Associação glicemia de jejum e fatores de risco como teste para rastreamento do diabetes gestacional. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v 5, p 329-335, 2005.

BARKER, D. J. P.. The origins of the developmental origins theory. **Journal Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 261, n. 5, p. 412-417, maio 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x>.

BARRETT, T. G. Nonautoimmune forms of diabetes. **Type 1 diabetes: etiology and treatment**. New Jersey, Humana Press, p 163-178, 2003.

BAUTISTA, C. J.; BAUTISTA, R. J.; MONTAÑO, S.; REYES-CASTRO, L. A.; RODRIGUEZ-PEÑA, O. N.; IBÁÑEZ, C. A.; NATHANIELSZ, P.W.; ZAMBRANO, E.. Effects of maternal protein restriction during pregnancy and lactation on milk composition and offspring development. **British Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 122, n. 2, p. 141-151, 26 jul. 2019. Cambridge University Press (CUP).  
<http://dx.doi.org/10.1017/s0007114519001120>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pré-natal de baixo risco (Manual técnico)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2000.



BRODY, S. C.; HARRIS, R.; LOHR, K. Screening for gestacional diabetes: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. **Obstetrics Gynecology**, v 101, p 380-392, 2003.

CNOP, M.; WELSH, N.; JONAS, J. C.; JORNS, A.; LENZEN, S.; EIZIRIK, D. L. Mechanisms of Pancreatic  $\beta$ -Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes. **Diabetes**, v 54(2), p97-107, 2005.

CORREIA, L. G. **Epidemiologia da diabetes mellitus**. Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Grupo de Estudos de Diabetes Mellitus, p 1-9, 2010.

DIAS, A.S.; LIESUY, S.; MARRONI, C. A.; MARRONI, N. Alterações gastrointestinais no diabetes mellitus: estresse oxidativo e fluxo sanguíneo da artéria mesentérica – estudo experimental. **Arquivos de Gastroenterologia**, v 41, n 02, p 108-113, 2004.

DUMORTIER, O.; BLONDEAU, B.; DUVILLIÉ, B.; REUSENS, B.; BRÉANT, B.; REMACLE, C.. Different mechanisms operating during different critical time-windows reduce rat fetal beta cell mass due to a maternal low-protein or low-energy diet. **Diabetologia**, [S.L.], v. 50, n. 12, p. 2495-2503, 19 set. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-007-0811-0>.

FRANZ, M. J. Terapia nutricional clínica para a diabetes melito e hipoglicemia de origem não diabética. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**, 12<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p 764-809, 2010.

FREEMAN, J. S. Role of the incretin pathway in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v 76(5), 2009.

GELONEZE, B.; GELONEZE, S. R.; FIORI, C.; STABE, C.; TAMBASCIA, M. A.; CHAIM, E. A.; ASTIARRAGA, B. D.; PAREJA, J. C. Surgery for Nonobese Type 2 Diabetic Patients: An Interventional Study with Duodenal-Jejunal Exclusion. **Obesity Surgery**, v 19, p 1077-1083, 2009.

GOMEZ-DELGADO, Francisco; KATSIKI, Niki; LOPEZ-MIRANDA, Jose; PEREZ-MARTINEZ, Pablo. Dietary habits, lipoprotein metabolism and cardiovascular disease: from individual foods to dietary patterns. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 61, n. 10, p. 1651-1669, 9 jun. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2020.1764487>.

HALES, C Nicholas; BARKER, David J P. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical Bulletin**, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 5-20, 1 nov. 2001. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/bmb/60.1.5>.



INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas, 10th edn.** Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2021. Disponível em:  
<http://www.idf.org/diabetesatlas> Acesso em: 28 de junho de 2022.

JONES, C. W.; Gestacional diabetes and its impact on the neonate. **Neonatal Network**, v 20, p 17-23, 2001.

KISS, Ana Carolina Inhasz; WOODSIDE, Barbara; FELÍCIO, Luciano Freitas; ANSELMO-FRANCI, Janete; DAMASCENO, Débora Cristina. Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development and behavior of Wistar rats. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 107, n. 3, p. 292-300, out. 2012. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.08.001>.

KNECHTEL, C.M.; SILVA, A. C. M.; BALBO, S. L. Diabetes e sua relação com a obesidade. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v 2(2), p 68-73, 1998.

LIMA, R. M. C. Cirurgia de Bypass Gástrico e Diabetes Mellitus Tipo 2. **Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Porto**, 2010.

MANNA, T. D. et al. Diabetes Melito, fisiopatologia, diagnóstico diferencial e tratamento. **Endocrinologia na Prática Pediátrica**, 2<sup>a</sup>ed, Barueri, Manole, 2011.

MARTINS, Isabela Peixoto et al. “**Protein-restriction diet during the suckling phase programs rat metabolism against obesity and insulin resistance exacerbation induced by a high-fat diet in adulthood.**” The Journal of nutritional biochemistry vol. 57 (2018): 153-161. doi:10.1016/j.jnutbio.2018.03.017

MEDINA, J. et al; **Diabetomecum**; Permanyer Portugal; 2008.

MEZGHENNA, K.; POMIÈS, P.; CHALANÇON, A.; CASTEX, F.; LEROY, J.; NICLAUSS, N.; NADAL, B.; CAMBIER, L.; CAZEVIEILLE, C.; PETIT, P.; GOMISS, R.; BERNEY, T.; GROSS, R.; LAJOIX, A. D. Increased neuronal nitric oxide synthase dimerisation is involved in rat and human pancreatic beta cell hyperactivity in obesity. **Diabetologia**, v 54, p 2856-2866, 2011.

NARAYAN, K.M. et al. Diabetes--a common, growing, serious, costly, and potentially preventable public health problem. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 50:S77-84, 2000.



OHLENDIECK, K. Pathobiochemical Changes in Diabetic Skeletal Muscle as Revealed by Mass-Spectrometry-Based Proteomics. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v 12, p 1-12, 2012.

QASEM, Rani J.; YABLONSKI, Elizabeth; LI, Jing; TANG, Hee Man; PONTIGGIA, Laura; D'MELLO, Anil P.. Elucidation of thrifty features in adult rats exposed to protein restriction during gestation and lactation. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 105, n. 5, p. 1182-1193, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.12.010>.

RODRÍGUEZ-TREJO, Adriana; ORTIZ-LÓPEZ, María Guadalupe; ZAMBRANO, Elna; GRANADOS-SILVESTRE, María de Los Ángeles; MÉNDEZ, Carmen; BLONDEAU, Bertrand; BRÉANT, Bernadette; NATHANIELSZ, Peter W.; MENJIVAR, Marta. Developmental programming of neonatal pancreatic  $\beta$ -cells by a maternal low-protein diet in rats involves a switch from proliferation to differentiation. **American Journal Of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, [S.L.], v. 302, n. 11, p. 1431-1439, 1 jun. 2012. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00619.2011>.

ROSAS, S. Diagnóstico e classificação da diabetes mellitus. **Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Grupo de Estudos da Diabetes Melittus**, p 11-16, 2010.

SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diagnóstico e tratamento do diabetes tipo 1**, 2012. Disponível em <<http://www.diabetes.org.br/publicacoes/diretrizes-e-posicionamentos>>. Acesso em 28 de junho de 2022.

SILVA, Amanda Alves Marcelino; OLIVEIRA, Mayara Matias; CAVALCANTE, Taisly Cinthia Ferro; ALMEIDA, Larissa Cavalcanti Amaral; SOUZA, Julliet Araújo; SILVA, Matilde Cesiana; SOUZA, Sandra Lopes. Low protein diet during gestation and lactation increases food reward seeking but does not modify sucrose taste reactivity in adult female rats. **International Journal Of Developmental Neuroscience**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 50-59, 22 jan. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.01.004>.

TALTON, Omonseigho O; BATES, Keenan; SALAZAR, Shirley Rojas; JI, Tieming; SCHULZ, Laura Clamon. Lean maternal hyperglycemia alters offspring lipid metabolism and susceptibility to diet-induced obesity in mice†. **Biology Of Reproduction**, [S.L.], v. 100, n. 5, p. 1356-1369, 29 jan. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/biolre/izz009>.

UKPDS 33. .Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group**. Lancet. 12;352(9131):837-53, 1998.



XAVIER, J. L. P. et al. METABOLIC IMPRINTING: CAUSES AND CONSEQUENCES.  
**Visão Acadêmica**, [S.I.], v. 16, n. 4, maio 2016. ISSN 1518-8361

YADAV, A.; JYOTI, P.; JAIN, S. K.; BHATTACHARJEE, J. Correlation of Adiponectin and Leptin with Insulin Resistance: A Pilot Study in Healthy North Indian Population. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 26, nº 2, p. 193–196, 2011.

ZAMBRANO E. **Mecanismos transgeneracionales en el desarrollo de enfermedades metabólicas** [The transgenerational mechanisms in developmental programming of metabolic diseases]. Rev Invest Clin. 2009 Jan-Feb;61(1):41-52. Spanish. PMID: 19507474.

WHO. **Diabetes**. World Health Organization (WHO), 2022. Disponível em:  
[https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1)