

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E BIOMEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E
FISIOPATOLOGIA

MAIARA VANUSA GUEDES RIBEIRO

Dieta rica em gordura durante a adolescência programa para síndrome
cardiometabólica na vida adulta em ratos machos *Wistar*

Maringá

2022

MAIARA VANUSA GUEDES RIBEIRO

Dieta rica em gordura durante a adolescência programa para síndrome
cardiometabólica na vida adulta em ratos machos *Wistar*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Fisiopatologia.

Área de concentração: Biociências e Fisiopatologia Aplicadas à Farmácia

Orientador: Prof.a Dr^a Kesia Gemima Palma RigoWutzow

Coorientador: Prof. Dr^o Paulo Cezar de Freitas Mathias

Maringá

2022

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

R484d

Ribeiro, Maiara Vanusa Guedes

Dieta rica em gordura durante a adolescência programa para síndrome cardiometabólica na vida adulta em ratos machos *Wistar* / Maiara Vanusa Guedes Ribeiro. – Maringá, PR, 2022.

58 f.: il. color., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Kesia Gemima Palma RigoWutzow.

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia (PBF), 2022.

1. Síndrome cardiometabólica - Adolescentes. 2. Developmental origins of health and disease (DOHaD). 3. Hipertensão - Adolescentes. I. RigoWutzow, Kesia Gemima Palma, orient. II. Mathias, Paulo Cezar de Freitas, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina. Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia (PBF). IV. Título.

CDD 23.ed. 616.39

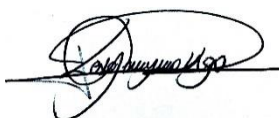
FOLHA DE APROVAÇÃO

MAIARA VANUSA GUEDES RIBEIRO

“Dieta rica em gordura durante a adolescência programa para síndrome cardiometabólica na vida adulta em ratos machos wistar”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Fisiopatologia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

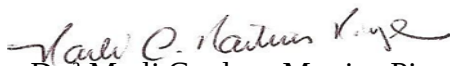
COMISSÃO JULGADORA



Dr.ª Kesia Gemima Palma Rigo Wutzow
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)



Dr.ª Jaqueline de Carvalho Rinaldi
(UEM – membro)



Dr.ª Marli Cardoso Martins Pingel
(UEL – membro)

Aprovado em: 23 de fevereiro de 2022

Defesa: pela Universidade Estadual de Maringá de forma remota.

Horário: 14h00min.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pai, pela sabedoria, inspiração e por tornar tudo possível. Minha fé e gratidão a Ti sempre

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para que eu chegasse até aqui e permaneceram sempre comigo. Especialmente a minha mãe pelos momentos de paciência, compreensão, incentivo e pelas palavras de conforto e esperança. Vocês são minha inspiração e meu exemplo de vida, minha gratidão por vocês é eterna.

Ao meu grande amor, companheiro de vida e meu amigo de todas as horas. Gratidão pelos ensinamentos, por me incentivar sempre e por acreditar que seria possível. Você é a peça essencial na minha vida.

A professora Kesia e professor Paulo Mathias, por acreditarem em minha competência, pela oportunidade, confiança, apoio e dedicação em todos os momentos.

Agradeço imensamente a dedicação de todos os professores e alunos do Laboratório de Biologia Celular da Secreção, me auxiliando em todas as etapas desta jornada, em especial ao time da área Cardiovascular (Anna Rebeka e Maria Natalia).

Dieta rica em gordura durante a adolescência programa para síndrome cardiometabólica na vida adulta em ratos machos *Wistar*

RESUMO

Introdução: A programação de doenças cardiometabólica tardias com insultos por dieta rica em gordura (HF) durante a gestação e a lactação já são bem conhecidas, no entanto, há um interesse crescente em compreender outras janelas de programação. **Objetivo:** Avaliar se a ingestão de dieta HF durante a adolescência pode programar a síndrome cardiometabólica (SCM) na vida adulta de ratos. **Material e Métodos:** O comitê de ética em pesquisa aprovou o estudo sob o CEUA nº 1527130815. No dia pós-natal (DPN) 30, ratos machos *Wistar* (n=30) foram expostos a uma dieta rica em gordura (HF, 35% de banha) até DPN 60, em seguida, alimentados com dieta padrão (NF, 4,5% de gordura) por mais sessenta dias. Os animais controles receberam (n=30) dieta NF ao longo da vida. O peso corporal e o consumo alimentar foram avaliados ao longo do protocolo. No DPN 120, os parâmetros biométricos, o metabolismo da glicose (por ipITT e oGTT), análise histológica, expressão de proteínas e parâmetros cardiovasculares foram avaliados. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste T de Student. **Resultados:** Os animais HF apresentaram menor ingestão alimentar em gramas (-45%, $p = 0,001$) e maior ingestão calórica (+ 7%, $p = 0,027$) durante a exposição à HF em comparação com o grupo controle. Ainda, os animais HF apresentaram sobrepeso (+ 10%, $p = 0,001$) índice de Lee aumentado (6 +%, $p = 0,001$) e adiposidade, hiperglicemia (+ 14%, $p = 0,016$) e hipertrigliceridemia (+ 36%, $p = 0,009$). Os níveis de glicose plasmática durante oGTT e ipITT também foram maiores no grupo HF, enquanto o k_{itt} foi significativamente baixo (-30%, $p = 0,043$), apontando para uma sensibilidade à insulina reduzida. A pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) aumentaram em animais HF (+ 10%, $p = 0,009$; + 19%, $p = 0,004$; + 13%, $p = 0,014$ respectivamente). A análise histológica no coração mostrou aumento da fibrose perivascular e intersticial (+ 42%, $p = 0,021$; + 62%, $p = 0,001$ respectivamente) e diâmetro dos cardiomiócitos maiores (+ 29%, $p = 0,001$) nos animais HF. A expressão da proteína caspase-3 foi maior no coração de ratos HF (+ 35%, $p = 0,032$). **Conclusão:** A dieta HF na adolescência programa para SCM na idade adulta, caracterizada por obesidade, alterações no metabolismo da glicose, desregulação dos níveis lipídicos, hipertensão e alterações estruturais cardíacas. Nosso estudo aponta para a suscetibilidade da adolescência ao insulto da dieta HF como uma janela crítica de desenvolvimento, capaz de programar para doenças cardiometabólicas tardias na vida adulta.

Palavras-chave: Dieta rica em gordura. Adolescência. Síndrome Metabólica. Hipertensão.

High-fat diet during adolescence program cardiometabolic syndrome in adult male wistar rats

ABSTRACT

Background: The programming role of insults during pregnancy and lactation in long term cardiometabolic disease is already well known, however, there is a growing interest in understanding other programming windows. **Objective:** The aim of this study was to evaluate whether high-fat (HF) diet intake during adolescence can program cardiometabolic syndrome (CMS) in adult rats. **Material and Methods:** The research ethics committee approved the study under CEUA nº 1527130815. Thirty days old (PND 30) male Wistar rats were exposed to a high fat (HF, 35% lard) diet until PND 60 then fed a normal fat (NF, 4.5% of fat) diet for a further sixty days. Control animals received the NF diet throughout life. Body weight and food consumption were evaluated throughout the protocol. At PND 120 biometric, glucose metabolism (by ipITT and oGTT), histological analysis, protein expression and cardiovascular parameters were evaluated. Statistical analyses were performed by Student's T test. **Results:** The HF animals showed lower food intake (-45%, $p=0.001$) and higher caloric intake (+7%, $p=0.027$) during exposure to HF compared with control group. At PND 120, HF animals presented overweight (+10%, $p=0.001$) increased Lee index (6+%, $p=0.001$) and higher adiposity, hyperglycemia (+14%, $p=0.016$) and hypertriglyceridemia (+36%, $p=0.009$). Plasma glucose levels during oGTT and ipITT were also higher in the HF group, whereas k_{itt} was significantly low (-30%, $p=0.043$), pointing to a reduced insulin sensitivity. Systolic (SBP), diastolic (DBP) and mean (MBP) blood pressure were increased in HF animals (+10%, $p=0.009$; +19%, $p=0.004$; +13%, $p=0.014$ respectively). The histological analysis in the heart showed increased perivascular and interstitial fibrosis (+42%, $p=0.021$; +62%, $p=0.001$ respectively) and cardiomyocyte diameter (+29%, $p=0.001$) in the HF animals. Caspase-3 protein expression was higher in the heart of HF rats (+35%, $p=0.032$). **Conclusion:** A HF diet during adolescence programs to CMS in adulthood, characterized by obesity, alterations on glucose metabolism, dysregulation in lipidic levels, hypertension and cardiac structural changes. Our study points to the susceptibility of adolescence to HF diet insult as a critical window of development, capable of programming for cardiometabolic disease later in life.

Keywords: High-fat diet. Adolescence. Metabolic Syndrome. Hypertension.

Abaixo será apresentado o manuscrito científico formatado conforme as normas da revista *The Journal of Physiology* (<https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/journal/14697793>), com fator de impacto 5,18. Considerando a solicitação da revista, a apresentação do manuscrito será em língua inglesa.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	11
Introdução	11
Síndrome Cardiometabólica (SCM)	11
<i>Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)</i>	16
Dieta rica em gordura e DOHaD	18
Mecanismos envolvidos na Síndrome Cardiometabólica	19
Justificativa	24
Objetivo	24
<i>Objetivos específicos</i>	24
Referências.....	25
CAPÍTULO II.....	34
Abstract	34
Introduction	35
Methods.....	36
<i>Animals and experimental conditions</i>	36
<i>Intraperitoneal insulin tolerance test (ipITT)</i>	37
<i>Oral glucose tolerance test (oGTT)</i>	37
<i>Euthanasia and samples collection</i>	38
<i>Biochemical assays</i>	38
<i>Arterial e venous catheterization</i>	38
<i>Blood pressure recording</i>	39
<i>Histological analysis of the heart</i>	39
<i>Western blotting of the heart</i>	40
<i>Statistical analysis</i>	41
Results	41
<i>Biometrical and biochemical parameters</i>	41
<i>Glucose homeostasis</i>	42
<i>Arterial pressure, heart rate, cardiac histology and caspase-3 receptors expression in heart</i>	42
Discussion.....	43
Conclusion	46
Additional information.....	46
Table	47
Figures	48

<i>References</i>	52
CAPÍTULO III	57
Conclusão	57
Perspectivas futuras	58

CAPÍTULO I

Introdução

A síndrome cardiometabólica (SCM) tem sido uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo. Sua prevalência mundial pode chegar a 85%, dependendo da região, população estudada e definição dos critérios utilizados. Além disso, pesquisas apontam que a prevalência dessa síndrome pode dobrar até 2030 (1,2). A SCM é caracterizada quando um indivíduo apresenta três ou mais fatores de risco, como aumento do acúmulo de gordura abdominal, glicemia de jejum elevada, dislipidemia e aumento da pressão arterial (1,3).

Nesse contexto, os fatores que provocam essas mudanças ainda precisam ser determinados, porém, a mudança no estilo de vida acompanhado por sedentarismo, estresse e mudanças nos hábitos alimentares, resultando em obesidade ou sobrepeso, vem sendo observadas nas últimas décadas e tem sido consideradas como principais contribuintes para a instalação de SCM (4). Adicionalmente, a obesidade e sobrepeso são entrelaçadas com grande maioria das doenças cardiometabólicas alcançando proporções epidêmicas mundial (5).

Estudos epidemiológicos no contexto do conceito *Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)* demonstram que estresses realizados em fases críticas do desenvolvimento são um dos principais preditores das doenças cardiometabólicas na vida adulta (6,7). Estudos epidemiológicos e experimentais apontam que insultos com dieta rica em gordura em fases sensíveis do desenvolvimento, desde a gestação até a adolescência, aumentam o risco para desenvolver doenças cardiometabólicas que compõem a SCM na vida adulta (8–16)

Síndrome Cardiometabólica (SCM)

A SCM é caracterizada como um conjunto de fatores que aumentam as chances de desenvolver doenças cardiovasculares (DCV), acidente vascular cerebral (AVC) e diabetes tipo dois (DM2); as quais têm sido as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo (1). Os sinais da SCM não dependem de alterações exageradas nos parâmetros, contudo é necessário observar um conjunto de alterações de parâmetros cardiometabólicos. A presença de três ou mais fatores de risco, como aumento do acúmulo de gordura abdominal, dislipidemia (colesterol HDL <40mg/dl e triglicérides >150 mg/dl), aumento da pressão

arterial em níveis $>140/90$ mmHg e glicemia de jejum >110 mg/dl considerando esses valores em humanos, caracterizam a SCM (1,3). Estima-se que 25% da população adulta mundial apresentam SCM, sendo no Brasil a sua prevalência de 29,6%, relativamente superior à estimada em todo mundo, tornando-se, assim, um problema de saúde pública (17,18).

A partir do fim da década de 80, a “Síndrome X” foi um dos primeiros termos utilizados por Reaven para descrever a SCM, sendo relatado o papel central da síndrome à resistência à insulina, que seria o fator etiológico comum ao agrupamento desses distúrbios, como hiperinsulinemia, tolerância a glicose diminuída, baixos níveis de colesterol HDL, altos níveis de triglicerídeos e a hipertensão (19). Em 1989, Kaplan incluiu a presença da obesidade central como um dos fatores associados à síndrome, focando na presença de obesidade central, diminuição da tolerância à glicose, hipertrigliceridemia e hipertensão; denominando a síndrome de “Quarteto Mortal” a fim de destacar a sua associação com o desenvolvimento de DCV (20). Apesar de haver uma divergência na terminologia e também nos critérios para diagnosticar a síndrome, há um consenso sobre o uso do termo “síndrome metabólica” e presença de no mínimo três fatores dos riscos descritos anteriormente (21–23). Nesse trabalho, optamos em se referir a essa síndrome como “síndrome cardiometabólica” evidenciando a relevância do sistema cardiovascular no desenvolvimento da mesma.

O fenótipo da SCM permite identificar indivíduos em risco para a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT'S) (18), que no Brasil constituem a maior causa de morbimortalidade da população, sendo responsável por 78% das mortes em 2019 (24). Na classificação de DCNT'S que podem compor a SCM, pode-se descrever primeiramente a obesidade, a qual, juntamente com o sobrepeso, está associada a maior parte das doenças cardiometabólicas e tem alcançado proporções epidêmicas mundial (5). A obesidade é caracterizada pelo acúmulo e/ou desorganização do tecido adiposo corporal, evidenciado pelo aumento do número e tamanho dos adipócitos que interfere na sua funcionalidade de estocar energia, fornecendo-a em períodos de jejum através de lipólise, e produção e secreção de diversos hormônios, como as adipocinas (5,25).

A desorganização do tecido adiposo pode contribuir para eventos de apoptose e necrose (25). Assim, ocorre o recrutamento de células inflamatórias como os macrófagos, que são responsáveis pela produção de citocinas próinflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), além de produzir espécies reativas de oxigênio, que também estimulam a inflamação e prejudicam a função do tecido adiposo (25,26). A associação desses fatores está intimamente relacionada à inflamação, destruição do tecido adiposo, diminuição da

sinalização da insulina contribuindo, assim, para o desenvolvimento da resistência à insulina na SCM (26).

Muito se sabe da importância do hipotálamo na regulação de ingesta alimentar e gasto energético por meio da integração de múltiplas aferências neurais, metabólicas e humorais da periferia, sendo o núcleo arqueado (ARQ) a área considerada chave por ser o núcleo receptor das aferências periféricas sinalizadoras do balanço energético crônico (27,28). Na maioria da população a obesidade é ocasionada por um desequilíbrio entre a ingesta alimentar e o gasto energético (17,29).

No contexto das DCNT'S, a Hipertensão é caracterizada pela elevação crônica e persistente da pressão arterial (PA) a níveis >140 e/ou 90mmHg (30). Esta é uma condição clínica multifatorial que pode desencadear lesão de artérias e nos órgãos alvos que recebem maior fluxo de sangue, como o coração, rim e cérebro, além de estar associada a disfunções metabólicas (31,32). A presença de fatores de risco como idade, desregulação nutricional, obesidade e falta de atividade física podem desencadear ou agravar o quadro de hipertensão (31,32). A origem da hipertensão pode envolver mecanismos de regulação da PA, sendo a regulação rápida mediada pelo sistema nervoso autônomo (SNA) e a regulação a longo prazo mediada pelo rim através do sistema renina angiotensina e aldosterona (SRAA). Estas disfunções podem ser associadas a alterações em vários sistemas, como os sistemas renal, cardiovascular, respiratório e o nervoso (33,34). Um estudo realizado com dieta rica em gordura, do inglês *high fat diet* (HFD), ofertada a ratos adultos por 30 dias, demonstrou aumento da pressão arterial mediada por possíveis alterações na atividade simpática vascular (35).

Alterações no perfil lipídico, como já mencionadas acima, também podem ser encontradas em indivíduos que apresentam a SCM. A dislipidemia é descrita como a presença de níveis anormais de lipídeos na corrente sanguínea, devido distúrbios nas etapas do metabolismo lipídico (36,37). Como resultado, o perfil lipídico sérico sofrerá alterações e estas podem incluir aumento do colesterol total (CT), dos triglicérides (TG), da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (36–38). O CT é um composto químico da família do álcool e é sintetizado pelo fígado, por ser solúvel apenas em gorduras é transportado na corrente sanguínea através das seguintes lipoproteínas: VLDL (também conhecida como triglicérides), LDL-c e HDL-c (37,39,40).

O fígado acumula os triglicérides na forma de VLDL e os libera pela corrente sanguínea para alcançar as células que os armazenam e utilizam como energia. O VLDL sem os triglicérides, que foram entregues para os tecidos, passa a ser denominado LDL-c e o

excesso de LDL-c na corrente sanguínea acaba disponibilizando colesterol esterificado para as paredes das artérias, originando placas ateromatosas e consequentemente desenvolvendo a aterosclerose. O HDL-c, por sua vez, extraindo o colesterol das paredes das artérias, devolvendo-o ao fígado para ser excretado (37,39,40). Embora a aterogênese seja um processo multifatorial, as anormalidades no metabolismo das lipoproteínas são um dos principais fatores para o desenvolvimento de DCV. A relação TG/HDL-c e CT/HDL-c são indicativos de risco cardiovascular mais sensível e específico comparado aos seus níveis isolados, sendo cada vez mais utilizados como indicadores de risco de desenvolver DCV (41–43). Indivíduos que possuem elevação dessas relações apresentam maior risco cardiovascular devido ao desequilíbrio entre o colesterol carregado pelas lipoproteínas aterogênicas e protetoras (44).

Apesar de ainda pouco compreendido, sabe-se que indivíduos com desorganização na distribuição da adiposidade estão constantemente sofrendo lipólise e gerando assim ácidos graxos livres (AGL) que atuam no fígado sobrecarregando-o. Se o fígado não consegue remover esse excesso de AGL é desencadeada dificuldade na captação da glicose e na depuração da insulina, propiciando resistência tecidual a insulina (45). Nos adipócitos, responsáveis pelo armazenamento de gorduras, a presença de resistência insulínica desencadeia um aumento da liberação de AGL, enquanto no fígado é determinada uma diminuição na síntese de VLDL, resultando na liberação em excesso de partículas de VLDL ricas em triglicerídeos, que por sua vez geram uma cascata de eventos que determina a redução nos níveis de HDL-c e aumento das partículas de LDL-c (46,47). Esta disfunção lipídica pode ter como consequência o aumento da viscosidade sanguínea, resultando na alteração do fluxo sanguíneo, propiciando agregação plaquetária e aumentando o risco trombótico e também no desenvolvimento de hipertensão (48). Nesse contexto, os componentes da SCM como, o aumento no acúmulo de gorduras, resistência à insulina e presença de indicadores para aterosclerose estão intimamente associados.

A resistência à insulina (RI), como já mencionada acima, é um dos principais componentes que podem acompanhar a instalação da SCM (19). Esta condição foi caracterizada por Berson e Yalow em 1970, como um estado no qual níveis de insulina maiores do que o normal são necessários para provocar uma resposta quantitativamente normal no organismo (49). Mais especificamente, a RI é compreendida por uma ineficácia da insulina plasmática, em concentrações normais, desencadear a captação da glicose, bem como sua incapacidade de suprimir a gliconeogênese hepática e inibir a produção de VLDL-c, resultando em hiperinsulinemia compensatória na tentativa de manter normais os níveis de

glicose (50–53). Nesse contexto, a insulina é conhecida como um hormônio metabólico, o qual é sintetizado pelas células β pancreáticas e estimula a captação de glicose em vários órgãos, principalmente nos músculos, tecido adiposo e fígado, além de inibir a lipólise no tecido adiposo (54). A insulina que além do papel fundamental no transporte de glicose e metabolismo energético celular, estimula a síntese de glicogênio e síntese de ácidos graxos (52), também desempenha funções na estimulação de proteínas e de lipídeos (55), além de, frequentemente distúrbios na produção e/ou sinalização da via da insulina e resistência tecidual estarem associadas com condições iniciais de hiperglicemia (56).

Na literatura, a RI acompanhada de hiperinsulinemia e hiperglicemia é sugerida como um dos mecanismos unificador para doenças relacionadas à SCM (19). Estudos sugerem que condições de hiperinsulinemia presente podem levar à RI, especialmente na presença de níveis aumentados de AGL, consequente obesidade (53,57). O acúmulo de gordura na região abdominal é considerado um determinante crítico da RI em todo o corpo (54). Uma vez que, em situações como esta, o número de células β pancreáticas é aumentada assim como sua função, resultando no desequilíbrio entre a taxa de produção de insulina e a taxa de depuração da insulina, somando-se a isso, alterações no nível de insulina plasmática, uma vez que, as células β pancreáticas são a única fonte de insulina no organismo (52,53,57). A hiperinsulinêmica pode também estar relacionada à estimulação das células β pancreáticas por aumento de AGL e altos níveis de glicose (57,58).

Na literatura descreve-se que o acúmulo de AGL em tecidos não adiposos sensíveis à insulina, como músculo e fígado, pode prejudicar a captação de glicose mediada pela insulina nesses tecidos (54,59,60); além de ativar a liberação de citocinas pro-inflamatórias, como o TNF- α e interleucina 6 (IL-6), que colaboraram para o desenvolvimento da disfunção endotelial, acompanhada por rigidez arterial e consequentemente elevação da pressão sanguínea (53). Um estudo com HFD ofertada a camundongos adultos por 5 semanas, mostrou a presença de RI acompanhada pela obesidade e altos níveis de glicemia plasmática logo após o insulto (61). Outro estudo de coorte em humanos, acompanhados por 8 anos (estudo do coração de Bogalusa), em 1996, mostrou uma associação entre persistente níveis elevados de insulina e o desenvolvimento de DCV em comparação com indivíduos normoinsulinêmicos; sendo que aqueles com hiperinsulinemia, também mostraram um aumento no Índice de Massa Corporal (IMC), prevalência de obesidade, concentrações de TG e LDL-c elevados, além de aumento na PA (62).

A ocorrência dessas desordens descritas acima, que podem compor a SCM, estão fortemente associadas ao estilo de vida atual, que envolve o sedentarismo, aumento do

consumo de dietas não saudáveis (com excesso de sal e gordura saturada e baixo consumo de frutas e vegetais), além de fatores como o consumo de tabaco e álcool, genéticos e hormonais (63,64). Com o crescimento mundial da SCM nas últimas décadas, levou-se a introdução de várias terapias baseadas em exercício físico, nutrição adequada, uso de fármacos entre outras; no entanto, essas intervenções são consideradas como uma forma de tratamento paliativo quando há presença da SCM ou então preventivo a instalação de SCM. A complexidade dos fatores envolvidos no desenvolvimento das doenças cardiometabólicas, tem direcionado pesquisas para investigar as possíveis causas e possíveis mecanismos envolvidos na instalação dessas doenças (65).

Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)

Evidências epidemiológicas e experimentais realizadas desde a década de 80, entrelaçam a influência de insultos ambientais e nutricionais em janelas sensíveis do desenvolvimento com alterações relacionadas com o desenvolvimento de doenças na vida adulta (66). O conceito Origens Desenvolvimentista da Saúde e Doença originado do inglês *Developmental Origins of Health and Disease* (DOHaD), expõem que estresses ocorridos em períodos de desenvolvimento onde há grande plasticidade dos órgãos e sistemas podem desenvolver efeitos longevos no indivíduo, resultando em alterações tanto na estrutura como na função de órgãos e sistemas, caracterizando o efeito de programação para a ocorrência de doenças cardiometabólicas na vida adulta (6,67).

Entre os principais insultos abordados na literatura que podem programar para disfunções cardiometabólicas estão os insultos relacionados à dietas, exposição a poluentes e contaminantes alimentares, restrição de crescimento intrauterino, estresse emocional, entre outros (66). As principais fases susceptíveis para a programação de doenças são a preconcepção, a gestação, a lactação, a infância e a adolescência (6,7). Um estudo na fase pré-concepcional, com exposição maternal ao álcool (6,7%), programou a prole na vida adulta para o desenvolvimento de hiperglicemia e baixos níveis de insulina, com um aumento das citocinas inflamatórias além de apoptose celular no pâncreas, acompanhada pelo aumento da suscetibilidade ao diabetes (68).

Muitos estudos enfatizam a gestação e/ou lactação como uma fase crítica do desenvolvimento, onde especula-se que o feto pode antecipar adaptações em resposta ao ambiente intrauterino, resultando em ajustes permanentes no sistema homeostático para ajudar

a sobrevivência imediata e melhorar a sobrevida em um ambiente pós-natal adverso; sendo que essa comunicação pode ocorrer através de sinais hormonais emitidos pela mãe através da placenta e/ou leite materno (12,66,69). Além disso, o conceito de programação também pode predispor para a saúde na vida adulta, onde o risco para as doenças é considerado baixo se o ambiente de desenvolvimento está dentro da normalidade sem a presença de insultos prejudiciais (70).

Pesquisas epidemiológicas que se referem ao contexto do conceito DOHaD, demonstram que insultos em fases críticas do desenvolvimento podem programar para DCV na vida adulta. Estudos de coorte realizados com recém-nascidos com baixo peso ao nascer, demonstram riscos aumentados para o desenvolvimento de doenças coronárias, acidente vascular cerebral, diabetes mellitus tipo 2, aumento de adiposidade visceral e SCM na vida adulta (71–73). Além disso, indivíduos adultos sobreviventes a prematuridade, apresentaram maior risco para DCV na vida adulta como, aumento do níveis em jejum de insulina acompanhada de resistência à insulina, intolerância à glicose, aumento de LDL-c, aumento da pressão arterial e maior risco para desenvolvimento de diabetes gestacional (74). Na literatura estudos experimentais, apontam que insultos com dieta rica em gordura a 26% ou 60% (61,75,76), com restrição de proteína a 6% (77), ou dieta rica em sal a 4% de NaCl (78) em fases perinatais podem predispor para aumento de peso corporal e acúmulo de adiposidade, hipertensão e/ou hipertrofia cardíaca e alterações metabólicas.

Na fase da adolescência os estudos ainda são escassos, visto que, essa fase também é considerada um período sensível do desenvolvimento, tornando o adolescente vulnerável a insultos que podem programar para a ocorrência de doenças ao longo da vida. Vários estudos apontam que neste período de desenvolvimento ocorrem modificações no organismo viabilizando seu desenvolvimento e amadurecimento rápido (79–81). Dentre estas modificações pode-se citar as alterações hormonais responsáveis pelo desenvolvimento das características reprodutivas, associada a uma maior reorganização cerebral, resultando em alterações estruturais e funcionais no cérebro nesse período (79–81). Na adolescência também ocorre uma maior exposição a fatores estressores ambientais e social, com uma maior exposição a dietas inadequadas, com pouca quantidade de proteína e alto valor calórico (82,83). Considerando a susceptibilidade desta fase do desenvolvimento, insultos podem causar uma desorganização nesse período podendo resultar em um maior risco para desenvolvimento de DCV na vida adulta (84,85).

Estudos recentes do nosso grupo de pesquisa realizados na fase da adolescência, evidenciam que a dieta rica em gordura a 35% programou para uma disfunção metabólica na

vida adulta, com aumento de adiposidade, disfunção no metabolismo da glicose, além de alterações no sistema reprodutor evidenciado pelo aumento anormal dos túbulos seminíferos, redução na altura do epitélio e no diâmetro dos túbulos seminíferos (8). Também demonstramos que animais expostos ao consumo de água rica em sal, programa para aumento de peso corporal, hipertensão arterial e hipertrofia cardíaca acompanhada do aumento da fibrose perivascular e intersticial no coração aos 120 dias de vida (86). Em adição, outros estudos com restrição proteica, mostraram um aumento dos estoques de gordura, leve aumento de glicose plasmática, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, dislipidemia, menor liberação de ACTH, aumento da resposta colinérgica das ilhotas pancreáticas e níveis de testosterona diminuído (87,88).

Dieta rica em gordura e DOHaD

Exposição de ratos a dieta HFD são usados como modelo experimental nutricional, que se aproximam ao estilo de vida moderno. Nos roedores essa dieta altamente calórica durante a gravidez e lactação, resulta num fenótipo bem próximo a SCM em humanos (9,89,90). De fato, a dieta hiperlipídica materna, causa alterações em diversos tecidos do corpo em roedores e primatas não humanos (12). Alterações cardiovasculares tem sido relatadas desde os estudos iniciais com programação metabólica, quando Barker e Osmond relacionaram mortalidade infantil e doença coronariana, em sobreviventes de uma mesma área geográfica (71,91). Em um estudo com HFD à 60 % de gordura por 3 semanas antes do cruzamento, durante a gestação e lactação, mostrou os efeitos a curto prazo desta dieta, onde a prole, no desmame aos 21 dias, apresentou aumento nos níveis de glicose e insulina acompanhado por resistência à insulina e intolerância à glicose, além disso, os filhotes possuíam aumento de tecido adiposo e taxa de proliferação das células β pancreáticas alterada (92).

Estudos que avaliaram o impacto da dieta rica em gordura na vida perinatal (gestação e lactação) sobre o cardiometabolismo, mostram um aumento do risco cardiovascular na vida adulta. Observou-se nestes modelos, aumento de peso corporal, hiperinsulinemia (93), hiperfagia, hiperleptinemia (94), alterações no metabolismo da glicose, resistência à insulina (13,16,61), aumento nos níveis de leptina (69), doença hepática gordurosa não alcoólica (93), dislipidemia, hipertensão, aumento da sensibilidade do barorreflexo (13,14), diminuição da frequência cardíaca, função vascular alterada, aumento do diâmetro dos cardiomiócitos

acompanhado por aumento do colágeno caracterizando a fibrose cardíaca (12,76) e disfunção renal (10), sendo essas disfunções independentes da dieta pós-natal. Ainda, estudos em ratos e camundongos, tem mostrado, que a dieta HFD materna leva a alterações morfológicas como hipertrofia dos adipócitos, hiperplasia e hipertrofia das células beta pancreáticas, redução na função mitocondrial hepática (94,95) e aumento da lipogênese de citocinas inflamatórias (16).

A adolescência como já descrito anteriormente, também é considerada uma fase crítica do desenvolvimento capaz de programar o indivíduo para disfunções na vida adulta, porém, ainda pouco relatado na literatura (8,86–88). Estudo do nosso grupo de pesquisa, evidenciou que a oferta de HFD na adolescência promove alterações na vida adulta, como maior peso corporal, intolerância à glicose, aumento da deposição de tecido adiposo, diminuição no consumo de oxigênio (VO₂ max) e redução do gasto energético, parâmetros que foram restaurados com o treinamento físico, além de alterações no sistema reprodutor (8). Apesar dos inúmeros estudos sobre programação cardiometabólica induzida por HFD, são escassos os trabalhos referentes ao uso de dieta rica em gordura durante a adolescência e que caracterizem o fenótipo que compõem as doenças da SCM nesses animais na vida adulta.

As evidencias descritas acima que proporcionam a origem da SCM por insulto com dieta rica em gordura em fases sensíveis do desenvolvimento, podem envolver mecanismos associados a disfunções em vários sistemas, como o sistema cardiovascular (12,96), o sistema metabólico (13,16,93), o sistema nervoso (16,96) e sistema renal (10). A resistência à insulina (19), desregulação no sistema renina angiotensina (SRA) e atuação do sistema nervoso (SN) (97) e o processo inflamatório crônico (98) têm sido sugeridos como potenciais mecanismos fisiopatológicos para as alterações nos sistemas que sustentam as desordens presentes da SCM.

Mecanismos envolvidos na Síndrome Cardiometabólica

Os mecanismos por trás da regulação das desordens que constituem a SCM estão sendo relacionados com vários sistemas que modulam o funcionamento do organismo como um todo, dentre eles podemos descrever a associação da SCM com a ativação acentuada do SRA. O SRA é compreendido como importante sistema fisiológico, sendo responsável por modular processos homeostáticos na regulação do balanço hormonal e função cardiovascular. Ligeiramente, a angiotensina II (ANG II) é o principal efector do SRA, sendo produzida pela reação em cascata enzimática onde a renina é a enzima chave precursora que através da clivagem do angiotensinogênio (AGT) que é produzido no fígado gera a angiotensina I.

Assim, a enzima conversora de angiotensina (ECA) cliva a angiotensina I produzindo a ANG II, que por sua vez se liga ao receptor AT1. A ativação deste receptor promove o aumento de secreção de aldosterona pelas adrenais e do hormônio antidiurético pela neuro-hipófise. Em condições aumentadas, essas substâncias estimulam a vasoconstrição, reabsorção de sódio e água, inflamação, hipertrofia, hiperplasia, estresse oxidativo e promove diminuição da sensibilidade à insulina (99,100).

Distúrbios cardiometabólicos como hiperglicemia, obesidade e hipertensão estão intimamente relacionados com um aumento nos níveis de ANG II. Dessa forma, a ANG II que desempenha papel fisiológico, porém em excesso, pode desenvolver efeitos fisiopatológicos em vários tecidos e órgãos como nos rins, sistema cardiovascular e tecido muscular (99). Em condições de desorganização e acúmulo de tecido adiposo, ocorre a indução através dos adipócitos do estímulo da síntese de adipocinas interferindo na regulação dos componentes do SRA. Ainda, o tecido adiposo quando em excesso, apresenta níveis elevado de AGT local, que contribuem para produção de ANG II, sendo responsável pelo desenvolvimento de efeitos que influenciam no aumento da pressão arterial como vasoconstrição, estimulação do sistema nervoso simpático e reabsorção de sódio e água. Por estar associado a complicações na SCM, a ativação exacerbada do SRA, além de contribuir para o aumento da pressão arterial, também apresenta influência sobre o aumento da resistência à insulina, dislipidemias e inflamação mediada por estresse oxidativo (99,101).

Nesse contexto, a ANG II pode também reduzir a sinalização da insulina resultando na diminuição da sua ação, assim como a redução de captação de glicose pelo músculo esquelético e fígado, via redução do fluxo sanguíneo na periferia através da ação vasoconstritora. Entre os mecanismos que são sugeridos para a contribuição de ANG II na resistência à insulina em condições de SCM podemos citar, a diminuição de proteínas do substrato 1 do receptor de insulina (IRS1) no músculo esquelético, diminuição da fosforilação de tirosina no receptor de insulina, assim como espécies reativas de oxigênio no músculo esquelético, que por sua vez inibem a via do receptor PI_3K e o recrutamento do transportador de glicose GLUT-4, além da ativação de NADPH oxidase (oxidando o LDL-c, que sua vez também é responsável por estimular a expressão de AT1) (101). Neste contexto, quando observamos esse conjunto de possíveis mecanismos frente a regulação da homeostase glicosídica/insulínica e estimulação do estresse oxidativo via SRA frente a instalação da SCM, podemos inferir que essas alterações nessas vias de regulações podem influenciar na desordem de seu funcionamento, acarretando possivelmente para a manutenção dessas doenças. Nesse cenário, a resistência à insulina está estreitamente relacionada à ativação

acentuada do SRA, sendo demonstrado por meio da influência dos componentes do SRA na sinalização da insulina (102). Kouyama e colaboradores, (2005) demonstraram que camundongos knockout para receptor AT1 alimentados com dieta altamente calórica mantiveram a sensibilidade à insulina preservada (103).

Ademais, a participação SN, especificamente sistema nervoso autonômico (SNA), que por sua vez é subdividido em simpático (SNS) e parassimpático (SNP), também é descrito na literatura como um dos possíveis mecanismos envolvidos na ocorrência da SCM (104). sendo o tônus simpático aumentado em órgãos-chave na obesidade, incluindo rim, músculo esquelético e vasos periféricos (105). Na presença de obesidade, distúrbios no controle autonômico da variabilidade da frequência cardíaca, incluindo diminuição do tônus vagal, com ou sem aumento no tônus simpático, também já é documentado (105). Em adição a isso, alterações na ativação simpática em vários tecidos alvos parece ter importante papel na patogênese da resistência à insulina relacionada à obesidade, hipertensão, ativação do SRA (105–107).

Neste cenário, a hiperinsulinemia que frequentemente acompanha a resistência a insulina em condições saudáveis do organismo, por si só promove ativação simpática que poderia induzir o aumento da pressão arterial. Contudo, a insulina também desempenha papel vasodilatador de forma lenta, promovendo diretamente vasodilatação contrabalanceando o efeito da hiperatividade simpática. Porém, em condições de obesidade, o efeito da hiperatividade simpática é favorecido devido a uma possível atenuação do papel vasodilatador da insulina no músculo esquelético, possivelmente em razão da diminuição captação de glicose no músculo resultando na resistência à insulina (104,108). Também é proposto que a diminuição da atividade simpática parece estar relacionada com níveis diminuídos da taxa metabólica que contribui para a obesidade em roedores (109). Nesse contexto, a via simpática eferente não atua uniformemente em todos os tecidos, assim, diferentes tecidos podem receber diferentes níveis de impulso simpático ao mesmo tempo (109). Apesar disso, os mecanismos pelos quais a obesidade e a resistência à insulina ativam o sistema nervoso simpático e contribuem para o risco de DCV, é complexa e parece ser influenciadas também por fatores genéticos e ambientais (110,111).

Muito se sabe sobre a participação autonômica sobre a regulação da pressão arterial a curto prazo, atuando de forma reflexa ou direta na regulação da frequência cardíaca, força de contração muscular cardíaca e no tecido muscular liso dos vasos sanguíneos, afetando o débito cardíaco e a resistência vascular periférica. O centro de controle do SNA é localizado no tronco encefálico, sendo responsável pelo controle cardiovascular medular, dando origem

da inervação simpática e parassimpática. O processamento inicial das informações relacionadas a pressão arterial e atividade cardíaca, é realizado primeiramente pelo núcleo do trato solitário para posteriormente realizar a transmissão para os outros núcleos de controle. Os neurônios do bulbo ventrolateral rostral (RVLM) quando ativados, promovem a estimulação simpática para os vasos sanguíneos e coração, promovendo vasoconstrição, aumento da frequência cardíaca e força de contração do coração. Enquanto que, o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) possui ramificações para o RVLM e também desempenha a função do controle do tônus simpático, associado a regulação da sede e do apetite, resultando no controle do volume do líquido intersticial e plasmático (112,113). Ainda, o SN, além de seu papel sobre a atividade autonômica sobre tecidos metabólicos periféricos e na regulação da pressão arterial, já é bem descrito na literatura a sua participação juntamente com vias do hipotálamo no controle do peso corporal, termogênese, ingestão alimentar (114).

Sucintamente, o hipotálamo realiza essa função de controle por meio da integração de múltiplas aferências neurais, metabólicas e hormonais da periferia como por exemplo insulina e leptina (27). As respostas desencadeadas pelas vias do hipotálamo são dirigidas por meio de eferências neuroendócrinas via eixo hipotálamo-hipófise e SNA (27,28). Apesar de muitas áreas do hipotálamo serem importantes no controle da homeostase energética, o núcleo arqueado (ARQ) é a área considerada chave por ser o núcleo receptor das aferências periféricas sinalizadoras do balanço energético crônico (28). A leptina, desempenha papel de sinalização ao SN, principalmente ao ARQ, sobre os estoques de lipídeos disponíveis no organismo, impactando diretamente na determinação de respostas que propõem a regulação da homeostase energética mediadas através do balanceamento da ingestão alimentar e gasto energético (28,115). Os receptores de leptina são abundantemente expressos nos núcleos hipotalâmicos, assim, a leptina funciona como um sinal chave na regulação da homeostase energética, derivada do tecido adiposo branco, cuja concentração plasmática é diretamente proporcional a presença de adiposidade corporal (115). Uma desorganização nesse conjunto de ações, pode promover alterações na regulação da homeostase energética, resultando na sustentação da obesidade acarretando o desenvolvimento de doenças que compõem a SCM.

A RI também é bem descrita na literatura por participar como possível mecanismo que possa regular as doenças da SCM. A RI, como já descrito anteriormente é um estado patológico comum no qual as células-alvo não respondem aos níveis normais de insulina circulante, resultando na incapacidade da insulina de fornecer glicose normal e homeostase lipídica. Portanto, concentrações de insulina mais altas do que o normal são necessárias para

manter a normoglicemia, sendo essa condição estreitamente relacionada ao acúmulo de gordura central e consequentemente a SCM (116,117). O excesso de tecido adiposo demonstrou liberar quantidades aumentadas de AGL que afetam diretamente a sinalização da insulina diminuindo a captação de glicose no músculo, além de, produzir síntese exagerada de TG induzindo a gliconeogênese no fígado. Além disso, outros fatores desempenham um papel na resistência à insulina relacionada a SCM, como por exemplo os fatores de necrose tumoral α , interleucina IL-6, adiponectina além de outras adipocinas (54,117). Brevemente, entre os mecanismos que envolvem a resistência à insulina com as doenças que compõem o grupo da SCM, podemos citar a desregulação dos AGL e secreção de adipocina, fator de necrose tumoral α e excesso de AGL (considerando que o tecido adiposo em excesso libera grandes quantidades de TNF- α induzindo ao estresse oxidativo (117). Além de, várias ações que afetam diretamente uma cascata de eventos direcionados as doenças cardiometabólicas, como o aumento de níveis de insulina como forma compensatória de manter a glicose plasmática normal, acarretando dessa forma para o risco de desenvolvimento de DM2, assim como o aumento de liberação de AGL pelo tecido adiposo resultando na diminuição da síntese do VLDL-c pelo fígado, deixando-o com altos níveis de TG, possibilitando maiores chances de desenvolvimento de aterosclerose assim como aumento da viscosidade sanguínea podendo acarretar no aumento de níveis da pressão arterial (46–48).

O processo inflamatório também pode promover desordens nos sistemas que desempenham o papel fisiopatológico nas comorbidades que compõem a SCM. Na literatura, já é demonstrado que o aumento dos marcadores inflamatórios, como o fator TNF- α e IL-6 estão sendo associados com o acúmulo de AGL em situações de excesso de tecido adiposo assim como disfunção presente, relacionado com a presença das doenças como resistência à insulina e aumento da pressão arterial, uma vez que, o TNF- α inibe a fosforilação de receptores de insulina e aumenta a produção AGT (26,53,118,119). Além do mais, estudos já mostraram que ocorre um aumento nas oxitocinas inflamatórias IL-6, TNF- α e IL1- β no hipotálamo, mediados por excesso de lipídeos, resultando em inflamação hipotalâmica e diminuição da sensibilidade à saciedade (120). Promovendo uma possível desorganização entre a ingesta alimentar e gasto energético, que acarreta em consequências metabólicas deletérias, como a obesidade e consequentemente alterações no metabolismo da glicose (120). Portanto, o aumento dos marcadores inflamatórios (IL-6, TNF- α) e diminuição da atividade das enzimas antioxidantes como a SOD, resultam no início do processo inflamatório acarretando o funcionamento inadequado de vários sistemas e órgãos envolvidos (119).

Justificativa

Diante as fortes evidências que indicam uma relação entre a exposição à dieta rica em gordura em fases críticas do desenvolvimento e a instalação da síndrome cardiometabólica na vida adulta, faz-se de grande importância científica a realização deste estudo. O presente estudo é de grande interesse para o público-alvo e permitirá uma melhor compreensão dos diversos componentes que juntos desenvolvem a instalação da SCM em condições de programação do organismo. Este contribuirá para o desenvolvimento de futuras intervenções de prevenção, controle e terapêuticas capazes de amenizar a problemática do crescente número de pessoas acometidas com esta síndrome. O presente trabalho explora a fase da adolescência, como uma fase crítica do desenvolvimento e possibilita uma melhor compreensão dos diversos fatores de risco fisiopatológicos associados na instalação da SCM em condições de programação.

Objetivo

Avaliar a presença das características da síndrome cardiometabólica a longo prazo induzida por HFD durante a adolescência de ratos machos *Wistar*.

Objetivos específicos

- ✓ Avaliar os parâmetros biométricos: ingesta alimentar (g), ingesta calórica (Kcal), peso corporal, comprimento naso-anal, comprimento da tíbia, peso do coração e dos principais estoques de gorduras corporais;
- ✓ Avaliar os parâmetros bioquímicos (glicemia e perfil lipídico);
- ✓ Avaliar o metabolismo da glicose através dos testes de tolerância a glicose via oral (oGTT) e teste de tolerância a insulina intraperitoneal (ipITT).
- ✓ Estudar a pressão arterial e frequência cardíaca em condições basais;
- ✓ Avaliar a quantificação de proteínas no coração (Caspase-3).
- ✓ Avaliar as alterações histopatológicas no coração.

Referências

1. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014 [citado 19 de dezembro de 2021]. 280 p. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/148114>
2. Pérez-Martínez P, Mikhailidis DP, Athyros VG, Bullo M, Couture P, Covas MI, et al. Lifestyle recommendations for the prevention and management of metabolic syndrome: an international panel recommendation. *Nutrition Reviews*. maio de 2017;75(5):307–26.
3. Ginsberg HN, MacCallum PR. The Obesity, Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes Mellitus Pandemic: Part I. Increased Cardiovascular Disease Risk and the Importance of Atherogenic Dyslipidemia in Persons With the Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of the CardioMetabolic Syndrome*. março de 2009;4(2):113–9.
4. Buijs RM, Kreier F. The Metabolic Syndrome: A Brain Disease? *J Neuroendocrinol*. setembro de 2006;18(9):715–6.
5. J. Spencer S. Early Life Programming of Obesity: The Impact of the Perinatal Environment on the Development of Obesity and Metabolic Dysfunction in the Offspring. *CDR*. 1º de janeiro de 2012;8(1):55–68.
6. Barker D. The developmental origins of chronic adult disease. *Acta Paediatrica*. 2 de janeiro de 2007;93:26–33.
7. Barker D, Eriksson J, Forsén T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology*. dezembro de 2002;31(6):1235–9.
8. Ibáñez CA, Erthal RP, Ogo FM, Peres MNC, Vieira HR, Conejo C, et al. A High Fat Diet during Adolescence in Male Rats Negatively Programs Reproductive and Metabolic Function Which Is Partially Ameliorated by Exercise. *Front Physiol*. 2 de novembro de 2017;8:807.
9. Armitage JA, Khan IY, Taylor PD, Nathanielsz PW, Poston L. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals?: Programming the metabolic syndrome by maternal dietary imbalance. *The Journal of Physiology*. dezembro de 2004;561(2):355–77.
10. Armitage JA, Lakasing L, Taylor PD, Balachandran AA, Jensen RI, Dekou V, et al. Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy: Programming adult aortic and renal dysfunction by maternal fat-rich diet. *The Journal of Physiology*. maio de 2005;565(1):171–84.
11. Henry SL, Barzel B, Wood-Bradley RJ, Burke SL, Head GA, Armitage JA. Developmental origins of obesity-related hypertension: *Programming obesity-related hypertension*. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. setembro de 2012;39(9):799–806.
12. Williams L, Seki Y, Vuguin PM, Charron MJ. Animal models of in utero exposure to a high fat diet: A review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. março de 2014;1842(3):507–19.
13. Barbosa CM, Figueiredo VP, Barbosa MA, Cardoso LM, Alzamora AC. Maternal high-fat diet triggers metabolic syndrome disorders that are transferred to first and second offspring generations. *Br J Nutr*. 14 de janeiro de 2020;123(1):59–71.

14. Parente LB, Aguila MB, Mandarin-de-Lacerda CA. Deleterious effects of high-fat diet on perinatal and postweaning periods in adult rat offspring. *Clinical Nutrition*. agosto de 2008;27(4):623–34.
15. Franco JG, Fernandes TP, Rocha CPD, Calviño C, Pazos-Moura CC, Lisboa PC, et al. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning: Maternal high fat diet programmes adrenal and thyroid function. *The Journal of Physiology*. novembro de 2012;590(21):5503–18.
16. Melo AM, Benatti RO, Ignacio-Souza LM, Okino C, Torsoni AS, Milanski M, et al. Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. *Metabolism*. maio de 2014;63(5):682–92.
17. Moraes ACF de, Fulaz CS, Netto-Oliveira ER, Reichert FF. Prevalência de síndrome metabólica em adolescentes: uma revisão sistemática. *Cad Saúde Pública*. junho de 2009;25(6):1195–202.
18. de Carvalho Vidigal F, Bressan J, Babio N, Salas-Salvadó J. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. *BMC Public Health*. dezembro de 2013;13(1):1198.
19. Reaven GM. Role of Insulin Resistance in Human. *INSULIN RESISTANCE*. 1988;37:13.
20. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Archives of Internal Medicine*. 1º de julho de 1989;149(7):1514–20.
21. Alberti KGMM, Zimmet PZ, WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabet Med*. julho de 1998;15(7):539–53.
22. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 16 de maio de 2001;285(19):2486–97.
23. Damiani D, Kuba VM, Cominato L, Damiani D, Dichtchekian V, Menezes Filho HC de. Síndrome metabólica em crianças e adolescentes: dúvidas na terminologia, mas não nos riscos cardiometabólicos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. novembro de 2011;55(8):576–82.
24. Vos T, Lim SS, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi M, Abbasifard M, et al. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*. outubro de 2020;396(10258):1204–22.
25. Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. 6 de novembro de 2007 [citado 29 de dezembro de 2021];0(0). Disponível em: http://www.jped.com.br/conteudo/Ing_resumo.asp?varArtigo=1713&cod=&idSecao=3
26. Nakamura K, Fuster JJ, Walsh K. Adipokines: A link between obesity and cardiovascular disease. *Journal of Cardiology*. abril de 2014;63(4):250–9.
27. Gao Q, Horvath TL. Neuronal control of energy homeostasis. *FEBS Letters*. 9 de janeiro de 2008;582(1):132–41.

28. Bouret SG. Development of Hypothalamic Neural Networks Controlling Appetite. In: Langhans W, Geary N, organizadores. Forum of Nutrition [Internet]. S. Karger AG; 2010 [citado 23 de dezembro de 2021]. p. 84–93. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/264396>
29. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH, on behalf of the World Obesity Federation. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation: Position Paper. Obesity Reviews. julho de 2017;18(7):715–23.
30. WHO World Health Organization. Hypertension [Internet]. 2021 [citado 15 de dezembro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
31. Lorell BH, Carabello BA. Left Ventricular Hypertrophy: Pathogenesis, Detection, and Prognosis. Circulation. 25 de julho de 2000;102(4):470–9.
32. Magalães, L.B.N.C, de Amorim, A. M., & Rezende, E. P. Conceito e Aspectos Epidemiológicos da Hipertensão Arterial. Revista Brasileira Hipertensão,. 2018;(25):6–12.
33. Foëx P, Sear J. Hypertension: pathophysiology and treatment. Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain. junho de 2004;4(3):71–5.
34. Lozano G, Elmaghrabi A, Salley J, Siddique K, Gattineni J, Baum M. Effect of prenatal programming and postnatal rearing on glomerular filtration rate in adult rats. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 1º de março de 2015;308(5):F411–9.
35. Tófolo LP, Rinaldi W, Gôngora AB, Matusso CCI, Pavanello A, Malta A, et al. Moderate Physical Training Ameliorates Cardiovascular Dysfunction Induced by High Fat Diet After Cessation of Training in Adult Rats. Front Physiol. 12 de março de 2019;10:170.
36. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2013;101(4):01–22.
37. Faludi, A. A., Izar, M. C. O., Saraiva, J. F. K, et al. Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol. 2017;(109):91.
38. Lerario AC, Betti RTB, Wajchenberg BL. O perfil lipídico e a síndrome metabólica. Rev Assoc Med Bras. 2009;55(3):232–3.
39. Malta DC, Szwarcwald CL, Machado ÍE, Pereira CA, Figueiredo AW, Sá ACMGN de, et al. Prevalência de colesterol total e frações alterados na população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde. Rev bras epidemiol. 2019;22(supl 2):E190005.SUPL.2.
40. Lima ES, Couto RD. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. J Bras Patol Med Lab. junho de 2006;42(3):169–78.
41. Martins MV, Souza JD de, Martinho KO, Franco FS, Tinôco ALA. Association between triglycerides and HDL-cholesterol ratio and cardiovascular risk factors among elderly persons receiving care under the family health strategy of Viçosa, Minas Gerais. Rev bras geriatr gerontol. abril de 2017;20(2):236–43.
42. Munoz. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. VHRM. setembro de 2009;757.

43. Ascaso J, Gonzalez Santos P, Hernandez Mijares A, Mangas Rojas A, Masana L, Millan J, et al. Management of Dyslipidemia in the Metabolic Syndrome: Recommendations of the Spanish HDL-Forum. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2007;7(1):39–58.
44. Criqui MH, Golomb BA. Epidemiologic aspects of lipid abnormalities. *The American Journal of Medicine*. julho de 1998;105(1):48S-57S.
45. Bergman RN, Kim SP, Catalano KJ, Hsu IR, Chiu JD, Kabir M, et al. Why Visceral Fat is Bad: Mechanisms of the Metabolic Syndrome. *Obesity*. fevereiro de 2006;14(2S):16S-19S.
46. Howard BV. Insulin resistance and lipid metabolism. *The American Journal of Cardiology*. julho de 1999;84(1):28–32.
47. Brites FD, Bonavita CD, De Geitere C, Cloës M, Delfly B, Yael MJ, et al. Alterations in the main steps of reverse cholesterol transport in male patients with primary hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol levels. *Atherosclerosis*. setembro de 2000;152(1):181–92.
48. Barbosa JB. Metabolic Syndrome in Outpatient Cardiology Clinics. *Arq Bras Cardiol*. :8.
49. Golbert A, Vasques J C A, Faria A C R de A., et al. DIRETRIZES. Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020 [Internet]. 2020. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2021/08/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-20201.pdf>
50. Lopes, H. F. L HF. Hypertension, obesity, insulin resistance and the metabolic syndrome. *Rev Bras Hipertens*. 2005;12(3):154–8.
51. Medeiros CCM, Ramos AT, Cardoso MAA, Xavier IS, de França. Insulin Resistance and its Association with Metabolic Syndrome Components. :10.
52. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med*. março de 2013;7(1):14–24.
53. Soltani Z, Washco V, Morse S, Reisin E. The Impacts of Obesity on the Cardiovascular and Renal Systems: Cascade of Events and Therapeutic Approaches. *Curr Hypertens Rep*. fevereiro de 2015;17(2):7.
54. Greenfield JR, Campbell LV. Insulin resistance and obesity. *Clinics in Dermatology*. julho de 2004;22(4):289–95.
55. Carvalheira JBC, Zecchin HG, Saad MJA. Vias de Sinalização da Insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. agosto de 2002;46(4):419–25.
56. Nelson RA, Bremer AA. Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in the Pediatric Population. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. fevereiro de 2010;8(1):1–14.
57. Ye J. Role of Insulin in the Pathogenesis of Free Fatty Acid-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *EMIDDT*. 1º de março de 2007;7(1):65–74.
58. Corkey BE. Banting Lecture 2011. *Diabetes*. 1º de janeiro de 2012;61(1):4–13.
59. Schmitz-Peiffer C. Signalling aspects of insulin resistance in skeletal muscle. *Cellular Signalling*. outubro de 2000;12(9–10):583–94.
60. Hegarty BD, Furler SM, Ye J, Cooney GJ, Kraegen EW. The role of intramuscular lipid in insulin resistance: **The role of intramuscular lipid in insulin resistance**. *Acta Physiologica Scandinavica*. agosto de 2003;178(4):373–83.

61. Lee YS, Li P, Huh JY, Hwang IJ, Lu M, Kim JI, et al. Inflammation Is Necessary for Long-Term but Not Short-Term High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance. *Diabetes*. 1º de outubro de 2011;60(10):2474–83.
62. Bao W, Srinivasan SR, Berenson GS. Persistent Elevation of Plasma Insulin Levels Is Associated With Increased Cardiovascular Risk in Children and Young Adults: The Bogalusa Heart Study. *Circulation*. janeiro de 1996;93(1):54–9.
63. Lottenberg SA, Glezer A, Turatti LA. Síndrome metabólica: identificando fatores de risco. *J Pediatr (Rio J)*. novembro de 2007;83(5):S204–8.
64. Penalva DQF. Síndrome metabólica: diagnóstico e tratamento. *Rev Med (São Paulo)*. 18 de dezembro de 2008;87(4):245.
65. Albert Pérez E, Mateu Olivares V, Martínez-Espinosa R, Molina Vila M, Reig García-Galbís M. New Insights about How to Make an Intervention in Children and Adolescents with Metabolic Syndrome: Diet, Exercise vs. Changes in Body Composition. A Systematic Review of RCT. *Nutrients*. 6 de julho de 2018;10(7):878.
66. Silveira PP, Portella AK, Goldani MZ, Barbieri MA. Developmental origins of health and disease (DOHaD). *J Pediatr (Rio J)*. 30 de novembro de 2007;83(6):494–504.
67. Khazipov R, Luhmann HJ. Early patterns of electrical activity in the developing cerebral cortex of humans and rodents. *Trends in Neurosciences*. julho de 2006;29(7):414–8.
68. Al-Yasari A, Jabbar S, Cabrera MA, Rousseau B, Sarkar DK. Preconception Alcohol Exposure Increases the Susceptibility to Diabetes in the Offspring. *Endocrinology*. 1º de janeiro de 2021;162(1):bqaa188.
69. Howie GJ, Sloboda DM, Kamal T, Vickers MH. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet: Maternal high fat nutrition and obesity in offspring. *The Journal of Physiology*. 15 de fevereiro de 2009;587(4):905–15.
70. Gluckman PD, Hanson MA. Living with the Past: Evolution, Development, and Patterns of Disease. *Science*. 17 de setembro de 2004;305(5691):1733–6.
71. Barker D. INFANT MORTALITY, CHILDHOOD NUTRITION, AND ISCHAEMIC HEART DISEASE IN ENGLAND AND WALES. *The Lancet*. maio de 1986;327(8489):1077–81.
72. Hertfordshire Study Group, Kensara OA, Wootton SA, Phillips DI, Patel M, Jackson AA, et al. Fetal programming of body composition: relation between birth weight and body composition measured with dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric methods in older Englishmen. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1º de novembro de 2005;82(5):980–7.
73. Hales C, Barker D. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *International Journal of Epidemiology*. 1º de outubro de 2013;42(5):1215–22.
74. Nuyt AM, Lavoie J-C, Mohamed I, Paquette K, Luu TM. Adult Consequences of Extremely Preterm Birth. *Clinics in Perinatology*. junho de 2017;44(2):315–32.
75. Khan IY, Dekou V, Douglas G, Jensen R, Hanson MA, Poston L, et al. A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. janeiro de 2005;288(1):R127–33.

76. Siddeek B, Mauduit C, Chehade H, Blin G, Liand M, Chindamo M, et al. Long-term impact of maternal high-fat diet on offspring cardiac health: role of micro-RNA biogenesis. *Cell Death Discov.* dezembro de 2019;5(1):71.
77. Barros MAV, De Brito Alves JL, Nogueira VO, Wanderley AG, Costa-Silva JH. Maternal low-protein diet induces changes in the cardiovascular autonomic modulation in male rat offspring. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* janeiro de 2015;25(1):123–30.
78. Gray C, Gardiner SM, Elmes M, Gardner DS. Excess maternal salt or fructose intake programmes sex-specific, stress- and fructose-sensitive hypertension in the offspring. *Br J Nutr.* 28 de fevereiro de 2016;115(4):594–604.
79. Blakemore S-J, Choudhury S. Development of the adolescent brain: implications for executive function and social cognition. *J Child Psychol & Psychiat.* março de 2006;47(3–4):296–312.
80. Blakemore S-J, Burnett S, Dahl RE. The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp.* junho de 2010;31(6):926–33.
81. Blakemore S-J, Choudhury S. Brain development during puberty: state of the science. *Developmental Sci.* janeiro de 2006;9(1):11–4.
82. Poletto M, Koller SH, Dell’Aglia DD. Eventos estressores em crianças e adolescentes em situação de vulnerabilidade social de Porto Alegre. *Ciênc saúde coletiva.* abril de 2009;14(2):455–66.
83. Neto ACB, de Andrade MIS, de Menezes Lima VL, Diniz A da S. Peso corporal e escores de consumo alimentar em adolescentes no nordeste brasileiro. *Revista Paulista de Pediatria.* setembro de 2015;33(3):318–25.
84. Wang N, Wang X, Han B, Li Q, Chen Y, Zhu C, et al. Is Exposure to Famine in Childhood and Economic Development in Adulthood Associated With Diabetes? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1º de dezembro de 2015;100(12):4514–23.
85. Wang Y, Jin J, Peng Y, Chen Y. Exposure to Chinese Famine in the Early Life, Adulthood Obesity Patterns, and the Incidence of Hypertension: A 22-Year Cohort Study. *Ann Nutr Metab.* 2021;77(2):109–15.
86. Rosa GB, Cavalet LC, de Melo ABS, Junior MDF, Lopes PR, Cardoso RA, et al. High salt intake during puberty leads to cardiac remodelling and baroreflex impairment in lean and obese male Wistar rats. *Br J Nutr.* 28 de março de 2020;123(6):642–51.
87. de Oliveira JC, Lisboa PC, de Moura EG, Barella LF, Miranda RA, Malta A, et al. Poor pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced insulin secretion process in pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase fat accumulation. *Journal of Endocrinology.* fevereiro de 2013;216(2):195–206.
88. de Oliveira JC, de Moura EG, Miranda RA, de Moraes AMP, Barella LF, da Conceição EPS, et al. Low-protein diet in puberty impairs testosterone output and energy metabolism in male rats. *Journal of Endocrinology.* junho de 2018;237(3):243–54.
89. Armitage JA, Taylor PD, Poston L. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development: Developmental programming by exposure to energy rich diets. *The Journal of Physiology.* maio de 2005;565(1):3–8.

90. Johnson SA, Javurek AB, Painter MS, Murphy CR, Conard CM, Gant KL, et al. Effects of a maternal high-fat diet on offspring behavioral and metabolic parameters in a rodent model. *J Dev Orig Health Dis.* fevereiro de 2017;8(1):75–88.
91. Forsdahl A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Journal of Epidemiology & Community Health.* 1º de junho de 1977;31(2):91–5.
92. Zheng J, Zhang L, Wang Z, Zhang J. Maternal high-fat diet regulates glucose metabolism and pancreatic β cell phenotype in mouse offspring at weaning. *PeerJ.* 22 de junho de 2020;8:e9407.
93. Ashino NG, Saito KN, Souza FD, Nakutz FS, Roman EA, Velloso LA, et al. Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* abril de 2012;23(4):341–8.
94. Volpato AM, Schultz A, Magalhães-da-Costa E, Correia ML de G, Águila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Maternal High-Fat Diet Programs for Metabolic Disturbances in Offspring despite Leptin Sensitivity. *Neuroendocrinology.* 2012;96(4):272–84.
95. Hartil K, Vuguin PM, Kruse M, Schmucl E, Fiallo A, Vargas C, et al. Maternal Substrate Utilization Programs the Development of the Metabolic Syndrome in Male Mice Exposed to High Fat In Utero. *Pediatr Res.* outubro de 2009;66(4):368–73.
96. Zhang Y-P, Huo Y-L, Fang Z-Q, Wang X-F, Li J-D, Wang H-P, et al. Maternal high-fat diet acts on the brain to induce baroreflex dysfunction and sensitization of angiotensin II-induced hypertension in adult offspring. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* 1º de maio de 2018;314(5):H1061–9.
97. Engeli S. Role of the Renin–Angiotensin–Aldosterone System in the Metabolic Syndrome. In: Wolf G, organizador. *Contributions to Nephrology* [Internet]. Basel: KARGER; 2006 [citado 20 de dezembro de 2021]. p. 122–34. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/95324>
98. Posey KA, Clegg DJ, Printz RL, Byun J, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A, et al. Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* maio de 2009;296(5):E1003–12.
99. Skov J, Persson F, Frøkiær J, Christiansen JS. Tissue Renin–Angiotensin Systems: A Unifying Hypothesis of Metabolic Disease. *Front Endocrinol* [Internet]. 2014 [citado 29 de dezembro de 2021];5. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2014.00023/abstract>
100. de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiology & Behavior.* julho de 2010;100(5):525–34.
101. Putnam K, Shoemaker R, Yiannikouris F, Cassis LA. The renin-angiotensin system: a target of and contributor to dyslipidemias, altered glucose homeostasis, and hypertension of the metabolic syndrome. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* 15 de março de 2012;302(6):H1219–30.
102. Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin–angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* dezembro de 2013;24(12):2003–15.

103. Kouyama R, Suganami T, Nishida J, Tanaka M, Toyoda T, Kiso M, et al. Attenuation of Diet-Induced Weight Gain and Adiposity through Increased Energy Expenditure in Mice Lacking Angiotensin II Type 1a Receptor. *Endocrinology*. agosto de 2005;146(8):3481–9.
104. Lopes HF, Egan BM. Autonomic Dysregulation and the Metabolic Syndrome: Pathologic Partners in an Emerging Global Pandemic. :10.
105. Quilliot D, Fluckiger L, Zannad F, Drouin P, Ziegler O. Impaired autonomic control of heart rate and blood pressure in obesity: role of age and of insulin-resistance. *Clinical Autonomic Research*. abril de 2001;11(2):79–86.
106. Sowers JR, Nyby M, Stern N, Beck F, Baron S, Catania R, et al. Blood pressure and hormone changes associated with weight reduction in the obese. *Hypertension*. setembro de 1982;4(5):686–91.
107. Jamerson KA, Julius S, Gudbrandsson T, Andersson O, Brant DO. Reflex sympathetic activation induces acute insulin resistance in the human forearm. *Hypertension*. maio de 1993;21(5):618–23.
108. Schaan BD, Rabelo ER, Irigoyen MC. Insulina: efeitos cardiovasculares e aplicações terapêuticas. *Arq Bras Endocrinol Metab*. dezembro de 2004;48(6):793–802.
109. Clapham JC. Central control of thermogenesis. *Neuropharmacology*. julho de 2012;63(1):111–23.
110. Mark AL, Correia M, Morgan DA, Shaffer RA, Haynes WG. Obesity-Induced Hypertension: New Concepts From the Emerging Biology of Obesity. *Hypertension*. janeiro de 1999;33(1):537–41.
111. Hall JE, Brands MW, Hildebrandt DA, Kuo J, Fitzgerald S. Role of sympathetic nervous system and neuropeptides in obesity hypertension. *Braz J Med Biol Res*. junho de 2000;33(6):605–18.
112. Irigoyen MC, Consolim-Colombo FM, Krieger EM. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. 2001;8:8.
113. Júnior RC, Colombari E, Cravo S, Lopes OU. Hipertensão arterial: o que tem a dizer o sistema nervoso. 2001;8:14.
114. Arora S, Anubhuti. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity – A review. *Neuropeptides*. dezembro de 2006;40(6):375–401.
115. van Swieten MMH, Pandit R, Adan RAH, van der Plasse G. The neuroanatomical function of leptin in the hypothalamus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. novembro de 2014;61–62:207–20.
116. Wang CCL, Goalstone ML, Draznin B. Molecular Mechanisms of Insulin Resistance That Impact Cardiovascular Biology. *Diabetes*. 1º de novembro de 2004;53(11):2735–40.
117. Mlinar B, Marc J, Janež A, Pfeifer M. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clinica Chimica Acta*. janeiro de 2007;375(1–2):20–35.
118. Guzik TJ, Skiba DS, Touyz RM, Harrison DG. The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. *Cardiovascular Research*. 1º de julho de 2017;113(9):1009–23.

119. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. agosto de 2014;105(2):141–50.
120. Pimentel GD, Lira FS, Rosa JC, Oliveira JL, Losinskas-Hachul AC, Souza GIH, et al. Intake of trans fatty acids during gestation and lactation leads to hypothalamic inflammation via TLR4/NFκBp65 signaling in adult offspring. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. março de 2012;23(3):265–71.

CAPÍTULO II

High-fat diet during adolescence program cardiometabolic syndrome in adult male Wistar rats

M.V.G. RIBEIRO^{1,2}; A.R.O. FERREIRA¹; M.N.C. PERES¹; S. PIOVAN¹; L.A. FERREIRA³; B.G. dos SANTOS³; R.M. GOMES³; J.A. ARMITAGE⁴; P.C.F. MATIAS²; K. PALMA-RIGO^{1,5*}

^{1,2}*Laboratory of Secretion Cell Biology (LBCS), Department of Biotechnology, Genetics and Cell Biology (DBC), State University of Maringa (UEM) - Maringa/PR, Brazil*

³*Laboratory of Endocrine Physiology and Metabolism (LabFEM), Department of Physiological Sciences (DCiF), Federal University of Goiás (UFG) – Goiania/GO, Brazil*

⁴*School of Medicine, Deakin University - 3216 Waurin Ponds/VIC, Australia*

⁵*Adventist Institute of Parana - 87130-000, Ivatuba/PR, Brazil*

Short title: Implication of high fat diet in the development of cardiometabolic syndrome.

Keywords: High-fat diet, adolescence, metabolic syndrome, hypertension.

Number of words: 7601

***Corresponding author:** Kesia Palma-Rigo. Rua Marechal Floriano Peixoto, 688b, Bairro Zona Sete, CEP 87030-030, Maringa, Parana, Brasil. kesiapalmarigo@hotmail.fr

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate whether high-fat (HF) diet intake during adolescence can program cardiometabolic syndrome (CMS) in adult rats. The research ethics committee approved the study under CEUA nº 1527130815. At post natal day (PND) 30 Wistar rats were exposed to a high fat (HF, 35% lard) diet until PND 60 then fed a normal fat (NF, 4.5% of fat) diet until PND 120. Control animals received the NF diet throughout life. Body weight and food consumption were evaluated throughout the protocol. At PND 120 biometric, glucose metabolism (by ipITT and oGTT), histological analysis, protein expression and cardiovascular parameters were evaluated. Statistical analyses were performed by Prism 8 software. The HF animals showed lower food intake (-45%, p=0.001) and higher caloric

intake (+7%, $p=0.027$) during exposure to HF compared with control group. At PND 120, HF animals presented overweight (+10%, $p=0.001$) increased Lee index (6+%, $p=0.001$) and adiposity, hyperglycemia (+14%, $p=0.016$) and hypertriglyceridemia (+36%, $p=0.009$). Plasma glucose levels during oGTT and ipITT were also higher in the HF group, whereas k_{itt} was significantly lower (-30%, $p=0.043$), pointing to a reduced insulin sensitivity. Systolic, diastolic and mean blood pressure were increased in HF animals (+ 10%, $p=0.009$; + 19%, $p=0.004$; + 13%, $p=0.014$ respectively). The analysis in the heart showed increased perivascular and interstitial fibrosis (+42%, $p=0.021$; +%62, $p=0.001$ respectively) and cardiomyocyte diameter (+29%, $p=0.001$) and caspase-3 protein expression was higher in the heart of HF rats (+35%, $p=0.032$). A HF diet during adolescence programs to CMS in adulthood. Our study points to the susceptibility of adolescence to HF diet insult as a critical window of development.

INTRODUCTION

Cardiometabolic syndrome (CMS) has been a leading cause of morbidity and mortality in the world. CMS is characterized when an individual has three or more health risk factors, such as increased accumulation of abdominal body fat, high fasting glucose, dyslipidemia and increased blood pressure (Ginsberg & MacCallum, 2009; World Health Organization, 2014). Its worldwide prevalence can reach 85%, depending on the region, studied population and used criteria definition. Furthermore, researchers point out that the prevalence of this syndrome can double by 2030 (World Health Organization, 2014; Pérez-Martínez *et al.*, 2017). In this context, the factors causing these changes have still to be determined, but the change in lifestyle (increased sedentary lifestyle resulting in obesity or overweight, stress and changes in eating habits) observed in recent decades has been considered as a major contributor to the installation of CMS (Buijs & Kreier, 2006).

Among the various risk factors associated to CMS, the changes in diet composition seems to have a key role. In this sense, the *Developmental Origins of Health and Disease* (DOHaD) concept shows that insults, such as overnutrition carried out in sensitive windows of development as preconception, gestation, lactation and infancy, predispose individuals to develop chronic diseases in adulthood, including CMS (Barker *et al.*, 2002; Barker, 2007). Studies have shown that High-fat diet (HF) during pregnancy and lactation induces obesity, hyperphagia, leptin resistance, hyperleptinemia, changes in glucose metabolism, insulin

resistance, nonalcoholic fatty liver disease, dyslipidemia, hypertension, increase baroreflex sensitivity, increased left ventricular, lowered heart rate, altered vascular function, increased cardiomyocyte diameter and fibrosis cardiac and renal dysfunction, observed in offspring during adulthood (Armitage *et al.*, 2004, 2005; Parente *et al.*, 2008; Henry *et al.*, 2012; Franco *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2014; Barbosa *et al.*, 2020; Fante *et al.*, 2021). However, it appears that the impact of HF diet exposure during adolescence on long term cardiometabolic function is not known.

The adolescence has also been considered a critical window of development, because at this life period it is still observed a brain reorganization, maturation and hormonal ripening, which may be affected by some stressful factors, such as inadequate nutrition, which may impact long term health condition (Blakemore & Choudhury, 2006; Blakemore *et al.*, 2010; Soliman *et al.*, 2014; Burggren & Mueller, 2015). In this context, some studies have demonstrated metabolic changes in adulthood induced by dietary insult during adolescence (de Oliveira *et al.*, 2013, 2018). Previously we showed HF diet exposure from adolescence until adulthood induces glucose metabolism dysfunction and increased adiposity and body weight (BW). Furthermore, we also showed that HF diet exposure during adolescence also induces long term metabolic and reproductive dysfunction (Ibáñez *et al.*, 2017). However, the susceptibility to CMS was not yet evaluated in this HF model. The hypothesis of this study is that exposure to high fat diet during adolescence induces long term structural and function changes that may programming to CMS at adulthood.

METHODS

The handling of animals and experimental procedures were performed according to the rules of the National Council of Animal Experiments Control (CONCEA) and the Brazilian Society of Science in Laboratory Animals (SBCAL) and approved by the Ethics Committee on Animal Use of State University of Maringa - CEUA/UEM (protocol number 1527130815).

Animals and experimental conditions

Male Wistar rats (PND 25) were housed in polypropylene cages (45 x 30 x 15 cm) at the Animal Facility of the Laboratory of Secretion Cell Biology, Department of Biotechnology, Genetic and Cell Biology of State University of Maringa. Animals were housed

in controlled temperature (23 ± 2 °C) and photoperiod of 12h light-dark conditions, with water and food *ad libitum*. After 5 days of environmental adaptation, at PND 30, the animals were divided into two groups: a control group fed a normal fat diet (NF; n = 30) of standard chow (Nuvital®, Curitiba, Paraná, Brazil; 4,5% of fat; 3.08 kcal/g;); and rats fed a high-fat diet (HF; 35% of lard; 5.87 kcal/g; n = 30), as previously (Barella *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2013; Ibáñez *et al.*, 2017). The HF was offered for 30 days, after that, at PND 60, animals were fed with standard chow until PND 120. Food intake was assessed three times a week and BW weekly during the experimental period.

Intraperitoneal insulin tolerance test (ipITT)

At PND 120, after 6 hours fasting, 12 animals per group received an intraperitoneal injection of recombinant human insulin (1U / kg of PV, Eli Lilly®, São Paulo, Brazil). Blood samples were collected through a small tail cut at 0 (before insulin injection) and 15, 30, 45 and 60 minutes after injection, and glucose was measured at each corresponding time point using a glucometer (ACCU -CHEK® Advantage, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Subsequently, the constant rate of glucose decay (K_{itt}) was calculated using the formula $0.693 / t_{1/2}$, where $t_{1/2}$ is the half-life of plasma glucose calculated by including the curve obtained during the linear decay phase of the plasma glucose detected at time 0 to 60 minutes after insulin application (Bonora *et al.*, 2000; Miranda *et al.*, 2018). The sensitivity to insulin was greater as faster and more intense the fall in glucose during the test (Geloneze & Tambascia, 2006).

Oral glucose tolerance test (oGTT)

After two days of ipITT recovery, the animals (n= 12/group) were fasted for 12 hours. Weighed and a blood sample was taken via the tail (time 0) by means of a heparinized capillary tube (75mm of length, 1.5 mm in external diameter). The rats received 1 U / kg of BW of glucose as a 50% aqueous solution, via oral gavage. Blood samples were obtained at 15, 30, 45, 60 and 120 minutes and glucose was measured at each corresponding time point using a glucometer (ACCU -CHEK® Advantage, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) (Islam *et al.*, 2009). Blood samples were centrifuged at 10,000 rpm for 5 min for plasma collection and stored at -20 °C for subsequent quantifications.

Euthanasia and samples collection

Twelve hours fasting adult animals from each experimental group (PND 120; n = 11-12 /group) were anaesthetized (thiopental 45 mg/kg of BW). Body weight and the Naso-anal length (NAC) was measured to calculate the Lee index ($\text{Lee index} = (\text{BW [g]}^{1/3} / \text{body length [cm]}) \times 1000$) (Bernardis & Patterson, 1968; Gomes *et al.*, 2013). Animals were euthanized by decapitation. Interscapular brown adipose tissue (BAT), periepididymal (EPI), retroperitoneal (RP) and mesenteric (MES) fat pads, and heart were removed and weighed. Tibia length (condyle to the medial malleolus) was measured and relative heart weight to tibia length was calculated as an indication of cardiac hypertrophy (Yin *et al.*, 1982). The weight of each fat stock was expressed relative to BW of the respective animal (g/100g BW).

Biochemical assays

Blood samples were collected in the same 12 hours fasting animals euthanized for biometric evaluation and stored at -20 °C for subsequent quantifications. The glycemia was quantified with the glucose oxidase method by spectrophotometry (semi-automatic biochemical analyzer, BIO 200FL, Bio Plus®, São Paulo / SP, Brazil), using a commercial kit (Gold Analisa®, Belo Horizonte / MG, Brazil) (Trinder, 1969).

Total cholesterol was measured using the colorimetric method of Total Cholesterol (CT) oxidase and triglycerides (TG) were measured using the colorimetric method of glycerol-3- phosphate oxidase using commercial kits (Gold Analisa®, BeloHorizonte / MG, Brazil), both readings were performed on spectrophotometry equipment (Semi-automatic biochemical analyzer, BIO200FL, Bio Plus®, São Paulo / SP, Brazil). HDL-cholesterol (HDL-c) was determined after precipitation of chylomicrons and low-density lipoproteins was determined with a commercial kit (Gold Analisa®, BeloHorizonte / MG, Brazil). After chylomicrons precipitation HDL-c was determined using the method described above for the measurement of TC. The results were expressed in mg/dL. The ratio between TG/HDL-c levels and TC/HDL-c was used to estimate cardiovascular risk (Millán *et al.*, 2009; Munoz, 2009; Martins *et al.*, 2017; Fortes Almeida, 2018).

Arterial e venous catheterization

Another batch of adult offspring (PND 120; n = 11-16 / group) from both experimental groups received injectable anesthesia (ketamine-xylazine; 75mg + 15mg / kg of BW via intraperitoneal). Two cannulas (P10 -Micro-Renathane connected to two P50 cannulas - ClearTygon) were inserted in the animal, one in the femoral artery for BP monitoring and another in the femoral vein for the administration of drugs. At the end of the surgeries, the animals received anti-inflammatory analgesic (Meloxicam, 0.4mg / kg, IV) and antibiotic (Enrofloxacin 5mg / kg, IV., 8/8 hours) and were kept in individual boxes for cardiovascular evaluation after 24 hours of recovery (Barbosa *et al.*, 2020). Animals used in this test were not used in other experimental procedures.

Blood pressure recording

After an hour of adaptation to the environmental conditions, baseline blood pressure records were performed for 30 minutes. The experiments were carried out between 09:00 and 12:00 hours with the animals free in individual boxes. The arterial cannula of the rat was connected to a pressure transducer (MLT0670, AD Instruments, Dunedin, New Zealand) which was connected to a computerized recording system (Insight, Ribeirão Preto, Brazil) that uses the DI 158 system for signal acquisition (WinDaq lite, DataQ instruments, United States of America).

The data were pre-analyzed using specific Advanced CODAS software (Data Q instruments, United States of America) to identify stable periods of recording and exclusion of erratic signals. The values of Systolic (SBP), Diastolic (DBP), Mean (MBP) Blood Pressure and Pulse Interval (PI) were transferred to an Excel spreadsheet for analysis (Microsoft Office, 2016) over 10 minutes of recording under stable baseline conditions. Heart rate (HR) was calculated from the pulse interval calculated in ms, considering the formula (60000 / IP in ms).

Histological analysis of the heart

Heart samples (n = 5 /group) were processed as previously described (Junior *et al.*, 2019). Briefly, hearts were fixed in paraformaldehyde solution (4%) and included in histological paraffin (Histopar, Easypath, São Paulo, Brazil). The samples were sectioned in non-serial cuts of 6 µm thickness and stained with hematoxylin and eosin and Picrosirius Red.

The photomicrographs were made in a light microscope coupled to a digital camera device (DM500 plus ICC50 HD, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), amplified 1000 × for the measurement of the left ventricle and cardiomyocytes (100 cardiomyocytes / group), 100 × for measurement perivascular fibrosis (25 images /group) and 100 × for interstitial fibrosis (50 images / group). Photomicrographs of the cross sections of the left ventricular cardiomyocytes were analyzed. The distance between the upper and lower parts of the plasma membrane was measured and the height of the core of each cardiomyocyte was measured (Junior *et al.*, 2019).

The mean ± standard error of the cardiomyocytes diameter were calculated for each animal, and the results were compared between groups. Photomicrographs containing collagen labeling in the fields with the sectioned arterioles were analyzed. The perivascular fibrosis index (PFI) was determined by dividing the total area of fibrosis and the area of the vessel lumen (Junior *et al.*, 2019).

Interstitial fibrosis was analyzed by stereology, using a mesh composed of 300 test points. The percentage of interstitial fibrosis was estimated by the proportion between the number of points that reach the red, marked collagen, and the total test points. The mean ± standard error of the mean PFI and the percentage of interstitial fibrosis for each animal were calculated and the results compared between groups. Cardiomyocyte diameter and PFI analyzes were performed using ICY software (Institut Pasteur, Paris, France). Interstitial fibrosis was assessed using Image Pro Plus v6 (Media Cybernetics, MD, USA) (Junior *et al.*, 2019).

Western blotting of the heart

Left ventricle samples (n = 3-5 / group) were processed as previously described (Chavaglia Cavalet *et al.*, 2020). Briefly, samples were grinded in ice-cold lysis buffer, the lysates were centrifuged, and the supernatants collected. The supernatants were quantified, and equal amounts of protein were denatured in Laemmli buffer. Aliquots containing 40 µg of protein were submitted to separation by SDS-PAGE, and then transferred to nitrocellulose membranes. Membranes were incubated with specific antibodies for proteins of interest (Table 1), according to manufacturer instructions, and chemiluminescence were detected by an image documentation system (ImageQuant LAS 4000 series, GE Healthcare, Chicago, IL, USA). The intensity of the bands was quantified by relative optical density using FIJI

software (ImageJ, NIH, Cambridge, MA, USA). GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) was used as load control (Chavaglia Cavalet *et al.*, 2020).

Statistical analysis

Data normality was verified by the Kolmogorov-Smirnov test. To compare differences between groups, unpaired Student's *t* test was used, and the level of significance was set at $p < 0.05$. To compare the differences in BW, food intake, ipITT and oGTT parameters, two-way ANOVA test, with time and diet as independent factors, was used for multiple comparisons followed by the Sidak post hoc test, with level of significance at $p < 0.05$. Prism 8 version 8.01 software (GraphPad, San Diego, CA, USA) was used for data analysis and to build graphics. Data are expressed as the percentage value of difference the *p* value.

RESULTS

Biometrical and biochemical parameters

During adolescence HF rats showed a reduction of absolute food intake (-45%; $p < 0.001$; Fig. 1A, B and C) and an increase of caloric intake (+7%; $p < 0.01$; $p < 0.01$; $P < 0.05$, respectively; Fig. 1D, E and F) compared with control animals, however no difference between groups was observed in the dietary recovery period. In addition, HF animals presented higher BW gain from the fourth week until the thirteenth week (PND 120) compared with NF group, as it is showed by the curve and area under curve of gain weight (+9%; $p < 0.05$; $P < 0.01$, $p < 0.001$, respectively; Fig. 1G and H). The HF animals remained with greater BW at the end of the experimental protocol and showed an increase in the Lee index when compared with the control (+ 10%, +5%; $p < 0.001$, $p < 0.001$, respectively; Fig. 1I and J).

Besides that, an increase of the periepididymal (NF: 1.059 ± 0.334 vs. +28%, HF: 1.403 ± 0.102 $p < 0.01$, Fig 2A), retroperitoneal (NF: 1.232 ± 0.551 vs. +44%, HF: 1.783 ± 0.112 $p < 0.001$, Fig 2B), mesenteric (NF: 0.811 ± 0.180 vs +22%, HF: 0.991 ± 0.080 , $p < 0.01$, Fig 2D) and interscapular brown adipose stores (NF: 0.086 ± 0.022 vs. +25%, HF: 0.109 ± 0.009 , $p < 0.05$, Fig 2D) was observed compared with controls. The normalized heart mass of the HF group were heavier than control animals (NF: 0.474 ± 0.053 vs. +10%, HF: $0.528 \pm$

0.019, $p < 0.05$; Fig. 2E). HF rats showed increased tibia length compared with control group (HF: 4.205 ± 0.024 vs. +3%, NF: 4.038 ± 0.167 , $p < 0.001$; Fig. 2F).

HF animals showed an increase in fasting blood glucose and triglycerides (+12%, $p = 0.016$; +36%, $p = 0.007$, respectively; Table 2). Although the total cholesterol and HDL cholesterol did not show significant difference between the groups, the triglyceride to HDL cholesterol ratio levels were high at HF animals (+31%, $p = 0.010$; Table 2).

Glucose homeostasis

As shown in Fig. 3A, the glucose level during ipITT remained higher in the HF group (+20%, $p < 0.009$; Fig. 2A). However, the KITT was significantly low in these animals -30% (NF: 1.127 ± 0.32 vs. HF: 0.799 ± 0.152 , $p = 0.043$; Fig. 2B).

During the oGTT, a peak in glycaemia was observed 15 min after glucose injection, and euglycemia was restored within approximately 120 min (Fig. 3C). At time zero (+14%) and at the peaks on 15 (+15%) and 30 (+6%) min of the curve, HF rats exhibited greater blood glucose concentration compared with NF animals (NF: 85.50 ± 12.17 $p < 0.001$ vs. HF: 97.67 ± 1.98 ; NF: 117.5 ± 18.17 vs. HF: 135.7 ± 2.97 , $p < 0.001$; NF: 109.4 ± 7.16 vs. HF: 116.6 ± 2.35 , $p < 0.01$, respectively; Fig. 3C), which translated to a greater area under the curve of glycaemia (+8%, $p < 0.001$; Fig. 3D).

Arterial pressure, heart rate, cardiac histology and caspase-3 protein analysis in heart

HF rats showed an increase in SBP (NF: 128 ± 4.25 mmHg vs. HF: 142 ± 5.21 ; $p = 0.009$; Fig. 4A), MBP (NF: 102 ± 4.45 mmHg vs. HF: 116 ± 5.42 ; $p = 0.014$; Fig. 4B) and DBP (NF: 81 ± 4.71 mmHg vs HF: 97 ± 4.97 ; $p = 0.004$; Fig. 4C). There was no significant difference in heart rate between the groups (Fig. 4D). Furthermore, histological analysis shows significant increase of +42% in the perivascular fibrosis index (vs. NF: 2.28 ± 0.96 vs. HF: 3.25 ± 0.33 ; $p = 0.021$; Fig. 5D, E and F) and interstitial fibrosis +62% (NF: 5.23 ± 3.27 vs. HF: 8.23 ± 0.37 ; $p = 0.001$; Fig. 5G, H) accompanied for increase in the cardiomyocyte diameter +29% (NF: 9.02 ± 2.71 vs. HF: 11.73 ± 0.38 ; $p = 0.001$; Fig. 5A, B and C) in HF group compared with NF group. In addition, HF animals showed an increase of the Caspase-3 expression of +35% in the heart when compared with control group (NF: 100 ± 35.2 vs. HF: 135 ± 15.4 ; $p = 0.032$; Fig. 5J).

DISCUSSION

In this study, we demonstrated that the animals exposed the HF diet during adolescence developed CMS in adulthood, characterized by obesity, hypertriglyceridemia, hyperglycemia, hypertension and insulin resistance. The HF animals also showed cardiac structural changes pointing to a process of early cardiac remodeling, which could be a consequence of the body's overloaded condition facing the cardiometabolic alterations. The role of HF diet during adolescence as a programming insult to CMS in adulthood, showed in the present study, add relevant information on the well-known knowledge of DOHaD concept, which coined that perinatal insult induces metabolic syndrome in adulthood. Adolescence is an important life time for development and organization of brain structures, when it is observed intense neuroendocrine and reproductive changes (Ebling, 2005; Salam & Bhutta, 2015). Several studies indicate that exposure to environmental stressors in critical period of development may be responsible for the development of later metabolic diseases, (de Oliveira *et al.*, 2013; Reynolds *et al.*, 2015; Ibáñez *et al.*, 2017), however, from our knowledge, this is the first study that points to adolescence a susceptible window to program to CMS.

Obesity is admittedly a chronic multifactorial disease, which compose the CMS. Agreeing with previous result on the same experimental model (Ibáñez *et al.*, 2017), the present study shows that, male rats fed with HF diet by 30 days, during adolescence, have an increase in BW, adipose tissue and Lee index at adulthood, pointing to an obesity, composing the present CMS. It is important to highlight that the increased of BW observed after the HF diet exposure, could be related to the increase in calories consumed during the special diet, which would be programming the brain metabolic regulation in the hypothalamus. As well as observed by Pimentel and collaborators in 2012 where a diet rich in trans-fat during pregnancy and lactation promoted an increase in the inflammatory oxytocins IL-6, TNF- α and IL1- β in the offspring's hypothalamus at 90 days, resulting in inflammation hypothalamic and decreased sensitivity to satiety, which promoted deleterious metabolic consequences, such as obesity, even after consuming a standard diet (Pimentel *et al.*, 2012).

This alterations could be related to an imbalance between caloric intake and energy expenditure, resulting in an increased adiposity, since this entire process may be related to the reduced mobility of these animals that were exposed to HF diet (Upadhyay *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2018). In addition, visceral adiposity is frequently correlated with metabolic impairment and dyslipidemia, which promotes a vicious cycle involving lipid accumulation and

inflammation and increase of angiotensinogen (Yvan-Charvet & Quignard-Boulangé, 2011; Bastien *et al.*, 2014; Kayser *et al.*, 2015; Lopes *et al.*, 2016). One limitation of the present study is that the energy expenditure of these animals was not measured, which could provide relevant information to better understand weight gain pattern, as HF animals did not show hyperphagia throughout the experimental protocol.

The present pattern lipid panel was similar with other studies that challenged other susceptible windows (Khan *et al.*, 2005; Desai *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2015). The TG level, the TG/HDL-c and TC/HDL-c ratio are considered as important biomarker of cardiovascular risk (Millán *et al.*, 2009), the present increase on triglycerides observed in HF animals may be associated with the accumulation of fat and the potential decrease in energy expenditure, as triglycerides are one of the body's energy sources (Liu *et al.*, 2017). Interestingly, the TC fraction was not altered, TC/HDL-c increased but not significant, but the TG/HDL-c ratio were increased in the HF animals. Studies partially corroborating the data from the present study, Vijaimohan and collaborators, in a study outside the programming windows, observed at the 100 days in rats that consumed a high-fat diet for 8 weeks, an increase in TG and TC levels and in ratios TG/HDL-c and TC/HDL-c (Vijaimohan *et al.*, 2006). Although not programming data, in another study, the authors also observed in animals exposed to a high-fat diet (20%) for 2, 4 or 8 weeks an increase in TC and TG levels as well as in the TC/HDL ratio (Cherng & Shih, 2005). Although our data do not show a significant increase for the TC/HDL ratio, this could be due to the fact that our animals did not show a decrease in total HDL levels, which could suggest that these levels are still under constant modification.

Considering, the cardiovascular risk indicators are more sensitive and specific in relation to their isolate levels, when we have the presence of obesity associated with insulin resistance, in adipocytes, insulin resistance triggers an increase in the release of fatty acids, while in the liver a decrease in the synthesis of VLDL, resulting in excess release of triglyceride rich VLDL particles, which in turn generate a cascade of events that determines a reduction in HDL-c levels and an increase in LDL-c particles, may cause deposition of cholesterol in the arteries and aorta which can result in increase the risk for development of cardiovascular events and dysfunctions of metabolism (Howard, 1999; Brites *et al.*, 2000).

The fasting glucose increased, glucose intolerance and insulin resistance observed in the present study corroborates with other studies that challenged animals with HF diet during susceptible windows of development (Barella *et al.*, 2012; Ibáñez *et al.*, 2017), and in mice during gestation and lactation (Melo *et al.*, 2014). Lee And collaborations in 2011, showed that the high-fat diet (60%) offered to mice for 5 or 10 weeks outside the programming

window period, promoted insulin resistance accompanied by increased adipocyte area and increased gene expression pro-inflammatory in white adipose tissue (Lee *et al.*, 2011). Peripheral insulin resistance involves cellular inflammatory responses believed to be caused by excess lipids (Posey *et al.*, 2009), this is consistent with the notion that macrophages present in adipose tissue generate a sustained pro-inflammatory tone that negatively affects adipocyte insulin sensitivity (Posey *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2011).

Consequently, the increase and dysfunction of adipose tissue may contribute to insulin resistance reducing glucose absorption and by modulating the action of insulin in the liver and muscle through secreted adipocytokines (considerate of the adipocytokines play an important role in energy balance homeostasis, insulin sensitivity, and cardiovascular disease), consequently, favoring the development of type Two diabetes. Furthermore, the insulin resistance observed in our study in rats adulthood may be developed earlier, as observed by Melo and collaborators in 2014, where a diet rich in fat during pregnancy and lactation promoted insulin resistance at 28 days in mice and this early insulin resistance can lead to the loss of the ability to modulate energy homeostasis, resulting in excessive weight gain and another metabolic consequences (Melo *et al.*, 2014). Furthermore, these finding may suggest a potential hyperinsulinemia, as observed in other studies (Martins *et al.*, 2018), however a present limitation is that insulinemia was not measured and would give relevant information on the type Two diabetes observed in this animals, and suggestions of a possible sympathetic dysfunction that could be present at elevated insulin levels.

Our data shows that HF diet during adolescence increase blood pressure at adulthood, corroborating with studies of metabolic programming by maternal HF diet (Franco *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2018; Barbosa *et al.*, 2020), pointing to the susceptibility of adolescence to programming of hypertension. The physiopathology of hypertension in the CMS has been a point of discussion. While the obesity and hyperglycemia appear to be associated and dependent on the insulin resistance, it appears that a possible hyper sympathetic activity and possible renin angiotensin aldosterone system disorganization may be overloading the peripheral system and consequently driving the increase in blood pressure observed in the CMS (Engeli, 2006; Williams *et al.*, 2014; Moreira *et al.*, 2015; Seravalle & Grassi, 2016).

The increase in the cardiomyocyte diameter, interstitial fibrosis and perivascular fibrosis observed in the present HF animals characterizes a left wall ventricular hypertrophy. Furthermore, the increase in capase-3 (an apoptotic factor), may suggest a cell death in the heart wall, suggesting a cardiac overload evidenced by the increased blood pressure and left

ventricular hypertrophy, which could point to the beginning of a cardiac remodeling process (Yang *et al.*, 2013). Programming studies with HF diet during pregnancy and lactation point to a more advanced cardiac morphological disorganization at adulthood, including collagen deposition in the heart (Parente *et al.*, 2008; Siddeek *et al.*, 2019), and changes in heart expression of miRNA related to cardiac structure and function (Siddeek *et al.*, 2019). The discrepancy between the quality of cardiac structural changes between the insult period may be due to the well-formed heart during adolescence, compared with perinatal life.

The dataset presented in this study confirms our hypothesis that adolescence is a susceptible window to cardiometabolic programming, induced by HF diet. Although this work has a phenomenological approach, studies on physiopathology of CMS have pointed out that the pro-inflammatory state and the oxidative stress induced by the high-fat diet, may be driving the central nervous system dysfunction and renin angiotensin aldosterone system disorganization, being closely related to hypertension, obesity, glucose metabolism dysfunction (Engeli, 2006; Posey *et al.*, 2009; Williams *et al.*, 2014). Further studies are necessary to explore the physiopathology of the programmed CMS induced by HF diet in adolescence.

CONCLUSION

Altogether, it is possible to conclude that HF consumption during adolescence programs to CMS in adulthood, sustained by obesity, hypertriglyceridemia, hyperglycemia, hypertension and insulin resistance, associated with cardiac structural alterations. The present study confirms the susceptibility of adolescence as a critical window of development and shows a new model to explore the physiopathology of CMS. Furthermore, these results are relevant to reflections on public policies for the control of CMS especially in populations vulnerable to inadequate nutrition, as observed in adolescence. Giving the message that a rational exposure to HF diet in adolescence may prevent long-term cardiometabolic disease.

ADDITIONAL INFORMATION

Interest conflicts

None

Author contributions

MVGR, KPR, PCFM and JAA contributed to the design of the study project, data analysis and manuscript writing. MVGR, AROF, MNCP, SP, LAF, and BGS contributed to the performance of the experiments and data analysis. RMG and PCFM helped in interpreting the results. All authors approved the final version of the manuscript.

Funding support

CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

TABLE

Table 1. List of antibodies used for western immunoblotting.

Antibody	Manufacturer and catalog #	Source	Dilution
Anti-Caspase-3	Santa Cruz, CA, USA (SC-271759)	Mouse monoclonal	1:500
Anti-GAPDH	Santa Cruz, CA, USA (SC-25778)	Rabbit polyclonal	1:1000

Table 2. Effects of high-fat diet during adolescence on biochemical parameters.

Biochemical parameters (mg/dL)	NF	HF	P value
Glycemia	94 ± 2.35	107 ± 4.75	0.016*
Triglycerides	141 ± 11.40	195 ± 12.23	0.007**
Total cholesterol	89 ± 7.91	97.17 ± 5.13	0.137
HDL - cholesterol	48 ± 3.00	51 ± 4.35	0.498
Triglycerides/HDL-c	2.99 ± 0.83	3.82 ± 0.29	0.010*
Total cholesterol/HDL-c	1.88 ± 0.13	2.02 ± 0.15	0.038

* NF, normal fat diet; HF, high-fat diet; n = 12 animals per group. Data are presented as the mean ± SEM. Unpaired Student's t-test, *p < 0.05 and **p < 0.01.

FIGURES

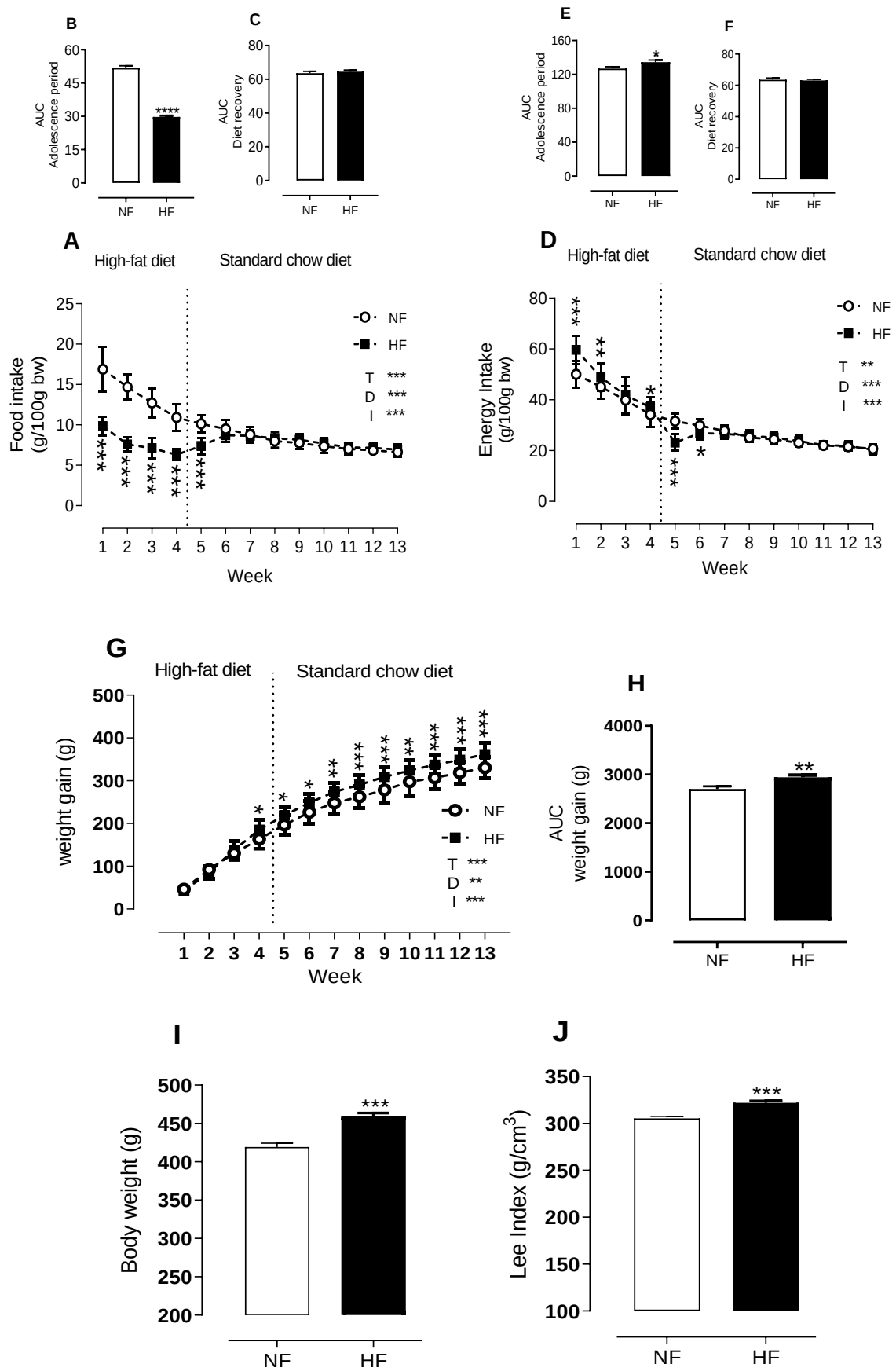


Fig. 1: Effects of high-fat diet during adolescence on biometrical. Curve of food intake in grams (A), area under curve (AUC) during the adolescence period (B), area under curve (AUC) during the dietary recovery period (C). Curve of food intake in kcal (D), AUC during the adolescence period (E), AUC during the dietary recovery period (F). Curve of weight gain (G), AUC of weight gain (H), AUC of body weight (I). Lee index (J). N = 12 - 30 animals per group NF, normal fat diet; HF, high-fat diet. Data are presented as the mean $\pm$ SEM or SD. I, interaction between treatment and week factors. Unpaired Student's t-test or Two-way Anova, *p < 0.05, **p < 0.01 and *** p < 0.001.

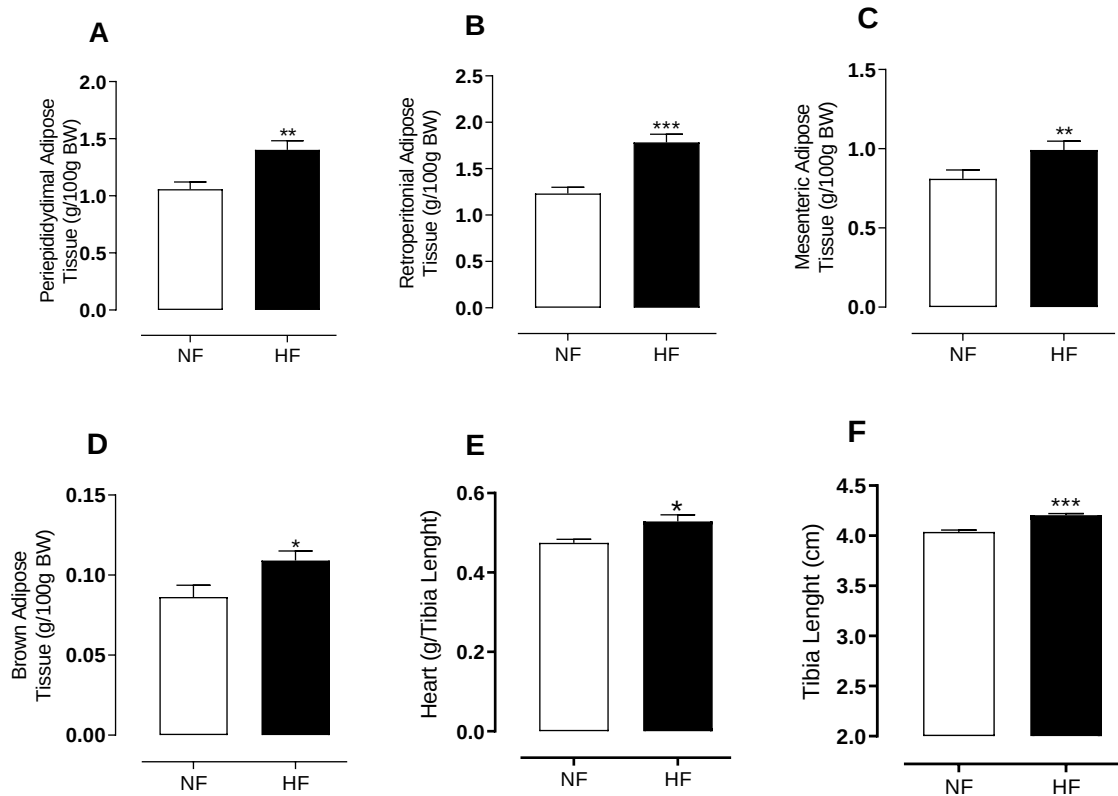


Fig. 2: Effects of high-fat diet during adolescence on biometrical. Periepididymal (A), retroperitoneal (B), mesenteric (C) and brown (D) adipose tissue, heart g/tibia weight (E), tibia length (F). N= 11–12 animals per group NF, normal fat diet; HF, high-fat diet. Data are presented as the mean $\pm$ SEM. Unpaired Student's t-test, *p < 0.05, **p < 0.01 and *** p < 0.001.

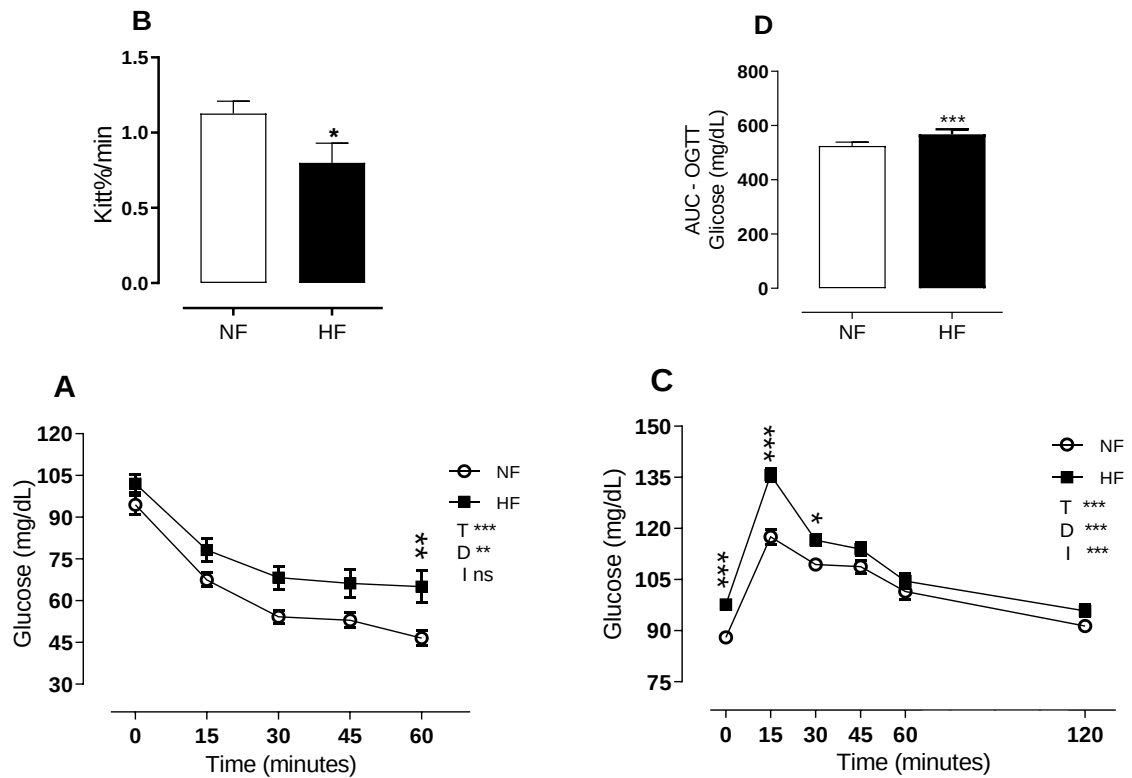


Fig. 3: Long-term effects of a high-fat diet during adolescence on glucose homeostasis. Blood glucose curve (A) and blood glucose decay (K_{itt}) during ipITT (B), blood glucose curve (C) and area under curve (AUC) of blood glucose curve during oGTT (D). N = 12 animals per group NF, normal fat diet; HF, high-fat diet. Data are presented as the mean $\pm$ SEM. I, interaction between treatment and week factors. Unpaired Student's t-test or Two-way Anova, *p < 0.05, **p < 0.01 and *** p < 0.001.

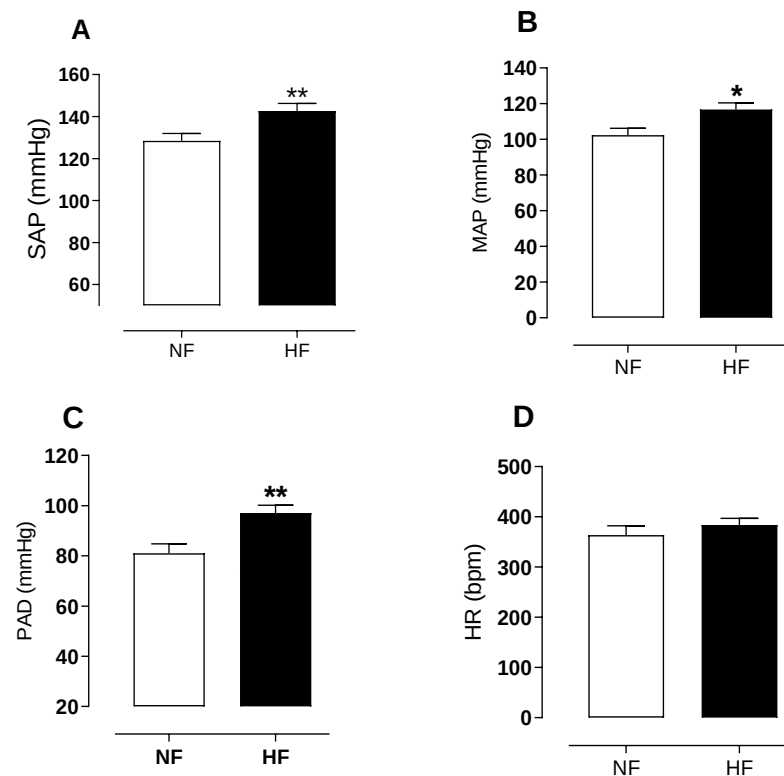


Fig. 4. Arterial pressure in animals 120 days old at baseline. Systolic arterial pressure (B), mean arterial pressure (C), diastolic arterial pressure (D) and heart rate (D). N = 11-16 animals per group NF, normal fat diet; HF, high-fat diet. Data are presented as the mean $\pm$ SEM. Unpaired Student's t-test, * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

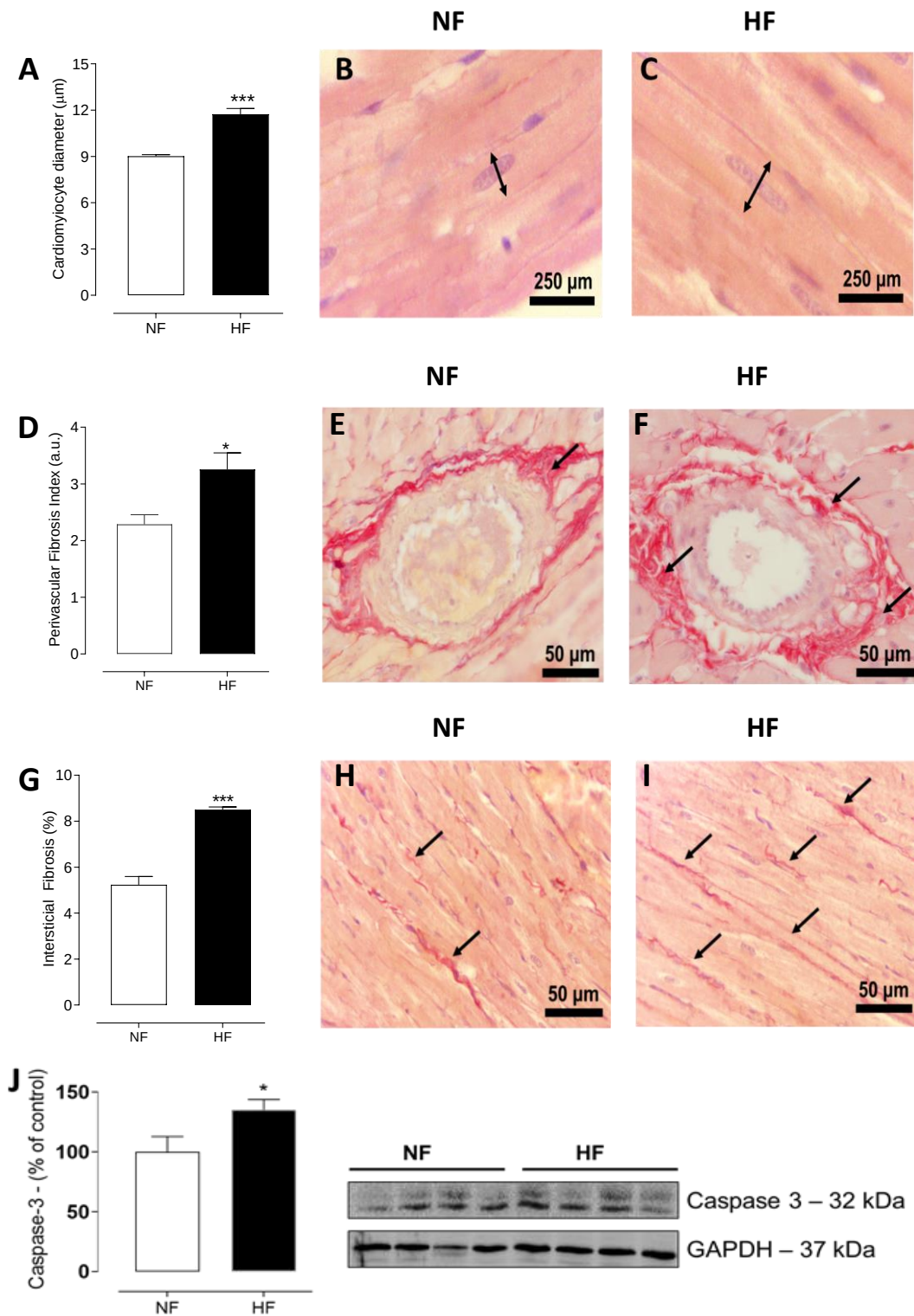


Fig. 5. Effects of a high-fat diet during adolescence on cardiac histological analysis and western blotting. Cardiomyocyte diameter (A) and representative photomicrographs ($\times 1000$ magnification, scale bars = $250 \mu\text{m}$)

showing cardiomyocytes longitudinal sections from NF (B) and HF (C) animals stained with hematoxylin and eosin. Perivascular fibrosis index (D) and representative photomicrographs ($\times 400$ magnification, scale bars = 50 μm) showing ventricular vessels longitudinal sections from NF (E) and HF (F) animals stained with picrosirius-red. Interstitial fibrosis (G) and representative photomicrographs ($\times 100$ magnification, scale bars = 50 μm) showing longitudinal sections of left ventricles from NF (H) and HF (I) animals stained with picrosirius-red. Western blot analysis of Caspase-3 (J). Representative immunoblots are shown on the up-right. Data are presented as the mean $\pm$ SEM. N = 5 animals per group, normal fat diet; HF, high-fat diet. Unpaired Student's t-test, * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$.

REFERENCES

- Armitage JA, Khan IY, Taylor PD, Nathanielsz PW & Poston L (2004). Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals?: Programming the metabolic syndrome by maternal dietary imbalance. *The Journal of Physiology* **561**, 355–377.
- Armitage JA, Lakasing L, Taylor PD, Balachandran AA, Jensen RI, Dekou V, Ashton N, Nyengaard JR & Poston L (2005). Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy: Programming adult aortic and renal dysfunction by maternal fat-rich diet. *The Journal of Physiology* **565**, 171–184.
- Barbosa CM, Figueiredo VP, Barbosa MA, Cardoso LM & Alzamora AC (2020). Maternal high-fat diet triggers metabolic syndrome disorders that are transferred to first and second offspring generations. *Br J Nutr* **123**, 59–71.
- Barella L, de Oliveira J, Branco RC, Camargo R, Gomes R, Mendes FC, Miranda R, Gravena C, Torrezan R, Grassioli S & de Freitas Mathias P (2012). Early Exposure to a High-Fat Diet has more Drastic Consequences on Metabolism Compared with Exposure During Adulthood in Rats. *Horm Metab Res* **44**, 458–464.
- Barker D (2007). The developmental origins of chronic adult disease. *Acta Paediatrica* **93**, 26–33.
- Barker D, Eriksson J, Forsén T & Osmond C (2002). Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology* **31**, 1235–1239.
- Bastien M, Poirier P, Lemieux I & Després J-P (2014). Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity to Cardiovascular Disease. *Progress in Cardiovascular Diseases* **56**, 369–381.
- Bernardis LL & Patterson BD (1968). CORRELATION BETWEEN “LEE INDEX” AND CARCASS FAT CONTENT IN WEANLING AND ADULT FEMALE RATS WITH HYPOTHALAMIC LESIONS. *Journal of Endocrinology* **40**, 527–528.
- Blakemore S-J, Burnett S & Dahl RE (2010). The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp* **31**, 926–933.
- Blakemore S-J & Choudhury S (2006). Brain development during puberty: state of the science. *Developmental Sci* **9**, 11–14.
- Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T & Muggeo M (2000). Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* **23**, 57–63.

- Brites FD, Bonavita CD, De Geitere C, Cloës M, Delfly B, Yael MJ, Fruchart J-C, Wikinski RW & Castro GR (2000). Alterations in the main steps of reverse cholesterol transport in male patients with primary hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol levels. *Atherosclerosis* **152**, 181–192.
- Buijs RM & Kreier F (2006). The Metabolic Syndrome: A Brain Disease? *J Neuroendocrinol* **18**, 715–716.
- Burggren WW & Mueller CA (2015). Developmental Critical Windows and Sensitive Periods as Three-Dimensional Constructs in Time and Space. *Physiological and Biochemical Zoology* **88**, 91–102.
- Chavaglia Cavalet L, dos Santos Ribeiro LC, Rosa GB, Sousa KK, de Melo ABS, Campos DBT, Ferreira LA, Amaral NO, Calisto YTV, de Castro AG, de Castro CH, Pedrino GR & Gomes RM (2020). Long-term effects of early overfeeding and food restriction during puberty on cardiac remodeling in adult rats. *J Dev Orig Health Dis* **11**, 492–498.
- Cherng J-Y & Shih M-F (2005). Preventing dyslipidemia by *Chlorella pyrenoidosa* in rats and hamsters after chronic high fat diet treatment. *Life Sciences* **76**, 3001–3013.
- Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH & Ross MG (2014). Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **211**, 237.e1-237.e13.
- Dubinion JH, da Silva AA & Hall JE (2010). Enhanced blood pressure and appetite responses to chronic central melanocortin-3/4 receptor blockade in dietary-induced obesity. *Journal of Hypertension* **28**, 1466–1470.
- Ebling FJP (2005). The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction* **129**, 675–683.
- Engeli S (2006). Role of the Renin–Angiotensin–Aldosterone System in the Metabolic Syndrome. In *Contributions to Nephrology*, ed. Wolf G, pp. 122–134. KARGER, Basel. Available at: <https://www.karger.com/Article/FullText/95324> [Accessed December 20, 2021].
- Fante T, Simino LAP, Fontana MF, Reginato A, Ramalheira TG, Rodrigues HG, Lisboa PC, de Moura EG, Ignácio-Souza LM, Milanski M, Torsoni MA & Torsoni AS (2021). Maternal high-fat diet consumption programs male offspring to mitigate complications in liver regeneration. *J Dev Orig Health Dis* 1–8.
- Fortes Almeida A (2018). Razão TG/HDL-c, indicadores antropométricos e bioquímicos de risco cardiovascular no renal crônico em tratamento conservador. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria* 10–16.
- Franco JG, Fernandes TP, Rocha CPD, Calviño C, Pazos-Moura CC, Lisboa PC, Moura EG & Trevenzoli IH (2012). Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning: Maternal high fat diet programmes adrenal and thyroid function. *The Journal of Physiology* **590**, 5503–5518.
- Geloneze B & Tambascia MA (2006). Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. *Arq Bras Endocrinol Metab* **50**, 208–215.
- Ginsberg HN & MacCallum PR (2009). The Obesity, Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes Mellitus Pandemic: Part I. Increased Cardiovascular Disease Risk and the Importance of Atherogenic Dyslipidemia in Persons With the Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of the CardioMetabolic Syndrome* **4**, 113–119.

- Gomes RM, Tófolo LP, Rinaldi W, Scomparin DX, Grassioli S, Barella LF, de Oliveira JC, Branco RCS, Agostinho AR, da Silva Ribeiro TA, Gravena C & de Freitas Mathias PC (2013). Moderate Exercise Restores Pancreatic Beta-Cell Function and Autonomic Nervous System Activity in Obese Rats Induced by High-Fat Diet. *Cell Physiol Biochem* **32**, 310–321.
- Henry SL, Barzel B, Wood-Bradley RJ, Burke SL, Head GA & Armitage JA (2012). Developmental origins of obesity-related hypertension: *Programming obesity-related hypertension*. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **39**, 799–806.
- Howard BV (1999). Insulin resistance and lipid metabolism. *The American Journal of Cardiology* **84**, 28–32.
- Ibáñez CA et al. (2017). A High Fat Diet during Adolescence in Male Rats Negatively Programs Reproductive and Metabolic Function Which Is Partially Ameliorated by Exercise. *Front Physiol* **8**, 807.
- Islam MA, Akhtar MA, Khan MR-I, Hossain MS, Alam AHMK, Ibne-Wahed MI, Amran MS, Rahman BM & Ahmed M (2009). Oral glucose tolerance test (OGTT) in normal control and glucose induced hyperglycemic rats with *Coccinia cordifolia* L. and *Catharanthus roseus* L. *Pak J Pharm Sci* **22**, 402–404.
- Junior MDF, Cavalcante KVN, Ferreira LA, Lopes PR, Pontes CNR, Bessa A de SM de, Neves ÂR, Francisco FA, Pedrino GR, Xavier CH, Mathias PC de F, Castro CH de & Gomes RM (2019). Postnatal early overfeeding induces cardiovascular dysfunction by oxidative stress in adult male Wistar rats. *Life Sciences* **226**, 173–184.
- Kayser BD, Goran MI & Bouret SG (2015). Perinatal Overnutrition Exacerbates Adipose Tissue Inflammation Caused by High-Fat Feeding in C57BL/6J Mice ed. Dileepan KN. *PLoS ONE* **10**, e0121954.
- Khan IY, Dekou V, Douglas G, Jensen R, Hanson MA, Poston L & Taylor PD (2005). A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **288**, R127–R133.
- Lee YS, Li P, Huh JY, Hwang IJ, Lu M, Kim JI, Ham M, Talukdar S, Chen A, Lu WJ, Bandyopadhyay GK, Schwendener R, Olefsky J & Kim JB (2011). Inflammation Is Necessary for Long-Term but Not Short-Term High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance. *Diabetes* **60**, 2474–2483.
- Liu AG, Ford NA, Hu FB, Zelman KM, Mozaffarian D & Kris-Etherton PM (2017). A healthy approach to dietary fats: understanding the science and taking action to reduce consumer confusion. *Nutr J* **16**, 53.
- Lopes HF, Corrêa-Giannella ML, Consolim-Colombo FM & Egan BM (2016). Visceral adiposity syndrome. *Diabetol Metab Syndr* **8**, 40.
- Martins IP, de Oliveira JC, Pavanello A, Matusso CCI, Previante C, Tófolo LP, Ribeiro TA, da Silva Franco CC, Miranda RA, Prates KV, Alves VS, Francisco FA, de Moraes AMP, de Freitas Mathias PC & Malta A (2018). Protein-restriction diet during the suckling phase programs rat metabolism against obesity and insulin resistance exacerbation induced by a high-fat diet in adulthood. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **57**, 153–161.
- Martins MV, Souza JD de, Martinho KO, Franco FS & Tinôco ALA (2017). Association between triglycerides and HDL-cholesterol ratio and cardiovascular risk factors among elderly persons

- receiving care under the family health strategy of Viçosa, Minas Gerais. *Rev bras geriatr gerontol* **20**, 236–243.
- Melo AM, Benatti RO, Ignacio-Souza LM, Okino C, Torsoni AS, Milanski M, Velloso LA & Torsoni MA (2014). Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. *Metabolism* **63**, 682–692.
- Millán J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés-Prat J, Pallardo LF, Masana L, Mangas A, Hernández-Mijares A, González-Santos P, Ascaso JF & Pedro-Botet J (2009). Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag* **5**, 757–765.
- Miranda RA, da Silva Franco CC, Previante C, Alves VS, Francisco FA, Moreira VM, de Moraes AMP, Gomes RM, Picinato MC, Natali MRM & de Freitas Mathias PC (2018). Particulate Matter Exposure During Perinatal Life Results in Impaired Glucose Metabolism in Adult Male Rat Offspring. *Cell Physiol Biochem* **49**, 395–405.
- Moreira MC dos S, Pinto IS de J, Mourão AA, Fajemiroye JO, Colombari E, Reis ÂA da S, Freiria-Oliveira AH, Ferreira-Neto ML & Pedrino GR (2015). Does the sympathetic nervous system contribute to the pathophysiology of metabolic syndrome? *Front Physiol*; DOI: 10.3389/fphys.2015.00234.
- Munoz (2009). Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *VHRM* 757.
- de Oliveira JC, Lisboa PC, de Moura EG, Barella LF, Miranda RA, Malta A, Franco CC da S, Ribeiro TA da S, Torrezan R, Gravena C & Mathias PC de F (2013). Poor pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced insulin secretion process in pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase fat accumulation. *Journal of Endocrinology* **216**, 195–206.
- de Oliveira JC, de Moura EG, Miranda RA, de Moraes AMP, Barella LF, da Conceição EPS, Gomes RM, Ribeiro TA, Malta A, Martins IP, Franco CC da S, Lisboa PC & Mathias PC de F (2018). Low-protein diet in puberty impairs testosterone output and energy metabolism in male rats. *Journal of Endocrinology* **237**, 243–254.
- Parente LB, Aguila MB & Mandarim-de-Lacerda CA (2008). Deleterious effects of high-fat diet on perinatal and postweaning periods in adult rat offspring. *Clinical Nutrition* **27**, 623–634.
- Pérez-Martínez P et al. (2017). Lifestyle recommendations for the prevention and management of metabolic syndrome: an international panel recommendation. *Nutrition Reviews* **75**, 307–326.
- Pimentel GD, Lira FS, Rosa JC, Oliveira JL, Losinskas-Hachul AC, Souza GIH, das Graças T. do Carmo M, Santos RVT, de Mello MT, Tufik S, Seelaender M, Oyama LM, Oller do Nascimento CM, Watanabe RH, Ribeiro EB & Pisani LP (2012). Intake of trans fatty acids during gestation and lactation leads to hypothalamic inflammation via TLR4/NFκBp65 signaling in adult offspring. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **23**, 265–271.
- Posey KA, Clegg DJ, Printz RL, Byun J, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A, Pennathur S, Baskin DG, Heinecke JW, Woods SC, Schwartz MW & Niswender KD (2009). Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **296**, E1003–E1012.
- Reynolds C, Gray C, Li M, Segovia S & Vickers M (2015). Early Life Nutrition and Energy Balance Disorders in Offspring in Later Life. *Nutrients* **7**, 8090–8111.

- Salam RA & Bhutta ZA (2015). 2.7 Adolescent Nutrition. In *World Review of Nutrition and Dietetics*, ed. Koletzko B, Bhatia J, Bhutta ZA, Cooper P, Makrides M, Uauy R & Wang W, pp. 122–126. S. Karger AG. Available at: <https://www.karger.com/Article/FullText/367879> [Accessed December 19, 2021].
- Seravalle G & Grassi G (2016). Sympathetic Nervous System, Hypertension, Obesity and Metabolic Syndrome. *High Blood Press Cardiovasc Prev* **23**, 175–179.
- Siddeek B, Mauduit C, Chehade H, Blin G, Liand M, Chindamo M, Benahmed M & Simeoni U (2019). Long-term impact of maternal high-fat diet on offspring cardiac health: role of micro-RNA biogenesis. *Cell Death Discov* **5**, 71.
- Soliman A, Sanctis V & Elalaily R (2014). Nutrition and pubertal development. *Indian J Endocr Metab* **18**, 39.
- Trinder P (1969). Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Journal of Clinical Pathology* **22**, 158–161.
- Upadhyay J, Farr O, Perakakis N, Ghaly W & Mantzoros C (2018). Obesity as a Disease. *Medical Clinics of North America* **102**, 13–33.
- Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniam S, Anandhan C & Shyamala Devi CS (2006). Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sciences* **79**, 448–454.
- Williams L, Seki Y, Vuguin PM & Charron MJ (2014). Animal models of in utero exposure to a high fat diet: A review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **1842**, 507–519.
- World Health Organization (2014). *Global status report on noncommunicable diseases 2014*. World Health Organization, Geneva. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/148114> [Accessed December 19, 2021].
- Wu H, Liu Q, Kalavagunta PK, Huang Q, Lv W, An X, Chen H, Wang T, Heriniaina RM, Qiao T & Shang J (2018). Normal diet Vs High fat diet - A comparative study: Behavioral and neuroimmunological changes in adolescent male mice. *Metab Brain Dis* **33**, 177–190.
- Yang B, Ye D & Wang Y (2013). Caspase-3 as a therapeutic target for heart failure. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* **17**, 255–263.
- Yin FC, Spurgeon HA, Rakusan K, Weisfeldt ML & Lakatta EG (1982). Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **243**, H941–H947.
- Yvan-Charvet L & Quignard-Boulangé A (2011). Role of adipose tissue renin–angiotensin system in metabolic and inflammatory diseases associated with obesity. *Kidney International* **79**, 162–168.
- Zhang Y-P, Huo Y-L, Fang Z-Q, Wang X-F, Li J-D, Wang H-P, Peng W, Johnson AK & Xue B (2018). Maternal high-fat diet acts on the brain to induce baroreflex dysfunction and sensitization of angiotensin II-induced hypertension in adult offspring. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **314**, H1061–H1069.
- Zhou C, Zhou J, Han N, Liu Z, Xiao B & Yin J (2015). Beneficial effects of neomangiferin on high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in rats. *International Immunopharmacology* **25**, 218–228.

CAPÍTULO III

Conclusão

O presente estudo aponta que a dieta rica em gordura durante a adolescência induz ao desenvolvimento da síndrome cardiometabólica na vida adulta, sustentada por alterações metabólicas e cardiovasculares podendo estar associadas ao desenvolvimento de alterações na estrutura cardíaca. Estes resultados confirmam a susceptibilidade da adolescência, ainda pouco explorada, como uma janela crítica do desenvolvimento, capaz de programar para doenças cardiovasculares e metabólicas tardiamente e demonstra um novo modelo para explorar a fisiopatologia dessa síndrome. Adicionalmente, estes resultados são relevantes para reflexões sobre políticas públicas para o controle de SMC, evidenciando a relevância em acompanhar precocemente indivíduos expostos a uma nutrição inadequada considerando a dieta hipercalórica durante a adolescência. A qual destaca-se como uma fase importante de intervenção para o controle e prevenção dessas doenças associadas a síndrome cardiometabólica acompanhada pelo elevado risco de mortalidade.

Perspectivas Futuras

A continuação desta linha de pesquisa permitirá aprofundar a compreensão sobre os possíveis mecanismos fisiopatológicos envolvidos na síndrome cardiometabólica programada na adolescência. Para tal, pretende-se:

- 1) Realizar medição do consumo calórico, visando compreender melhor o ganho de peso.
- 2) Realizar a dosagem insulínica, bem como análise histopatológica do tecido adiposo branco para fins de estudar a relação da resistência à insulina na síndrome cardiometabólica.
- 3) Estudar o envolvimento da atividade autonômica, sistema renina angiotensina e inflamação para explorar possíveis mecanismos envolvidos na instalação da síndrome cardiometabólica