

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

RAFAELA MOREIRA BARBOSA

ALTERAÇÕES CARDIORRESPIRATÓRIAS NA PROLE DE RATAS SUBMETIDAS
À DIETA HIPERLIPÍDICA

ARARAQUARA

2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS**

RAFAELA MOREIRA BARBOSA

**ALTERAÇÕES CARDIORRESPIRATÓRIAS NA PROLE DE RATAS SUBMETIDAS
À DIETA HIPERLIPÍDICA**

Tese apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos/Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Ciências, área de concentração: Fisiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Simões de Almeida Colombari

ARARAQUARA

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Raíaela Moreira Barbosa, realizada em 14/12/2018:

Debora Simões de Almeida Colombari

Prof. Dra. Debora Simões de Almeida Colombari
UNESP

Marcelo Tadeu Marin

Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin
UNESP

Maria Andréia Dalbin

Profa. Dra. Maria Andréia Dalbin
UNICAMP

André de Souza Mecawi

Prof. Dr. André de Souza Mecawi
UNIFESP

Carlice Cesar Crestani

Prof. Dr. Carlice Cesar Crestani
UNESP

Certifico que a defesa realizou-se com a participação à distância do(s) membro(s) e, depois das arguições e deliberações realizadas, o(s) participante(s) à distância está(ão) de acordo com o conteúdo do parecer da banca examinadora redigido neste relatório de defesa.

Prof. Dra. Debora Simões de Almeida Colombari

**AO MEU ESPOSO,
ANDRÉ**

**AO MEU PAI,
JOÃO**

**À MINHA MÃE,
SILVANA**

**ÀS MINHAS IRMÃS,
NATÁLIA E CAROLINA**

Obrigada pelo amor incondicional.

Agradecimentos

À Deus, por sempre ter me acompanhado e me abençoado nesta minha caminhada.

Aos meus pais, João e Silvana, pelo amor, carinho e apoio, pela confiança e pelos ensinamentos ao longo de toda a vida. Às minhas irmãs, Natália e Carolina, pelo amor, carinho, apoio.

Ao meu esposo André, pelo amor, companheirismo, paciência e ajuda em todos os momentos.

À Prof^a. Dr^a. Débora Simões de Almeida Colombari, pela orientação desde a iniciação científica, confiança, paciência, oportunidade de ingresso neste programa de pós-graduação e por todo o conhecimento transmitido.

Aos professores do Departamento de Fisiologia e Patologia da UNESP – Araraquara e do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, pelo conhecimento adquirido.

À Dr^a. Mirian Bassi pelos ensinamentos de alguns experimentos e pela orientação na discussão do trabalho.

À Jéssica Matheus de Sá pelo companheirismo e pela ajuda em algumas análises.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Patologia da UNESP – Araraquara, pelo auxílio na execução deste trabalho.

Aos colegas de laboratório, pelo companheirismo.

Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES e FAPESP, por tornarem possível a realização deste trabalho. Agradeço à CNPq, pela concessão da bolsa.

A todos, expresso minha mais profunda gratidão.

SUMÁRIO

RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS	25
3 MÉTODOS.....	26
3.1 Animais	26
3.2 Dieta hiperlipídica para indução de obesidade	26
3.3 Drogas	27
3.4 Anestesia e eutanásia	27
3.5 Canulação da artéria e veia femorais para registros basais e para o teste dos reflexos	28
3.6 Registro da pressão arterial e frequência cardíaca por telemetria	29
3.7 Medida da ingestão alimentar, da ingestão de água e da excreção urinária	29
3.8 Medidas de ventilação pulmonar	29
3.9 Teste de tolerância à insulina.....	31
3.10 Coleta de sangue e de tecidos adiposos	31
3.11 Análise estatística	32
3.12 Protocolos experimentais	32
3.12.1 <i>Efeitos da dieta hiperlipídica sobre a adiposidade, o perfil lipídico, os níveis hormonais e a pressão arterial em ratas não progenitoras.....</i>	<i>32</i>
3.12.2 <i>Efeitos da dieta hiperlipídica sobre a adiposidade, o perfil lipídico e os níveis hormonais em ratas progenitoras.....</i>	<i>33</i>
3.12.3 <i>Efeitos sobre as respostas metabólicas, cardiovasculares e ventilatórias na prole jovem de ratas alimentadas com DH.....</i>	<i>33</i>
3.12.4 <i>Efeitos sobre as respostas metabólicas, cardiovasculares e ventilatórias na prole adulta de ratas alimentadas com DH.....</i>	<i>34</i>
4 RESULTADOS	35
4.1 Peso corporal, perfis lipídico e metabólico nas ratas alimentadas com DH	35
4.2 Efeitos da obesidade materna na prole jovem.....	40
4.2.1 <i>Efeito da obesidade materna no peso corporal, perfis lipídico e metabólico na prole jovem de ratas alimentadas com DH.....</i>	<i>40</i>
4.2.2 <i>Efeito da obesidade materna na ingestão diária de água e ração alimentar na prole jovem de ratas alimentadas com DH.....</i>	<i>45</i>

4.2.3 Efeito da obesidade materna na excreção renal na prole jovem de ratas alimentadas com DH.....	46
4.2.4 Efeito da obesidade materna nas respostas ventilatórias na prole jovem de ratas alimentadas com DH.....	47
4.2.5 Efeito da obesidade materna nos parâmetros cardiovasculares observado na prole jovem de ratas alimentadas com DH.....	48
4.3 Efeitos da obesidade materna na prole adulta	49
4.3.1 Efeito da obesidade materna no peso corporal, perfis lipídico e metabólico da prole adulta de ratas alimentadas com DH.....	49
4.3.2 Efeito da obesidade materna na ingestão diária de água e ração alimentar na prole adulta de ratas alimentadas com DH.....	55
4.3.3 Efeito da obesidade materna na excreção renal na prole adulta de ratas alimentadas com DH.....	56
4.3.4 Efeito da obesidade materna nas respostas ventilatórias na prole adulta de ratas alimentadas com DH.....	57
4.3.5 Efeitos da obesidade materna nos parâmetros cardiovasculares observado na prole adulta de ratas alimentadas com DH.....	58
5 DISCUSSÃO.....	60
6 CONCLUSÃO.....	67
7. REFERÊNCIAS	68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Composição nutricional das dietas utilizadas neste trabalho. (A) Dieta padrão e (B) dieta hiperlipídica. Outros: matéria mineral. Os resultados são apresentados em porcentagem.....27
- Figura 2** – Ingestão alimentar durante o período de tratamento em (A) ratas não progenitoras e em (B) ratas progenitoras. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.37
- Figura 3** – Kcal ingeridas durante o período de tratamento pelas (A) ratas não progenitoras e pelas (B) ratas progenitoras. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.37
- Figura 4** – Peso das (A) ratas não progenitoras e das (B) ratas progenitoras durante o período de tratamento. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.38
- Figura 5** – Ganho de peso das (A) ratas não progenitoras e das (B) ratas progenitoras durante o período de tratamento. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.38
- Figura 6** – (A) Concentração plasmática de renina e (B) atividade da renina plasmática nas ratas não progenitoras. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.39
- Figura 7** – Valores de PAM (mmHg) e FC (bpm) das ratas não progenitoras por 7 semanas, registrados nas fases clara (A e C) e escura (B e D). Os resultados são

apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo. 39

Figura 8 – (A) Peso das proles jovens no terceiro dia de vida (P3) e (B) na semana dos experimentos (P28-35). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. ... 42

Figura 9 – (A) Quantidade relativa (g/100 g de pc) de tecido adiposo epididimal, (B) retroperitoneal e (C) mesentérico das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. 43

Figura 10 – (A) Concentração sérica de HDL, (B) CT, (C) TGL e (D) GLI das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. 44

Figura 11 – (A) Concentração sérica de leptina e (B) de insulina das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo. 44

Figura 12 – Kitt (%/min - taxa de decaimento da glicemia) nas proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. 45

Figura 13 – (A) Ingestão diária de ração e (B) de água das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo. 45

Figura 14 – (A) Volume urinário de 24 horas, (B) excreção urinária de sódio e (C) de potássio nas proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. 46

Figura 15 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipercapnia no ar inspirado (7% de CO_2) de proles jovens (P40). Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. 47

Figura 16 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipóxia no ar inspirado (10% de O_2) de proles jovens (P40). Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo..... 48

Figura 17 – (A) Pressão arterial média basal (PAM), (B) frequência cardíaca basal (FC) em proles jovens (P40) e (C) sensibilidade do barorreflexo em proles jovens (P40) testado após a administração intravenosa de fenilefrina (20 $\mu g/mL$) ou nitroprussiato de sódio (50 $\mu g/mL$). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste t de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo. 49

Figura 18 – (A) Peso das proles adultas (P90). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste t de Student; n indica o número de animais por grupo..... 52

Figura 19 – (A) Quantidade relativa (g/100 g de pc) de tecido adiposo epididimal, (B) retroperitoneal e (C) mesentérico das proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste t de Student; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo. 53

Figura 20 – (A) Concentração sérica de HDL, (B) CT, (C) TGL e (D) GLI das proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste t de Student; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo. 54

Figura 21 – (A) Concentração sérica de leptina e (B) de insulina das proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste <i>t</i> de Student; n indica o número de animais por grupo.	54
Figura 22 – Kitt (%/min - taxa de decaimento da glicemia) nas proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste <i>t</i> de Student; n indica o número de animais por grupo.	55
Figura 23 – (A) Ingestão diária de ração e (B) de água das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste <i>t</i> de Student; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.....	55
Figura 24 – (A) Volume urinário de 24 horas, (B) excreção urinária de sódio e (C) de potássio nas proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste <i>t</i> de Student; n indica o número de animais por grupo.....	56
Figura 25 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipercapnia no ar inspirado (7% de CO ₂) de proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.....	57
Figura 26 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipóxia no ar inspirado (10% de O ₂) de proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.	58
Figura 27 – (A) Pressão arterial média basal (PAM), (B) frequência cardíaca basal (FC) em proles adultas e (C) sensibilidade do barorreflexo em proles adultas testado após a administração intravenosa de fenilefrina (20 μ g/mL) ou nitroprussiato de sódio	

(50 µg/mL). Os resultados são apresentados como média ± EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.59

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Perfis lipídico e metabólico nas ratas alimentadas com DH por 6 semanas (não progenitoras) ou nas ratas alimentadas com DH por 6 semanas antes e durante a gestação e a lactação (progenitoras)..36

Tabela 2 - Perfis lipídico e metabólico das ninhadas jovens de ratas alimentadas com DH..41

Tabela 3 - Perfis lipídico e metabólico das ninhadas adultas de ratas alimentadas com DH..51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANG II – angiotensina II

ANS – atividade nervosa simpática

AT1 – receptor de angiotensina II tipo 1

AT2 – receptor de angiotensina II tipo 2

CT – colesterol total

DH – dieta hiperlipídica

DP – dieta padrão

EPI – tecido adiposo epididimal

EPM – erro padrão da média

FC – frequência cardíaca

f_R – frequência respiratória

GLI - glicose

HDL – lipoproteína de alta densidade

iv – intravenoso

ip – intraperitoneal

im – intramuscular

KCN – cianeto de potássio

Kitt – constante de velocidade de desaparecimento de glicose no plasma

MES – tecido adiposo mesentérico

PA-DH – prole adulta de mães alimentadas com dieta hiperlipídica

PA-DP – prole ninhada adulta de mães alimentadas com dieta padrão

PJ-DH – prole jovem de mães alimentadas com dieta hiperlipídica

PJ-DP – prole jovem de mães alimentadas com dieta padrão

NPS – nitroprussiato de sódio

OVA – tecido adiposo ovariano

PAM – pressão arterial média

PAP – pressão arterial pulsátil

pc – peso corporal

P_T – amplitude do sinal

RET – tecido adiposo retroperitoneal

sc – subcutâneo

SNC – sistema nervoso central

SRA – sistema renina-angiotensina

TGL – triacilgliceróis

TTI – teste de tolerância à insulina

VE – ventilação pulmonar

V_c – volume corrente

RESUMO

Nas últimas décadas a obesidade se tornou uma epidemia mundial. Tem sido demonstrado que o excesso de tecido adiposo favorece o desenvolvimento de doenças associadas como a hipertensão arterial, diabetes do tipo II e alterações ventilatórias. Além disso, a obesidade materna pode interferir na programação e no desenvolvimento embrionário, fetal e neonatal do sistema neuroendócrino, aumentando o risco de doenças cardiorrespiratórias desde a infância até a idade adulta. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as respostas cardiovasculares, ventilatórias e metabólicas nas proles jovem (P28-35 e P40) e adulta (P90) de ratas submetidas à dieta hiperlipídica (DH). Para tanto, foram utilizadas ratas Holtzman adultas virgens (240 a 260 g) submetidas à dieta padrão (DP) ou a DH durante um período de 6 semanas antes do cruzamento e também durante os períodos de gestação e de lactação. A prole foi padronizada para 8 filhotes no terceiro dia de vida, os quais foram desmamados no P21 e apenas a prole macho foi utilizada e alimentada com DP desde o momento do desmame até o momento dos experimentos. Na prole jovem (P28-35 e P40) e adulta (P90), foram analisadas: a) perfil metabólico; b) a ingestão alimentar e de água; c) as respostas ventilatórias durante a ativação do quimiorreflexo em condições de hipóxia e de hipercapnia; e c) as alterações na pressão arterial e na frequência cardíaca basais, bem como a sensibilidade do barorreflexo. Os resultados mostraram que a prole jovem de mães alimentadas com DH apresenta várias alterações nos perfis lipídicos e metabólicos, além de uma maior excreção urinária de sódio, um aumento da resposta ventilatória à hipóxia e uma redução da função do barorreflexo. Na prole adulta, parte da função cardiorrespiratória é parcialmente recuperada, embora ainda haja algumas alterações metabólicas, tais como aumento do tecido adiposo e da concentração sérica de triglicerídeos. Além disso, a prole adulta de mães alimentadas com DH apresentam hiperfagia. Os resultados mostram que a prole jovem de mães alimentadas com DH tem alterações autonômicas, ventilatórias e metabólicas. A recuperação parcial da função cardiorrespiratória na prole adulta de mães alimentadas com DH sugere que essas possíveis alterações intrauterinas foram parcialmente corrigidas durante o desenvolvimento pós-natal e foram adequadas na vida adulta.

Palavras-chaves: obesidade, hipóxia, barorreflexo, leptina, hipercapnia, insulina.

ABSTRACT

In recent decades obesity has become a worldwide epidemic. It has been shown that excessive adipose tissue favors the development of associated diseases such as hypertension, type II diabetes and ventilatory changes. In addition, maternal obesity may interfere in the programming and embryonic, fetal and neonatal development of the neuroendocrine system, increasing the risk of cardiorespiratory diseases from infancy to adulthood. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the cardiovascular, ventilatory and metabolic responses in young (P28-35) and adult (P90) offspring of dams submitted to the high fat diet (HFD). Adult Holtzman dams (240 to 260 g) were submitted to standard diet (SD) or HFD for a period of 6 weeks before mating and during gestation and lactation periods. The offspring was standardized for 8 pups on the third day of life, and were weaned at P21 and only male offspring were used and were fed with SD from this period to the end of the experiments. In young offspring (P28-35 and P40) and adult offspring (P90), we analyzed: a) metabolic profile; b) food and water intake; c) ventilatory responses during the activation of chemoreflex under conditions of hypoxia and hypercapnia; and c) changes in baseline blood pressure and heart rate, as well as baroreflex sensitivity. The results showed that young offspring of dams fed HFD present several changes in the lipid and metabolic profiles, as well as a higher urinary sodium excretion, an increase in ventilatory response to hypoxia and a reduction in baroreflex function. In adult offspring, part of the cardiorespiratory function is partially recovered, although there are still some metabolic alterations, such as increase of the adipose tissue and the serum concentration of triglycerides. In addition, adult offspring of dams fed HFD present hyperphagia. The results show that the young offspring of dams fed HFD has autonomic, ventilatory and metabolic alterations. Partial recovery of cardiorespiratory function in adult offspring of dams fed HFD suggests that these possible intrauterine changes were partially corrected during postnatal development and were adequate in adult life.

Keywords: obesity, hypoxia, baroreflex, leptin, hypercapnia, insulin, offspring.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a obesidade tornou-se uma epidemia mundial (NCD-RisC, 2016). Estima-se que aproximadamente 500 milhões de pessoas adultas no mundo sejam obesas, sendo 266 milhões homens e 375 milhões mulheres (NCD-RisC, 2016). No Brasil, segundo os últimos dados divulgados pelo IBGE (IBGE, 2013) a incidência de obesidade é de 20,8% da população adulta, e o sobrepeso, por sua vez, atinge mais da metade (56,9%) dos adultos em todas as regiões do país. A obesidade é de origem multifatorial envolvendo fatores genéticos e epigenéticos, metabólicos e aspectos ambientais relacionados aos hábitos de vida, tais como o aumento da ingestão calórica, a redução do gasto energético e o aumento do estresse crônico (Taylor et al., 2014; Baccarelli et al., 2012; Finucane et al., 2011; Heber, 2010; Ozzane, 2015; Krogh-Madsen et al., 1985; Kyrou and Tsigos, 2008). Apesar de todo o esforço na tentativa de diminuir esses números, a perspectiva para o futuro é de aumento da prevalência de indivíduos com excesso de tecido adiposo (Gregor and Hotamisligil, 2011). Além de ser uma grande ameaça para a saúde da população, a obesidade e doenças associadas tem consequências econômicas que não se limitam aos elevados custos médicos, mas incluem também os custos indiretos ou sociais, tais como: diminuição da qualidade de vida, problemas de ajustes sociais, perda de produtividade, incapacidade com aposentadorias precoces e morte (Bahia and Araújo, 2014).

Estima-se que cada aumento de 10% no índice de massa corporal (calculado pela divisão da massa corporal pela altura ao quadrado), está associado à elevação da pressão arterial sistólica em 3,9 mmHg (Timpson et al., 2009). Nesse contexto, dados da literatura têm demonstrado que a fisiopatologia da co-ocorrência de obesidade e hipertensão tem sido foco de inúmeros estudos nos últimos anos (Erdos et al., 2011; Kloet et al., 2013). De fato, vários fatores que podem interagir entre si têm sido descritos como facilitadores da hipertensão derivada da obesidade. Entre eles podemos citar a ativação do sistema renina-angiotensina (SRA) periférico e no sistema nervoso central (SNC), processo inflamatório crônico de baixa intensidade na periferia e no SNC, maiores níveis de leptina e insulina (Hilzendeger et al., 2012; Sriramula et al., 2013; de Kloet et al., 2014; Xue et al., 2016; Freitas et al., 2007; Speretta et al., 2012; Speretta et al., 2016; Fardin et al., 2012). Esses fatores levam a maior atividade do sistema nervoso simpático (ANS) e/ou reduções na função do

barorreflexo, com conseqüente aumento da pressão arterial (Hall et al., 2013; Aghamohammadzadeh and Heagerty, 2012; Xue et al., 2016; Freitas et al., 2007; Fardin et al., 2012; Arnold et al., 2009; Putnam et al., 2012). A obesidade além de promover hipertensão, também promove alterações na ventilação. Entre os distúrbios respiratórios associados à obesidade destacam-se a síndrome da hipoventilação e a apnéia obstrutiva do sono (O'Donnell et al., 1999; Ozturk et al., 2003). Vários estudos demonstram que há uma relação entre distúrbios respiratórios e maior atividade simpática (Zoccal et al., 2008; Freet et al., 2013; Ghias et al., 2009), uma vez que a ativação dos quimiorreceptores resultada em aumento da pressão arterial devido a ativação simpática (Calvelo et al., 1970; Heistad et al., 1975; Moraes et al., 2012). Esses achados demonstram a importância do estudo da fisiopatologia das alterações cardiovasculares e ventilatórias induzidas pela obesidade.

Em roedores a obesidade pode ser induzida pelo consumo por um período de tempo de uma dieta hiperlipídica (DH) (Smith et al., 2014), por uma dieta padrão (DP) associada a uma solução de frutose (Li et al., 2015), a qual tem sido adicionada sistematicamente em alimentos industrializados e bebidas adoçadas (Hanover and White, 1993) ou por uma DH palatável, que consiste na combinação de DH com carboidratos simples (Speretta et al., 2012; Speretta et al., 2016; Estadella et al., 2004). A DH palatável se assemelha com a DH e hiperglicêmica adotada nas sociedades ocidentais, e estudos em roedores mostram que se consumida durante a gestação pode causar conseqüências na prole (Akyol et al., 2009; Patel et al., 2009). Dados da literatura e do nosso laboratório demonstraram que a ingestão de DH induz alterações metabólicas, tais como hiperlipidemia, hiperleptinemia, hiperinsulenemia, aumento da glicemia, diminuição da sensibilidade à insulina, aumento da ANS, aumento da atividade do SRA periférico, aumento da expressão de componentes do SRA central, redução do barorreflexo e aumento da pressão arterial e alterações ventilatórias (Hall et al., 2010; Speretta et al., 2012; Speretta et al., 2016; Fardin et al., 2012; Boustany et al., 2004; Leite et al., 2013; Guimarães et al., 2014; Speretta et al., 2018).

Sistema renina-angiotensina, leptina e insulina: efeitos cardiorrespiratórios na obesidade

A participação do SRA é essencial na regulação cardiovascular. A angiotensina II (ANG II), um dos componentes finais da cascata do SRA, pode atuar em dois

subtipos de receptores: receptor AT1 e receptor AT2 (Tsutsumi and Saavedra, 1991). Os efeitos clássicos da ANG II, tais como vasoconstrição, secreção de aldosterona, secreção de vasopressina, reabsorção de sódio e água e facilitação simpática, são mediadas pelos receptores AT1 tanto na periferia como no SNC (Iwai and Horiuchi, 2009; Kaschina and Unger, 2003, McKinley et al., 1996; O'Callaghan et al., 1996). Por outro lado, a ANG II pode ter também efeitos opostos às suas ações clássicas citadas acima atuando em receptores AT2 (Gallinat et al., 2000). Por exemplo, Gross et al. (Gross et al., 2000) demonstraram que camundongos *knock-out* para-receptores AT2 tem maiores níveis de pressão arterial basal e a associação do agonista de AT2 (composto 21) com o antagonista de receptores AT1, candasertan, induz uma maior queda da pressão arterial em ratos hipertensos comparados com os efeitos do candasertan sozinho (Bosnyak et al., 2010). Desta forma, parece que a ativação de receptores AT1 e AT2 pela ANG II têm efeitos antagônicos na regulação da pressão arterial. Sendo assim, durante a obesidade, os possíveis efeitos deletérios da maior atividade dos SRA atuando em receptores AT1, podem ser melhorados por um bloqueio de receptores AT1 ou pela ativação de receptores AT2.

Além da maior ativação dos SRA, durante a obesidade ocorre um aumento nos níveis séricos de leptina (Fardin et al., 2012; Haynes et al., 1998; Considine et al., 1996), hormônio produzido pelo tecido adiposo, circula livremente no plasma e atravessa a barreira hematoencefálica por meio de transportadores específicos, tem sua produção aumentada durante a obesidade. Este hormônio atua principalmente em neurônios proopiomelanocorticotrópicos (POMC) no hipotálamo, que uma vez ativados promovem a liberação do hormônio estimulante alfa-melanócito (α -MSH), os quais ativam receptores de melanocortina (MC3/4R) (Hall et al., 2010; Elias et al., 2000). A ativação desse sistema no SNC além de inibir o apetite, promove aumento da atividade simpática, frequência cardíaca, pressão arterial e aumenta a ventilação (Bassi et al., 2015; do Carmo et al., 2016; Bassi et al., 2016). É interessante observar, que indivíduos obesos apresentarem uma resistência a ação da leptina no SNC, o que explicaria o desenvolvimento da obesidade mesmo com altos níveis plasmáticos de leptina, porém a resistência a leptina parece não afetar as vias de modulação da atividade simpática e por isso os indivíduos obesos tornam-se hipertensos (Hall et al., 2010; Considine et al., 1996). De maneira interessante, parece existir uma interação entre o SRA e a ativação do sistema melanocortina ativado pela leptina induzindo aumento da pressão arterial, uma vez que a ativação do SRA aumenta os níveis de

leptina (Cassis et al., 2004) e o bloqueio de receptores AT1 no prosencéfalo reduz o efeito simpatoexcitatório da leptina (Hilzendegeer et al., 2012).

Outros estudos mostram também uma relação entre leptina e respostas ventilatórias. Ratos Zucker obesos, um modelo animal experimental de obesidade que apresenta mutações no receptor de leptina, apresentam respostas diminuídas da quimiossensibilidade central e periférica tanto ao estímulo de hipercapnia quanto ao estímulo de hipóxia (Nakano et al., 2002). Ademais, camundongos ob/ob, que são deficientes em leptina são caracterizados por terem uma ventilação basal diminuída além de uma resposta ventilatória diminuída ao estímulo de hipercapnia, o que pode ser restaurado por reposição sistêmica (O'Donnell et al., 2000) ou central de leptina (Bassi et al., 2012). Estudos recentes demonstraram que a ventilação pode ser aumentada após administração intravenosa de leptina ou que ratos tratados com DH por 6 semanas, que apresentam hiperleptinemia, tem aumento da frequência respiratória e aumento da atividade do músculo abdominal à hipercapnia (Speretta et al., 2018). Em conjunto, esses dados sugerem que a leptina age também modulando a ventilação basal e as respostas ventilatórias. Estudos com indivíduos obesos que apresentam com apnéia obstrutiva do sono, uma disfunção respiratória bastante comum na obesidade, tem uma maior concentração plasmática de leptina em comparação a indivíduos obesos não apnéicos, sugerindo uma possível resistência a função da leptina sobre o controle ventilatório desses pacientes (Ozturk et al., 2002).

Outras características bastante prevalentes na obesidade são a alta concentração de insulina plasmática e a resistência à insulina. Sugere-se que a hiperinsulinemia pode estar associada às alterações ventilatórias presentes na obesidade (revisão em Conde et al. 2014). Dados de Ribeiro et al, 2013 demonstraram que ratos tratados com dieta rica em sacarose ou DH apresentavam hiperinsulinemia associada a um aumento da ventilação basal e o aumento da resposta ventilatória à hipóxia isquêmica, as quais são revertidas após a ressecção do corpúsculo carotídeo, que contem receptores de insulina. Desta forma, esses autores sugerem que a insulina pode ativar o corpúsculo carotídeo, aumentando a ventilação e a resposta ventilatória à hipóxia. Além de alterar a ventilação, vários estudos tem demonstrado que a insulina agindo no SCN aumenta a ANS lombar e a pressão arterial (Muntzel et al., 1994; Mayer et al., 2013), e que parte deste efeito parece ser dependente de uma maior ativação do SRA central pela insulina (Muntzel et al., 2004).

Durante a hipertensão associada à obesidade, a sensibilidade dos barorreceptores está diminuída (Fardin et al., 2012; Guimarães et al., 2014). O prejuízo na função barorreflexa pode ser crítica para o desenvolvimento/manutenção da hipertensão, uma vez que uma redução no ganho do barorreflexo pode contribuir para o aumento da atividade simpática e hipertensão (Lohmeier et al., 2004). Um possível mecanismo para o prejuízo do barorreflexo presente na obesidade é a leptina. Fardin et al., 2012 demonstraram que ratos alimentados com dieta hiperlipídica (obesos) apresentaram prejuízo da função barorreflexa após 20 semanas de tratamento. Esse prejuízo parece ser devido à ação da leptina, pois após a injeção de leptina em ratos controle ocorreu um comprometimento da função barorreflexa. Além da leptina, ANG II pode ser um outro possível mecanismo para o prejuízo do barorreflexo na obesidade, uma vez que ratos obesos tem redução da função barorreflexa associada a um aumento da expressão de receptores AT1 no núcleo do trato solitário (NTS) (Speretta et al., 2016), e a ativação desses receptores no NTS pela ANG II, promove uma redução da sensibilidade do barorreflexo (Michelini and Bonagamba, 1990; Kasparov et al., 1998).

Obesidade materna e impacto sobre a pressão arterial e ventilatória da prole

A perpetuação do ciclo de obesidade tem sido demonstrada, uma vez que pais obesos tem uma maior probabilidade de ter crianças obesas (Ozanne, 2015; Patel et al., 2015). Desta forma, nos últimos anos, vários estudos têm descrito que eventos vivenciados *in utero* ou durante a vida perinatal (gestação, lactação e primeira infância) podem afetar o desenvolvimento dos órgãos e sistemas, levando a um maior risco de desenvolvimento de hipertensão arterial e obesidade na vida adulta da prole (Taylor et al., 2014; Baccarelli and Ghosh, 2012; Ozanne, 2015; Taylor and Poston, 2007; Dearden and Ozanne, 2015).

Durante o período pré- e pós-natal, o SNC está em fase de desenvolvimento e amadurecimento neuronal. Modificações durante essa fase podem influenciar de forma permanente as conexões neuronais, comprometendo as funções neurovegetativas e aumentando a possibilidade de aparecimento de doenças na idade adulta. Essas modificações podem ocorrer através dos mecanismos epigenéticos como, por exemplo, o desenvolvimento de hipertensão arterial, alterações na atividade ventilatória e obesidade (Taylor et al., 2014; Baccarelli and Ghosh, 2012; Mehler, 2008; de Brito Alves et al., 2015; Guimarães et al., 2017; Ideraabdullah and Zeisel,

2018). Essas modificações estão associadas a mecanismos epigenéticos - alterações no processo de transcrição gênica, induzida por fatores externos, sem qualquer modificação na sequência de nucleotídeos do DNA – os quais perduram mesmo com a retirada do estímulo externo (Ozanne, 2015; Patel et al., 2015; Mehler, 2008; Barker et al., 1989). Os mecanismos epigenéticos ocorrem através de metilação do DNA, de modificações na cromatina e também de formação micro-RNAs, que são RNAs não codificantes. Nesse sentido, os mecanismos epigenéticos alteram a expressão do gene e são herdáveis (transmitidos durante as divisões celulares). Existem evidências científicas mostrando que hábitos da vida e o ambiente social em que uma pessoa está inserida podem modificar o funcionamento de seus genes. Muitos estudos têm demonstrado que as modificações epigenéticas são provocadas por fatores ambientais como alimentação, bebidas alcoólicas, cigarro, atividade física e estresse (Ozanne, 2015; Bianco-Miotto et al., 2017).

A programação fetal e neonatal estão intimamente ligadas à essas modificações epigenéticas, pois elas podem ocorrer tanto no útero materno quanto no período de amamentação do recém-nascido. A alimentação da mãe pode alterar de maneira permanentemente ou não as conexões neuronais, comprometendo as funções neurovegetativas e aumentando a possibilidade de aparecimento de determinadas doenças na idade adulta (Ideraabdullah and Zeisel, 2018). A formação do embrião depende da captação de sinais pelas células, sinais estes que podem vir de dentro das próprias células, de células vizinhas (incluindo as células da mãe) e do meio externo (do ambiente). Os sinais recebidos pelas células irão determinar não somente a morfologia e fisiologia do futuro embrião e indivíduo, mas também o seu comportamento. Assim, as células respondem a diversos estímulos: nutrientes, hormônios, sinais físicos e comportamentais. Para que todos esses sinais tenham reflexos na molécula de DNA sob a forma de modificações epigenéticas, eles precisam atingir o núcleo da célula.

Experimentalmente tem sido descrito que a prole (P30) de ratas tratadas antes (5 semanas) e durante a gestação e lactação com DH apresentam aumento na pressão arterial, provavelmente devido a uma maior atividade simpática (Samuelsson et al., 2010). Nestes mesmos animais o efeito pressor da leptina exógena estava aumentado e a sensibilidade ao barorreflexo estava diminuída (Samuelsson et al., 2010). Guimarães et al., 2017 demonstraram que as proles adultas (P90) de mães alimentadas com dieta dislipidêmica durante a gestação e a lactação apresentaram

maior pressão arterial média e maiores respostas ventilatórias à hipercapnia e à hipóxia citotóxica (0,4% KCN). A prole de ratas obesas também tem um comprometimento da barreira hematoencefálica em áreas hipotalâmicas (Kim et al., 2016), em especial na região do núcleo arqueado do hipotálamo (centro regulador do peso corporal em resposta ao gasto energético do organismo). Esse comprometimento da barreira hematoencefálica pode comprometer a permeabilidade de moléculas transportadoras pelo sangue. Assim, temos um possível novo mecanismo pela qual o risco de obesidade e de distúrbios metabólicos aumenta na prole de mães obesas.

2 OBJETIVOS

A fim de nos ajudar a compreender melhor os efeitos da obesidade materna na função cardiorrespiratória e metabólica na prole, os objetivos do presente estudo foram avaliar as alterações cardiovasculares, ventilatórias e metabólicas na prole jovem (P28-35 e P40) e na prole adulta (P90) de ratas submetidas à DH.

3 MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas ratas adultas virgens Holtzman (240 a 260 g) procedentes do Biotério do Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista – UNESP. Os animais foram mantidos em caixas plásticas, em salas climatizadas (temperatura de $23 \pm 2^{\circ}$ C e umidade de $50 \pm 10\%$), com ciclo claro-escuro de doze horas (luzes acesas das 07:00 h às 19:00 h). As ratas foram submetidas à DH para indução da obesidade materna ou DP para controle e também tiveram livre acesso à água. A Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista aprovou todos os protocolos experimentais utilizados (Proc. CEUA 26/2016).

3.2 Dieta hiperlipídica para indução de obesidade

Duas dietas foram utilizadas na presente investigação, DP e DH palatável. A DP foi composta por ração balanceada da marca SOCIL (Neovia Nutrição e Saúde Animal, Descalvado, SP, Brasil) contendo: 23 g de proteína, 49 g de carboidrato, 4 g de gordura e 5 g de fibras (por 100 g de dieta), conforme fornecido pelo fabricante (Figura 1A). A DH foi composta por núcleo de ração concentrado adicionado de mix de minerais/vitaminas (PragSoluções Biociências, Jaú, SP, Brasil), amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito de maisena, na proporção de 3:2:2:1 segundo descrito anteriormente (Figura 1B), segundo descrito anteriormente (Speretta et al., 2012; Speretta et al., 2016; Estadella et al., 2004). Todos os componentes desta dieta foram moídos, misturados, adicionado água (200-250 mL/Kg de mistura) e oferecidos aos animais em forma de pellets. Foi realizado exame bromatológico para avaliar a quantidade dos macronutrientes, dos micronutrientes e de fibras da dieta, além da densidade calórica da mesma. A DH continha: 22,30 g de proteína, 40,80 g de carboidrato, 24,50 g de gordura total, 5,90 g de fibra (por 100 g de dieta). Os valores calóricos das dietas foram de aproximadamente 3,24 kcal/g para o DP e de 4,73 kcal/g para o DH.

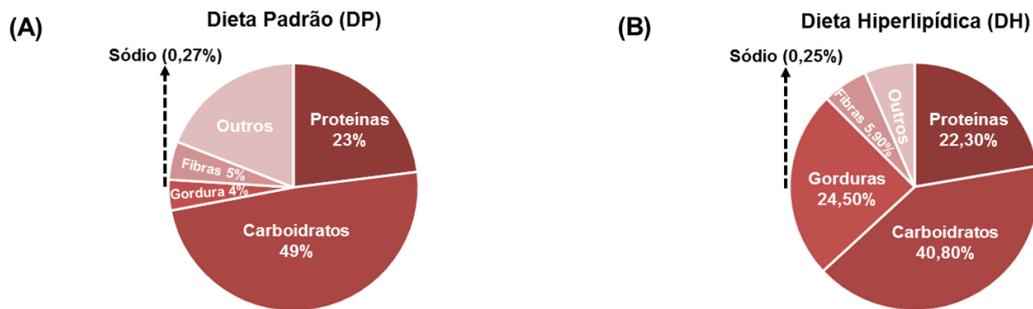


Figura 1 – Composição nutricional das dietas utilizadas neste trabalho. (A) Dieta padrão e (B) dieta hiperlipídica. Outros: matéria mineral. Os resultados são apresentados em porcentagem.

3.3 Drogas

As drogas utilizadas foram cianeto de potássio, fenilefrina e nitroprussiato de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) diluídas em salina (NaCl 0,15 M).

3.4 Anestesia e eutanásia

Para todas as cirurgias, os animais foram anestesiados intraperitonealmente (ip) com cetamina (80 mg/kg de peso corporal (pc); Cristália, Itapira, SP, Brasil) combinada com xilazina (7 mg/kg de p.c.; Agener União, Embu-Guaçu, SP, Brasil). Durante a cirurgia, o nível de anestesia foi monitorado, verificando o a reação ao reflexo de retirada ao pinçamento da pata e foi ajustado, se necessário. Ao final da cirurgia, os animais receberam uma dose profilática de antibiótico intramuscular (im) (benzilpenicilina – 80,000 UIs e estreptomicina – 33 mg; Pentabiótico Veterinário – Pequeno Porte, Ford Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, Brasil) e de anti-inflamatório subcutânea (sc) (cetoprofeno 1% - 0,03 mL/rato; Ketoflex, Mundo Animal, São Paulo, Brasil) para prevenir infecção e dor/inflamação pós-operatórios. Os ratos foram eutanasiados colocando-os sob anestesia profunda com isoflurano (4% em O₂ a 100%) ou tiopental sódico (70 mg/kg de pc, ip), com exceção de um grupo de fêmeas que foram rapidamente decapitadas sem anestesia para coletar sangue de tronco para análise de renina, pois os níveis/a atividade da renina podem ser alterados com anestesia (Carvalho and Cherkes, 1982).

3.5 Canulação da artéria e veia femorais para registros basais e para o teste dos reflexos

Os animais foram anestesiados conforme descrito acima e um cateter de polietileno PE-10, o qual foi conectado com um tubo de polietileno PE-50, foi inserido na aorta abdominal através da artéria femoral para registro da pressão arterial pulsátil (PAP), a PAM e a FC. Um segundo cateter foi inserido na veia femoral para administração dos fármacos, como descrito anteriormente (Blanch et al., 2014; Freiria-Oliveira et al., 2013). Os cateteres foram conduzidos *sc* e foram exteriorizados no dorso do animal. A canulação foi realizada 24 horas antes do registro. No dia do experimento, a cânula arterial foi conectada a um transdutor de pressão (P23 DB, Stathan, Costa Mesa, CA, USA) acoplado a um pré-amplificador (ETH-200 Bridge Bio Amplifier, Chicago, IL, USA) e ao sistema de registro computadorizado Powerlab para aquisição de análise de dados (model Powerlab 16SP, ADInstruments, Colorado Springs, CO, USA). A PAM foi calculada a partir da PAP. A FC foi calculada com a frequência instantânea do sinal da PAP.

A função barorreflexa foi também avaliada em animais acordados. Após um período basal de 30 minutos de registro dos parâmetros cardiovasculares, os animais receberam infusões intravenosas (iv) de fenilefrina (fenilefrina, 20 ou 50 µg/mL, para prole jovem e adulta respectivamente) ou nitroprussiato de sódio (NPS, 50 ou 400 µg/mL, para prole jovem e adulta respectivamente) para testar as respectivas respostas reflexas da FC ao estímulo pressor (resposta reflexa bradicárdica) e depressor (resposta reflexa taquicárdica). As infusões foram feitas com bomba de infusão (HARVARD APPARATUS, Holliston, Massachusetts, EUA) na velocidade 2,10 mL/min para ninhadas jovens ou 1,10 mL/min para ninhadas adultas. O tempo de infusão foi no máximo 40 segundos ou até a PAM atingir o platô. Foram analisadas as alterações de FC a cada 10 mmHg de alteração da PAM em resposta as injeções de fenilefrina e NPS. As alterações foram analisadas a cada 10 mmHg, considerando o intervalo de 10 a 40 mmHg de resposta pressora e hipotensora, tomando-se sempre a medida da FC 0,8 s após o pico da PAM (Speretta et al., 2016; Blanch et al., 2004. Freiria-Oliveira et al., 2013). Os valores foram tabelados, foi realizada a regressão linear para cada animal, e a inclinação de cada regressão linear foi utilizada para calcular as diferenças entre os grupos.

3.6 Registro da pressão arterial e frequência cardíaca por telemetria

As variáveis cardiovasculares, pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), foram monitoradas continuamente em ratas acordadas através de transdutores de telemetria (modelo TA11PA-C40; Data Sciences Int., St. Paul, MN, USA), que foram implantados na aorta abdominal descendente, contra o fluxo sanguíneo das ratas antes do início do tratamento com DP ou com DH. As ratas foram anestesiadas conforme descrito acima; a seguir, foram posicionadas em uma mesa cirúrgica e foi feita uma laparotomia. Foi feita uma incisão na superfície ventral do animal e a aorta abdominal foi isolada para inserção dos transmissores de telemetria. Em seguida, a incisão foi suturada e as ratas foram tratadas com antibiótico e anti-inflamatório conforme descrito acima.

3.7 Medida da ingestão alimentar, da ingestão de água e da excreção urinária

Para a medida da ingestão alimentar, de água e da excreção urinária, os animais foram colocados em uma gaiola metabólica por 24 h. Para a ingestão alimentar, uma quantidade pré-pesada de ração foi oferecida aos animais e após 24 h, a quantidade de ração ingerida foi subtraída da quantidade de ração pré-pesada. A ingestão de água de cada animal foi registrada usando buretas de polipropileno graduadas em 1 ml, totalizando uma capacidade de 100 ml. A urina foi coletada, por gravidade, em um tubo de polipropileno graduado em 0,1 ml. As concentrações de sódio e potássio na urina foram analisadas em fotômetro de chama e as excreções de sódio e potássio foram calculadas pelo produto da concentração de cada íon pelo volume urinário.

3.8 Medidas de ventilação pulmonar

As medidas de ventilação pulmonar (VE) foram obtidas por pletismografia de corpo inteiro (Bartlett and Tenney, 1970). Este método é baseado no princípio de que um animal, dentro de uma câmara vedada, teve seu volume de ar corrente inspirado aquecido, da temperatura da câmara à temperatura corporal e saturado com vapor de água; enquanto na expiração, seu volume de ar corrente foi esfriado até a temperatura da câmara, havendo perda de vapor de água. Estas situações de aquecer e umedecer o ar inspirado e de esfriar e desidratar o ar expirado foram acompanhadas por pequenas mudanças de pressão, que podem ser detectadas por um transdutor sensível. A câmara de acrílico, onde o animal foi colocado e pode se mover livremente, teve conexão com o transdutor diferencial de pressão e com outra câmara de

referência, a qual evita artefatos de medida provocados pela variação de pressão dentro do laboratório, como a abertura de portas. Além disto, a câmara estava equipada com um termômetro e uma seringa para calibração. Durante as medidas de ventilação, o fluxo foi interrompido e a câmara selada por curtos períodos de tempo (~ 2 min) e as oscilações na temperatura do ar causadas pela respiração puderam ser medidas como oscilações na pressão. Os sinais detectados pelo transdutor diferencial de pressão foram coletados por um registrador o qual estava conectado a um conversor analógico-digital. Isto permitiu a digitalização dos sinais em um microcomputador, utilizando um programa de aquisição de dados. Os dados foram analisados através de um programa de cálculos, permitindo a obtenção da frequência respiratória (f_R) e da amplitude do sinal (P_T). O volume corrente (V_T) foi calculado através da fórmula descrito em (Bartlett and Tenney, 1970). A calibração do volume foi feita antes e durante cada experimento por injeção na câmara de uma quantidade conhecida de ar (1 ml) usando uma seringa graduada. A VE foi calculada multiplicando o V_T pela f_R . Segundo (Bartlett and Tenney, 1970), medidas diretas de VE por pneumotacografia resultam em valores bastante próximos daqueles obtidos por pletismografia.

Resumidamente, os ratos foram aclimatados a uma câmara de pletismografia (5 L) por 30 minutos. Após esse período, as portas de saída ou entrada para gás na câmara foram fechadas para produzir um volume constante interno e as gravações foram realizadas por 1 minuto. A temperatura da câmara ficou em torno de 1 ° C acima da temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), com variação não significativa ao longo do período (5 min) em que todas as medidas foram feitas. A temperatura retal foi constante e não foram observadas alterações significativas entre os grupos. Os sinais de frequência respiratória (f_R) e volume corrente (V_C) foram medidos por mudanças na pressão no interior da câmara devido a mudanças de temperatura e umidificação nos gases inspirados/expirados. Um espirômetro (modelo ML141; AD Instruments, Colorado Springs CO, EUA) foi usado para medições, e os sinais foram analisados usando o software Powerlab (Ad Instruments, Colorado Springs, CO, EUA). O sistema foi calibrado com injeções de 1 mL de ar ambiente com o animal dentro da câmara de pletismografia. Ventilação por minuto foi relatada como o produto de f_R e V_T .

As medidas da VE basal foram obtidas com os animais respirando ar ambiente antes de serem expostos a uma hipercapnia (7% CO₂ + 21% O₂ + 72% N₂) ou a uma

hipóxia (10% O₂ + 90% N₂) como descrito anteriormente (Bassi et al., 2015; Taxini et al., 2017). Os ratos foram expostos a hipercapnia ou hipoxia durante 5 min antes das medições, que foram feitas durante 1 minuto adicional no final da hipercapnia ou hipóxia.

Após a medida da VE basal em ratos inteiros, foi utilizada hipóxia hipóxica (10% O₂) para estimular os quimiorreceptores periféricos ou hipercapnia (7% CO₂) para estimular os quimiorreceptores centrais. Após esses estímulos, que tiveram duração de 5 min cada um, a VE foi medida conforme descrito acima.

3.9 Teste de tolerância à insulina

A sensibilidade à insulina foi medida pelo teste de tolerância à insulina (TTI) e a constante de velocidade de desaparecimento de glicose no plasma (Kitt) foi calculada usando a fórmula de $0,693/\text{meia-vida biológica } (t_{1/2})$. O $t_{1/2}$ da glicemia foi calculado a partir da inclinação da análise dos quadrados mínimos da concentração de glicose no plasma durante a fase linear de declínio (Bonora et al., 1989; Delbin et al., 2012). Os animais foram submetidos a um TTI após 8 horas de jejum. A insulina humana recombinante (Novolin R, Novo Nordisk, Montes Claros, MG, Brasil) foi administrada ip numa dose de 1,0 UI/kg e amostras de sangue foram coletadas em 0 (antes da insulina), 5, 10, 15, 20, 30 e 60 min após a insulina da veia da cauda e a glicemia foi medida usando tiras de teste padrão (One Touch UltraMini/Johnson & Johnson, Milpitas, CA, EUA). O TTI é expresso como Kitt (%/min), ou seja, a porcentagem da redução da concentração de glicose no plasma por minuto (Delbin et al., 2012).

3.10 Coleta de sangue e de tecidos adiposos

O sangue troncular foi coletado em tubo sem anti-coagulante para medidas de perfil lipídico, glicose (GLI), leptina e insulina e em tubo com anti-coagulate (EDTA) para medidas de renina. Os tubos com os sangues foram centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. As concentrações séricas de triacilgliceróis (TGL), colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL) e glicose (GLI) foram determinadas enzimaticamente (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil), utilizando equipamento de automação (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA). Além disso, as concentrações de renina, de leptina e de insulina foram analisadas utilizando teste fluorométrico (para a análise de renina) ou kits ELISA (para a análise de leptina e de insulina), disponíveis comercialmente, seguindo as instruções do fabricante

(ANASPEC, Fremont, CA, USA para renina, MILLIPORE, Billerica, MA, USA for leptina e ALPCO para insulina Salem, NH, USA).

Por fim, os tecidos adiposos retroperitoneal (RET), mesentérico (MES), ovariano (OVA) para fêmeas e epididimal (EPI) para machos foram retirados e pesados, de acordo com as descrições de Cinti (Cinti, 2005).

3.11 Análise estatística

Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA de duas vias seguida pelo pos-teste de Bonferroni ou Student-Newman-Keuls ou test *t* de Student foram utilizados para comparações. Em todas as comparações, as diferenças foram consideradas significativas com $p < 0,05$.

3.12 Protocolos experimentais

3.12.1 Efeitos da dieta hiperlipídica sobre a adiposidade, o perfil lipídico, os níveis hormonais e a pressão arterial em ratas não progenitoras

As ratas foram divididas em dois grupos: um grupo foi alimentado com DH e outro, com DP durante 6 semanas (ratas não progenitoras). Ao final desse período de tratamento, as ratas foram submetidas a 8 horas de jejum para realização de TTI. Após um período de 48 horas para recuperação, as ratas foram submetidas a 12 horas de jejum e foram anestesiadas com isoflurano para então serem decapitadas e o sangue troncular foi coletado para posterior análise dos níveis séricos de TGL, CT, HDL, GLI, leptina e insulina. Por fim, os tecidos adiposos também foram coletados e pesados, conforme descrito acima.

Dois outros grupos extras de ratas tiveram o mesmo tratamento com DH ou com DP e após o período de 6 semanas foram decapitadas sem anestesia e o sangue troncular foi coletado para posterior análise do nível plasmático de renina.

Além disso, outro grupo de ratas, todas inicialmente alimentadas com DP, passou por implante de transmissores de telemetria na aorta abdominal, conforme descrito acima. Uma semana após a cirurgia, as ratas foram separadas em dois grupos: um grupo foi alimentado com DH e outro grupo, com DP. A PAM e a FC foram registradas continuamente (taxa de amostragem de 1 kHz; 10 s a cada 5 minutos) por um período de 24 horas, uma vez por semana. O primeiro registro foi realizado 1 semana antes do início do tratamento e por até 7 semanas (período de tratamento), totalizando 8 semanas de registro.

3.12.2 Efeitos da dieta hiperlipídica sobre a adiposidade, o perfil lipídico e os níveis hormonais em ratas progenitoras

Um grupo de ratas foi submetido à DH ou DP por 6 semanas. Após esse período, a fêmea foi colocada com o macho por um período de 3 semanas para cruzamento (1 fêmeas para 1 macho). Após essas 3 semanas, as ratas foram transferidas para caixas individuais e continuaram a ser alimentadas com DH ou DP durante todo o período de gestação e lactação. Os machos, por sua vez, foram sacrificados com uma sobredose anestésica de tiopental sódico, como descrito acima. Após 72 horas do nascimento, a prole foi padronizada para 8 animais. Utilizamos somente os machos de cada prole para os experimentos, enquanto que as fêmeas foram utilizadas apenas para manutenção no número de cada prole, conforme demonstrado anteriormente (de Brito Alves et al., 2015). Toda a prole foi desmamada aos 21 dias de idade (P21). As fêmeas da prole foram sacrificadas com uma sobredose anestésica de tiopental sódico, conforme descrito acima e os machos foram alimentados com DP até o dia dos experimentos (descritos abaixo). Após o período de lactação, as mães foram submetidas a 8 horas de jejum para realização de TTI. Após um período de 48 horas para recuperação, as mães foram submetidas a 12 horas de jejum e foram anestesiadas com isoflurano para então serem decapitadas e o sangue troncular foi coletado para posterior análise dos níveis séricos de TGL, CT, HDL, GLI, leptina e insulina. Por fim, os tecidos adiposos também foram coletados e pesados, conforme descrito acima.

3.12.3 Efeitos sobre as respostas metabólicas, cardiovasculares e ventilatórias na prole jovem de ratas alimentadas com DH

Proles jovens (P28-35) foram separadas em dois grupos: proles jovens de mães alimentadas com DH (PJ-DH) e proles jovens de mães alimentadas com DP (PJ-DP). Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas por um período de 2 dias para medidas de ingestão de ração, ingestão de água, volume urinário e excreção urinária de Na⁺ e K⁺. Posteriormente, os animais foram submetidos a 8 horas de jejum para realização de TTI. Após um período de 48 horas para recuperação, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum e foram anestesiados com isoflurano para então serem decapitados e o sangue troncular foi coletado para posterior análise dos níveis séricos de TGL, CT, HDL, GLI, leptina e insulina. Por fim, os tecidos adiposos também foram coletados e pesados, conforme descrito acima.

Em dois outros grupos de prole jovem (PJ-DH e PJ-DP) com P40, a VE foi medida durante condições de normóxia, hipóxia e hipercapnia e o barorreflexo foi testado por administração intravenosa de fenilefrina (20 µg/mL) e NPS (50 µg/mL) em ratos acordados e com livre movimentação. O intervalo entre cada estímulo foi de no mínimo de 10 min ou até o animal voltar ao valor de VE basal.

3.12.4 Efeitos sobre as respostas metabólicas, cardiovasculares e ventilatórias na prole adulta de ratas alimentadas com DH

Proles adultas (P90) foram separadas em dois grupos: proles adultas de mães alimentadas com DH (PA-DH) e proles adultas de mães alimentadas com DP (PA-DP). Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas por um período de 2 dias para medidas de ingestão de ração, ingestão de água, volume urinário e excreção urinária de Na⁺ e K⁺. Posteriormente, os animais foram submetidos a 8 horas de jejum para realização de TTI. Dois dias depois, a VE foi medida durante condições de normóxia, hipóxia e hipercapnia e o barorreflexo foi testado por administração intravenosa de fenilefrina (50 µg/mL) e nitroprussiato de sódio (NPS; 400 µg/mL) em ratos acordados e com livre movimentação. O intervalo entre cada estímulo foi de no mínimo 10 minutos ou até os valores de PAM e de FC voltarem aos basais. Após um período de 24 horas para recuperação, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum e foram anestesiados com isoflurano para então serem decapitados e o sangue troncular foi coletado para posterior análise dos níveis séricos de TGL, CT, HDL, GLI, leptina e insulina. Por fim, os tecidos adiposos também foram coletados e pesados, conforme descrito acima.

4 RESULTADOS

4.1 Peso corporal, perfis lipídico e metabólico nas ratas alimentadas com DH

Tanto as ratas não progenitoras alimentadas com DH (Figura 2A) quanto as ratas progenitoras alimentadas com DH (Figura 2B) apresentaram uma maior ingestão alimentar diária na primeira semana de tratamento em relação às ratas alimentadas com DP, o que não foi diferente nas semanas seguintes. Apenas as ratas não progenitoras alimentadas com DH apresentaram diferenças na ingestão alimentar diária também na quinta e na sexta semanas de tratamento quando comparadas com as ratas alimentadas com DP. Em relação à kcal ingeridas durante o período de tratamento, tanto as ratas não progenitoras alimentadas com DH (Figura 3A) quanto as ratas progenitoras (Figura 3B) alimentadas com DH ingeriram maior kcal por todo o período em relação às ratas alimentadas com DP.

Durante tanto o período de tratamento, tanto as ratas não progenitoras alimentadas com DH quanto as ratas progenitoras alimentadas com DH apresentaram maior peso corporal (Figuras 4A e 4B) e maior ganho de peso corporal (Figuras 5A e 5B).

As ratas que foram alimentadas com DH por 6 semanas (ratas não progenitoras) apresentaram maior peso corporal, tecido adiposo, concentrações séricas de HDL, leptina, insulina, glicose e uma resistência à insulina (todos $p < 0,05$), Tabela 1. A concentração plasmática de renina foi maior nas ratas alimentadas com DH quando comparadas com as ratas alimentadas com DP ($0,30 \pm 0,04$, vs. DP = $0,15 \pm 0,01$ μM ; Figura 6A) e houve uma tendência à maior atividade da renina plasmática nas ratas alimentadas com DH quando comparadas com as ratas alimentadas com DP ($0,74 \pm 0,02$ vs. DP = $0,55 \pm 0,11$ $\mu\text{M/h}$; $p = 0,0514$; Figura 6B). As fêmeas alimentadas com DH não tiveram alteração na PAM na fase clara [$F(1,56) = 0,00297$; $p > 0,05$], nem na fase escura [$F(1,56) = 0,0918$; $p > 0,05$; Figuras 7A e 7B) ao longo das 7 semanas de tratamento. No entanto, a FC foi aumentada em ambas as fases nas ratas alimentadas com DH quando comparadas com as ratas alimentadas com DP [$F(1,56) = 27,944$; $p < 0,05$ e $F(1,56) = 49,701$; $p < 0,05$; Figuras 7C e 7D) durante as fases clara e escura, respectivamente.

As fêmeas que foram alimentadas com DH por 6 semanas e durante a gestação e lactação (ratas progenitoras), após o período de lactação, apresentaram maior peso corporal, tecido adiposo e concentração sérica de leptina (todos $p < 0,05$), Tabela 1.

Concentrações séricas de HDL, colesterol total, TGL, glicose e insulina e resistência à insulina foram semelhantes aos das ratas alimentadas com DP (todos $p < 0,05$), Tabela 1.

Tabela 1: Perfis lipídico e metabólico nas ratas alimentadas com DH por 6 semanas (não progenitoras) ou nas ratas alimentadas com DH por 6 semanas antes e durante a gestação e a lactação (progenitoras).

	Não progenitoras		Progenitoras	
	DP	DH	DP	DH
Peso corporal (g)	275.40 ± 6.44 (n = 7)	315.70 ± 5.21* (n = 11)	291.10 ± 4.07 (n = 16)	310.60 ± 3.77* (n = 25)
Tecido adiposo ovariano (g/100 g de pc)	1.08 ± 0.16 (n= 7)	2.08 ± 0.14* (n = 11)	0.68 ± 0.06 (n = 16)	1.29 ± 0.07* (n = 25)
Tecido adiposo retroperitoneal (g/100 g de pc)	0.66 ± 0.09 (n= 7)	1.26 ± 0.09* (n = 11)	0.56 ± 0.07 (n = 16)	1.11 ± 0.08* (n = 25)
Tecido adiposo mesentérico (g/100 g de pc)	0.32 ± 0.06 (n= 7)	0.65 ± 0.08* (n = 11)	0.28 ± 0.04 (n = 16)	0.41 ± 0.06 (n = 25)
HDL (mg/dL)	43.79 ± 2.92 (n= 5)	52.34 ± 2.12* (n = 10)	45.00 ± 3.25 (n = 8)	49.50 ± 3.60 (n = 16)
Colesterol total (mg/dL)	67.72 ± 4.53 (n= 5)	77.03 ± 4.21 (n = 10)	85.71 ± 4.38 (n = 13)	89.38 ± 3.80 (n = 19)
TGL (mg/dL)	63.31 ± 5.34 (n= 5)	47.50 ± 2.79* (n = 10)	71.77 ± 5.07 (n = 13)	58.77 ± 6.05 (n = 19)
Glicose (mg/dL)	102.10 ± 9.33 (n= 5)	117.70 ± 1.51* (n = 9)	114.00 ± 5.30 (n = 7)	119.00 ± 2.90 (n = 16)
Leptina (ng/mL)	1.08 ± 0.21 (n= 5)	2.91 ± 0.34* (n = 10)	0.72 ± 0.14 (n = 13)	1.82 ± 0.23* (n = 19)
Insulina (ng/mL)	0.23 ± 0.04 (n= 5)	0.35 ± 0.03* (n= 9)	0.29 ± 0.03 (n= 8)	0.22 ± 0.02 (n= 15)
Kitt (%/min)	2.26 ± 0.12 (n= 4)	1.76 ± 0.07* (n= 8)	1.64 ± 0.32 (n= 8)	1.75 ± 0.19 (n= 9)

Kitt (%/min) representa a taxa de decaimento da glicemia após uma administração de insulina intraperitoneal (1 UI/mL/kg). Os resultados são apresentados como média ± EPM; teste *t* de Student foi usado entre os grupos DP e DH das ratas não progenitoras e progenitoras; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

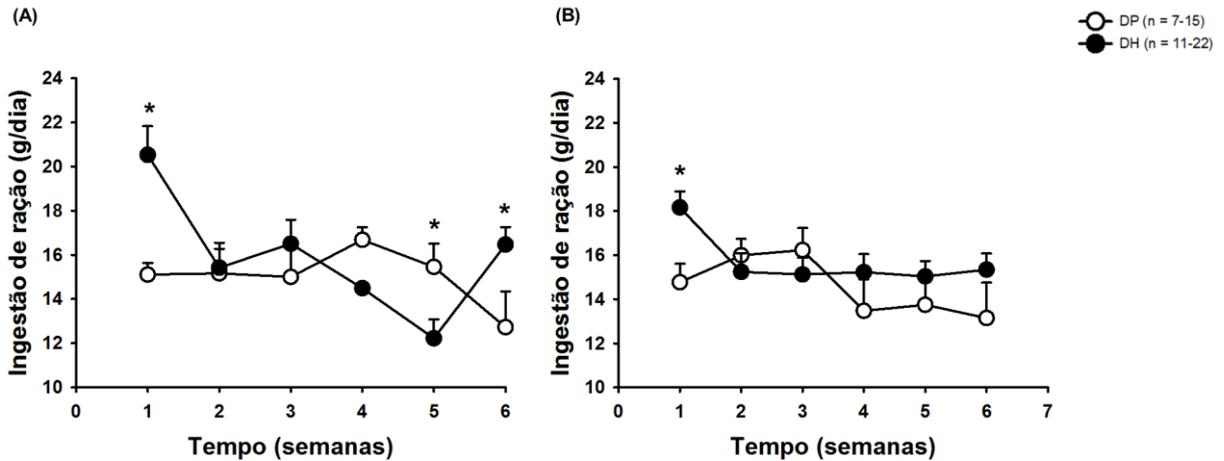


Figura 2 – Ingestão alimentar durante o período de tratamento em (A) ratas não progenitoras e em (B) ratas progenitoras. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

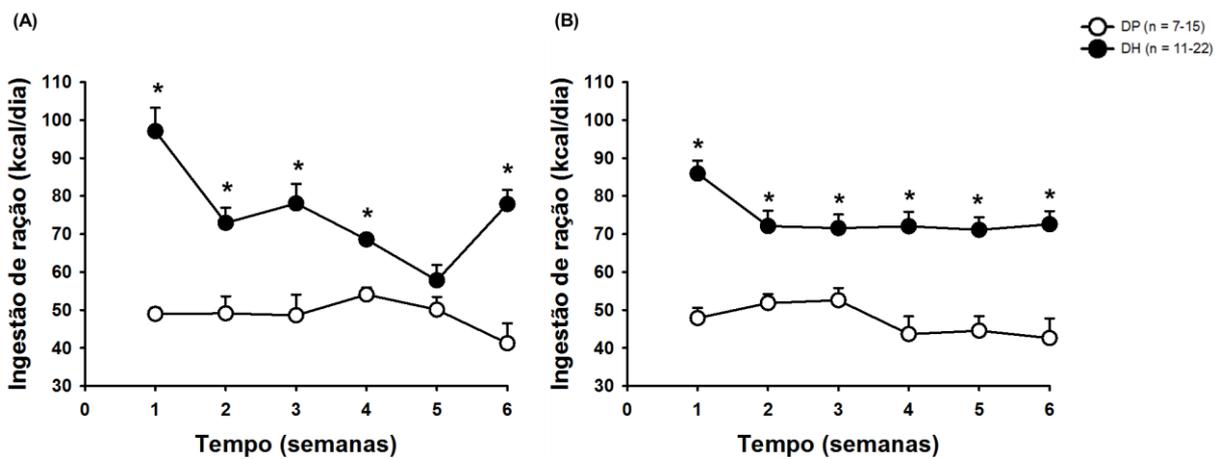


Figura 3 – Kcal ingeridas durante o período de tratamento pelas (A) ratas não progenitoras e pelas (B) ratas progenitoras. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

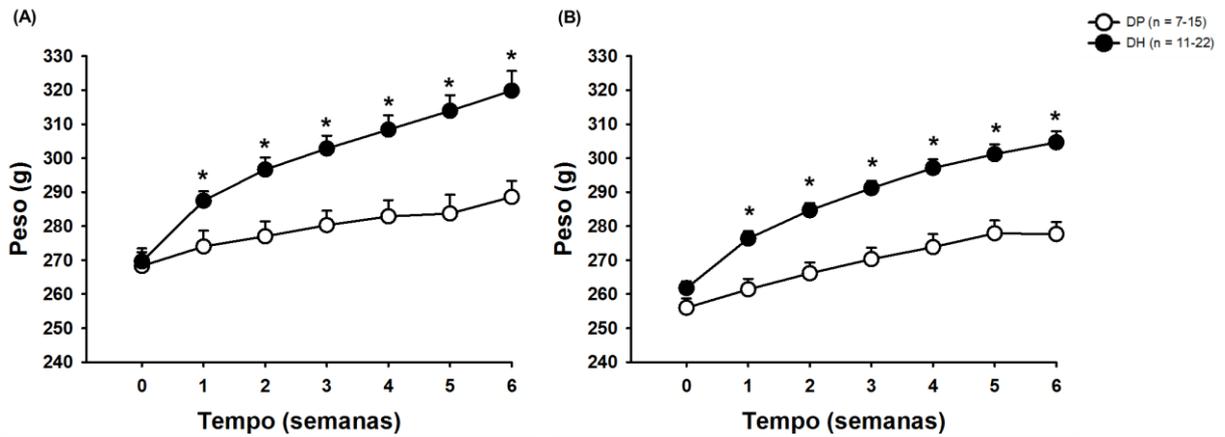


Figura 4 – Peso das (A) ratas não progenitoras e das (B) ratas progenitoras durante o período de tratamento. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

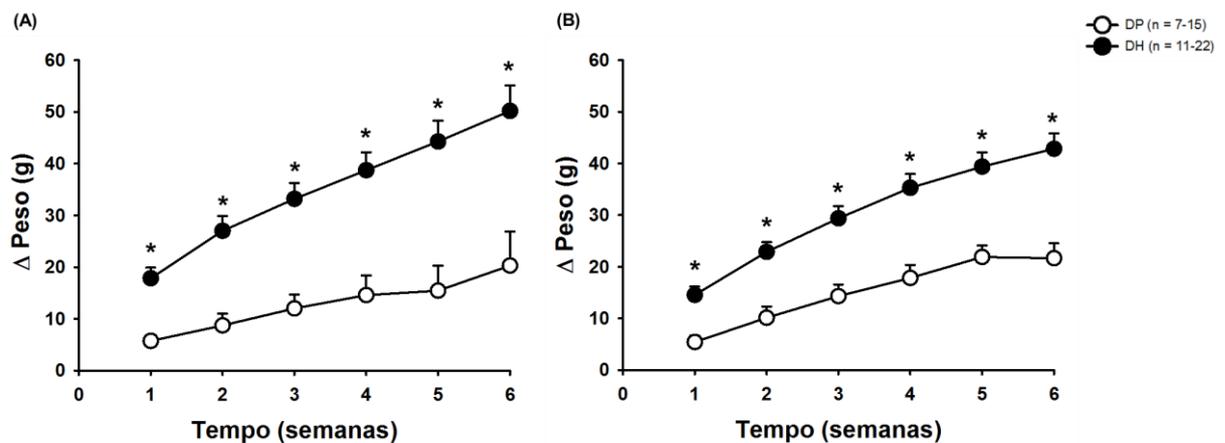


Figura 5 – Ganho de peso das (A) ratas não progenitoras e das (B) ratas progenitoras durante o período de tratamento. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

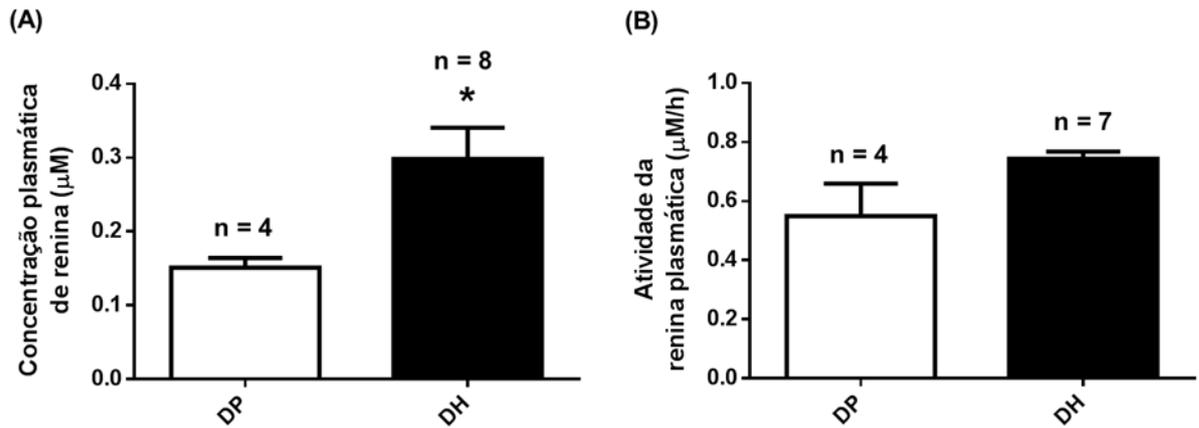


Figura 6 – (A) Concentração plasmática de renina e (B) atividade da renina plasmática nas ratas não progenitoras. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

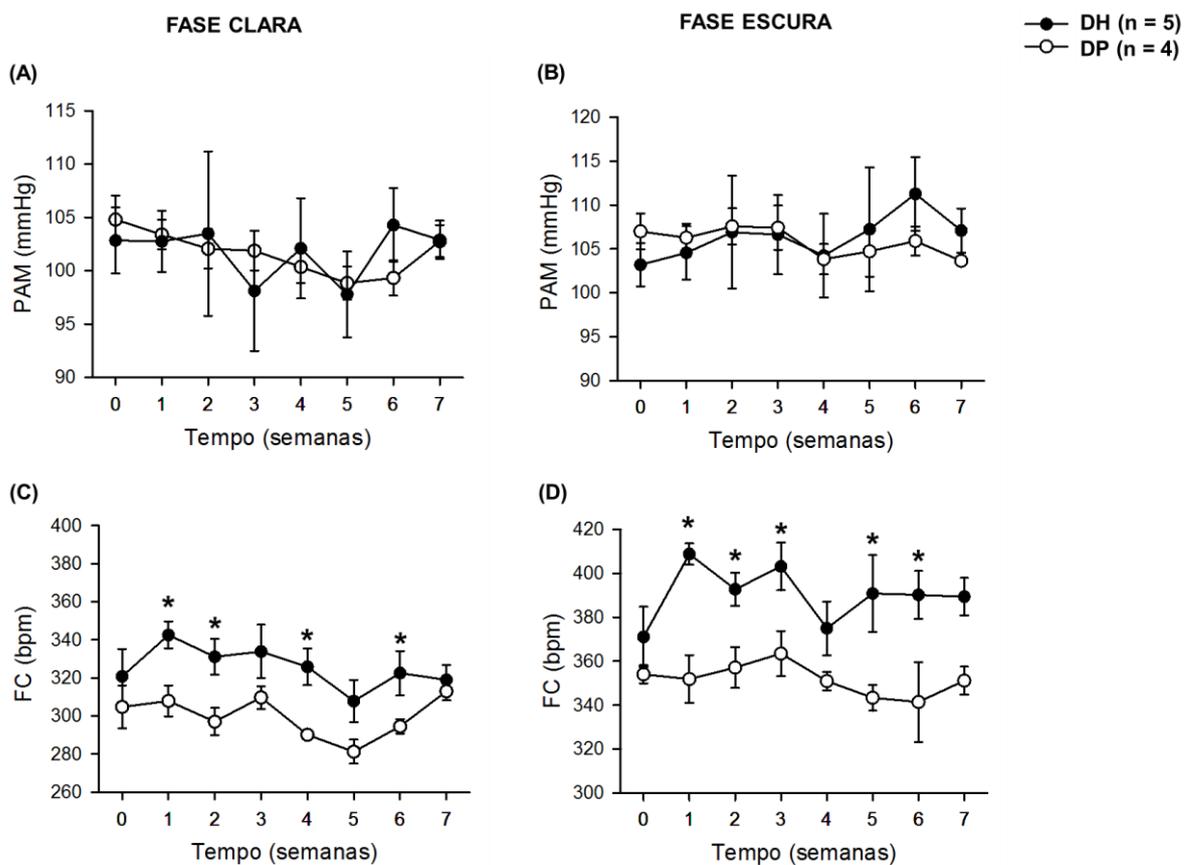


Figura 7 – Valores de PAM (mmHg) e FC (bpm) das ratas não progenitoras por 7 semanas, registrados nas fases clara (A e C) e escura (B e D). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; ANOVA de duas vias, seguida pelo teste Student-Newman-Keuls; * $p < 0,05$ vs. DP; n indica o número de animais por grupo.

4.2 Efeitos da obesidade materna na prole jovem

4.2.1 Efeito da obesidade materna no peso corporal, perfis lipídico e metabólico na prole jovem de ratas alimentadas com DH

Tanto no terceiro dia de vida (P3), Figura 8A e Tabela 2, quanto na semana dos experimentos (P28-35), Figura 8B e Tabela 2, a PJ-DH apresentou menor peso corporal quando comparadas com a PJ-DP (todos $p < 0,05$).

A PJ-DH apresentou maiores quantidades relativas (g/100 g de pc) significativas de EPI (Figura 9A e Tabela 2), RET (Figura 9B e Tabela 2) e MES (Figura 9C e Tabela 2) quando comparadas com a PJ-DP (todos $p < 0,05$).

As proles jovens não apresentaram diferenças significativas nas concentrações séricas de HDL ($p = 0,7673$; Figura 10A e Tabela 2) nem de CT ($p = 0,6584$; Figura 10B e Tabela 2). Já a concentração sérica de TGL foi maior na PJ-DH quando comparada com a PJ-DP ($p < 0,05$; Figura 10C e Tabela 2). Em relação à concentração sérica de GLI, a PJ-DH teve uma diminuição na concentração quando comparada com a PJ-DP ($p < 0,05$; Figura 10D e Tabela 2).

As proles jovens mostraram valores comparáveis de concentrações séricas de leptina, Figura 11A e Tabela 2, e de insulina, Figura 11B e Tabela 2 (todos $p < 0,05$).

A PJ-DH mostrou-se resistência à insulina, apresentando menor valor de Kitt quando comparada com a PJ-DP ($p < 0,05$; Figura 12 e Tabela 2).

Tabela 2: Perfis lipídico e metabólico das proles jovens de ratas alimentadas com DH.

	PJ-DP	PJ-DH
Peso corporal - P3 (g)	9,79 ± 0,15 (n = 82)	8,68 ± 0,16* (n = 119)
Peso corporal - P28-35 (g)	103,80 ± 3,55 (n = 17)	91,26 ± 2,62* (n = 23)
Tecido adiposo epididimal (g/100 g de pc)	0,14 ± 0,01 (n = 17)	0,20 ± 0,01* (n = 23)
Tecido adiposo retroperitoneal (g/100 g de pc)	0,10 ± 0,01 (n = 17)	0,23 ± 0,03* (n = 23)
Tecido adiposo mesentérico (g/100 g de pc)	0,11 ± 0,01 (n = 17)	0,21 ± 0,03* (n = 23)
HDL (mg/dL)	40,90 ± 3,50 (n = 11)	42,16 ± 2,54 (n = 16)
Colesterol total (mg/dL)	90,19 ± 6,44 (n = 14)	87,31 ± 2,71 (n = 18)
TGL (mg/dL)	111,20 ± 13,40 (n = 14)	168,80 ± 10,75* (n = 17)
Glicose (mg/dL)	106,60 ± 5,58 (n = 10)	91,62 ± 3,41* (n = 15)
Leptina (ng/mL)	0,06 ± 0,02 (n = 9)	0,06 ± 0,01 (n = 15)
Insulina (ng/mL)	0,13 ± 0,03 (n = 8)	0,13 ± 0,03 (n = 13)
Kitt (%/min)	2,25 ± 0,15 (n = 12)	1,28 ± 0,30* (n = 10)

Kitt (%/min) representa a taxa de decaimento da glicemia após uma administração de insulina intraperitoneal (1 UI/mL/kg). Os resultados são apresentados como média ± EPM; teste *t* de Student foi usado entre os grupos DP e DH das proles jovens; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

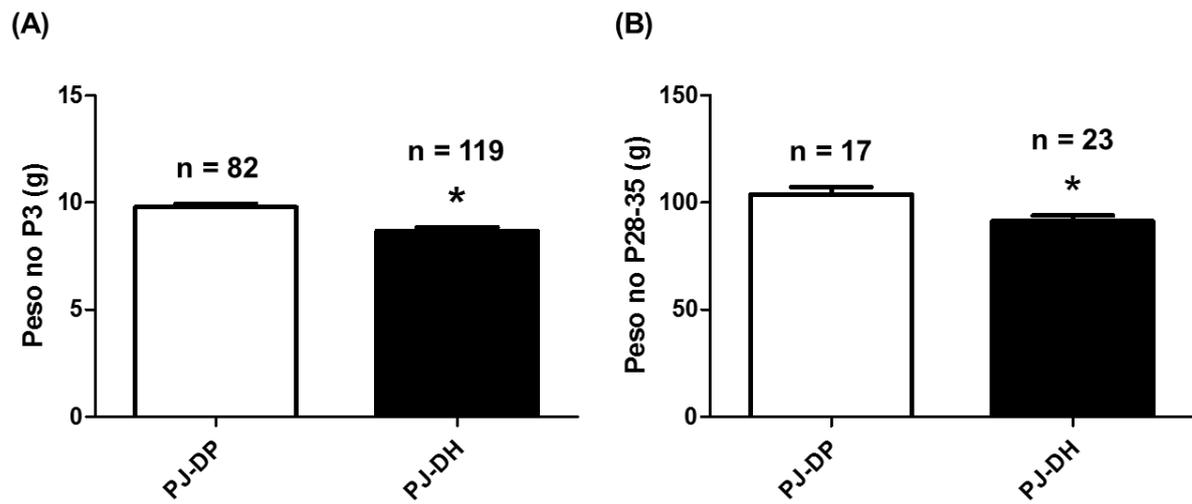


Figura 8 – (A) Peso das proles jovens no terceiro dia de vida (P3) e (B) na semana dos experimentos (P28-35). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

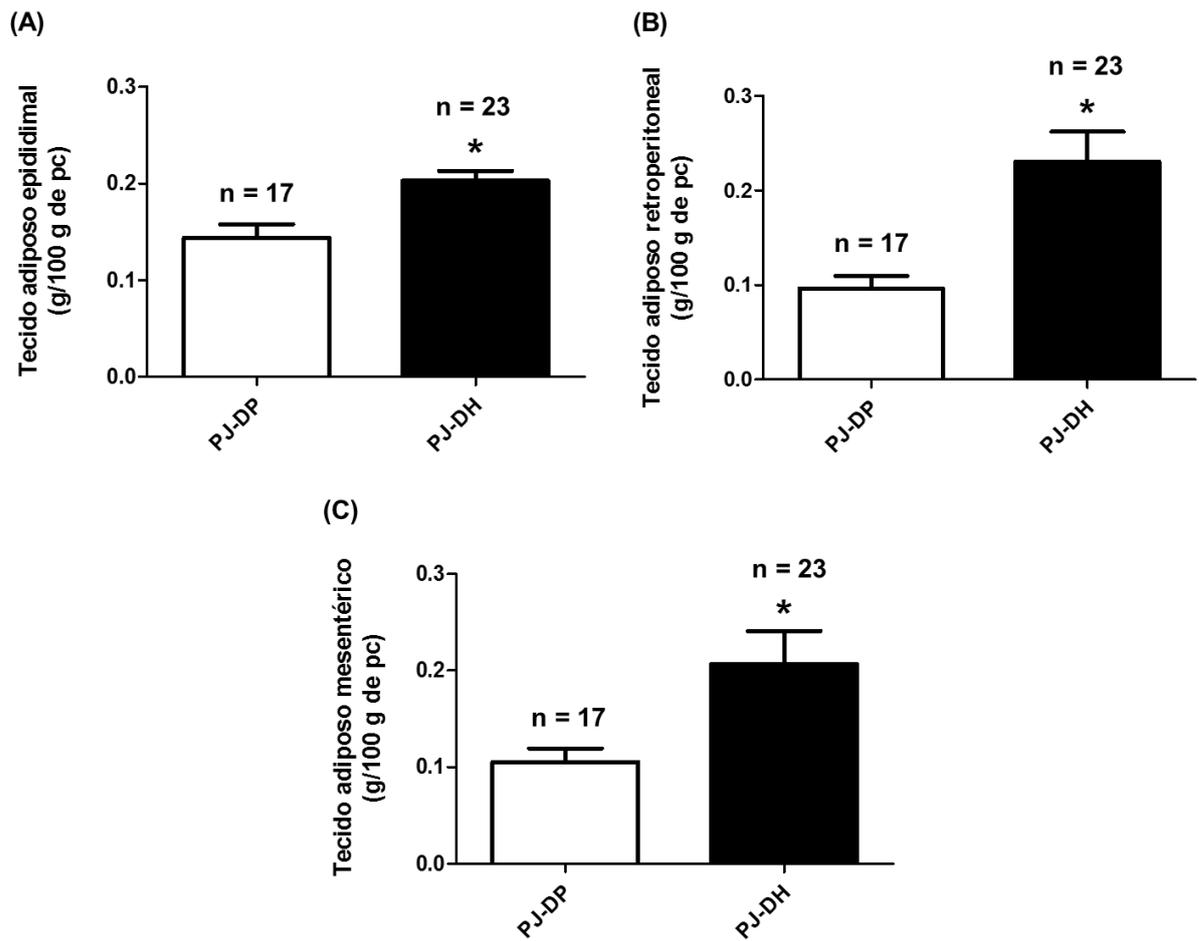


Figura 9 – (A) Quantidade relativa (g/100 g de pc) de tecido adiposo epididimal, (B) retroperitoneal e (C) mesentérico das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

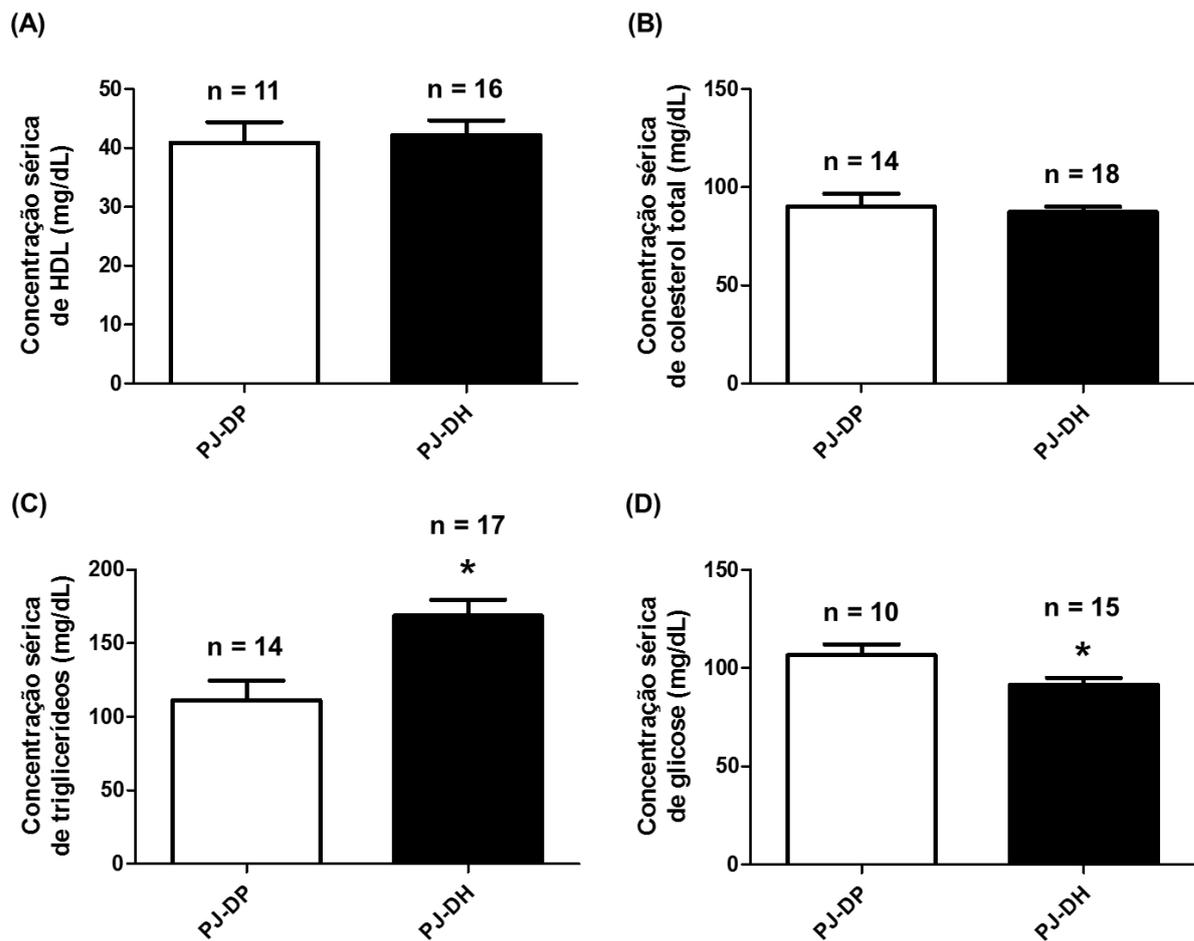


Figura 10 – (A) Concentração sérica de HDL, (B) CT, (C) TGL e (D) GLI das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

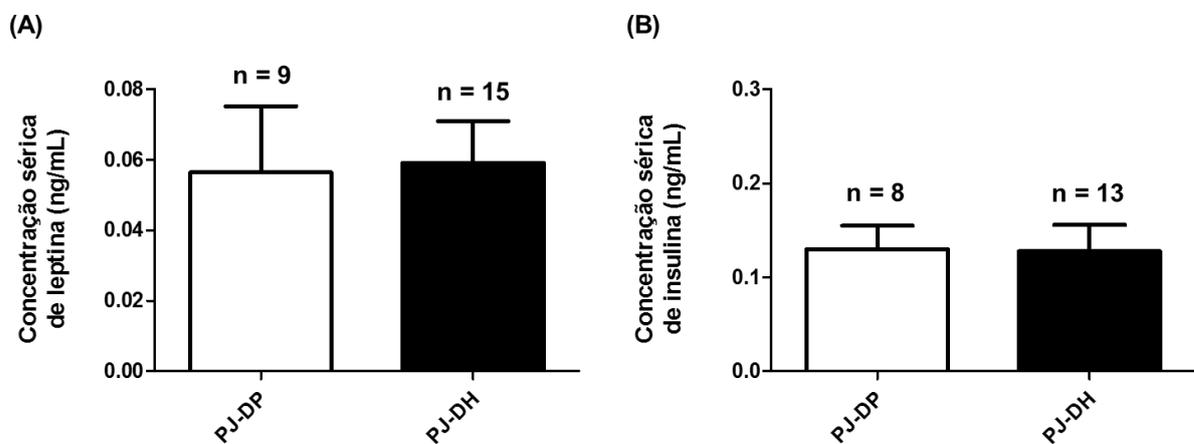


Figura 11 – (A) Concentração sérica de leptina e (B) de insulina das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

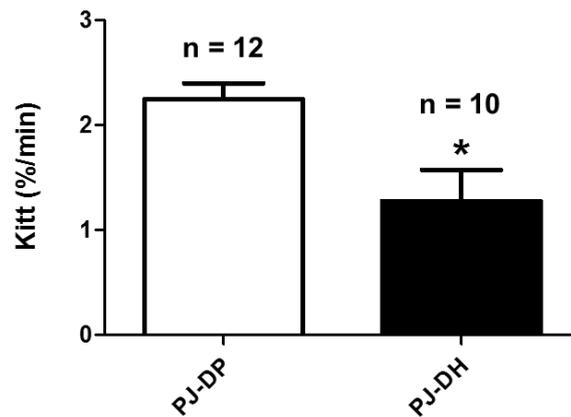


Figura 12 – Kitt (%/min - taxa de decaimento da glicemia) nas proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

4.2.2 Efeito da obesidade materna na ingestão diária de água e ração alimentar na prole jovem de ratas alimentadas com DH

Tanto a ingestão diária de ração ($15,71 \pm 0,64$ vs. PJ-DP: $16,38 \pm 0,49$ g/24 h; $p = 0,4337$; Figura 13A) quanto a ingestão diária de água ($26,67 \pm 1,06$ vs. PJ-DP: $26,33 \pm 1,67$ mL/24 h; $p = 0,8634$; Figura 13B) das proles jovens não foi significativamente diferente entre os grupos.

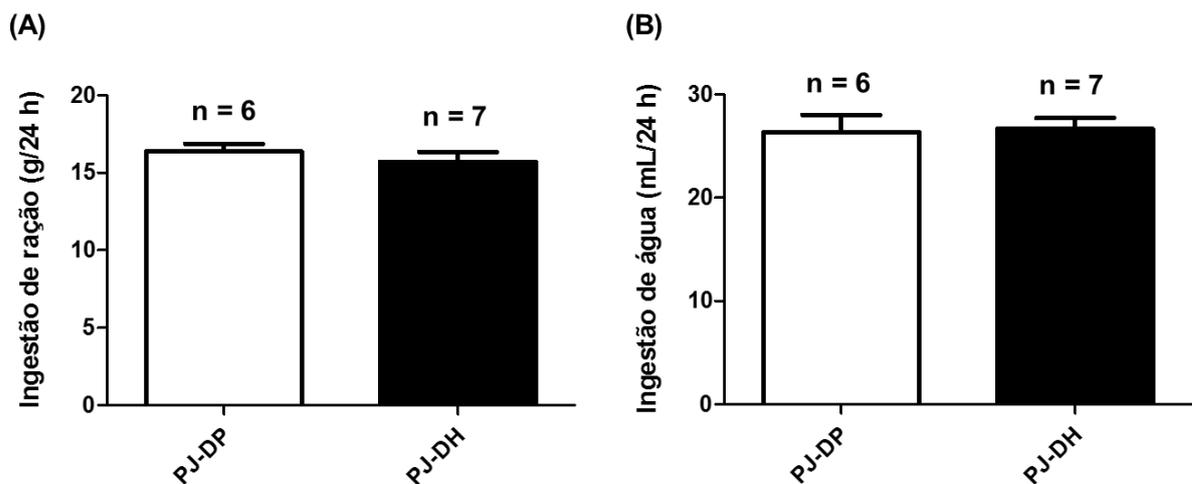


Figura 13 – (A) Ingestão diária de ração e (B) de água das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

4.2.3 Efeito da obesidade materna na excreção renal na prole jovem de ratas alimentadas com DH

As proles jovens apresentaram semelhanças no volume urinário de 24 horas ($3,26 \pm 0,22$ vs. PJ-DP: $4,03 \pm 0,71$ mL/24 h; $p = 0,3943$; Figura 14A) e na excreção urinária de potássio ($248,00 \pm 11,64$ vs. PJ-DP: $279,30 \pm 40,35$ μ Eq/24 h; $p = 0,5577$; Figura 14C). Em relação à excreção urinária de sódio, PJ-DH mostrou um aumento significativo quando comparada com PJ-DP ($650,50 \pm 33,21$ vs. PJ-DP: $535,60 \pm 32,42$ μ Eq/24 h; $p < 0,05$; Figura 14B).

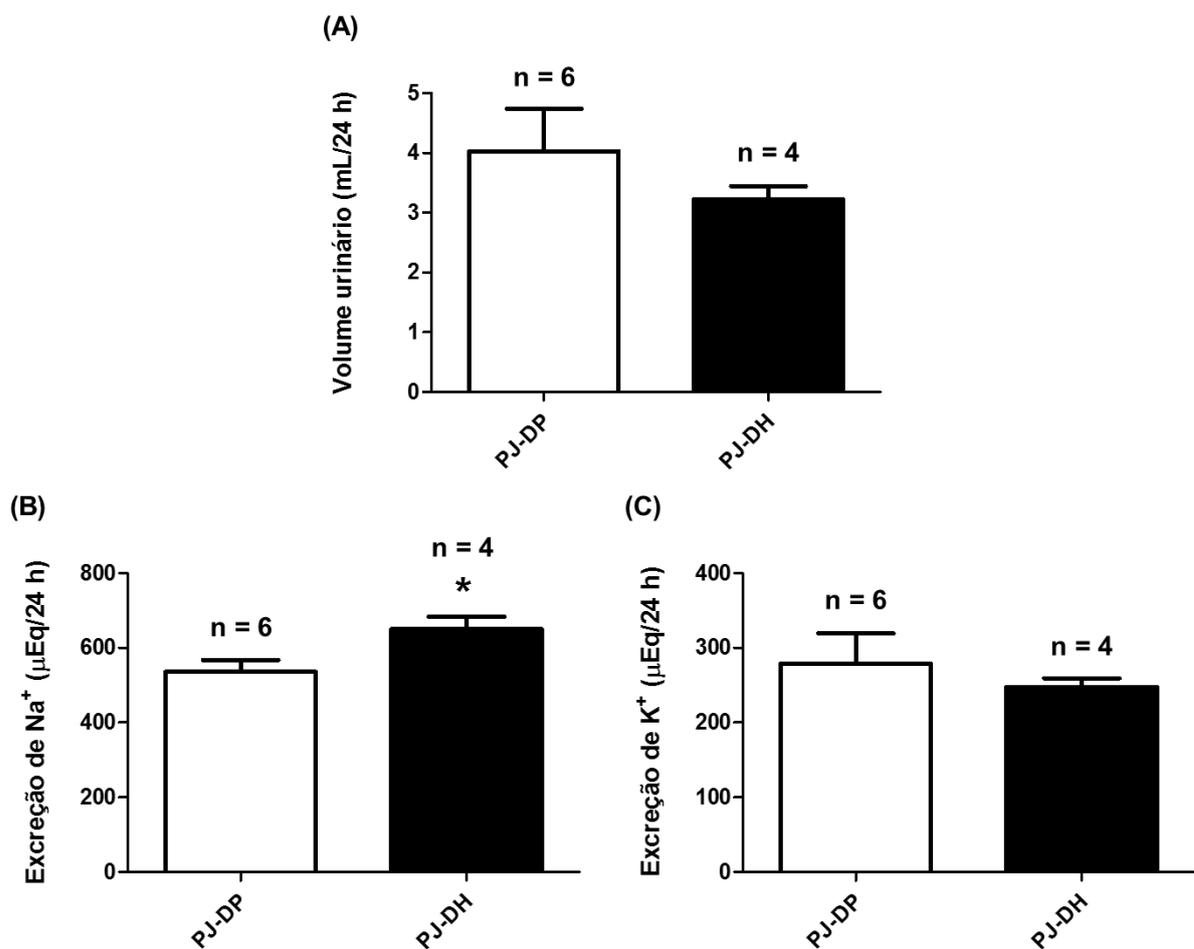


Figura 14 – (A) Volume urinário de 24 horas, (B) excreção urinária de sódio e (C) de potássio nas proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

4.2.4 Efeito da obesidade materna nas respostas ventilatórias na prole jovem de ratas alimentadas com DH

Como podemos observar, PJ-DH apresentou maior ventilação basal [F (1,24) = 8,32; $p < 0,05$], devido ao maior volume corrente basal [F (1,24) = 5,026; $p < 0,05$] em comparação com a PJ-DP, Figuras 15A e 15C. A frequência respiratória basal foi comparável entre os grupos, Figura 15B. Dados semelhantes podem ser observados na Figura 16. Tanto a PJ-DH quanto a PJ-DP tiveram um aumento comparável na resposta ventilatória à hipercapnia (7% de CO₂), [F (1, 24) = 0,4852; $p > 0,05$], Figura 15A. Em relação à hipóxia (10% O₂), a PJ-DH apresentou maior resposta ventilatória [F (1, 24) = 17,55; $p < 0,05$], Figura 16A devido ao maior volume corrente [F (1, 23) = 12,06; $p < 0,05$], Figura 16C. Não houve diferença significativa na frequência respiratória entre os grupos durante o estímulo hipóxico, Figura 16B.

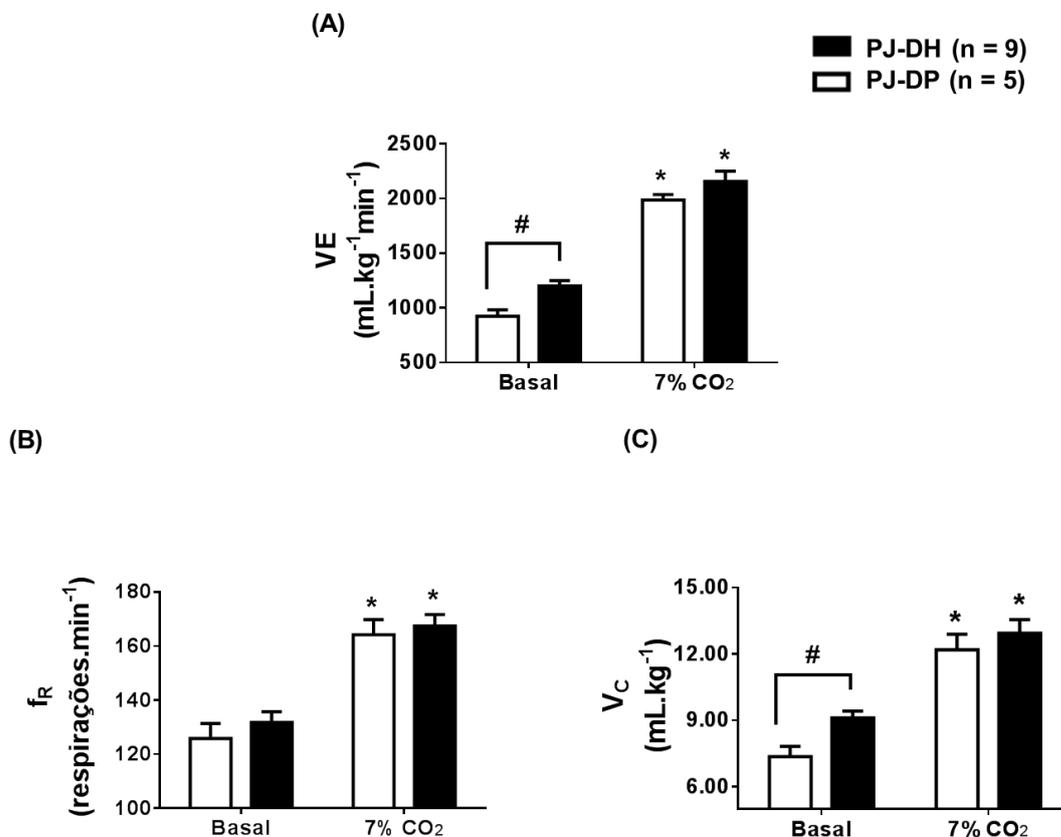


Figura 15 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipercapnia no ar inspirado (7% de CO₂) de proles jovens (P40). Os resultados são apresentados como média ± SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

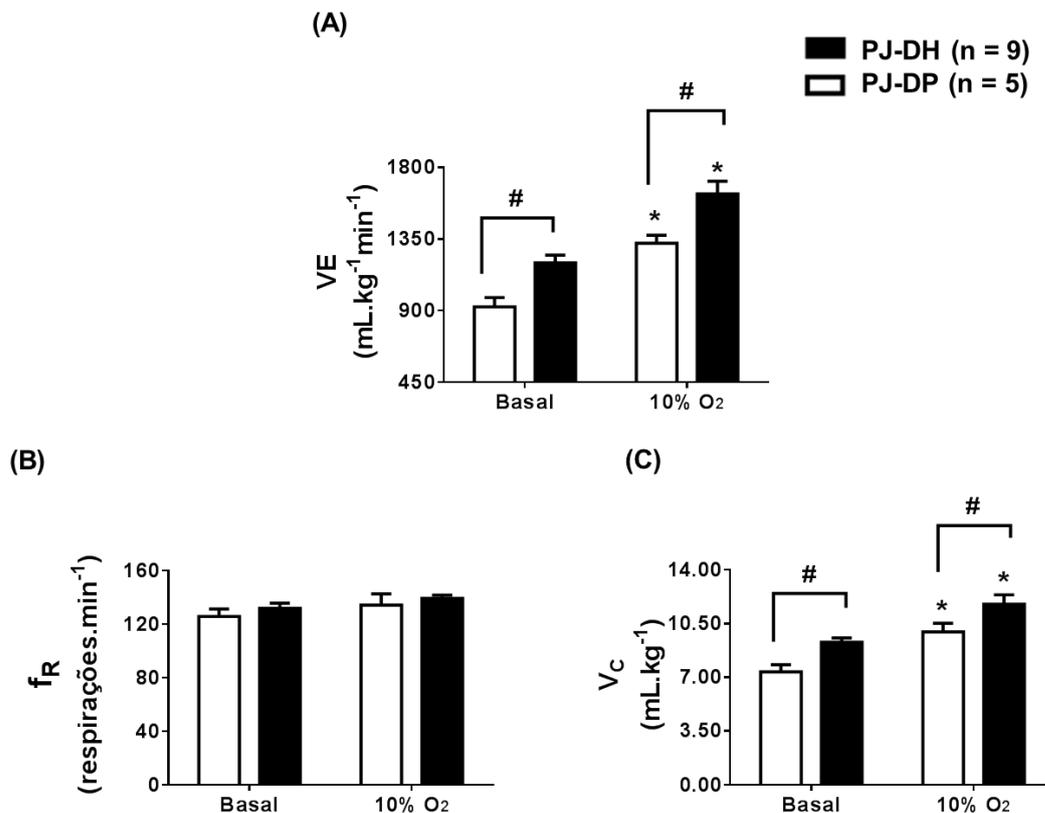


Figura 16 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipóxia no ar inspirado (10% de O_2) de proles jovens (P40). Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

4.2.5 Efeito da obesidade materna nos parâmetros cardiovasculares observado na prole jovem de ratas alimentadas com DH

A PAM basal (PJ-DH: $82,80 \pm 2,42$, vs. PJ-DP: $80,14 \pm 2,31$ mmHg; $p > 0,05$; Figura 17A) e FC basal (PJ-DH: $440,20 \pm 21,48$, vs. PJ-DP: $429,30 \pm 14,18$ bpm; $p > 0,05$; Figura 17B) não foram diferentes entre os grupos, mas a sensibilidade barorreflexa foi alterada em PJ-DH, com uma resposta bradicárdica prejudicada em PJ-DH (PJ-DH slope: $-0,7050 \pm 0,1801$ vs. PJ-DP slope: $-1,857 \pm 0,5728$ bpm/mmHg, $p < 0,05$) e uma resposta taquicárdica comprometida em PJ-DH (PJ-DH slope: $-1,475 \pm 0,1780$ vs. PJ-DP: $-2,680 \pm 0,1518$ bpm/mmHg, $p < 0,05$), Figura 17C.

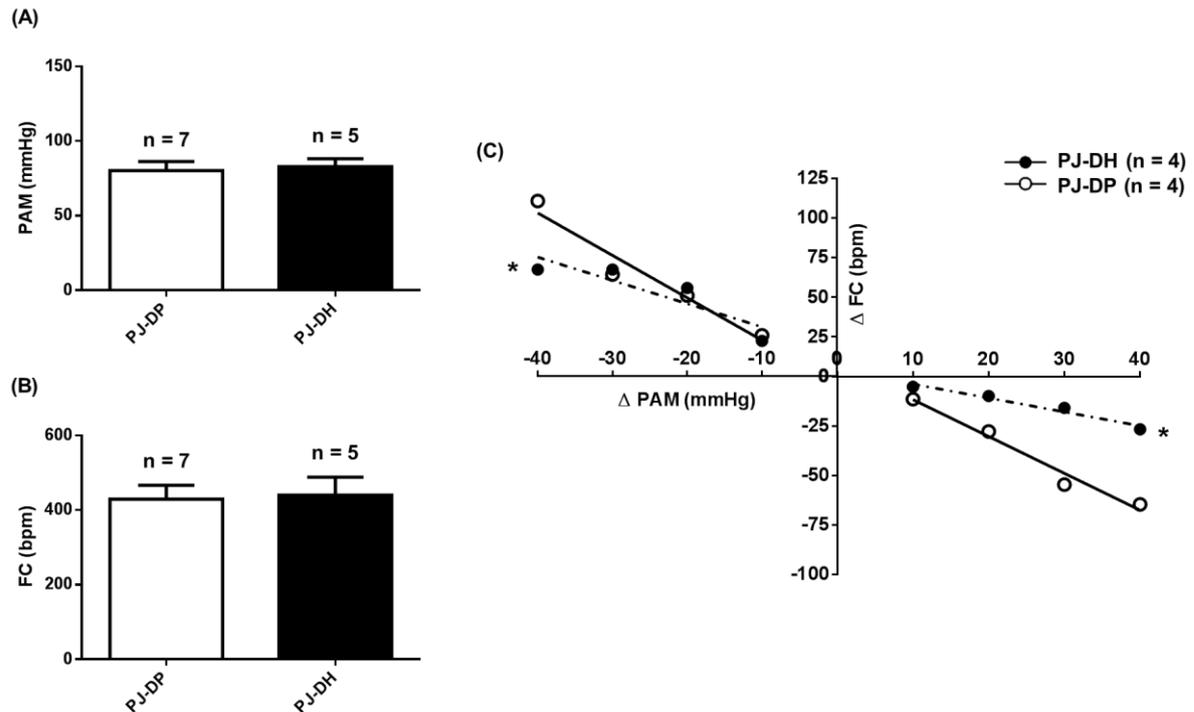


Figura 17 – (A) Pressão arterial média basal (PAM), (B) frequência cardíaca basal (FC) em proles jovens (P40) e (C) sensibilidade do barorreflexo em proles jovens (P40) testado após a administração intravenosa de fenilefrina (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ou nitroprussiato de sódio (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PJ-DP; n indica o número de animais por grupo.

4.3 Efeitos da obesidade materna na prole adulta

4.3.1 Efeito da obesidade materna no peso corporal, perfis lipídico e metabólico da prole adulta de ratas alimentadas com DH

A PA-DH e a PA-DP com 90 dias de idade (P90) apresentaram peso corporal semelhante ($p = 0,2062$; Figura 18 e Tabela 3).

A PA-DH apresentou maiores quantidades relativas (g/100 g de pc) significativas de EPI (Figura 19A e Tabela 3) e RET (Figura 19B e Tabela 3) quando comparadas com a PA-DP (todos $p < 0,05$). Já em relação ao MES, as proles adultas não apresentaram diferenças significativas ($p = 0,2506$; Figura 19C e Tabela 3).

As proles adultas não apresentaram diferenças significativas nas concentrações séricas de HDL ($p = 0,5431$; Figura 20A e Tabela 3), de CT ($p = 0,9982$; Figura 20B e Tabela 3), nem de GLI ($p = 0,5580$; Figura 20D e Tabela 3), todos $p >$

0,05. Já a concentração sérica de TGL foi maior na PA-DH quando comparadas com a PA-DP ($p < 0,05$; Figura 20C e Tabela 3).

As proles adultas mostraram valores comparáveis de concentrações séricas de leptina ($p = 0,2508$; Figura 21A e Tabela 3) e de insulina ($p = 0,7122$; Figura 21B e Tabela 3).

As proles adultas não apresentaram diferenças significativas no valor de Kitt ($p = 0,0604$; Figura 22 e Tabela 3).

Tabela 3: Perfis lipídico e metabólico das proles adultas de ratas alimentadas com DH.

	PA-DP	PA-DH
Peso corporal (g)	344,70 ± 7,67 (n = 18)	360,30 ± 9,49 (n = 16)
Tecido adiposo epididimal (g/100 g de pc)	0,51 ± 0,06 (n = 18)	0,75 ± 0,05* (n = 16)
Tecido adiposo retroperitoneal (g/100 g de pc)	0,43 ± 0,05 (n = 18)	0,57 ± 0,05* (n = 16)
Tecido adiposo mesentérico (g/100 g de pc)	0,13 ± 0,03 (n = 18)	0,18 ± 0,03 (n = 16)
HDL (mg/dL)	22,45 ± 1,54 (n = 8)	24,52 ± 2,95 (n = 8)
Colesterol total (mg/dL)	59,14 ± 3,11 (n = 12)	59,15 ± 2,85 (n = 10)
TGL (mg/dL)	53,57 ± 2,09 (n = 12)	61,97 ± 3,32* (n = 10)
Glicose (mg/dL)	115,60 ± 2,98 (n = 8)	113,30 ± 2,61 (n = 8)
Leptina (ng/mL)	0,41 ± 0,04 (n = 12)	0,60 ± 0,16 (n = 11)
Insulina (ng/mL)	0,25 ± 0,02 (n = 10)	0,26 ± 0,03 (n = 11)
Kitt (%/min)	1,39 ± 0,17 (n = 9)	1,82 ± 0,09 (n = 7)

Kitt (%/min) representa a taxa de decaimento da glicemia após uma administração de insulina intraperitoneal (1 UI/mL/kg). Os resultados são apresentados como média ± EPM; teste *t* de Student foi usado entre os grupos DP e DH das proles jovens; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo

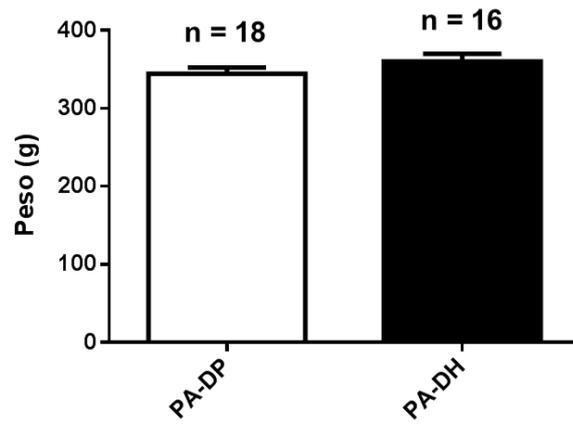


Figura 18 – (A) Peso das proles adultas (P90). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

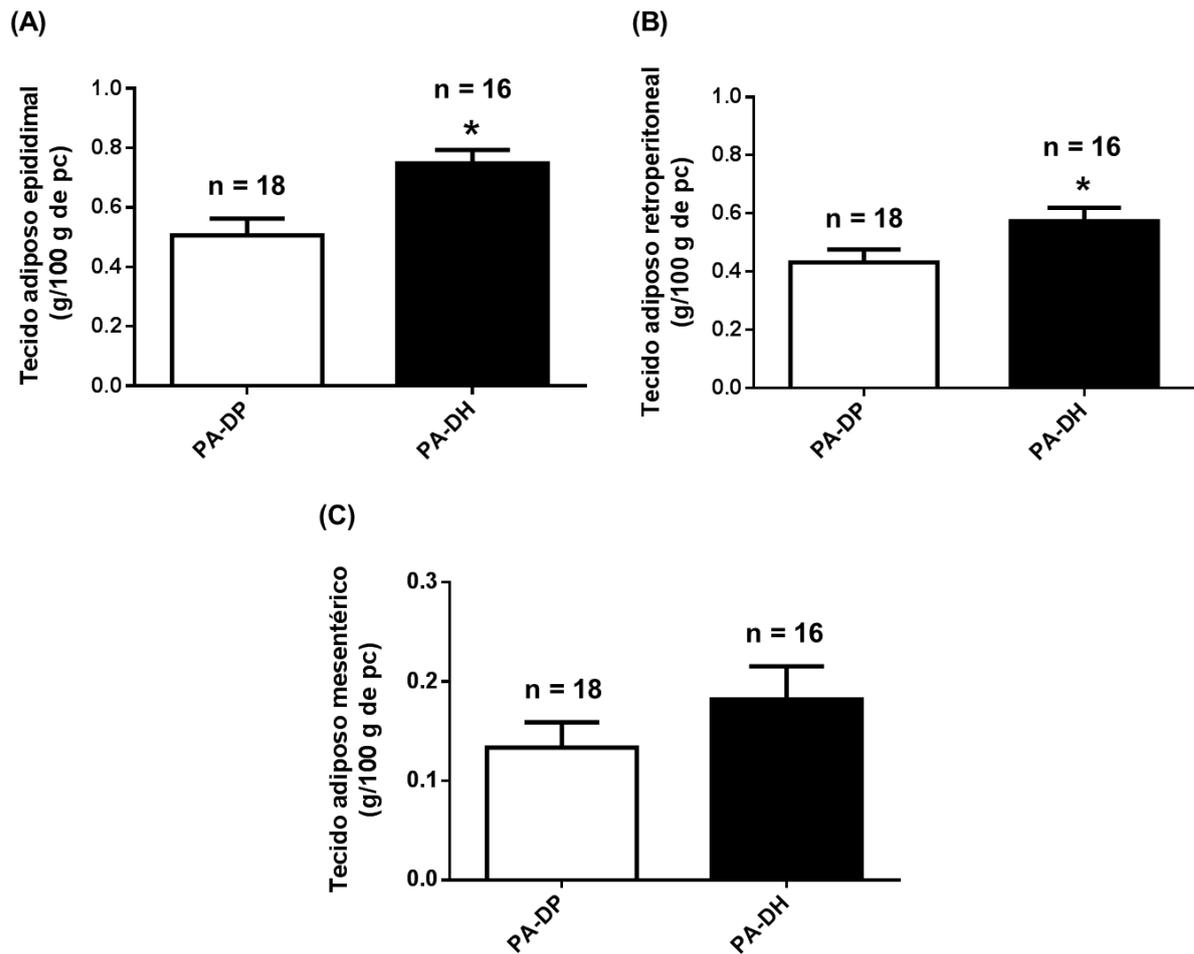


Figura 19 – (A) Quantidade relativa (g/100 g de pc) de tecido adiposo epididimal, (B) retroperitoneal e (C) mesentérico das proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; *n* indica o número de animais por grupo.

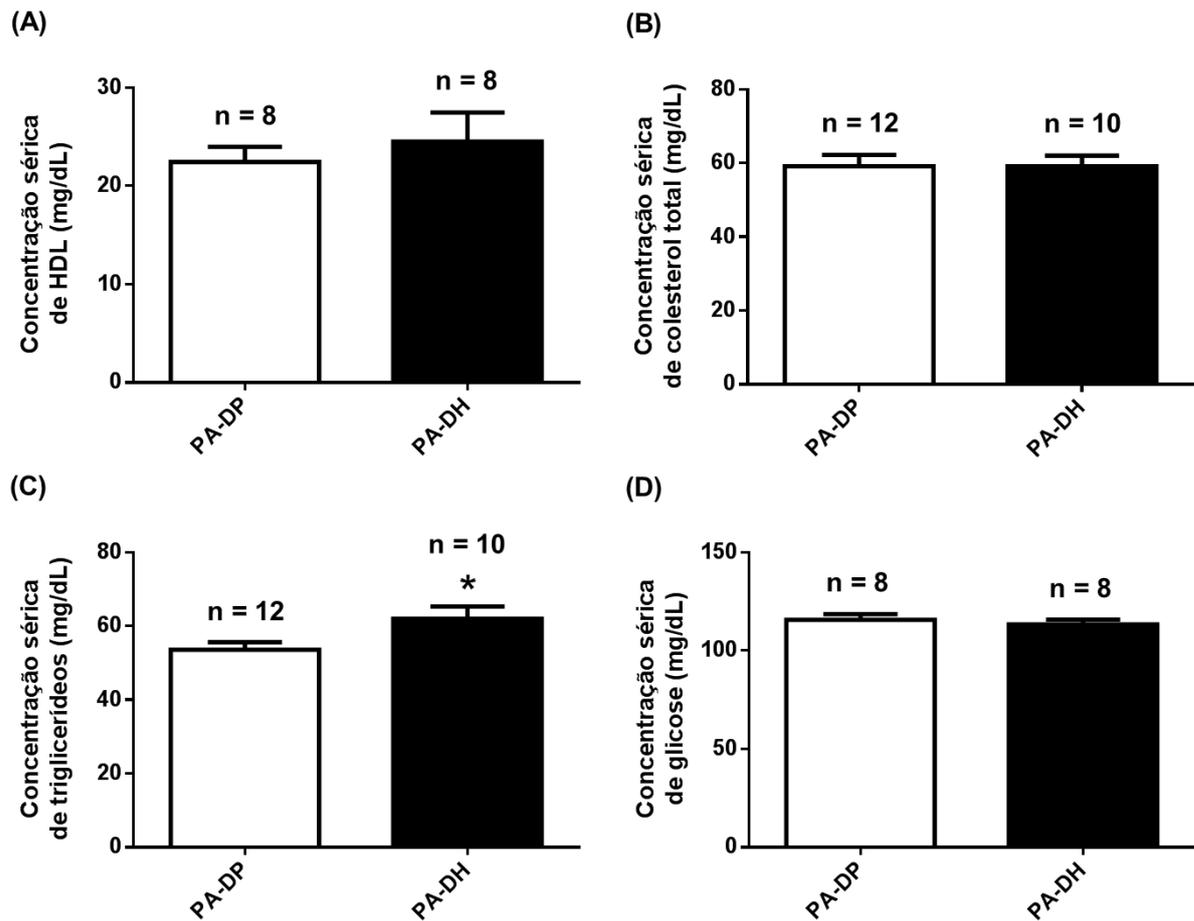


Figura 20 – (A) Concentração sérica de HDL, (B) CT, (C) TGL e (D) GLI das proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.

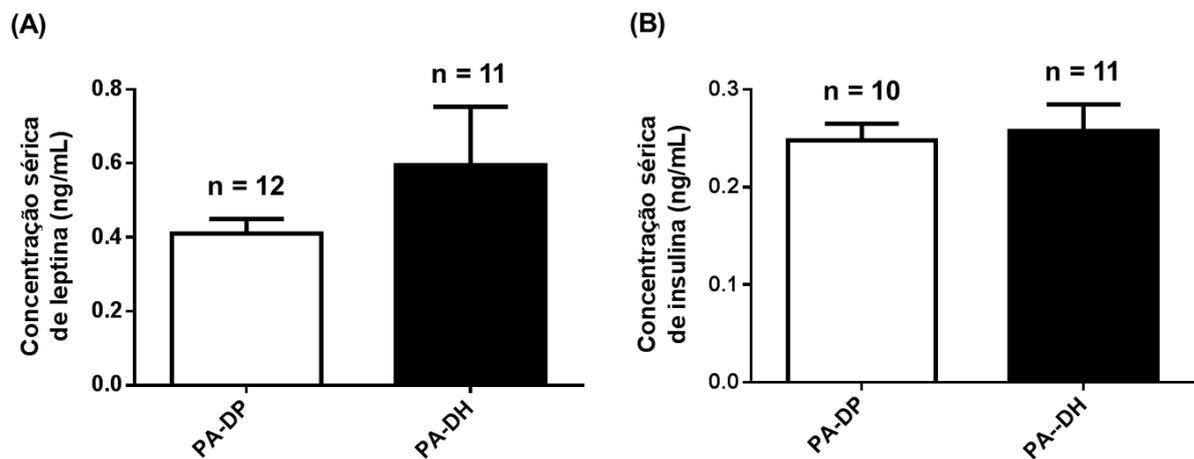


Figura 21 – (A) Concentração sérica de leptina e (B) de insulina das proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

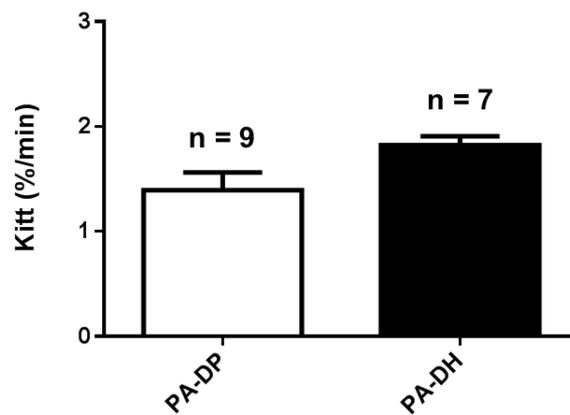


Figura 22 – Kitt (%/min - taxa de decaimento da glicemia) nas proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

4.3.2 Efeito da obesidade materna na ingestão diária de água e ração alimentar na prole adulta de ratas alimentadas com DH

PA-DH apresentou maior ingestão diária de ração quando comparada com a PA-DP ($29,31 \pm 1,45$ vs. PJ-DP: $25,15 \pm 1,22$ g/24 h; $p < 0,05$; Figura 23A). A ingestão diária de água das proles adultas não foi significativamente diferente entre os grupos ($37,93 \pm 1,56$ vs. PJ-DP: $36,45 \pm 1,26$ mL/24 h; $p = 0,4674$; Figura 23B).

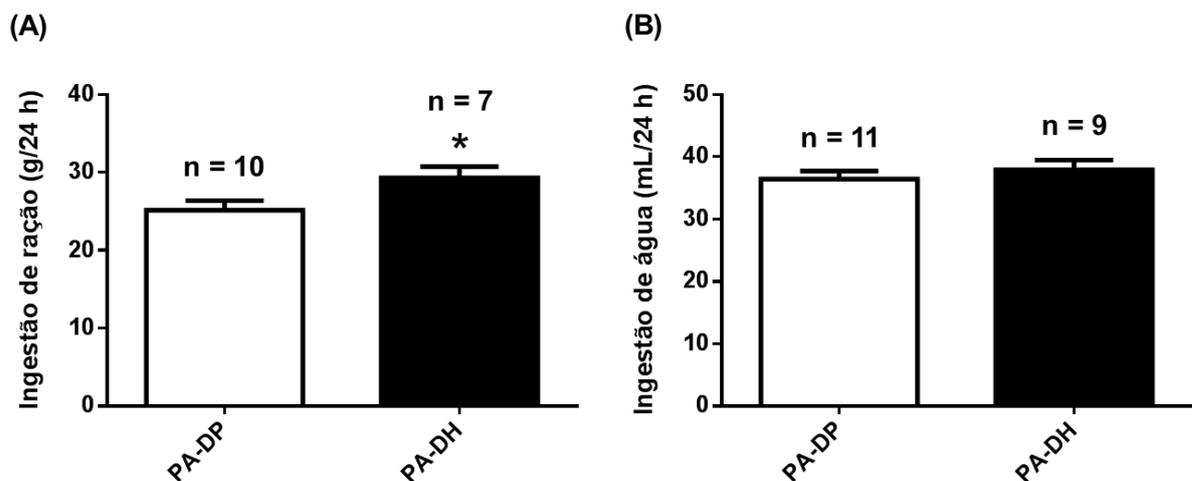


Figura 23 – (A) Ingestão diária de ração e (B) de água das proles jovens. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; * $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.

4.3.3 Efeito da obesidade materna na excreção renal na prole adulta de ratas alimentadas com DH

As proles adultas apresentaram semelhanças no volume urinário de 24 horas ($8,27 \pm 0,93$ vs. PA-DP: $10,66 \pm 0,90$ mL/24 h; $p = 0,0957$; Figura 24A), na excreção urinária de sódio ($1.349,00 \pm 348,10$ vs. PA-DP: $2.015,00 \pm 297,70$ μ Eq/24 h; $p = 0,1718$; Figura 24B) e na excreção urinária de potássio ($729,40 \pm 87,32$ vs. PA-DP: $891,30 \pm 81,71$ μ Eq/24 h; $p = 0,2106$; Figura 24C).

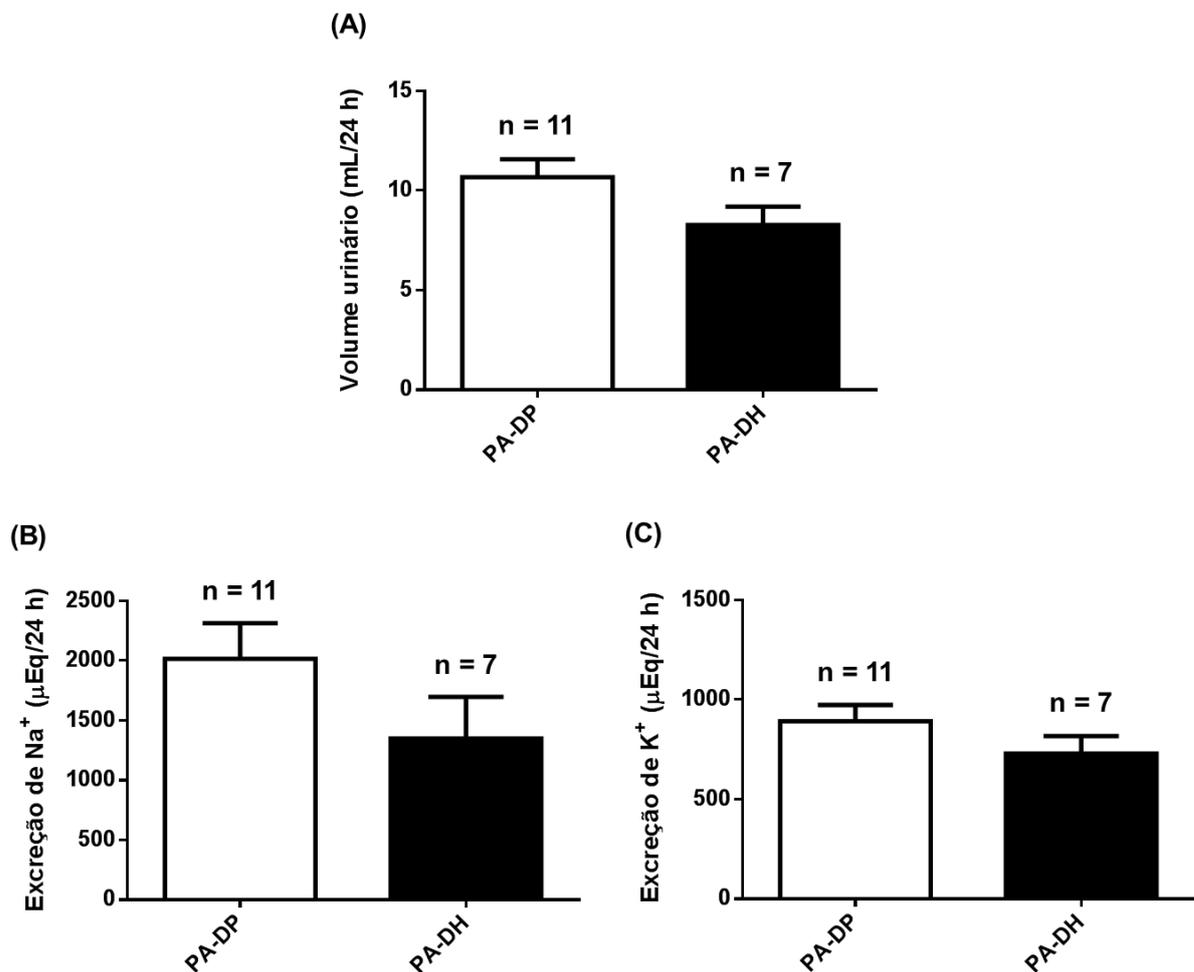


Figura 24 – (A) Volume urinário de 24 horas, (B) excreção urinária de sódio e (C) de potássio nas proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

4.3.4 Efeito da obesidade materna nas respostas ventilatórias na prole adulta de ratas alimentadas com DH

Como podemos observar, as proles adultas apresentaram valores de ventilação basal comparáveis (Figuras 25A e 26B). PA-DH apresentou maior frequência respiratória tanto em resposta à hipercapnia (7% CO₂) [F (1,28) = 7,546; p < 0,05] quanto em resposta à hipóxia (10% O₂) [F (1, 25) = 7,093; p < 0,05] em comparação com a PA-DP (Figuras 25B e 26B).

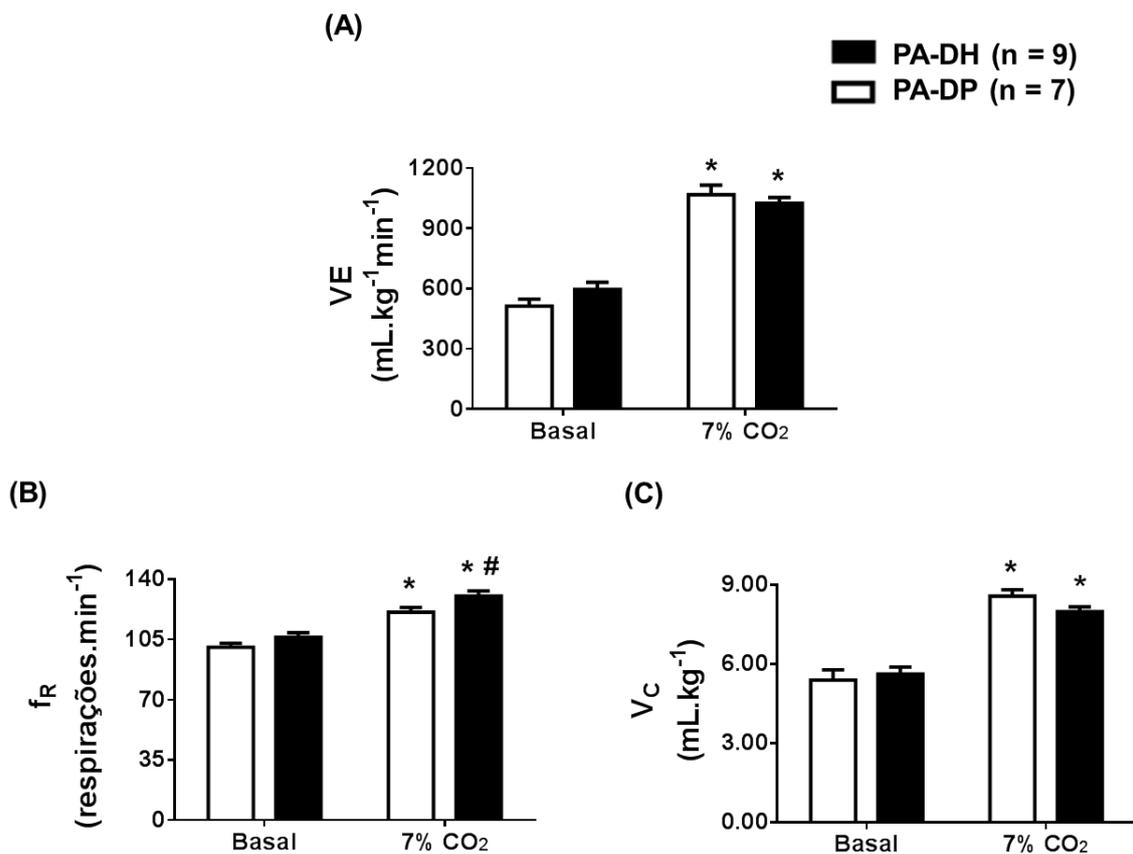


Figura 25 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipercapnia no ar inspirado (7% de CO₂) de proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * p < 0,05 vs. basal e # p < 0,05 vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.

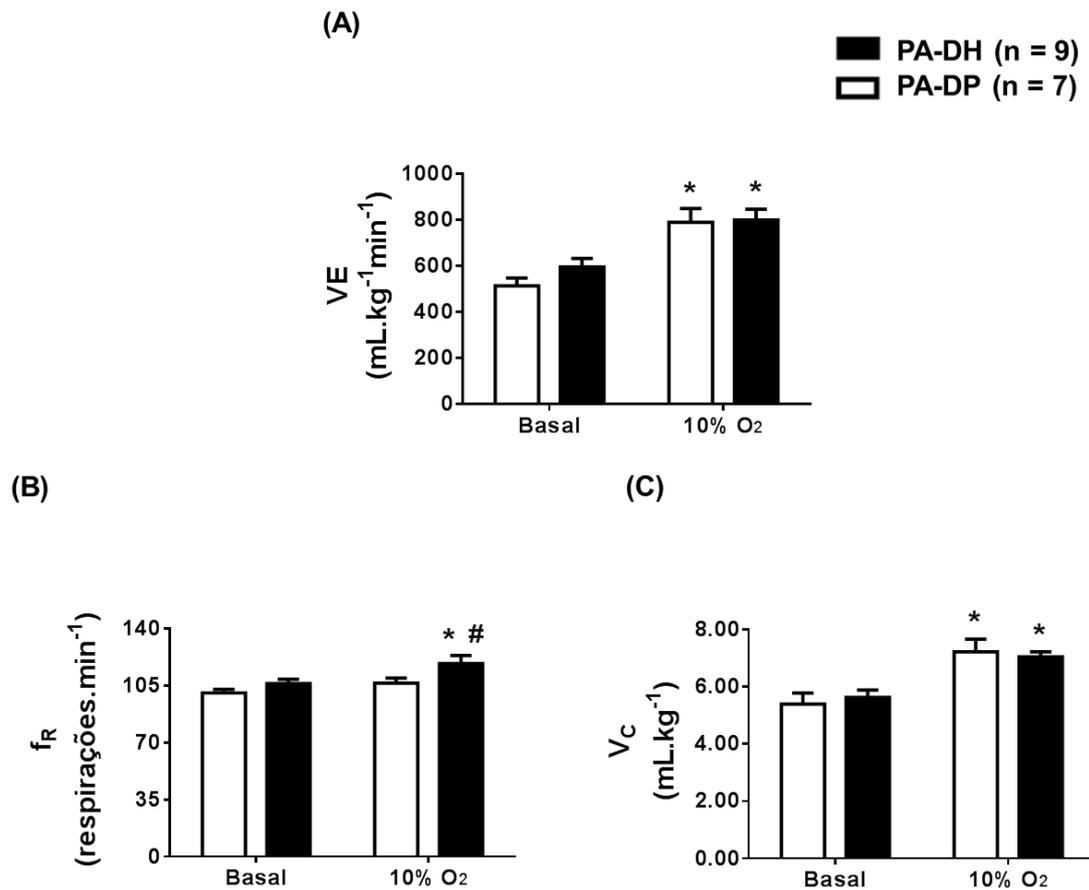


Figura 26 – (A) Ventilação pulmonar (VE), (B) frequência respiratória (f_R) e (C) volume corrente (V_C) basais e durante a hipóxia no ar inspirado (10% de O_2) de proles adultas. Os resultados são apresentados como média \pm SEM, ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni; * $p < 0,05$ vs. basal e # $p < 0,05$ vs. PA-DP; n indica o número de animais por grupo.

4.3.5 Efeitos da obesidade materna nos parâmetros cardiovasculares observado na prole adulta de ratas alimentadas com DH

A PAM basal (PA-DH: $111,40 \pm 2,55$, vs. PA-DP: $111,90 \pm 1,68$ mmHg; $p > 0,05$; Figura 27A) e FC basal (PA-DH: $332,50 \pm 7,41$, vs. PA-DP: $348,70 \pm 8,79$ bpm; $p > 0,05$; Figura 27B) não foram diferentes entre os grupos. As proles adultas apresentaram semelhanças na sensibilidade barorreflexa tanto resposta bradicárdica (PA-DH slope: $-0,9340 \pm 0,1846$ vs. PA-DP slope: $-0,7300 \pm 0,1275$ bpm/mmHg, $p < 0,05$) quanto na resposta taquicárdica (PA-DH slope: $-2,9130 \pm 0,2841$ vs. PA-DP: $-2,4920 \pm 0,1634$ bpm/mmHg, $p > 0,05$), Figura 27C.

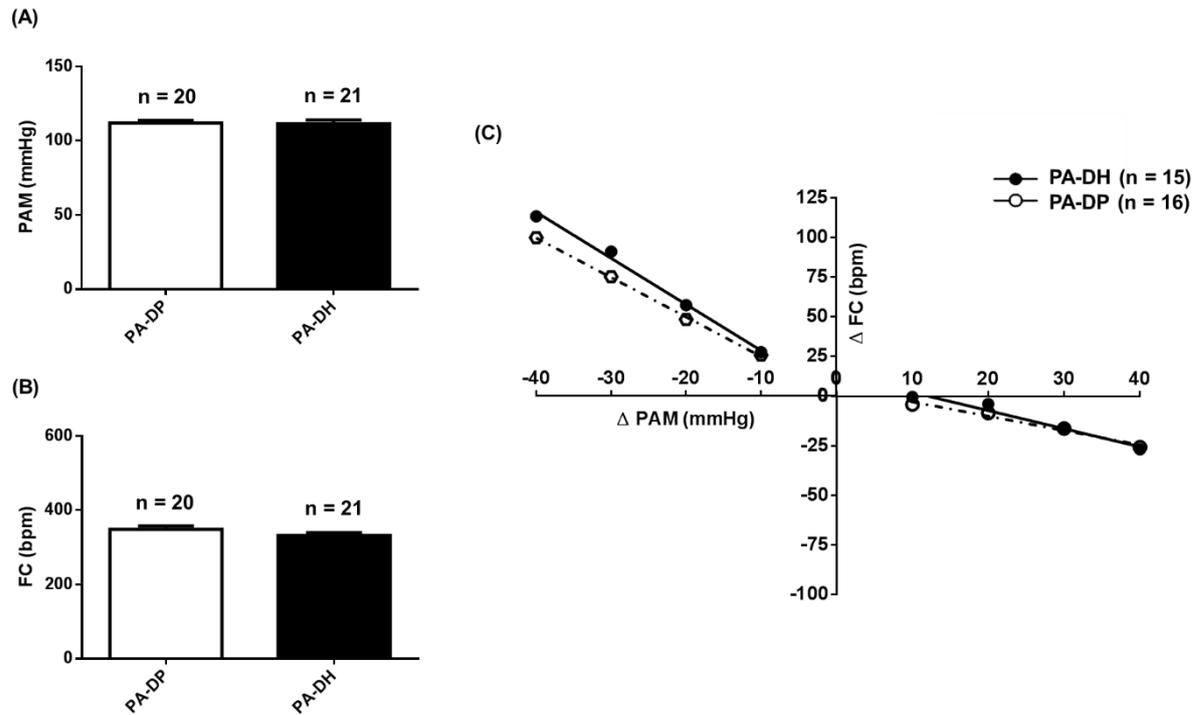


Figura 27 – (A) Pressão arterial média basal (PAM), (B) frequência cardíaca basal (FC) em proles adultas e (C) sensibilidade do barorreflexo em proles adultas testado após a administração intravenosa de fenilefrina (20 μ g/mL) ou nitroprussiato de sódio (50 μ g/mL). Os resultados são apresentados como média \pm EPM; teste *t* de Student; n indica o número de animais por grupo.

5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que filhos jovens (P28-P40) nascidos de mães obesas apresentam hiperlipidemia, resistência à insulina e função cardiorrespiratória alterada. A maioria dessas alterações, no entanto, foi normalizada quando a prole atingiu a idade adulta (P90), exceto o acúmulo de tecido adiposo e hiperfagia, que permaneceram elevados.

As ratas alimentadas com DH ingeriram maior quantidade de ração somente durante a primeira semana de tratamento; porém, a ingestão calórica foi maior durante todo o período de tratamento. Consequentemente, após 6 semanas de DH, um aumento no peso corporal, tecidos adiposos ovariano, retroperitoneal e mesentérico foram observados em ratas não progenitoras acompanhados por um aumento nos níveis circulantes de leptina e insulina, glicose sérica, além de uma resistência à insulina. Esses resultados são semelhantes aos de ratos submetidos à DH (Speretta et al., 2016; Speretta et al., 2018). As ratas não progenitoras alimentadas com DH não apresentaram aumento da PAM, porém desenvolveram um aumento da FC. Esses resultados foram diferentes daqueles observados em ratos tratados com DH e período de tratamento semelhante. Esses ratos desenvolveram hipertensão e taquicardia (Speretta et al., 2016; Speretta et al., 2018). O perfil lipídico e as alterações metabólicas foram praticamente todos recuperados nas ratas progenitoras após o período de lactação, com exceção do aumento do tecido adiposo e dos níveis séricos de leptina. No entanto, uma DH com alto teor de açúcar induziu também nas ratas progenitoras uma resposta mais sustentada no metabolismo nos perfis lipídico e metabólico (Guimarães et al., 2017; Kirk et al., 2009; Gomes et al., 2018). Uma DH com um complemento de açúcar ou aumento da porcentagem de carboidratos será considerado em estudos futuros.

Vários modelos experimentais de hipertensão arterial indicam que as fêmeas em idade reprodutiva são mais resistentes ao desenvolvimento de hipertensão, como observado no presente estudo e também na presença de altos níveis de renina (e possivelmente na atividade de renina aumentada). Após a menopausa, período em que há queda acentuada na produção de hormônios sexuais, as fêmeas correm maior risco de desenvolver hipertensão quando comparadas aos machos, indicando que fatores hormonais protegem contra o desenvolvimento da hipertensão (Hayward et al., 2000; Reckelhoff, 2001). Apesar disso, nossos resultados demonstraram que houve um aumento na FC basal, nos períodos claro e escuro nas ratas após 6-7 semanas

de DH. Um aumento na FC em ratos alimentados com DH é bem conhecido (Speretta et al., 2016; Speretta et al., 2018; Nagae et al., 2009; Smith et al., 2006). O mecanismo parece ser uma simpatoexcitação e provavelmente envolve estresse oxidativo, hiperleptinemia e/ou ativação do sistema renina-angiotensina no encéfalo (Speretta et al., 2016; Nagae et al., 2009), embora um não envolvimento do sistema renina-angiotensina também tem sido demonstrado (Smith et al., 2006). Assim, uma vez que as ratas tiveram um aumento no sistema renina-angiotensina na periferia, e muito provavelmente um aumento nos níveis de angiotensina II (ANG II), e como a ANG II pode aumentar as espécies reativas de oxigênio no encéfalo (Zimmerman et al., 2002), o aumento da FC observado nestes animais após a DH pode ser explicado por esses fatores.

Observamos que proles jovens machos de mães alimentadas com DH, tanto no P3 quanto no P28, apresentaram menor peso corporal e maiores quantidades de tecidos adiposos epididimal, retroperitoneal e mesentérico em relação às proles jovens machos de mães alimentadas com DP. Além disso, uma elevação nas concentrações séricas de triglicerídeos e uma resistência à insulina também foram observadas. Dados semelhantes foram observados por outro estudo em jovens descendentes (Guimarães et al., 2017). Estudos em mulheres obesas mostraram que seu ambiente intrauterino obesogênico é capaz de causar vários efeitos na prole, incluindo parto prematuro e restrição do crescimento fetal (McGillick et al., 2017).

Observamos também que proles jovens nascidas de mães obesas não apresentaram alteração na pressão arterial e na frequência cardíaca basais. Samuelsson et al. observaram aumento da PAM inicial no período escuro em proles jovens (P30) de mães alimentadas com DH quando comparadas com as proles jovens (P30) de mães alimentadas com DP, que persistiu em P90 (Samuelsson et al., 2010). No entanto, este estudo difere do nosso porque eles reuniram descendentes machos e fêmeas e usaram telemetria para registrar PAM e FC. Além disso, eles também suplementaram as mães com uma DH com açúcar (leite condensado). Nós registramos a PAM e a FC uma única vez e em apenas um dia. Estudos futuros usando transdutores de telemetria esclarecerão essas diferenças. Curiosamente, a função barorreflexa foi alterada com uma diminuição na bradicardia e na taquicardia reflexas, sugerindo um possível comprometimento dos mecanismos de controle autonômico nesses animais jovens. De acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a observar o comprometimento do barorreflexo em uma idade tão

precoce da prole de mães alimentadas com DH. O presente estudo não determinou o mecanismo pelo qual o barorreflexo pode ser alterado. Tem sido sugerido que os altos níveis de leptina encontrados em ratos alimentados com DH podem diminuir a sensibilidade do barorreflexo (Fardin et al., 2012). A leptina atuando no núcleo do trato solitário mostrou reduzir a sensibilidade do barorreflexo (Ciriello, 2013). Embora a prole não tenha níveis aumentados de leptina, o aumento nos níveis de leptina encontrados nas mães até o período de lactação pode ter alterado a sensibilidade do barorreflexo em idade jovem, como foi observado na ingestão de alimentos (Kirk et al. 2009).

Além das alterações metabólicas e autonômicas evidenciadas em nossos resultados, as proles jovens de mães obesas apresentaram alteração da ventilação basal. Em estudos anteriores, a leptina mostrou ser um fator importante para a modulação ventilatória, uma vez que camundongos com deficiência de leptina (*ob/ob*) têm uma resposta ventilatória diminuída à hipercapnia que pode ser restaurada por reposição sistêmica (O'Donnell et al., 2000) ou central de leptina (Bassi et al., 2012). Entretanto, em nossos resultados, apesar do excesso de tecido adiposo na prole jovem, os valores de leptina sérica foram normais, sugerindo que as alterações ventilatórias encontradas nas proles jovens podem não estar associadas à ação da leptina. Alternativamente, outro mecanismo que acreditamos estar envolvido é a alteração das vias de controle centrais causadas pelos altos níveis de leptina nas mães, que ainda são altas durante a lactação. Essas alterações maternas poderiam prejudicar o desenvolvimento neural da prole, o que nós chamamos de alterações epigenéticas como sugerido antes (Kirk et al., 2009; Samuelsson et al., 2008). De acordo com estudos anteriores, ratos nascidos de mães obesas têm uma diminuição na expressão da via intracelular pSTAT3 e do hormônio alfa-MSH no núcleo arqueado do hipotálamo (ARC) e no núcleo paraventricular do hipotálamo, respectivamente, sugerindo que a obesidade materna prejudica os mecanismos centrais de controle energético da prole (Kirk et al., 2009; Bouret et al., 2008). Em outro estudo, foi demonstrado um aumento na pressão arterial e na frequência cardíaca, associado a um aumento na liberação renal de noradrenalina em prole de mães obesas (Samuelsson et al., 2013). Sabe-se que os neurônios do ARC possuem uma alta densidade de fibras que se projetam para fora do hipotálamo, como núcleo paraventricular, núcleo dorsomedial, região perifornical e núcleos do tronco cerebral, como NTS e região rostroventrolateral do bulbo (Rahmouni, 2016; Kishi et al., 2003).

Em conjunto, esses dados sugerem uma importante função moduladora dos mecanismos hipotalâmicos de controle de energia sobre as funções autonômicas e respiratórias. Além disso, esses mecanismos podem sofrer alterações significativas durante o período de desenvolvimento fetal de acordo com a condição materna. Em experimentos futuros avaliaremos possíveis mudanças nas vias centrais que modulam o controle do apetite e a atividade simpática [neurônios STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), PI3K (phatidylinositol 3-kinase), POMC] em áreas centrais envolvidas no controle autonômico, como no núcleo do trato solitário e na região rostroventrolateral do bulbo.

Os presentes dados demonstram que em proles jovens de mães alimentadas com DH ou de mães alimentadas com DP, o aumento na ventilação induzida por hipercapnia (7% CO₂) foi comparável. No entanto, houve maior aumento na ventilação devido à hipóxia (10% O₂). A prole jovem de mães alimentadas com DH também apresentam uma maior ventilação basal em consequência de um maior volume corrente. Tem sido sugerido que a hiperinsulinemia é outro fator associado à obesidade e às alterações ventilatórias (Conde et al., 2014). Estudos prévios mostraram que ratos com resistência à insulina apresentam aumento da atividade do corpúsculo carotídeo, o que foi apontado como causa de hiperventilação basal e aumento da resposta quimiossensível (Ribeiro et al., 2013). As proles jovens de mães alimentadas com DH não apresentaram alterações nos níveis plasmáticos de insulina ou glicose, mas apresentam diminuição da sensibilidade à insulina, como observado em outros estudos (Guimarães et al., 2017). Considerando as informações acima, é possível que essa resistência à insulina esteja relacionada ao aumento da ventilação basal e da resposta à hipóxia observada em nossos resultados.

Evidências experimentais mostram que o SRA regula a atividade do sistema imune na periferia e no SNC, e uma neuroinflamação tem sido descrita relacionada com o desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial em ratos SHR e em ratos obesos (Speretta et al., 2016; Shi et al., 2010; de Kloet et al., 2013). Em animais obesos, uma inflamação crônica periférica (Speretta et al., 2012), bem como em algumas regiões do SNC (de Kloet et al., 2014; Speretta et al., 2016; De Souza et al., 2005) tem sido descrita. Ademais já foi descrito que a microinjeção de IL-6 no NTS atenua o barorreflexo (Takagishi et al., 2010). Desta forma, é possível que nas ratas alimentadas com dieta hiperlipídica e na sua prole jovem esteja ocorrendo um aumento nas citocinas inflamatórias, e esta neuroinflamação possa estar contribuindo

para as alterações cardiovasculares observadas. Outros fatores, como a alta produção de citocinas inflamatórias em animais com excesso de tecido adiposo (Speretta et al., 2012), podem influenciar a função ventilatória. Nos modelos de hipóxia crônica intermitente, que mimetiza as alterações ventilatórias encontradas em indivíduos obesos, houve maior produção de TNF- α e IL-1 β nos corpos carotídeos (Del Rio et al., 2012). Assim, é possível que o aumento do tecido adiposo na prole jovem defenda uma maior produção de citocinas inflamatórias que possam estar promovendo o aumento da ventilação basal e da resposta do quimiorreflexo. Além desses fatores, o acúmulo significativo de tecido adiposo pode promover ainda mais um aumento na demanda respiratória. Portanto, qualquer alteração na taxa metabólica em jovens descendentes pode estar associada a alterações ventilatórias. No entanto, atualmente não sabemos se animais jovens apresentam consumo de oxigênio alterado (VO_2) ou produção de CO_2 (VCO_2). Em experimentos futuros, avaliaremos esses parâmetros para entender melhor os efeitos das alterações metabólicas na ventilação.

As alterações metabólicas e cardiorrespiratórias observadas nas proles jovens não persistiram até a idade adulta (P90), exceto o acúmulo de tecido adiposo e os níveis de triglicérides, que permaneceram elevados. Esses dados sugerem que possíveis alterações durante o desenvolvimento intrauterino na gestação de mães obesas podem ter alterado os mecanismos de controle metabólico e controle do apetite nas proles jovens que perpetuaram até a idade adulta. Em apoio a essa hipótese, foi observada hiperfagia na prole adulta, que é um comportamento indicativo de disfunção dos mecanismos que controlam o apetite no hipotálamo (Kirk et al., 2009).

Um estudo recente (Gomes et al., 2018) mostrou que uma dieta com alto teor de açúcar (40%) durante a lactação pode alterar os perfis lipídico e metabólico na prole adulta. A prole adulta apresentou maior peso corporal, maior quantidade de tecido adiposo, hiperfagia, aumento dos níveis plasmáticos de leptina e insulina e resistência à insulina. No presente estudo, a prole adulta (P90) de mães obesas apresentou um aumento comparável no peso corporal e nos níveis séricos de leptina e insulina, quando comparada com a prole adulta de mães com dieta padrão. No entanto, o tecido adiposo e os níveis séricos de triglicérides foram maiores em comparação com as proles adultas de mães alimentadas com DP. As diferenças podem estar relacionadas ao tipo de dieta utilizada. Gomes et al., 2018 utilizaram uma

dieta altamente rica em açúcares, diferente da nossa, que possui maior teor de gordura. Guimarães et al., 2017, por outro lado, demonstraram que uma dieta dislipidêmica, durante os períodos de gestação e lactação, foi capaz de promover alterações no perfil lipídico da prole apenas aos 30 dias de idade. Além disso, mostraram que, aos 90 dias de idade, as proles de mães alimentadas com dieta dislipidêmica durante a gestação e lactação apresentaram maiores respostas cardiorrespiratórias durante a hipercapnia (7% CO₂) e durante a hipóxia citotóxica (0,4% de KCN) e também apresentaram maior diminuição da pressão arterial após o bloqueio ganglionar, sugerindo maior atividade simpática (Guimarães et al., 2017). Em nossos estudos, as proles de mães alimentadas com DH apresentaram alterações no perfil lipídico tanto no P28-35 quanto no P90. Observamos que as proles adultas de mães alimentadas com DH apresentaram maior resposta da frequência respiratória após o estímulo hipercápnico (7% CO₂) e após o estímulo hipóxico (10% O₂), em comparação com as proles de mães alimentadas com DP, mas não o suficiente para aumentar a ventilação. Finalmente, Samuelsson et al. demonstraram que uma dieta palatável com alto teor de açúcar (16% de gordura e 33% de açúcar) durante 6 meses de tratamento, mais períodos de gestação e lactação promoveu mudanças na prole durante 6 meses (Samuelsson et al., 2010). A prole apresentou aumento de peso corporal e tecido adiposo e hiperfagia. Aos 3 meses de idade, a prole masculina e feminina, sem distinção, apresentou aumento de insulina e leptina e aos 6 meses de idade, aumento da glicose plasmática, diminuição da insulina enquanto que a leptina ainda estava elevada. Tanto aos 3 meses de idade como aos 6 meses de idade, os descendentes apresentaram um aumento na pressão arterial sistólica noturna. Como demonstrado no presente estudo, descendentes adultos de mães alimentadas com DH (P90) não apresentaram nenhuma alteração na PAM e FC basal ou no barorreflexo. Novamente, as diferenças podem ser transmitidas no tempo em que os animais foram expostos à DH e também no tipo de dieta obesogênica utilizada.

A prole jovem de mães alimentadas com DH apresentaram volume urinário de 24 horas e excreção urinária de potássio semelhantes aos da prole jovem de mães alimentadas com DP. No entanto, a prole jovem de mães alimentadas com DH apresentou maior excreção urinária de sódio. Dados da literatura tem demonstrado que a obesidade aumenta a reabsorção de sódio (Kawarazaki and Fujita, 2016). No entanto, ratos Zucker obesos apresentam uma maior natriurese (Kurtz et al., 1989). Estudos tem demonstrado que ativação seletiva de receptores de angiotensina II tipo

2 (AT2) promoveu natriurese em ratos obesos e essa natriurese foi associada à um aumento na produção de óxido nítrico/monofosfato cíclico de guanosina, o que pode ter um papel na natriurese mediada pelo receptor AT2 (Ali and Hussain, 2012). O mesmo estudo observou que a natriurese induzida pelo receptor AT2 pode ser baseada no túbulo proximal. Sendo assim, o mesmo mecanismo pode estar presente na prole jovem de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (Alin and Hussein, 2012).

Assim, os dados apresentados neste estudo sugerem que as alterações metabólicas maternas induzidas pela DH podem ter alterado o desenvolvimento intrauterino dos mecanismos de controle metabólico e cardiorrespiratório, particularmente na idade jovem. A recuperação parcial da função cardiorrespiratória na prole adulta sugere que essas possíveis alterações intrauterinas foram corrigidas parcialmente durante o desenvolvimento pós-natal e foram adequadas na vida adulta. Acreditamos que este resultado é consequência da alimentação saudável que as proles tiveram até a vida adulta. No entanto, observou-se que a prole adulta permaneceu com elevação lipídica e aumento da ingestão alimentar, sugerindo persistência de alterações nas vias de controle metabólico e apetite na vida adulta. Com isso, podemos inferir que a prole adulta apresenta maior suscetibilidade ao desenvolvimento da obesidade e, conseqüentemente, alterações cardiorrespiratórias em longo prazo.

6 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a prole jovem de mães obesas apresentam alterações autonômicas, ventilatórias e metabólicas. A recuperação parcial da função cardiorrespiratória na prole adulta sugere que essas possíveis alterações intrauterinas foram corrigidas parcialmente durante o desenvolvimento pós-natal. É possível que a leptina e/ou insulina façam parte do mecanismo responsável pelas alterações observadas na prole jovem.

7. REFERÊNCIAS

Aghamohammadzadeh R., and Heagerty A.M., 2012, Obesity-related hypertension: Epidemiology, pathophysiology, treatments, and the contribution of perivascular adipose tissue: *Ann Med*, v. 44, Suppl. 1, p. S74-S84.

Akyol A., Langley-Evans S.C., and McMullen S., Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat: *Br.J Nutr*, v. 102, no. 1, p. 1601-1610.

Alin Q., and Hussain T., 2012, AT2 receptor non-peptide agonist C21 promotes natriuresis in obese Zucker rats: *Hypertens Res*, v. 35, no. 6, p. 654-660.

Arnold A.C., Shaltout H.A., Gallagher P.E., and Diz D.I., 2009, Leptin impairs cardiovagal baroreflex function at the level of the solitary tract nucleus: *Hypertension*, v. 54, no. 5, p. 1001-1008.

Baccarelli A., and Ghosh S., 2012, Environmental exposures, epigenetics and cardiovascular disease: *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, v. 15, no. 4, p. 323-329.

Bahia L.R., and Araújo D.V., 2014, Impacto econômico da obesidade no Brasil: *Revista HUPE*, v. 13, no. 1, p. 13-17.

Barker D.J., Osmond C., Golding J., Kuh D., and Wadsworth M.E., 1989, Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease: *BMJ*, v. 298, no. 6673, p. 564-567.

Bartlett D.Jr., and Tenney S.M., 1970, Control of breathing in experimental anemia: *Respir Physiol*, v. 10, no. 3, p. 384-395.

Bassi M., Furuya W.I., Zoccal D.B., Menani J.V., Colombari E., Hall J.E., da Silva A.A., do Carmo J.M., and Colombari D.S., 2015, Control of respiratory and cardiovascular functions by leptin: *Life Sci*, v. 125, p. 25-31.

Bassi M., Furuya W.I., Zoccal D.B., Menani J.V., Colombari D.S., Mulkey D.K., and Colombari E., 2016, Facilitation of breathing by leptin effects in the central nervous system: *J Physiol*, v. 594, no. 6, p. 1617-1625.

Bassi M., Giusti H., Leite C.M., Anselmo-Franci J.A., do Carmo J.M., da Silva A.A., Hall J.E., Colombari E., and Glass M.L., 2012, Central leptin replacement enhances chemorespiratory responses in leptin-deficient mice independent of changes in body weight: *Pflugers Arch*, v. 464, no. 2, p. 145–153.

Bassi M., Nakamura N.B., Furuya W.I., Colombari D.S., Menani J.V., do Carmo J.M., da Silva A.A., Hall J.E., and Colombari E., 2015, Activation of the brain melanocortin system is required for leptin-induced modulation of chemorespiratory function: *Acta Physiol (Oxf)*, v. 213, no. 4, p. 893-901.

Bianco-Miotto T., Craig J.M., Gasser Y.P., van Dijk S.J., and Ozanne S.E., 2017, Epigenetics and DOHaD: from basics to birth and beyond: *J Dev Orig Health Dis*, v. 8, no. 5, p. 513-519.

Blanch G.T., Freiria-Oliveira A.H., Speretta G.F., Carrera E.J., Li H., Speth R.C., Colombari E., Sumners C., and Colombari D.S., 2014, Increased expression of angiotensin II type 2 receptors in the solitary-vagal complex blunts renovascular hypertension: *Hypertension*, v. 64, no. 4, p. 777-783.

Bonora E., Moghetti P., Zancanaro C., Cigolini M., Querena M., Cacciatori V., Corgnati A., and Muggeo M., 1989, Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies: *J Clin Endocrinol Metab*, v. 68, no. 2, p. 374-378.

Bosnyak S., Welungoda I.K., Hallberg A., Alterman M., Widdop R.E., and Jones E.S., 2010, Stimulation of angiotensin AT2 receptors by the non-peptide agonist, Compound 21, evokes vasodepressor effects in conscious spontaneously hypertensive rats: *Br J Pharmacol*, v. 159, no. 3, p. 709-716.

Bouret S.G., Gorski J.N., Patterson C.M., Chen S., Levin B.E., and Simerly R.B., 2008, Hypothalamic neural projections are permanently disrupted in diet-induced obese rats: *Cell Metab*, v. 7, no. 2, p. 179-185.

Boustany C.M., Bharadwaj K., Daugherty A., Brown D.R., Randall D.C., and Cassis L.A., 2004, Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 287, no. 4, p. R943-R949.

Calvelo M.G., Abboud F.M., Ballard D.R., and Abdel-Sayed W., 1970, Reflex vascular responses to stimulation of chemoreceptors with nicotine and cyanide. Activation of adrenergic constriction in muscle and noncholinergic dilatation in dog's paw: *Circ Res*, v. 27, no. 2, p. 259–276.

Carvalho J.S., and Cherkes J.K., 1982, Renin release by pentobarbital anesthesia in the rat: a role for vascular mechanisms: *Life Sci*, v. 30, no. 11, p. 887-897.

Cassis L.A., English V.L., Bharadwaj K., and Boustany C.M., 2004, Differential effects of local versus systemic angiotensin II in the regulation of leptin release from adipocytes: *Endocrinology*, v. 145, no. 1, p. 169-174.

Cinti S., 2005, The adipose organ: Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, v. 73, no. 1, p. 9-15.

Ciriello J., 2013, Plasma leptin inhibits the response of nucleus of the solitary tract neurons to aortic baroreceptor stimulation: *Brain Res Bull*, v. 97, p. 96-103.

Conde S.V., Sacramento J.F., Guarino M.P., Gonzalez C., Obeso A., Diogo L.N., Monteiro E.C., and Ribeiro M.J., 2014, Carotid body, insulin, and metabolic diseases: unraveling the links: *Front Physiol*, v. 5, p. 418.

Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L., Kriauciunas A., Stephens T.W., Nyce M.R., Ohannesian J.P., Marco C.C., McKee L.J., Bauer T.L., et al., 1996, Serum

immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans: *N Engl J Med*, v. 334, no. 5, p. 292-295.

Dearden L., and Ozanne S.E., 2015, Early life origins of metabolic disease: Developmental programming of hypothalamic pathways controlling energy homeostasis: *Front Neuroendocrinol*, v. 39, p. 3-16.

de Brito Alves J.L., Nogueira V.O., Cavalcanti Neto M.P., Leopoldino A.I.M., Curti C., Colombari D.S., Colombari E., Wanderley A.G., Leandro C.G., Zoccal D.B., and Costa-Silva J.H., 2015, Maternal protein restriction increases respiratory and sympathetic activities and sensitizes peripheral chemoreflex in male rat offspring: *J Nutr*, v. 145, no. 5, p. 907-914.

de Kloet A.D., Krause E.G., Shi P.D., Zubcevic J., Raizada M.K., and Sumners C., 2013, Neuroimmune communication in hypertension and obesity: A new therapeutic angle?: *Pharmacol Ther*, v. 138, no. 3, p. 428-440.

de Kloet A.D., Pati D., Wang L., Hiller H., Sumners C., Frazier C.J., Seeley R.J., Herman J.P., Woods S.C., and Krause E.G., 2013, Angiotensin type 1a receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus protect against diet-induced obesity: *J Neurosci*, v. 33, no. 11, p. 4825-4833.

de Kloet A.D., Pioquinto D.J., Nguyen D., Wang L., Smith J.A., Hiller H., and Sumners C., 2014, Obesity induces neuroinflammation mediated by altered expression of the renin-angiotensin system in mouse forebrain nuclei: *Physiol Behav*, v. 136, p. 31-38.

Delbin M.A., Davel A.P., Couto G.K., de Araujo G.G., Rossoni L.V., Antunes E., and Zanesco A., 2012, Interaction between advanced glycation end products formation and vascular responses in femoral and coronary arteries from exercised diabetic rats: *PLoS One*, v. 7, no. 12, p. e53318.

Del Rio R., Moya E.A., and Iturriaga R., 2012, Contribution of inflammation on carotid body chemosensory potentiation induced by intermittent hypoxia: *Adv Exp Med Biol*, v. 758, p. 199-205.

De Souza C.T., Araujo E.P., Bordin S., Ashimine R., Zollner R.L., Boschero A.C., Saad M.J., and Velloso L.A., 2005, Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus, *Endocrinology*, v. 146, no. 10, p. 4192-4199.

do Carmo J.M., da Silva A.A., Wang Z., Fang T., Aberdein N., de Lara Rodriguez C.E.P., and Hall J.E., 2016, Obesity-Induced Hypertension: Brain Signaling Pathways: *Curr Hypertens Rep*, v. 18, no. 7, p. 58.

Elias C.F., Kelly J.F., Lee C.E., Ahima R.S., Drucker D.J., Saper C.B., and Elmquist J.K., 2000, Chemical characterization of leptin-activated neurons in the rat brain: *J Comp Neurol*, v. 423, no. 2, p. 261-281.

Erdos B., Kirichenko N., Whidden M., Basgut B., Woods M., Cudykier I., Tawil R., Scarpace P.J., and Tumer N., 2011, Effect of age on high-fat diet-induced hypertension: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 301, no. 1, p. H164-H172.

Estadella D., Oyama L.M., Damaso A.R., Ribeiro E.B., and Oller do Nascimento C.M., 2004, Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats: *Nutrition*, v. 20, no. 2, p. 218-224.

Fardin N.M., Oyama L.M., and Campos R.R., 2012, Changes in baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in high-fat-fed rats as a predictor of hypertension: *Obesity (Silver Spring)*, v. 20, no. 8, p. 1591-1597.

Finucane M.M., Stevens G.A., Cowan M.J., Danaei G., Lin J.K., Paciorek C.J., Singh G.M., Gutierrez H.R., Lu Y., Bahalim A.N., Farzadfar F., Riley L.M., Ezzati M., and Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index), 2011, National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants: *Lancet*, v. 377, no. 9765, p. 557-567.

Freet C.S., Stoner J.F., and Tang X., 2013, Baroreflex and chemoreflex controls of sympathetic activity following intermittent hypoxia: *Auton Neurosci*, v. 174, no. 1-2, p. 8–14.

Freiria-Oliveira A.H., Blanch G.T., Li H., Colombari E., Colombari D.S., Sumners C., Macrophage migration inhibitory factor in the nucleus of solitary tract decreases blood pressure in SHR, *Cardiovascular Research*, 97,(2013) 153-160.

Freitas R.R., Lopes K.L., Carillo B.A., Bergamaschi C.T., Carmona A.K., Casarini D.E., Furukawa L., Heimann J.C., Campos R.R., and Dolnikoff M.S., 2007, Sympathetic and renin-angiotensin systems contribute to increased blood pressure in sucrose-fed rats: *Am J Hypertens*, v. 20, no. 6, p. 692-698.

Gallinat S., Busche S., Raizada M.K., and Sumners C., 2000, The angiotensin II type 2 receptor: an enigma with multiple variations: *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 278, no. 3, p. E357-E374.

Ghias M., Scherlag B.J., Lu Z., Niu G., Moers A., Jackman W.M., Lazzara R., and Po S.S., 2009, The role of ganglionated plexi in apnea-related atrial fibrillation: *J Am Coll Cardiol*, v. 54, no. 22, p. 2075–2083.

Gomes R.M., Bueno F.G., Schamber C.R., de Mello J.C.P., de Oliveira J.C., Francisco F.A., Moreira V.M., Junior M.D.F., Pedrino G.R., de Freitas Mathias P.C., Miranda R.A., de Moraes S.M.F., and Natali M.R.M., 2018, Maternal diet-induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance: *J Nutr Biochem*, v. 61, p. 24-32.

Gregor M.F., and Hotamisligil G.S., 2011, Inflammatory mechanisms in obesity: *Annu Rev Immunol*, v. 29, p. 415-445.

Gross V., Milia A.F., Plehm R., Inagami T., and Luft F.C., 2000, Long-term blood pressure telemetry in AT2 receptor-disrupted mice: *J Hypertens*, v. 18, no. 7, p. 955-961.

Guimaraes K.S.L., de Araujo E.V., Aquino J.S., Gadelha D.A., Balarini C.M., Costa-Silva J.H., Magnani M., Vidal H., Braga V.A., and de Brito Alves J.L., 2017, Effect of maternal dyslipidaemia on the cardiorespiratory physiology and biochemical parameters in male rat offspring: *Br J Nutr*, v.118, no. 11, p. 930-941.

Guimaraes P.S., Huber D.A., Campagnole-Santos M.J., and Schreihofner A.M., 2014, Development of attenuated baroreflexes in obese Zucker rats coincides with impaired activation of nucleus tractus solitarius: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.306, n. 9, p. R681-R692.

Guimaraes P.S., Oliveira M.F., Braga J.F., Nadu A.P., Schreihofner A., Santos R.A., and Campagnole-Santos M.J., 2014, Increasing angiotensin-(1-7) levels in the brain attenuates metabolic syndrome-related risks in fructose-fed rats: *Hypertension*, v. 63, no. 5, p. 1078-1085.

Hall J.E., da Silva A.A., do Carmo J.M., Dubinion J., Hamza S., Munusamy S., Smith G., and Stec D.E., 2010, Obesity-induced hypertension: role of sympathetic nervous system, leptin, and melanocortins: *J Biol Chem*, v. 285, no. 23, p. 17271-17276.

Hanover L.M., and White J.S., 1993, Manufacturing, composition, and applications of fructose: *Am J Clin Nutr*, v. 58, no. 5 Suppl., p. 724S-732S.

Haynes W.G., Morgan D.A., Walsh S.A., Sivitz W.I., and Mark A.L., 1998, Cardiovascular consequences of obesity: role of leptin: *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v. 25, no. 1, p. 65-69.

Hayward C.S., Kelly R.P., and Collins P., 2000, The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function: *Cardiovasc Res*, v. 46, no. 1, p. 28-49.

Heber D., 2010, An integrative view of obesity: *Am J Clin Nutr*, v. 91, no. 1, p. 280S-283S.

Heistad D.D., Abboud F.M., Mark A.L., and Schmid P.G., 1975, Response of muscular and cutaneous vessels to physiologic stimulation of chemoreceptors (38505): *Proc Soc Exp Biol Med*, v. 148, no. 1, p. 198–202.

Hilzendeger A.M., Morgan D.A., Brooks L., Dellsperger D., Liu X., Grobe J.L., Rahmouni K., Sigmund C.D., and Mark A.L., 2012, A brain leptin-renin angiotensin system interaction in the regulation of sympathetic nerve activity: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 303, no. 2, p. H197-H206.

IBGE, 2013, *Percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação.*

Ideraabdullah F.Y., and Zeisel S.H., 2018, Dietary modulation of the epigenome: *Physiol Rev*, v. 98, no. 2, p. 667-695.

Iwai M., and Horiuchi M., 2009, Devil and angel in the renin-angiotensin system: ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs. ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis: *Hypertens Res*, v. 32, no. 7, p. 533-536.

Kaschina E., and Unger T., 2003, Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function: *Blood Press*, v. 12, no. 2, p. 70-88.

Kasparov S., Butcher J.W., and Paton J.F., 1998, Angiotensin II receptors within the nucleus of the solitary tract mediate the developmental attenuation of the baroreceptor vagal reflex in pre-weaned rats: *J Auton Nerv Syst*, v. 74, no. 2-3, p.160-168.

Kawarazaki W., and Fujita T., 2016, The Role of Aldosterone in Obesity-Related Hypertension: *Am J Hypertens*, v. 4, p. 415-23.

Kim D.W., Glendining K.A., Grattan D.R., and Jasoni C.L., 2016, Maternal Obesity in the Mouse Compromises the Blood-Brain Barrier in the Arcuate Nucleus of Offspring: *Endocrinology*, v. 157, no. 6, p. 2229-2242.

Kirk S.L., Samuelsson A.M., Argenton M., Dhonye H., Kalamatianos T., Poston L., Taylor P.D., and Coen C.W., 2009, Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring: PLoS One, v. 4, no. 6, p. e5870.

Kishi T., Aschkenasi C.J., Lee C.E., Mountjoy K.G., Saper C.B., and Elmquist J.K., 2003, Expression of melanocortin 4 receptor mRNA in the central nervous system of the rat: J Comp Neurol, v. 457, no. 3, p. 213-235.

Krogh-Madsen R., Pedersen M., Solomon T.P., Knudsen S.H., Hansen L.S., Karstoft K., Lehrskov-Schmidt L., Pedersen K.K., Thomsen C., Holst J.J., and Pedersen B.K., 2014, Normal physical activity obliterates the deleterious effects of a high-caloric intake: J Appl. Physiol (1985), v. 116, no. 3, p. 231-239.

Kyrou I., and Tsigos C., 2008, Chronic stress, visceral obesity and gonadal dysfunction: Hormones (Athens), v. 7, no. 4, p. 287-293.

Kurtz T.W., Morris R.C., and Pershadsingh H.A., 1989, The Zucker fatty rat as a genetic model of obesity and hypertension: Hypertension, v. 13, no. 6 Pt. 2, p. 896-901.

Leite R.D., Durigan R.C., de Souza Lino A.D., de Souza Campos M.V., Souza M., Selistre-de-Araujo H.S., Bouskela E., and Kraemer-Aguiar L.G., 2013, Resistance training may concomitantly benefit body composition, blood pressure and muscle MMP-2 activity on the left ventricle of high-fat fed diet rats: Metabolism, v. 62, no. 10, p. 1477-1484.

Li M., Reynolds C.M., Sloboda D.M., Gray C., and Vickers M.H., 2015, Maternal taurine supplementation attenuates maternal fructose-induced metabolic and inflammatory dysregulation and partially reverses adverse metabolic programming in offspring: J Nutr Biochem, v. 26, no. 3, p. 267-276.

Lohmeier T.E., Irwin E.D., Rossing M.A., Serdar D.J., and Kieval R.S., 2004, Prolonged activation of the baroreflex produces sustained hypotension: *Hypertension*, v. 43, no. 2, p. 306-311.

Mayer M.A., Hocht C., Giani J.F., Munoz M.C., Carranza A., Taira C.A., Dominici F.P., Puyo A.M., and Fernandez B.E., 2013, Central insulin-angiotensin II interaction in blood pressure regulation in fructose overloaded rats: *Regul Pept*, v. 185, p. 37-43.

McGillick E.V., Lock M.C., Orgeig S., and Morrison J.L., 2017, Maternal obesity mediated predisposition to respiratory complications at birth and in later life: understanding the implications of the obesogenic intrauterine environment: *Paediatr Respir Rev*, v. 21, p. 11-18.

McKinley M.J., McAllen R.M., Pennington G.L., Smardencas A., Weisinger R.S., and Oldfield B.J., 1996, Physiological actions of angiotensin II mediated by AT1 and AT2 receptors in the brain: *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v. 23, Suppl. 3, p. S99-S104.

Mehler M.F., 2008, Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease: *Prog Neurobiol*, v. 86, no. 4, p. 305-341.

Michellini L.C., and Bonagamba L.G., 1990, Angiotensin II as a modulator of baroreceptor reflexes in the brainstem of conscious rats: *Hypertension*, v. 15, no. 2 Suppl., p. I45-I50.

Moraes D.J., Dias M.B., Cavalcanti-Kwiatkoski R., Machado B.H., and Zoccal D.B., 2012, Contribution of the retrotrapezoid nucleus/parafacial respiratory region to the expiratory-sympathetic coupling in response to peripheral chemoreflex in rats: *J Neurophysiol*, v. 108, no. 3, p. 882–890.

Muntzel M.S., Joseph T., and Onwumere O., 2004, Effect of insulin-induced hypokalemia on lumbar sympathetic nerve activity in anesthetized rats: *J Hypertens*, v. 22, no. 9, p. 1755-1760.

Muntzel M.S., Morgan D.A. Morgan, Mark A.L., Johnson A.K., 267, Intracerebroventricular insulin produces nonuniform regional increases in sympathetic nerve activity: *Am J Physiol*, v. 267, no. 5 Pt. 2, p. R1350-R1355.

Nagae A., Fujita M., Kawarazaki H., Matsui H., and Ando K., Fujita T., 2009, Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension: *Circulation*, v. 119, no. 7, p. 978-986.

Nakano H., Lee S.D., and Farkas G.A., 2002, Dopaminergic modulation of ventilation in obese Zucker rats: *J Appl Physiol* (1985), v. 92, no. 1, p. 25–32.

N.R.F.C. (NCD-RisC)*, 2016, Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants: *The Lancet*, v. 387, no. 10026, p. 1377-1396.

O'Callaghan E.L., Choong Y.T., Jancovski N., and Allen A.M., 2013, Central angiotensinergic mechanisms associated with hypertension: *Auton Neurosci*, v. 175, no.1-2, p. 85-92.

O'Donnell C.P., Schaub C.D., Haines A.S., Berkowitz D.E., Tankersley C.G., Schwartz A.R., and Smith P.L., 1999, Leptin prevents respiratory depression in obesity: *Am J Respir Crit Care Med*, v. 159, no. 5 Pt. 1, p. 1477–1484.

O'Donnell C.P., Tankersley C.G., Polotsky V.P., Schwartz A.R., and Smith P.L., 2000, Leptin, obesity, and respiratory function: *Respir Physiol*, v. 119, no. 2-3, p. 163-170.

Ozanne S.E., 2015, Epigenetic signatures of obesity: *N Engl J Med*, v. 372, no. 10, p. 973-974.

Ozturk L., Unal M., Tamer L., and Celikoglu F., 2003, The association of the severity of obstructive sleep apnea with plasma leptin levels: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, v. 129, no. 5, p. 538-540.

Patel N., Pasupathy D., and Poston L., 2015, Determining the consequences of maternal obesity on offspring health: *Exp Physiol*, v. 100, no. 12, p. 1421-1428.

Paton J.F., and Kasparov S., 1999, Differential effects of angiotensin II on cardiorespiratory reflexes mediated by nucleus tractus solitarius - a microinjection study in the rat: *J Physiol*, v. 521, Pt. 1, p. 213-225.

Putnam K., Shoemaker R., Yiannikouris F., and Cassis L.A., 2012, The renin-angiotensin system: a target of and contributor to dyslipidemias, altered glucose homeostasis, and hypertension of the metabolic syndrome: *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 302, no. 6, p. H1219-H1230.

Rahmouni K., 2016, Cardiovascular regulation by the arcuate nucleus of the hypothalamus: neurocircuitry and signaling systems: *Hypertension*, v. 67, no. 6, p. 1064-1071.

Reckelhoff J.F., 2001, Gender differences in the regulation of blood pressure: *Hypertension*, v. 37, no. 5, p. 1199-1208.

Ribeiro M.J., Sacramento J.F., Gonzalez C., Guarino M.P., Monteiro E.C., and Conde S.V., 2013, Carotid body denervation prevents the development of insulin resistance and hypertension induced by hypercaloric diets: *Diabetes*, v. 62, no. 8, p. 2905-2916.

Samuelsson A.M., Matthews P.A., Argenton M., Christie M.R., McConnell J.M., Jansen E.H., Piersma A.H., Ozanne S.E., Twinn D.F., Rémacle C., Rowlerson A., Poston L., and Taylor P.D., 2008, 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, no. 2, p. 383-392.

Samuelsson A.M., Matthews P.A., Jansen E., Taylor P.D., and Poston L., 2013, Sucrose feeding in mouse pregnancy leads to hypertension, and sex-linked obesity and insulin resistance in female offspring: *Front Physiol*, v. 4, p. 14.

Samuelsson A.M., Morris A., Igosheva N., Kirk S.L., Pombo J.M., Coen C.W., Poston L., and Taylor P.D., 2010, Evidence for sympathetic origins of hypertension in juvenile offspring of obese rats: *Hypertension*, v. 55, no. 1, p. 76-82.

Shi P., Diez-Freire C., Jun J.Y., Qi Y., Katovich M.J., Li Q., Sriramula S., Francis J., Sumners C., and Raizada M.K., 2010, Brain microglial cytokines in neurogenic hypertension: *Hypertension*, v. 56, no. 2, p. 297-303.

Smith A.D., Brands M.W., Wang M.H., and Dorrance A.M., 2006, Obesity-induced hypertension develops in young rats independently of the renin-angiotensin-aldosterone system: *Exp Biol Med (Maywood)*, v. 231, no. 3, p. 282-287.

Smith P.M., Hindmarch C.C., Murphy D., and Ferguson A.V., 2014, AT1 receptor blockade alters nutritional and biometric development in obesity-resistant and obesity-prone rats submitted to a high fat diet: *Front Psychol*, v. 5, p. 832.

Speretta G.F., Lemes E., Vendramini R.C., Menani J.V., Zoccal D.B., Colombari E., Colombari D.S.A., and Bassi M., 2018, High-fat diet increases respiratory frequency and abdominal expiratory motor activity during hypercapnia: *Respir Physiol Neurobiol*, v. 258, p. 32–39.

Speretta G.F., Rosante M.C., Duarte F.O., Leite R.D., Lino A.D., Andre R.A., Silvestre J.G., de Araujo H.S., and Duarte A.C., 2012, The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats: *Clinics (Sao Paulo)*, v. 67, no. 12, p. 1469-1477.

Speretta G.F., Silva A.A., Vendramini R.C., Zanesco A., Delbin M.A., Menani J.V., Bassi M., Colombari E., and Colombari D.S., 2016, Resistance training prevents the cardiovascular changes caused by high-fat diet: *Life Sci*, v. 146, p. 54-162.

Sriramula S., Cardinale J.P., and Francis J., 2013, Inhibition of TNF in the brain reverses alterations in RAS components and attenuates angiotensin II-induced hypertension: *PLoS One*, v. 8, no. 5, p. e63847.

Takagishi M., Waki H., Bhuiyan M.E., Gouraud S.S., Kohsaka A., Cui H., Yamazaki T., Paton J.F., and Maeda M., 2010, IL-6 microinjected in the nucleus tractus solitarii attenuates cardiac baroreceptor reflex function in rats: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 298, no 1, R183-R190.

Taxini C.L., Moreira T.S., Takakura A.C., Bicego K.C., Gargaglioni L.H., and Zoccal D.B., 2017, Role of A5 noradrenergic neurons in the chemoreflex control of respiratory and sympathetic activities in unanesthetized conditions: *Neuroscience*, v. 354, p. 146-157.

Taylor P.D., and Poston L., 2007, Developmental programming of obesity in mammals: *Exp Physiol*, v. 92, no. 2, p. 287-298.

Taylor, P.D., Samuelsson A.M., and Poston L., 2014, Maternal obesity and the developmental programming of hypertension: a role for leptin: *Acta Physiol (Oxf)*, v. 210, no. 3, p. 508-523.

Timpson N.J., Harbord R., Davey S.G., Zacho J., Tybjaerg-Hansen A., and Nordestgaard B.G., 2009, Does greater adiposity increase blood pressure and hypertension risk?: Mendelian randomization using the FTO/MC4R genotype: *Hypertension*, v. 54, no. 1, p. 84-90.

Tsutsumi K., and Saavedra J.M., 1991, Quantitative autoradiography reveals different angiotensin II receptor subtypes in selected rat brain nuclei: *J Neurochem*, v. 56, no. 1, p. 348-351.

Xue B., Thunhorst R.L., Yu Y., Guo F., Beltz T.G., Felder R.B., and Johnson A.K., 2016, Central Renin-Angiotensin System Activation and Inflammation Induced by High-Fat Diet Sensitize Angiotensin II-Elicited Hypertension: *Hypertension*, v. 67, no. 1, p. 163-170.

Zimmerman M.C., Lazartigues E., Lang J.A., Sinnayah P., Ahmad I.M., Spitz D.R., and Davisson R.L., 2002, Superoxide mediates the actions of angiotensin II in the central nervous system: *Circ Res*, v. 91, no. 11, p. 1038-1045.

Zoccal D.B., Simms A.E., Bonagamba L.G., Braga V.A., Pickering A.E., Paton J.F., and Machado B.H., 2008, Increased sympathetic outflow in juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia correlates with enhanced expiratory activity: *J Physiol*, v. 586, no. 13, p. 3253-3265.