

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MATHEUS FELIPE ZAZULA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA COM ÁCIDOS  
GRAXOS INSATURADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MATERNAS,  
PROGRAMAÇÃO METABÓLICA FETAL E DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL  
DE RATOS *WISTAR*

CURITIBA

2025

MATHEUS FELIPE ZAZULA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA COM ÁCIDOS  
GRAXOS INSATURADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MATERNAS,  
PROGRAMAÇÃO METABÓLICA FETAL E DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL  
DE RATOS *WISTAR*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biologia Celular e Molecular.

Orientadora: Profa. Dra. Katya Naliwaiko.

CURITIBA

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Zazula, Matheus Felipe

Âvaliação do efeito da suplementação crônica com ácidos graxos insaturados sobre as características maternas, programação metabólica fetal e desenvolvimento pós-natal de ratos *Wistar* / Matheus Felipe Zazula. – Curitiba, 2025.  
1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

Orientadora: Profa. Dra. Katya Naliwaiko.

1. Síndrome metabólica. 2. Desenvolvimento fetal. 3. Origens desenvolvimentistas da saúde e doença. 4. Lipídios. I. Naliwaiko, Katya, 1976-. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. III. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva CRB-9/1406



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOLOGIA CELULAR E  
MOLECULAR - 40001016007P8

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MATHEUS FELIPE ZAZULA**, intitulada: **AValiação DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO CRÔNICA COM ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MATERNAS, PROGRAMAÇÃO METABÓLICA FETAL E DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL DE RATOS WISTAR**, sob orientação da Profa. Dra. KATYA NALIWAIKO, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 18 de Novembro de 2025.

Assinatura Eletrônica  
24/11/2025 18:39:23.0  
KATYA NALIWAIKO  
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica  
28/11/2025 09:02:13.0  
FABÍOLA ISABEL SUANO-SOUZA  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO)

Assinatura Eletrônica  
25/11/2025 15:15:38.0  
MARIA CRISTINA LEME GODOY DOS SANTOS  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica  
25/11/2025 13:56:07.0  
SABRINA GRASSIOLLI  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica  
24/11/2025 11:40:56.0  
LIA SUMIE NAKAO  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

*Я присвячую цю роботу всім,  
хто йшов поруч зі мною в цій подорожі:  
моїй родині, моїм бабусям і дідусям, батькам,  
братові й сестрі, коханим,  
друзям і професійним партнерам —  
людям, які підтримували мене  
і розуміли всі ті моменти моєї відсутності,  
щоб ця мрія могла здійснитися.*

*З глибокою повагою — викладачам, які надихали мене,  
науковцям, які присвячують своє життя розвитку знань,  
і всім людям, які з відвагою та надією  
борються за справедливіший, етичніший  
і сповнений поваги до всіх форм життя світ.*

*Моїм учням, які по-своєму навчили мене значно більшого,  
ніж я зміг навчити їх.*

*І з любов'ю та сумом — тим,  
хто колись був поруч, але з різних причин  
вже не є частиною цього шляху.*

*Усім вам — моя любов, моя вдячність і моя повага.!*

## AGRADECIMENTOS

Eu não poderia começar esses agradecimentos sem mencionar as minhas maiores inspirações, meus exemplos de força, dedicação e amor: meus avós, Pedro, Mafalda e Ivone. Vocês foram muito mais do que pais para mim, foram meu alicerce, minha base, o porto seguro em todos os momentos da vida. Eu não seria nada do que sou hoje sem o amor e a dedicação de vocês. Só estou terminando essa etapa porque vocês estiveram ao meu lado durante esses trinta anos, acreditando em mim mesmo quando eu duvidava. Nenhuma palavra será suficiente para agradecer tudo o que fizeram. Amo vocês com tudo o que sou, infinitamente.

À minha mãe, Igeani, que, apesar de todos os desencontros e das dificuldades ao longo do caminho, sempre esteve presente de alguma forma. Hoje, com mais maturidade, enxergo o quanto da minha força veio de você. Obrigado por ter-me dado a vida e por ter feito o possível, e muitas vezes o impossível, por nós. Ao meu pai, Vanderlei, agradeço pelo carinho e pelas tentativas, por ter feito parte dessa trajetória. Aos meus tios, Claudinei e Diana, que fizeram o papel de pai e mãe em tantos momentos. Aos tios agregados, Sérgio e Maria, obrigado por todo o carinho e amor incondicional que vocês sempre tiveram por mim.

Aos meus irmãos, João, Maria e Letícia (irmã de outra mãe). Ermeãos, não lembro de muitos momentos da minha vida em que vocês não estivessem ao meu lado. Obrigado por serem a melhor parte de mim. E, principalmente, obrigado pelo apoio de vocês, mesmo quando vinha em forma de *“você é muito chato, só sabe falar de bicho”* ou *“para de estudar um pouco”*. Eu amo muito vocês. Pode não parecer às vezes, mas vocês são meus melhores amigos, desde sempre e pra sempre.

Queria só reforçar os agradecimentos à pessoa mais implicante, xarope e assustadoramente parecida comigo, ermã, você sem sombras de dúvida é uma centelha de luz em dias difíceis. Seu mau humor e sua absurda facilidade em desgostar das mesmas coisas (e pessoas) que eu são o que alegra meus dias hahaha. Ao meu parceiro de aniversário e cunhado, Luiz Rafael, obrigado por dividir tantos momentos comigo, por cuidar da minha agradabilíssima ermã e por me emprestar a Dona Iolanda (e obviamente eu virei o favorito kkkk).

À todas as pessoas que fazem ou fizeram parte da minha vida, que estiveram ao meu lado nos momentos importantes, meu mais sincero obrigado por acreditarem em mim, mesmo quando eu duvidava. E, por fim, a todos que já se foram, mas que sempre

torceram pela minha felicidade: obrigado por terem feito parte da minha história. Sinto uma falta imensa de vocês. Onde quer que estejam, espero estar retribuindo com orgulho todo o amor que me deram. Aqui, agradeço especialmente ao meu professor de paleontologia, Eliseu Vieira Dias, que nos deixou no início de 2024. *Вічна їх Пам'ять.*

Agradeço aos meus professores, que fizeram parte direta da minha trajetória desde a graduação na Unioeste até este momento, o fim do doutorado. Cada um de vocês deixou uma marca no meu caminho, e sou imensamente grato por todo o conhecimento, paciência e inspiração que compartilharam comigo ao longo desses anos. Agradeço também às professoras Fabíola, Sabrina, Lia e Maria Cristina por terem aceitado prontamente o convite para participarem da defesa, obrigado pela disponibilidade. Ao PI, que me acompanha desde o projeto, obrigado por todos os momentos incríveis de debate. Agradeço também ao CNPq pela bolsa e pelos demais recursos, fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho. Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, ao Departamento de Biologia Celular e à UFPR por terem sido minha casa nesses últimos 6 anos e meio. Aprendi muito mais do que ser cientista dentro dessas paredes, encontrei meu lugar e minha missão no mundo.

Gostaria de agradecer profundamente à Professora Carla Wanderer. Sua paciência, seu carinho e a forma apaixonante como ensina me marcaram de um jeito que levarei pra sempre. Você transformou o simples ato de dar aula em algo inspirador, e foi impossível não se encantar assistindo você ensinar. Se um dia eu for capaz de ser um professor de Histologia como você, saberei que alcancei um dos meus maiores sonhos. Te admiro e te agradeço de coração.


Eu não poderia deixar de agradecer à minha grande amiga Lucélia. Desde o primeiro dia de aula, você esteve presente com as maiores broncas, os conselhos mais sinceros e as risadas mais necessárias. Lu, sou imensamente grato por tudo: pelos ensinamentos, pela paciência e, acima de tudo, pela amizade que construímos ao longo desses anos. É um privilégio ter alguém como você por perto, alguém que ensina, puxa a orelha e faz a gente rir na mesma medida. Amo você, jacaré.

Aos meus amigos do trabalho, da UFPR, da Unioeste, do Barvinok e da vida, obrigado por me apoiarem e por não desistirem de mim mesmo quando sumo por 84 anos. Especialmente gostaria de agradecer ao meu trio de apoio emocional, Mariana, Moniqueta e Roberta. Obrigado por acreditarem em mim e por embarcarem nas minhas loucuras sem pensar duas vezes. É um privilégio dividir a mesma enfermaria da ala das pessoas sem salvação, no mais alto grau de insanidade, com vocês.

Gostaria de agradecer aos meus filhotinhos, Duda, Luiza, Djennifer, Douglas, Pedro e Otávio. Obrigado por terem confiado em mim, por me ouvirem (quase sempre) e por me ensinarem o que é ser um verdadeiro pai científico. Cuidar de vocês foi uma das partes mais bonitas dessa jornada, fico muito feliz por saber que, de alguma forma, consegui inspirar cada um de vocês. Não poderia deixar de agradecer ao quarteto que me acompanhou e me ajudou muito nos meus experimentos, Ana Carla, Beatriz, Hellen e Tom, vocês foram parte importante desse trabalho. Gostaria de agradecer aos meus companheiros mais recentes de laboratório, Tayná e Paulo, obrigado por esse ótimo ano que compartilhamos, por todas as risadas e momentos de trabalho.

E, para finalizar, quero agradecer à dupla que foi peça central em tudo o que está posto nesta tese, Katya e Luiz. Nada disso existiria sem vocês, que estiveram presentes em cada ideia, cada erro, cada acerto, cada gargalhada, cada momento de rabugice, cada almoço de domingo, cada momento desde aquele dia 08 de março de 2019. Vocês foram muito mais que minha orientadora e chefe do grupo de pesquisa. Vocês me acolheram como parte da família, e eu sou extremamente grato por tudo o que fizeram por mim.

Luiz, você é um exemplo de pesquisador, professor, chefe, pai e amigo. Sua generosidade, paciência e bom humor tornam qualquer ambiente mais leve e inspirador. Obrigado por sempre acreditar em mim, por me incentivar a pensar mais alto, a tentar de novo e a nunca me acomodar. Admiro profundamente a forma como você conduz tudo com humanidade, e me sinto privilegiado por ter tido a oportunidade de aprender contigo.

Katya, não há palavras que expressem o quanto sou grato por tudo que aprendi com você. Sua sensibilidade, inteligência e dedicação são inspiradoras, e a forma como você conduz as coisas, com rigor, mas também com coração, me ensinou o verdadeiro sentido de ser um pesquisador. Você sempre acreditou em mim, mesmo quando eu ainda estava aprendendo a acreditar em mim mesmo. Obrigado por ter me guiado com firmeza e carinho, como uma mãe, por ter me desafiado quando eu precisava crescer e por ter me acolhido nos momentos mais difíceis. Sua presença foi essencial em cada etapa deste trabalho, mas, mais do que isso, foi essencial na minha formação como ser humano. Digo, com muito orgulho e carinho, que além de uma orientadora, encontrei em você uma amiga, daquelas raras, que escutam, entendem e mudam a vida da gente. Quando crescer, eu quero ser como você! Te amo de montão RM 



*“That moment of time 252 million years ago, chronicled in the swift change from mudstone to pebbly rock in the Polish quarry, was the closest that life ever came to being completely obliterated.*

*Then things got better. They always do. Life is resilient, and some species are always able to make it through even the worst catastrophes.”*

*Steve Brusatte, 2018*

*The Rise and Fall of the Dinosaurs*

## RESUMO

O estado nutricional materno exerce influência determinante sobre o desenvolvimento embrionário e a programação metabólica da prole. Entre os componentes dietéticos de maior relevância nesse contexto, os ácidos graxos insaturados (PUFAs e MUFAs) destacam-se por participarem ativamente da composição de membranas, da modulação inflamatória e da sinalização celular. Entretanto, o impacto de diferentes tipos e doses desses lipídios durante a gestação permanece pouco elucidado, especialmente quanto à possibilidade de efeitos deletérios decorrentes do consumo excessivo. O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação materna crônica com diferentes tipos de ácidos graxos (n-3, n-6 e n-9) sobre a saúde materna, a função placentária, o metabolismo fetal e o desenvolvimento pós-natal da prole de ratas *Wistar*. Para isso, fêmeas adultas foram suplementadas por via oral, em diferentes doses, para a determinação da dose de não segurança desses ácidos graxos. Posteriormente, foi realizada a escolha da dose de 4 g/kg como objeto para os demais estudos. Os restantes das ratas foram suplementadas nesta dose durante o período pré- gestacional e gestacional. Foram avaliados parâmetros corporais e plasmáticos maternos (perfil lipídico, glicemia e marcadores inflamatórios), composição do leite, marcadores oxidativos e inflamatórios em útero e placenta, além da taxa de transferência de glicose e palmitato radiomarcados para o feto. O desenvolvimento corporal, motor e muscular dos filhotes foi analisado aos 21 e 60 dias pós-natais, visando identificar potenciais efeitos de programação metabólica e funcional. Os resultados demonstraram que a suplementação com ácidos graxos n-3, n-6 e n-9 modulou de maneira distinta os parâmetros fisiológicos avaliados. As doses de não segurança dos ácidos graxos induziram dislipidemia, alterações oxidativas e resposta inflamatória exacerbada, além de resistência à insulina, caracterizando um quadro de síndrome metabólica durante o período gestacional. Além disso, foram observadas modificações na composição lipídica do leite e no crescimento dos filhotes, sugerindo influência direta sobre o metabolismo energético e o desenvolvimento muscular pós-natal. Conclui-se que a qualidade e a quantidade de ácidos graxos consumidos durante a gestação exercem papel decisivo na regulação de processos metabólicos e no estabelecimento de trajetórias de desenvolvimento da prole. Esses achados reforçam a necessidade de definir recomendações mais precisas sobre o consumo materno de PUFAs e MUFAs, de modo a maximizar benefícios fisiológicos e evitar potenciais efeitos adversos de uma suplementação excessiva.

**Palavras-chave:** Síndrome Metabólica; Programação Fetal; DOHaD; Períodos críticos; Primeiros 1000 dias de vida; Lipídios.

## ABSTRACT

Maternal nutritional status exerts a determining influence on embryonic development and the metabolic programming of the offspring. Among the most relevant dietary components in this context, unsaturated fatty acids (PUFAs and MUFAs) stand out for their active participation in membrane composition, inflammatory modulation, and cellular signaling. However, the impact of different types and doses of these lipids during pregnancy remains poorly elucidated, particularly regarding the potential deleterious effects associated with excessive intake. The present study aimed to investigate the effects of chronic maternal supplementation with different types of fatty acids (n-3, n-6, and n-9) on maternal health, placental function, fetal metabolism, and postnatal development of Wistar rat offspring. Adult females were orally supplemented at different doses to determine the no-safe dose threshold for these fatty acids. Subsequently, the dose of 4 g/kg was selected for subsequent experiments. The remaining females were supplemented at this dose during the pre-gestational and gestational periods. Maternal body and plasma parameters (lipid profile, glycemia, and inflammatory markers), milk composition, and oxidative and inflammatory markers in the uterus and placenta were evaluated, as well as the placental transfer rate of radiolabeled glucose and palmitate to the fetus. Offspring body, motor, and muscular development were assessed at postnatal days 21 and 60, to identify potential effects of metabolic and functional programming. The results demonstrated that supplementation with n-3, n-6, and n-9 fatty acids differentially modulated physiological parameters. The no-safe doses of fatty acids induced dyslipidemia, oxidative imbalance, exacerbated inflammatory response, and insulin resistance, characterizing a metabolic syndrome-like condition during gestation. In addition, alterations were observed in the lipid composition of milk and in offspring growth, suggesting a direct influence on energy metabolism and postnatal muscle development. In conclusion, the quality and quantity of fatty acids consumed during pregnancy play a decisive role in the regulation of metabolic processes and in the establishment of offspring developmental trajectories. These findings reinforce the need to establish more precise recommendations for maternal intake of PUFAs and MUFAs, in order to maximize physiological benefits and prevent potential adverse effects of excessive supplementation.

**Keywords:** Metabolic Syndrome; Fetal Programming; DOHaD; Critical Periods; First 1000 Days of Life; Lipids.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Comparação da estrutura de ácidos graxos com 18 carbonos.....	32
<b>Figura 2</b> – Via de Biossíntese de Ácidos Graxos .....	34
<b>Figura 3</b> – Vias de Dessaturação e Alongamento para a Biossíntese de Ácidos Graxos Saturados e Insaturados e suas Principais Fontes.....	35
<b>Figura 4</b> - Representação da árvore de consenso dos grandes símios das superfamílias Hominoidea (Gray, 1825) (Primates: Simiiformes) e Proconsuloidea (Leakey, 1963) (Primates: Simiiformes).....	43
<b>Figura 5</b> – Contribuição histórica de diferentes fontes vegetais e animais de gordura para o fornecimento médio global de gordura por pessoa (1961–2018). ....	45
<b>Figura 6</b> – Digestão e absorção dos lipídios.....	47
<b>Figura 7</b> – Via de Biossíntese de Triglicerídeos (TAG) e Ácido Fosfatídico (PA), com Compartimentalização Subcelular.....	48
<b>Figura 8</b> – Ação da Lipase Lipoproteica na distribuição de Ácidos Graxos .....	49
<b>Figura 9</b> – Estrutura dos glicerofosfolípídeos .....	50
<b>Figura 10</b> – Mobilização e utilização de ácidos graxos.....	52
<b>Figura 11</b> – Produção de lipídios bioativos a partir da mobilização pela PLA2 .....	53
<b>Figura 12</b> – Lipídios bioativos derivados de AA, EPA e DHA .....	54
<b>Figura 13</b> – Produção de segundos mensageiros produzidos a partir das fosfolipases .	56
<b>Figura 14</b> – Efeitos sistêmicos dos PUFA .....	57
<b>Figura 15</b> – Mecanismo de morte celular envolvidos na morte celular .....	61
<b>Figura 16</b> – Vias de sinalização mediadas por oxLDL.....	63
<b>Figura 17</b> – As principais características das substâncias químicas que perturbam o sistema endócrino. ....	67
<b>Figura 18</b> – Órgãos afetados por substâncias químicas que perturbam o metabolismo.	69

<b>Figura 19</b> – O papel do estresse oxidativo nas modificações epigenéticas induzidas por poluentes ambientais. ....	71
<b>Figura 20</b> – Hipótese: os efeitos do diabetes materno no desenvolvimento da obesidade infantil são parcialmente mediados por alterações no metabolismo/distribuição de lipídios e pelo aumento da função pancreática da prole desde o nascimento.....	74
<b>Figura 21</b> – Mecanismos epigenéticos no contexto da teoria DOHaD. ....	75
<b>Figura 22</b> – Mecanismo Integrado de Estresse Oxidativo e Estresse do Retículo Endoplasmático (RE) na Patogênese da Pré-Eclâmpsia.....	77
<b>Figura 23</b> – Diagrama esquemático representando os transportadores de macronutrientes placentários mais relevantes para a circulação materno-fetal através do sincitiotrofoblasto. ....	78
<b>Figura 24</b> – Classificação e Funções dos Hormônios Secretados pela Placenta Humana .....	80
<b>Figura 25</b> – Janelas críticas para o surgimento de alterações morfofuncionais .....	81
<b>Figura 26</b> – Desregulação Endócrina, Inflamação Placentária e Programação Fetal: Implicações para a Saúde Metabólica Materna e Doenças Crônicas na Prole. ....	83
<b>Figura 27</b> – A programação materno-fetal propõe mecanismos que predis põem a prole a doenças a longo prazo.....	86
<b>Figura 28</b> – Delineamento do experimento de curva de dose resposta. ....	92
<b>Figura 29</b> – Delineamento do experimento de efeito da gestação no estabelecimento de síndrome metabólica.....	93
<b>Figura 30</b> – Delineamento do experimento de efeito da síndrome metabólica sobre o desenvolvimento da prole.....	95
<b>Figura 31</b> - Representação Gráfica das Características Corporais. ....	109
<b>Figura 32</b> – Representação Gráfica do Perfil de Adiposidade.....	110

<b>Figura 33</b> – Representação Gráfica da Glicemia e Responsividade.....	112
<b>Figura 34</b> – Perfil Lipídico e Marcadores de Risco.....	114
<b>Figura 35</b> – Perfil de Células de Defesa .....	117
<b>Figura 36</b> -Atividade dos Macrófagos Peritoneais .....	119
<b>Figura 37</b> – Índice de Resposta Biológica.....	121
<b>Figura 38</b> – Análise Multivariada do Agrupamento do Índice de Resposta Biológica	122
<b>Figura 39</b> – Representação gráfica do Ganho de Peso e Consumo Alimentar .....	123
<b>Figura 40</b> – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Período Pré-Gestacional. ....	124
<b>Figura 41</b> – Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características Maternas no período pré-Gestacional.....	126
<b>Figura 42</b> – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Período Perinatal (DG18). ....	127
<b>Figura 43</b> - Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características Maternas no período perinatal (DG 18).....	129
<b>Figura 44</b> - Características Maternas em relação ao período de vida avaliados.....	131
<b>Figura 45</b> – Diagrama de Venn do Particionamento da variância com as contribuições de cada matriz de variáveis preditoras das Características Maternas no Período Gestacional 18. ....	132
<b>Figura 46</b> - Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos marcadores de Distresse Oxidativo e Incorporação de [14C]2-DG e [3H]-16:0. ....	134

<b>Figura 47</b> - Valores da contribuição do dbRDA das matrizes de Características Corporais (C), Perfil Plasmático (P), Perfil Hematológico (H), Atividade dos Fagócitos (Fg) isoladas e combinadas sobre cada variável de consequência. ....	136
<b>Figura 48</b> – Representação Gráfica da Caracterização das proles no DPN0.....	137
<b>Figura 49</b> – Representação Gráfica dos Marcadores de Desenvolvimento Corporal da Prole.....	138
<b>Figura 50</b> – Representação Gráfica dos Marcadores de Desenvolvimento Corporal da Prole.....	140
<b>Figura 51</b> – Representação Gráfica do Agrupamento do Desenvolvimento Corporal.	141
<b>Figura 52</b> – Representação Gráfica do Ganho de Peso Corporal da Prole. ....	142
<b>Figura 53</b> – Representação Gráfica do Crescimento Corporal da Prole.....	143
<b>Figura 54</b> – Representação Gráfica do Índice de Lee da Prole. ....	144
<b>Figura 55</b> – Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características das Proles aos 21 dias de vida.....	145
<b>Figura 56</b> – Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características das Proles aos 60 dias de vida.....	147
<b>Figura 57</b> – Características Histológicas do Músculo Plantar aos 21 e 60 dias. ....	149
<b>Figura 58</b> – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Período Perinatal (DPN03).....	150
<b>Figura 59</b> – Representação Gráfica das Características Corporais das Progenitoras no DPN03. ....	151
<b>Figura 60</b> – Representação Gráfica do Perfil Plasmático das Progenitoras no DPN03. ....	152

<b>Figura 61</b> - Representação Gráfica do Perfil Nutricional do Leite das Progenitoras no DPN03 .....	154
<b>Figura 62</b> – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Final da Lactação (DPN23). ....	155
<b>Figura 63</b> – Representação Gráfica das Características Corporais das Progenitoras no DPN23. ....	156
<b>Figura 64</b> – Representação Gráfica do Perfil Plasmático das Progenitoras no DPN23. ....	157

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da ração padrão.....	90
Tabela 2 – Composição dos óleos.....	91
Tabela 3 – Composição de Ácidos Graxos da dieta regular e dos suplementos com ômega 3, 6 e 9 fornecidos aos animais.....	94

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AA** – Ácido araquidônico (20:4 n-6).
- ACAG** – Ácido 1-acil-glicerol-3-fosfato.
- ACS** – Acil-CoA sintetase.
- ADP** – Adenosina difosfato.
- AGPAT** – 1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferase.
- ALA** – Ácido  $\alpha$ -linolênico (18:3 n-3).
- ANOVA** – Analysis of Variance.
- APE** – Pacote ape (R).
- AST** – Área de secção transversal (muscular).
- ATP** – Adenosina trifosfato.
- BM** – Basal membrane.
- BSA** – Albumina de soro bovino.
- CD36 / FAT** – Fatty Acid Translocase.
- CF** – Capilares por fibra.
- CPT1 / CPT2** – Carnitina palmitoiltransferase 1/2.
- CRP / PCR** – Proteína C-reativa.
- CSA** – Cross-sectional area.
- CSA SN** – Relação entre CSA nuclear e da fibra.
- CSA/NF** – Domínio mionuclear.
- CTLE** – Grupo Controle.
- ChE** – Colinesterase total.
- DBRDA** – Distance-based Redundancy Analysis.
- DENS** – Densidade de fibras musculares.
- DG** – Dia gestacional ou 2-deoxi-D-glicose.
- DGAT** – Diacilglicerol aciltransferase.
- DGLA** – Ácido dihomo- $\gamma$ -linolênico.
- DHA** – Ácido docosa-hexaenoico.
- DL** – Diâmetro maior da fibra.
- DTNB** – 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid).
- EC** – Número Enzyme Commission.
- EPA** – Ácido eicosapentaenoico.
- EROS / ROS** – Espécies reativas de oxigênio.
- EcolUtils** – Pacote estatístico R.

**FAD2 / FAD3** –  $\Delta 12$ - e  $\Delta 15$ -dessaturases.

**FAS** – Ácido graxo sintase.

**FATP 1–6** – Fatty Acid Transport Proteins.

**Fg** – Atividade de fagócitos.

**GIMP** – GNU Image Manipulation Program.

**GLDH** – Glutamato desidrogenase.

**GLUT** – Transportador de glicose.

**GMP** – Glicose materna plasmática.

**GPAT** – Glicerol-3-fosfato aciltransferase.

**H&E** – Hematoxilina e eosina.

**HB** – Hemoglobina.

**HOMA-IR** – Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance.

**HOMA- $\beta$**  – Função de célula beta pelo modelo HOMA.

**HT** – Hematócrito.

**IBR** – Índice de resposta integrada aos biomarcadores.

**IIA / IIB** – Tipos de fibras musculares.

**IL** – Interleucina.

**IP3** – Inositol-1,4,5-trifosfato.

**IPM** – Índice de performance motora.

**IR** – Resistência à insulina.

**KCl** – Cloreto de potássio.

**LAT** – L-type amino acid transporter.

**LD** – Diâmetro maior da fibra.

**LDH** – Lactato desidrogenase.

**LPL** – Lipase lipoproteica / lisofosfolipídios.

**MCH / MCHC** – Hemoglobina corpuscular média / concentração corpuscular média.

**MCP-1** – Monocyte Chemoattractant Protein-1.

**MCV** – Volume corpuscular médio.

**MUFA** – Ácidos graxos monoinsaturados.

**MVM** – Microvillous membrane.

**NAD<sup>+</sup>/NADH/NADP<sup>+</sup>/NADPH** – Cofatores metabólicos.

**NADH-TR** – Reação NADH-tetrazólio redutase.

**NC%** – Porcentagem de núcleos centrais.

**NEUT** – Neutrófilos.

**NF** – Número de núcleos por fibra.

**NO** – Óxido nítrico.

**PA** – Ácido fosfatídico.

**PCoA** – Principal Coordinates Analysis.

**PE** – Fosfatidiletanolamina.

**PERMANOVA** – Permutational Multivariate Analysis of Variance.

**PI3K** – Fosfatidilinositol-3-quinase.

**PIP2 / PIP3** – Fosfoinosítídeos.

**PN / PND / DPN** – Pós-natal / dia pós-natal.

**PPAR** – Peroxisome Proliferator-Activated Receptor.

**PUFA** – Ácidos graxos poli-insaturados.

**QUICKI** – Quantitative Insulin Sensitivity Check Index.

**RBC** – Hemácias.

**RCF (g)** – Relative centrifugal force.

**SCD1** – Stearoyl-CoA Desaturase 1.

**SD** – Diâmetro menor da fibra.

**SNAT** – Sodium-coupled neutral amino acid transporter.

**SPL3/SPL6/SPL9** – Grupos suplementados.

**SR** – Solução de reação.

**TAG** – Triacilglicerol.

**TLC** – Thin Layer Chromatography.

**TNF- $\alpha$**  – Tumor Necrosis Factor alpha.

**TRIS-HCl** – Tampão Tris-HCl.

**VEGAN** – Pacote estatístico R.

**WHO** – World Health Organization.

**ZEN** – Software de microscopia Zeiss.

**cpm** – Counts per minute.

**oxLDL** – LDL oxidada.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>30</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	31
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>32</b>
4.1 ESTRUTURA E SÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS .....	32
4.2 EVOLUÇÃO DOS HOMINOIDEA E DE SUAS DIETAS.....	40
4.3 COMPOSIÇÃO LIPÍDICA NAS DIETAS HUMANAS .....	44
4.4 ABSORÇÃO, TRANSPORTE E INCORPORAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS .	46
4.5 METABOLISMO E PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS BIOATIVOS.....	52
4.6 EFEITOS BENÉFICOS NA SAÚDE HUMANA.....	57
4.7 EFEITOS ADVERSOS NA SAÚDE HUMANA .....	59
4.8 LIPÍDIOS COMO DISRUPTORES ENDÓCRINOS .....	65
4.9 DOHAD E PROGRAMAÇÃO FETAL .....	72
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>89</b>
5.1 ANIMAIS .....	89
5.2 SUPLEMENTAÇÃO.....	89
5.3 ACASALAMENTOS .....	91
5.4.1 Experimento I: Curva Dose-Resposta .....	92
5.4.2 Experimento II: Efeito da gestação no estabelecimento de síndrome metabólica .....	93
5.4.3 Experimento III: Efeito da síndrome metabólica sobre o desenvolvimento da prole.....	95
5.5 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE .....	96
5.6 INCORPORAÇÃO E TRANSPORTE DE [ <sup>14</sup> C]2-DEOXI-D-GLICOSE E [ <sup>3</sup> H]-ÁCIDO PALMÍTICO .....	97

5.7 MARCADORES DO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E MUSCULAR...	98
5.8 EUTANÁSIA E COLETA DE MATERIAL.....	99
5.9 PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO .....	100
5.14 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO .....	104
5.15 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA .....	104
5.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	105
<b>6. IDENTIFICAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NO MODELO DE ESTUDO DOSE-RESPOSTA.....</b>	<b>108</b>
6.1 CARACTERÍSTICAS CORPORAIS .....	108
6.2 PERFIL GLICÊMICO E RESPONSIVIDADE .....	111
6.3 PERFIL LIPÍDICO E MARCADORES DE RISCO .....	113
6.4 PERFIL DAS CÉLULAS DE DEFESA.....	115
6.5 ATIVIDADE DOS MACRÓFAGOS PERITONEAIS.....	117
6.6 ÍNDICE DE RESPOSTA BIOLÓGICA.....	119
<b>7. AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE SÍNDROME METABÓLICA GESTACIONAL.....</b>	<b>123</b>
7.1 GANHO DE PESO CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR.....	123
7.2 AVALIAÇÃO DAS RATAS EM PERÍODO PRÉ-GESTACIONAL.....	124
7.3 AVALIAÇÃO DAS RATAS EM PERÍODO PERINATAL (DIA GESTACIONAL 18).....	127
7.4 EFEITO DO ESTADO GRAVÍDICO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MATERNAS.....	130
7.4 RELAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MATERNAS .....	132
7.6 DISTRESSE OXIDATIVO E INCORPORAÇÃO DE [ <sup>14</sup> C]2-DG E [ <sup>3</sup> H]-16:0	133
7.7 EFEITO DAS CARACTERÍSTICAS MATERNAS SOBRE DISTRESSE OXIDATIVO E TRANSFERÊNCIA DE NUTRIENTES. ....	135
<b>8. REPERCUSSÕES DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA SOBRE A PROLE</b>	<b>137</b>
8.1 NASCIMENTOS E DESENVOLVIMENTO DA PROLE .....	137

8.2 CARACTERÍSTICAS DA PROLE AOS 21 DIAS DE VIDA. ....	144
8.3 CARACTERÍSTICAS DA PROLE AOS 60 DIAS DE VIDA .....	146
8.4 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DO MÚSCULO PLANTAR .....	148
<b>9. DISCUSSÃO .....</b>	<b>159</b>
9.1 IDENTIFICAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NO MODELO DE ESTUDO DOSE-RESPOSTA .....	159
9.2 ESTABELECIMENTO DE SÍNDROME METABÓLICA GESTACIONAL...	162
9.3 REPERCUSSÕES DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA SOBRE A PROLE .	166
<b>10. CONCLUSÃO.....</b>	<b>170</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>171</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>226</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os macronutrientes das dietas, os lipídeos correspondem entre 25-45% da ingestão diária de calorias por humanos em países ocidentais, sendo que as gorduras e os óleos são suas principais fontes (Hammad; Pu; Jones, 2016; Kris-Etherton; Grieger; Etherton, 2009). Os ácidos graxos são hidrocarbonetos não ramificados que apresentam entre 4 e 36 carbonos em suas estruturas, apresentando um radical carboxila na região terminal (COOH). A cadeia carbônica pode ser constituída apenas de ligações simples (saturados), uma ligação dupla (monoinsaturado), duas ou mais ligações duplas (polinsaturados) (Jia *et al.*, 2022; Miles; Childs; Calder, 2021a).

Ácidos graxos saturados (SFA) são caracterizados pela ausência de ligações duplas em sua cadeia carbônica, conferindo-lhes estrutura linear e alta estabilidade química (Kerner *et al.*, 2014; Wedan; Longenecker; Nowinski, 2024). Os SFA são sintetizados a partir de acetil-CoA por meio da via da lipogênese, envolvendo a enzima ácido graxo sintase (FAS), que catalisa a adição sequencial de unidades de dois carbonos provenientes do malonil-CoA, formando inicialmente o ácido palmítico (16:0). Esse ácido graxo pode sofrer elongação adicional por elongases para formar ácidos graxos saturados de cadeia mais longa, como o ácido esteárico (18:0) e o ácido araquídico (20:0), principalmente no retículo endoplasmático (Kerner *et al.*, 2014; Tomčala *et al.*, 2020; Tvrzicka *et al.*, 2011; Wedan; Longenecker; Nowinski, 2024). As principais fontes dietéticas de SFA são as gorduras de origem animal, óleo de coco e palma, além de alimentos ultraprocessados (Dogui *et al.*, 2022; Perna; Hewlings, 2023; Rocha *et al.*, 2021).

Ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) são caracterizados pela presença de uma única ligação dupla em sua cadeia carbônica, conferindo-lhes maior fluidez em comparação aos SFA e menor susceptibilidade à oxidação (Maltsev *et al.*, 2021; Tomčala *et al.*, 2020). Os MUFA n-9, como o ácido oleico (18:1n-9), são produzidos endogenamente a partir de ácidos graxos saturados, principalmente o ácido esteárico (18:0), por meio da ação da enzima  $\Delta^9$ -desaturase (também chamada esteroil-CoA desaturase, SCD1), que insere uma dupla ligação entre os carbonos 9 e 10. Já os MUFA n-7, como o ácido palmitoleico (16:1n-7), são sintetizados a partir do ácido palmítico (16:0) pela mesma enzima desaturase, resultando em uma ligação dupla na posição n-7 (Green *et al.*, 2010; Hodson; Fielding, 2013; Scanferlato *et al.*, 2019; Tvrzicka *et al.*,

2011; Wenning *et al.*, 2019). As principais fontes dietéticas de MUFA n-9 incluem azeite de oliva, óleo de canola, abacate e oleaginosas, enquanto MUFA n-7 são encontrados em óleo de macadâmia, óleo de sementes de ameixa e em menores quantidades em peixes e laticínios (Agregán *et al.*, 2022; Leone *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2021; Steur *et al.*, 2021).

Ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (LC-PUFA) referem-se a ácidos graxos com duas ou mais ligações duplas e um comprimento de cadeia de carbono de pelo menos 18 carbonos na estrutura molecular. As principais famílias ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6), cujos nomes dependem da posição do primeiro carbono insaturado no terceiro ou no sexto carbono a partir da região metilo terminal (Jia *et al.*, 2022; Miles; Childs; Calder, 2021a). Os PUFA n-3 são alongados e dessaturados a partir do ácido  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3), produzindo os mais relevantes biologicamente LC-PUFA n-3, ácido eicosapentaenóico (EPA 20:5n-3) e ácido docosahexaenóico (DHA 22:6n-3). Os PUFA n-6 são alongados e dessaturados a partir do ácido linoléico (18:2n-6) produzindo o ácido araquidônico (20:4n-6). O óleo de peixe é rico em LC-PUFA n-3 de cadeia longa e os óleos vegetais ricos em LC-PUFA n-6 (Roccisano *et al.*, 2019; Simopoulos, A. P., 2020; Twining *et al.*, 2020).

A composição dietética, a escolha e a variedade de alimentos são características notáveis em todas as sociedades humanas. Esse viés comportamental envolvido na característica da dieta das populações, além de fundamental para a caracterização socioeconômica e cultural, possuiu papel decisório na condução do processo evolutivo dos Hominoidea (Andrews; Johnson, 2020a; Crittenden; Schnorr, 2017a; McGrosky *et al.*, 2019). Com a gradativa substituição da herbivoria pela carnivoria, observou-se o aumento da capacidade cognitiva e da complexidade das interações sociais (Crittenden; Schnorr, 2017). O processo de forrageio dos caçadores-coletores, necessitava de maior habilidade de elaboração de estratégias de caça, memorização de rotas e pontos de coleta, manuseio de ferramentas e dos próprios alimentos, selecionando e fixando grupos com prevalência dessas características, bem como o bipedalismo e maior capacidade cognitiva (Crittenden; Schnorr, 2017a; Roccisano *et al.*, 2019).

Contudo, a demanda energética basal necessária para a manutenção, estava diretamente proporcional à complexidade corporal e cognitiva, forçando os indivíduos a empregarem cada vez mais tempo em forrageio (Andrews; Johnson, 2020a; Haile; Neme; Belachew, 2017a). Assim, as linhagens mais derivadas de Hominini apresentaram, como

característica predominantemente selecionada, redução significativa da massa muscular e aumento dos panículos adiposos (Crittenden; Schnorr, 2017a; Leonard; Snodgrass; Robertson, 2007a). Também, os grupos derivados apresentaram aumento do domínio sobre técnicas de agricultura e pecuária, característica que estabeleceu precocemente nas populações humanas, com o predomínio do consumo de grãos, e por consequência, maior consumo de fontes de lipídios (Crittenden; Schnorr, 2017a; Haile; Neme; Belachew, 2017a; Roccisano *et al.*, 2019).

A composição das dietas paleolíticas é estimada a partir de modelos matemáticos de ecologia (Hockett; Haws, 2003), sendo que essa dieta era caracterizada pelo baixo consumo de fontes lipídicas, representados predominantemente pelos ácidos graxos polinsaturados (Simopoulos, 2011a, 2022; Simopoulos, A. P., 2016). Em especial, pode-se observar a baixa razão entre ácidos graxos polinsaturados ômega 6 (n-6) e ômega 3 (n-3), algo em torno de 1:1 (Shrestha *et al.*, 2021; Simopoulos, A. P.; DiNicolantonio, 2016). No entanto, a substituição mecanicista dos meios de produção após o século XVIII favoreceu a redução dos custos, tempo e capital, e o aumento do volume de produção, ampliando o acesso aos alimentos (Biobaku *et al.*, 2019a; Hariharan; Vellanki; Kramer, 2015a). O aumento na produção de cereais e grãos, e por consequência, sua incorporação como fontes alimentares, associado ao consumo de alimentos ricos em gorduras, foi responsável pela elevação da prevalência dessa fonte energética (Hall *et al.*, 2019; Simopoulos, A. P., 2020; Simopoulos, A. P.; DiNicolantonio, 2016). Também, a dieta de povos mediterrâneos, mesmo com consumo elevado de ácidos graxos, a grande presença de ácidos graxos monoinsaturados ômega 9 (n-9), mantém a razão n-6: n-3 em torno de 3:1 (Silva; Moraes; Gonçalves-De-albuquerque, 2020).

Consequentemente, buscando atingir uma proporção n-6:n-3 mais equilibrada, o aumento da ingestão de PUFA n-3 tem sido incentivado, devido aos seus benefícios na redução do risco de doenças cardiovasculares e outras condições relacionadas à saúde, independentemente da obesidade (Simopoulos, A. P.; DiNicolantonio, 2016; Uriho *et al.*, 2019a). A Organização Mundial da Saúde (OMS) e outras instituições recomendam uma proporção ideal de 4:1 para n-6:n-3. No entanto, é importante notar que, atualmente, observamos proporções superiores a 10:1 em países industrializados, chegando a 15:1 no Reino Unido e até 40:1 na Índia (Hammad; Pu; Jones, 2016; Simopoulos, A. P., 2016). Portanto, o incentivo ao aumento da ingestão de fontes ricas em PUFA n-3 emerge como

uma estratégia fundamental para reverter as razões elevadas e, assim, melhorar a saúde humana.

Essa alteração no consumo de lipídios, bem como aumento na razão n-6: n-3, está relacionada com o aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis, como distúrbios metabólicos, obesidade e diabetes (Rabail *et al.*, 2021; Roccisano *et al.*, 2019; Silva; Moraes; Gonçalves-De-albuquerque, 2020; Simopoulos, 2022; Uriho *et al.*, 2019a). Nesse sentido, os efeitos das modificações dietéticas tem sido alvos de diversos estudos desde a década de 1990, em especial pelo reconhecimento dos efeitos deletérios decorrentes redução no consumo de n-3 (Sioen *et al.*, 2017a). Assim, diversos estudos buscaram estabelecer propostas de incremento dietético de n-3 pelo uso de suplementos alimentares, fundamentalmente baseados na tentativa de alcançar a razão n-6: n-3 tida como ideal, próximas às encontradas em populações e com baixa incidência de doenças cardiovasculares (Simopoulos, A. P., 2020; Simopoulos, A. P.; DiNicolantonio, 2016; Uriho *et al.*, 2019a).

Entre os principais efeitos dos n-3 está bem estabelecido na literatura a capacidades destes PUFA's em modular o processo inflamatório, o equilíbrio do sistema antioxidante e redução do dano oxidativo, homeostase lipídica e redução de lesões causadas por quadros dislipidêmicos (Calder, 2015a; Simopoulos, 2022; Simopoulos, A. P., 2020; Uriho *et al.*, 2019a). Também, está estabelecida a influência de n-3 sobre o correto desenvolvimento do sistema nervoso, assim, são considerados essenciais durante a gestação e lactação, trazendo significativos efeitos positivos (Dunlap; Heinrichs, 2009; Sable *et al.*, 2012).

Apesar de parecer consenso que o consumo de n-3 acarreta muitas vantagens, alguns autores apontam que a ingestão de n-3 em excesso pode produzir prejuízos similares àqueles decorrente das altas concentrações n-6 presentes nas dietas ocidentais modernas, em especial pelo aumento dos processos inflamatórios e danos oxidativos, ganho de peso e alterações metabólicas e estruturais (Bianconi *et al.*, 2018a; Church *et al.*, 2010a). Já estão presentes na literatura trabalhos que mostram a redução do potencial efeito benéfico da suplementação em humanos com relação ao risco de doenças cardiovasculares (Rizos *et al.*, 2012; Zhu; Bo; Liu, 2019a), pressão arterial (Zhang *et al.*, 2022a) e diabetes (Hu, Mingyuan *et al.*, 2022) quando as doses de EPA e DHA estão acima de 4 e 6 g/dia. Com relação ao diabetes, outros estudos demonstraram efeitos

controversos quando do aumento progressivo das doses de suplementação com ômega 3. Em populações orientais há redução da incidência, enquanto em populações americanas o aumento na suplementação é acompanhado pelo aumento da prevalência de diabetes e síndrome metabólica (Neuenschwander *et al.*, 2020a).

O conceito de DOHaD (*Developmental Origins of Health and Disease*) reforça a ideia de que exposições ambientais, nutricionais e metabólicas durante períodos críticos do desenvolvimento, especialmente a gestação e a lactação, exercem efeitos de longo prazo sobre a saúde da prole. Alterações no fornecimento de nutrientes podem modificar processos de sinalização celular, remodelar a placenta e induzir mudanças epigenéticas, modulando permanentemente a expressão gênica. Esses eventos de “programação fetal” têm sido relacionados ao aumento do risco de doenças metabólicas, cardiovasculares, respiratórias e imunológicas na vida adulta (Barker, 1998; Gluckman; Hanson, 2006; Heindel; Vandenberg, 2015). No contexto dos ácidos graxos poli-insaturados, o desequilíbrio na razão n-6:n-3 durante a gestação representa um fator capaz de reprogramar a homeostase metabólica da prole, destacando a relevância do estudo dos efeitos maternos da suplementação lipídica para compreender a origem precoce das doenças crônicas não transmissíveis.

O desenvolvimento embrionário da prole é sensivelmente afetado pelo estado nutricional da mãe, de forma que desvios significativos desse equilíbrio podem ter consequências no desenvolvimento futuro da prole (Confortim *et al.*, 2017; Easton, Zachary J.W.; Regnault, 2020; Gepstein; Weiss, 2019). Essas alterações têm a capacidade de influenciar a regulação da expressão gênica na prole, potencialmente modificando a sua estrutura e metabolismo. Esse fenômeno é conhecido como programação metabólica e desempenha um papel crucial na predisposição à doenças que podem surgir ao longo da vida adulta dos indivíduos (Kopp, 2019; Shrestha *et al.*, 2020a; Yan *et al.*, 2013a).

Quadros de obesidade materna, ou mesmo uma dieta rica em gorduras, estão diretamente relacionados às alterações de peso e tamanho das proles, bem como o padrão de desenvolvimento dos tecidos mesenquimais e musculares. O excesso de lipídios no organismo materno, além de proporcionar deposição adiposa nas mães e aumento dos triacilgliceróis e colesterol plasmático, modifica o transporte placentário promovendo aumento do aporte lipídico para as proles em desenvolvimento (Barbour; Hernandez, 2018a; Herrera; Desoye, 2016a; Payolla *et al.*, 2016; Svegliati-Baroni *et al.*, 2019). Tem

sido sugerido que alterações no padrão lipídico na placenta e na prole, induz a metilação de genes promotores do desenvolvimento muscular, facilitando o desenvolvimento mesenquimal e adiposo em detrimento da miogênese, o que resulta em animais menores e mais pesados (Prats-Puig *et al.*, 2020a; Sharma; Dabur, 2018; Xavier *et al.*, 2021; Yan *et al.*, 2013a).

Maior disponibilidade de lipídios pode responder por distúrbios no transporte placentário, facilitando o processo inflamatório, reduzindo a síntese de proteínas mitocondriais e prejudicando a capacidade funcional placentária e do feto (Easton, Zachary J.W.; Regnault, 2020). As alterações decorrentes de modificações do perfil lipídico materno promovem o aumento da expressão e translocação de transportadores lipídicos para a membrana fetoplacentária, promovendo, portanto, aumento da captação e transferência dessas moléculas para os fetos em desenvolvimento (Barbour; Hernandez, 2017; McCurdy *et al.*, 2009; Wesolowski *et al.*, 2018a). Essas condições podem provocar o aumento da mortalidade fetal e neonatal, podendo estar associado a más formações e alterações funcionais hepáticas e renais (Barbour; Hernandez, 2017; Church *et al.*, 2010a; Herrera; Desoye, 2016a).

Alterações de peso e tamanho das proles, bem como o padrão de desenvolvimento dos tecidos de origem mesenquimal, têm sido diretamente associadas aos quadros de obesidade materna, ou mesmo à dieta rica em gorduras (Gomes *et al.*, 2018a). Distúrbios no equilíbrio lipídico materno, além de proporcionar deposição adiposa nas mães e aumento dos triacilgliceróis e colesterol plasmáticos, atua sobre o transporte placentário facilitando o aporte lipídico plasmático aos filhotes em desenvolvimento (Barbour; Hernandez, 2018a; Herrera; Desoye, 2016a; Payolla *et al.*, 2016; Svegliati-Baroni *et al.*, 2019). Tem sido sugerido que o padrão lipídico alterado na placenta e nos tecidos da prole, induz a metilação de genes promotores do desenvolvimento muscular e por isso induz o desenvolvimento mesenquimal e adiposo em detrimento da miogênese resultando em animais menores e mais pesados (Prats-Puig *et al.*, 2020a; Yan *et al.*, 2013a). Essas condições podem provocar o aumento da mortalidade fetal e neonatal, podendo estar associado às más formações e alterações funcionais hepáticas e renais (Barbour; Hernandez, 2017, 2018a; Church *et al.*, 2010a; Herrera; Desoye, 2016a).

Devida incapacidade dos vertebrados em converter ácidos graxos saturados em PUFA's, independentemente de n-3 ou n-6, a dieta torna-se a única fonte de ingestão

desses ácidos graxos, o que os caracteriza como ácidos graxos essenciais (Menzel *et al.*, 2019). Assim, qualquer alteração nas proporções desses lipídios nas dietas é significativamente importante para a alteração do perfil lipídico, das razões de ácidos graxos e da biodisponibilidade dessas moléculas para os tecidos, podendo modular suas características (Castro; Tocher; Monroig, 2016; de Marco Castro *et al.*, 2023). Nesse sentido, além da ingestão de dietas com menor proporção de n-6, como a dieta mediterrânea (Simopoulos, 2022), a suplementação com n-3 representa uma ferramenta importante para o reestabelecimento da razão ideal (Roccisano *et al.*, 2019).

Como o estado nutricional materno é fundamental para o correto desenvolvimento embrionário. Ele também é crítico para determinar o risco de doenças metabólicas na prole, de modo que o balanço na ingestão de ácidos graxos durante a gestação assume papel central. Até o momento, não existe regulamentação rigorosa que defina doses específicas para o consumo de ácidos graxos insaturados (MUFA e PUFA), especialmente n-3. Isso se aplica tanto a suplementos quanto a alimentos naturalmente ricos nesse nutriente. O período gestacional e perinatal é extremamente sensível a efeitos de programação fetal. Diante da dependência dos ácidos graxos poli-insaturados para o desenvolvimento adequado de diversos sistemas, aliada ao aumento expressivo do consumo de lipídios nas dietas modernas, torna-se urgente compreender os efeitos da suplementação materna. Esse conhecimento inclui impactos sobre o metabolismo, o perfil oxidativo e inflamatório, as características do leite e o desenvolvimento da prole. Apesar de algumas consequências já terem sido descritas, a literatura ainda carece de estudos que explorem sistematicamente os efeitos de diferentes disponibilidades e doses supra-recomendadas de PUFAs, especialmente no contexto do desenvolvimento muscular embrionário. Diante desse cenário, o presente estudo avaliou a evolução das características gestacionais de ratas Wistar suplementadas com óleo de peixe (n-3), óleo de soja (n-6) ou óleo de oliva (n-9).

## 2. JUSTIFICATIVA

O estado nutricional materno exerce papel central no desenvolvimento embrionário e na determinação do risco de doenças metabólicas na prole. O balanço na ingestão de ácidos graxos durante a gestação, em especial os insaturados (MUFA e PUFA), é crítico para a correta formação de tecidos, metabolismo energético e processos de sinalização celular. Apesar da relevância desse tema, ainda não existe regulamentação rigorosa que estabeleça doses específicas para o consumo de PUFA n-3 e n-6, seja por meio de suplementos ou alimentos naturalmente ricos nesses nutrientes.

O período gestacional e perinatal é particularmente sensível a efeitos de programação fetal. Alterações no perfil lipídico materno podem influenciar o transporte placentário de ácidos graxos, o metabolismo da prole e a expressão gênica de tecidos críticos, incluindo musculares e adiposos. Estudos indicam que desequilíbrios na ingestão de PUFA, sobretudo a razão n-6:n-3, estão associados a alterações metabólicas, inflamatórias e oxidativas que podem persistir na vida adulta, aumentando a predisposição a doenças crônicas não transmissíveis.

Embora algumas consequências da suplementação lipídica já tenham sido descritas, a literatura ainda carece de investigações sistemáticas sobre os efeitos de diferentes disponibilidades e doses supra-recomendadas de PUFA, principalmente no contexto do desenvolvimento muscular embrionário. Avaliar o impacto de diferentes tipos de lipídios durante a gestação, como óleos ricos em n-3, n-6 ou n-9, é, portanto, essencial para compreender os efeitos maternos e neonatais e fornecer subsídios para estratégias nutricionais que promovam saúde a curto e longo prazo.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da suplementação materna com diferentes tipos de ácidos graxos (n-3, n-6 e n-9) sobre a saúde materna, a função placentária, o metabolismo fetal e o desenvolvimento pós-natal da prole, considerando parâmetros corporais, metabólicos, inflamatórios, oxidativos, desenvolvimento motor e características musculares em ratos *Wistar*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

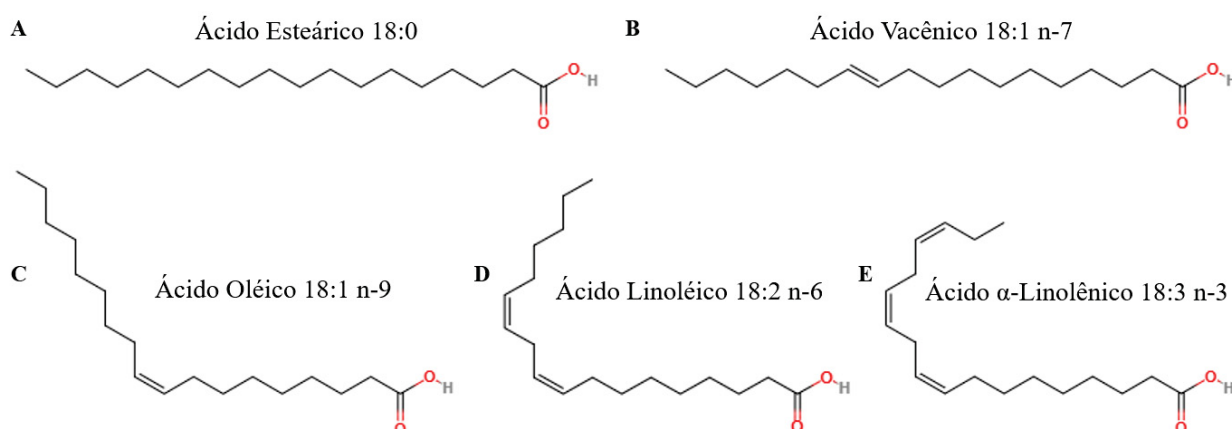
- Determinar a curva de dose-resposta de PUFA's em fêmeas *Wistar*, estabelecendo a dose potencialmente prejudicial para a suplementação materna.
- Avaliar os efeitos da suplementação materna pré-concepção e durante a gestação sobre características corporais das mães e parâmetros plasmáticos, incluindo lipídios, glicose e marcadores de inflamação.
- Investigar o impacto da suplementação sobre estresse oxidativo e inflamação no útero e na placenta, analisando enzimas antioxidantes, espécies reativas de oxigênio e citocinas inflamatórias.
- Determinar a transferência de nutrientes para o feto, incluindo lipídios, proteínas e açúcares, em função da suplementação com diferentes tipos de ácidos graxos (n-3, n-6 e n-9).
- Avaliar, durante o período pós-natal, os efeitos da suplementação materna mantida até o desmame sobre parâmetros séricos maternos e composição do leite materno, características corporais das mães, desenvolvimento motor dos filhotes e crescimento e características musculares dos filhotes aos dias PN21 e PN60.
- Comparar os efeitos dos diferentes tipos de ácidos graxos (n-3, n-6 e n-9) sobre a saúde materna, a função placentária, o metabolismo fetal e o desenvolvimento pós-natal da prole, identificando potenciais benefícios ou efeitos adversos associados a cada suplemento.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 ESTRUTURA E SÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS

Os lipídios constituem uma ampla classe de biomoléculas orgânicas caracterizadas pela insolubilidade em água e alta solubilidade em solventes apolares. Entre eles, os ácidos graxos destacam-se como unidades estruturais fundamentais de fosfolipídios, triglicerídeos e ésteres de colesterol, desempenhando papéis essenciais na estrutura das membranas biológicas, na produção de energia e na sinalização intracelular (Agregán *et al.*, 2022; Lund; Rustan, 2020; Rustan; Drevon, 2005). Essas moléculas anfipáticas apresentam uma cadeia hidrocarbonada de comprimento variável e um grupo carboxila terminal, cuja ionização é determinante para suas propriedades físico-químicas e interações moleculares (Ibarguren; López; Escribá, 2014).

**Figura 1** – Comparação da estrutura de ácidos graxos com 18 carbonos



**Legenda:** Estruturas em diagrama de esqueleto dos principais ácidos graxos de 18 carbonos de importância biológica, destacando a variação no grau e na posição das insaturações (C=C) ao longo da cadeia de hidrocarbonetos. As moléculas representadas incluem: **A** - Ácido Esteárico (18:0). **B** - Ácido Vacênico (18:1n-7). **C** - Ácido Oléico (18:1n-9). **D** - Ácido Linoléico (18:2n-6). **E** - Ácido α-Linolênico (18:3n-3). **Fonte:** elaborado pelos autores, 2025.

A cadeia carbônica pode apresentar apenas ligações simples (ácidos graxos saturados, SFA), uma ligação dupla (monoinsaturados, MUFA) ou múltiplas ligações duplas (poli-insaturados, PUFA). As propriedades físico-químicas desses lipídios estão intimamente ligadas à estrutura da cadeia (Figura 1): os SFA apresentam conformação linear, resultando em empacotamento compacto e maior estabilidade química; os MUFA, com uma única dupla ligação geralmente em configuração *cis*, introduzem uma leve dobra na cadeia, aumentando a fluidez da membrana; e os PUFA, com múltiplas duplas ligações,

apresentam dobras complexas que tornam as membranas altamente fluidas e suscetíveis à oxidação lipídica (Kerner *et al.*, 2014; Maltsev *et al.*, 2021).

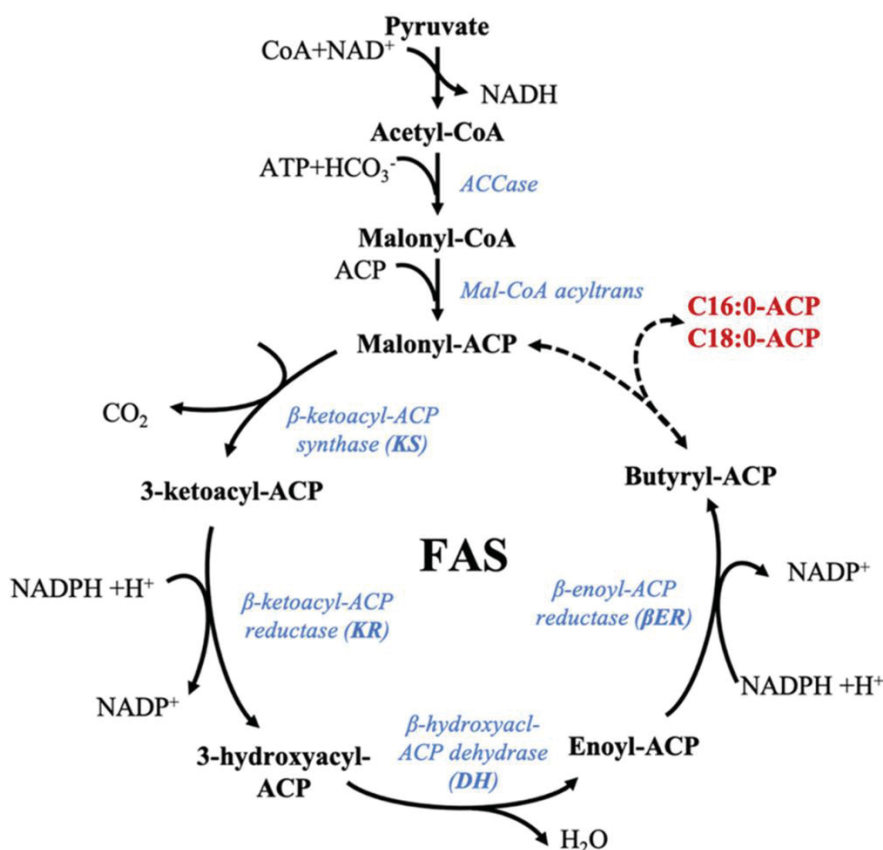
A síntese endógena de ácidos graxos é um processo altamente regulado (Figura 2), envolvendo múltiplas enzimas e organelas celulares. Nos mamíferos, essa via ocorre no citosol e é catalisada pelo complexo enzimático multifuncional ácido graxo sintase (FAS), sendo o palmitato (C16:0) o produto mais abundante. O processo inicia-se com a disponibilização de acetil-CoA, proveniente da mitocôndria via transporte de citrato, que é convertido em malonil-CoA pela acetil-CoA carboxilase (ACC), utilizando ATP e CO<sub>2</sub> como substratos. Esta etapa representa o principal ponto regulatório da via, determinando a velocidade da síntese lipídica. Em seguida, o acetil-CoA e o malonil-CoA são transferidos para a proteína transportadora de acil (ACP) da FAS, formando acetil-ACP e malonil-ACP, permitindo que os intermediários permaneçam ligados ao complexo enzimático durante toda a elongação da cadeia (Enkler *et al.*, 2023; Hiltunen *et al.*, 2010; Nakamura; Nara, 2003; Nowinski *et al.*, 2020; Wang, Yu *et al.*, 2022).

O ciclo de elongação inicia-se com a  $\beta$ -cetoacil-ACP sintase (KAS), que catalisa a condensação entre acetil-ACP e malonil-ACP para formar acetoacetil-ACP, com liberação de CO<sub>2</sub>, etapa que torna o processo termodinamicamente favorável. Em seguida, o grupo  $\beta$ -ceto é reduzido pela  $\beta$ -cetoacil-ACP redutase (KR), utilizando NADPH como doador de elétrons, formando  $\beta$ -hidroxiacil-ACP. A  $\beta$ -hidroxiacil-ACP desidratase (DH) promove a desidratação, removendo uma molécula de água e gerando uma dupla ligação trans entre os carbonos C2 e C3, formando enoyl-ACP. Por fim, a enoyl-ACP redutase (ER) reduz a dupla ligação, também dependente de NADPH, produzindo um acil-ACP saturado com dois carbonos adicionais (Enkler *et al.*, 2023; Hiltunen *et al.*, 2010; Nakamura; Nara, 2003; Nowinski *et al.*, 2020; Wang, Yu *et al.*, 2022).

Este ciclo de condensação, redução, desidratação e redução final se repete de forma sequencial, incorporando dois carbonos a cada ciclo, até que a cadeia alcance 16 carbonos. A regulação da síntese depende principalmente da atividade da acetil-CoA carboxilase e da disponibilidade de NADPH, derivado predominantemente da via das pentoses fosfato e da malato desidrogenase citosólica. Quando a cadeia atinge a extensão adequada, a palmitoil-ACP tioesterase (TE) cliva o ácido graxo da ACP, liberando palmitato livre, que pode servir como substrato para elongação e desaturação posteriores, formando ácidos graxos de cadeia mais longa, como o ácido esteárico (18:0) e o ácido

araquídico (20:0), essenciais para a síntese de triglicerídeos e esfingolípídios (Kerner *et al.*, 2014; Remize *et al.*, 2021; Tomčala *et al.*, 2020).

**Figura 2** – Via de Biossíntese de Ácidos Graxos

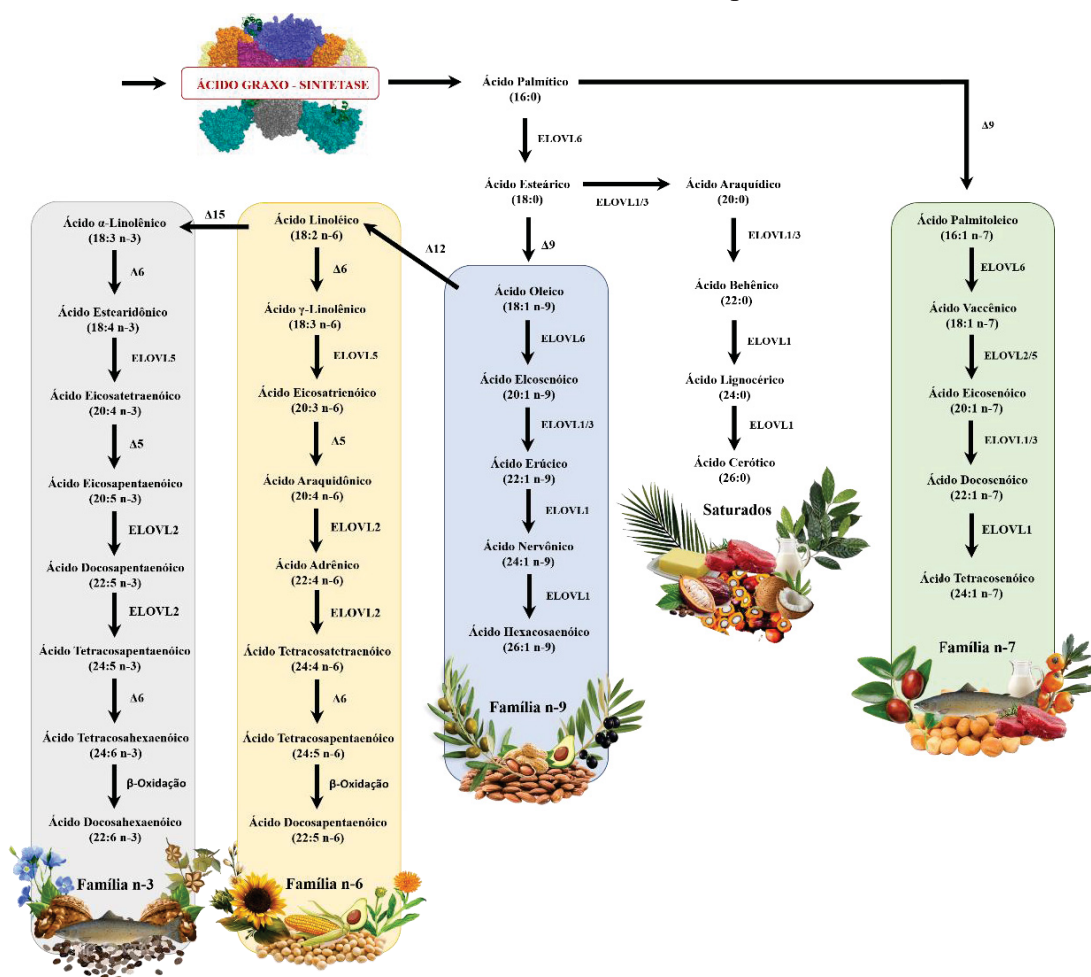


**Legenda:** Esquema da síntese de ácidos graxos saturados. O processo inicia-se com o Piruvato, que gera Acetil-CoA, o qual é subsequentemente carboxilado em Malonil-CoA pela enzima ACCase (Acetil-CoA Carboxilase), consumindo de ATP e  $\text{HCO}_3^-$ . O Malonil-CoA e o Acetil-CoA são transferidos para a Proteína Transportadora de Acil (ACP). O ciclo de alongamento de cadeias acila é mediado pelo complexo da Ácido Graxo Sintase (FAS) e ocorre em quatro passos repetitivos: 1. Condensação, catalisada pela  $\beta$ -cetoacil-ACP sintase (KS), com liberação de  $\text{CO}_2$ ; 2. Redução do grupo ceto pela  $\beta$ -cetoacil-ACP redutase (KR); 3. Desidratação pela  $\beta$ -hidroxiacil-ACP desidrase (DH), com liberação de  $\text{H}_2\text{O}$ ; 4. Segunda redução pela  $\beta$ -enoil-ACP redutase (BER). O ciclo utiliza NADPH como principal cofator redutor. O alongamento prossegue até a produção dos produtos finais saturados, Palmitoil-ACP (C16:0-ACP) e Estearoil-ACP (C18:0-ACP). **Fonte:** (Remize *et al.*, 2021).

Os MUFA n-9 (Figura 3) são caracterizados por uma única ligação dupla localizada entre os carbonos 9 e 10 a partir da extremidade carboxila, conferindo à molécula uma conformação em *cis* que altera a flexibilidade e a fluidez da cadeia carbônica em comparação aos ácidos graxos saturados. O ácido oleico (18:1n-9) é o principal representante desta família. Sua síntese endógena ocorre predominantemente no

citossol a partir do ácido esteárico (18:0), através da ação da enzima  $\Delta 9$ -desaturase ou esteroil-CoA desaturase (SCD1), que insere especificamente a dupla ligação na posição 9 (Han *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2010). O processo envolve a transferência de elétrons a partir de NADH ou NADPH via citocromo b5 e citocromo b5-redutase, com oxigênio molecular sendo consumido para a formação da dupla ligação (Han *et al.*, 2020).

**Figura 3** – Vias de Dessaturação e Alongamento para a Biossíntese de Ácidos Graxos Saturados e Insaturados e suas Principais Fontes



**Legenda:** Representação das vias metabólicas que produzem as principais famílias de ácidos graxos: saturados, n-7, n-9, n-6, n-3. O processo se inicia com a FAS, que produz o ácido palmítico (16:0), o qual serve como precursor para os demais ácidos graxos. As conversões subsequentes são catalisadas por duas classes de enzimas: dessaturases ( $\Delta$ ) e elongases (ELOVL). O 16:0 é dessaturado pela  $\Delta$ -9 para iniciar as famílias n-7 (ácido palmitoléico, 16:1n-7) e n-9 (ácido oléico, 18:1n-9). A partir da produção de 18:1n-7, o ácido linolênico (18:2n-6) é dessaturado pela  $\Delta$ -12, servindo de substrato para a  $\Delta$ -15 para a produção de  $\alpha$ -linolênico (18:3n-3). Esses ácidos graxos são precursores de ácidos graxos de cadeia longa. As principais fontes alimentares desses ácidos graxos estão representadas em baixo de cada família. **Fonte:** elaborado pelos autores, 2025.

A regulação da SCD1 é complexa e integrada a sinais hormonais, nutricionais e transcricionais, mediada por fatores como SREBP-1c, PPAR $\gamma$  e LXR, garantindo que a produção de MUFA n-9 esteja sincronizada com as necessidades metabólicas da célula. O ácido oleico sintetizado pode ser incorporado em triglicerídeos, fosfolípidios ou ésteres de colesterol, sendo essencial para a manutenção da arquitetura lipídica das membranas e como substrato para remodelamento enzimático de lipídios complexos (Grajchen *et al.*, 2023; Madduri *et al.*, 2012).

Os MUFA n-7 possuem uma única ligação dupla entre os carbonos 7 e 8 a partir da extremidade metilo (ou n-7), conferindo propriedades físico-químicas intermediárias entre os MUFA n-9 e os ácidos graxos saturados. O ácido palmitoleico (16:1n-7) é o representante mais estudado dessa família. A síntese endógena do ácido palmitoleico ocorre no citosol a partir do ácido palmítico (16:0) pela mesma  $\Delta 9$ -desaturase que produz MUFA n-9, porém inserindo a dupla ligação na posição correspondente à cadeia n-7. O mecanismo envolve também a transferência de elétrons via citocromo b5, consumindo oxigênio molecular e utilizando NAD(P)H como cofator redutor. O ácido palmitoleico sintetizado pode ser incorporado em fosfolípidios e triglicerídeos, contribuindo para a fluidez das membranas e para a regulação local da atividade de proteínas de membrana, sem afetar drasticamente a estabilidade química da molécula. A síntese de MUFA n-7, embora menos abundante do que a de n-9, desempenha um papel estratégico na manutenção da homeostase lipídica celular, especialmente em tecidos metabolicamente ativos (Han *et al.*, 2020; Kurotani *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2010).

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA) compreendem moléculas com 20 ou mais carbonos e duas ou mais insaturações, desempenhando funções essenciais na manutenção da homeostase celular, modulação inflamatória e neurodesenvolvimento (Castro *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2023). As principais famílias de LC-PUFA incluem os ácidos graxos ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6), cuja nomenclatura decorre da localização da primeira ligação dupla a partir do terminal metílico da cadeia — no terceiro ou no sexto carbono, respectivamente (Scanferlato *et al.*, 2019; Wiktorowska-Owczarek; Berezinska; Nowak, 2015). Os Metazoa, incluindo o filo Chordata e, consequentemente, os Mammalia, perderam funcionalmente as dessaturases  $\Delta 12$  e  $\Delta 15$  durante a evolução animal, tornando-se metabolicamente dependentes da ingestão de LA e ALA provenientes de fontes vegetais, fúngicas ou microbianas (Harwood, 2023; Pereira *et al.*, 2012; Remize *et al.*, 2021). Assim, os ácidos graxos

essenciais de 18 carbonos representam um elo bioquímico entre os produtores primários e os consumidores heterotróficos, estabelecendo a base evolutiva para o metabolismo lipídico animal contemporâneo. A partir desses precursores, os vertebrados, por meio das enzimas ELOVL (elongases de cadeia longa) e dessaturases  $\Delta 5$  e  $\Delta 6$ , são capazes de gerar LC-PUFA bioativos, como o ácido araquidônico (AA; 20:4n-6), o ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3) e o ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6n-3), fundamentais para a integridade das membranas, sinalização celular e processos inflamatórios (Harwood, 2023; Nie *et al.*, 2021; Ruiz *et al.*, 2023).

Entretanto, a biossíntese dos ácidos graxos poli-insaturados precursores — o ácido linoleico (LA; 18:2n-6) e o ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA; 18:3n-3) — depende da presença das enzimas  $\Delta 12$ -dessaturase (FAD2) e  $\Delta 15$ -dessaturase (FAD3), que introduzem duplas ligações sucessivas na cadeia do ácido oleico (18:1n-9). A capacidade de realizar essas dessaturações não é universal nos Eukaryota, estando restrita a linhagens específicas que divergiram filogeneticamente antes da perda desses genes nos Metazoa (Cerone; Smith, 2022; Guan *et al.*, 2013). Entre os Archaeplastida, as Embryophyta e suas ancestrais algas verdes (Chlorophyta e Charophyta) possuem esses genes conservados, expressos principalmente em plastídios e retículo endoplasmático, onde convertem o ácido oleico em LA e, subsequentemente, em ALA (Dar *et al.*, 2017; Guan *et al.*, 2013; Meesapyodsuk; Qiu, 2012). Esses compostos, essenciais para a manutenção da fluidez e funcionalidade das membranas, tornaram-se componentes estruturais críticos na adaptação das plantas ao ambiente terrestre, sobretudo em condições de variação térmica e disponibilidade hídrica (Dar *et al.*, 2017; Meesapyodsuk; Qiu, 2012).

Nos ecossistemas aquáticos, a síntese de PUFA de 18 carbonos ocorre em microalgas (Haptophyta, Bacillariophyta, Cryptophyta, Dinoflagellata) e macroalgas multicelulares (Phaeophyceae, Rhodophyta, Chlorophyta), que, além de produzirem LA e ALA, são capazes de gerar ácidos graxos de cadeia longa, como EPA e DHA, via sistemas enzimáticos adicionais (ELOVL,  $\Delta 5$  e  $\Delta 6$ -dessaturases) (Cotas *et al.*, 2020; Geneste; Faure, 2022; Guan *et al.*, 2013; Los; Mironov, 2015; Meesapyodsuk; Qiu, 2012; Qiu *et al.*, 2015; Shanab; Hafez; Fouad, 2018). Esses organismos fotossintetizantes compõem a base trófica dos ecossistemas marinhos, transferindo PUFA para níveis tróficos superiores através do consumo por zooplâncton e peixes, os quais acumulam, mas não sintetizam esses lipídios (Gostinčar; Turk; Gunde-Cimerman, 2010; Guan *et al.*, 2013; Meesapyodsuk; Qiu, 2012; Monroig; Tocher; Navarro, 2013). Em grupos de Fungi,

especialmente entre os Zygomycota e Mucoromycota, observam-se linhagens oleaginosas como *Mortierella alpina* e *Mucor circinelloides*, que sintetizam LA e, por extensão metabólica, o ácido araquidônico (AA; 20:4n-6), desempenhando papel ecológico relevante na decomposição e na reciclagem de matéria orgânica (Chen *et al.*, 2014; Kikukawa *et al.*, 2018; Kosa *et al.*, 2018; Zazula *et al.*, 2025). Adicionalmente, algumas bactérias e cianobactérias (Cyanobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria) retêm genes homólogos de  $\Delta 12$  e  $\Delta 15$ -dessaturases, sugerindo uma origem ancestral desses sistemas de dessaturação antes da divergência dos domínios Bacteria e Eukarya, e contribuindo para o aporte primário de PUFA em cadeias alimentares aquáticas e terrestres (Guan *et al.*, 2013; Kabeya *et al.*, 2018; Monroig; Tocher; Navarro, 2013; Sun; Meesapyodsuk; Qiu, 2024).

Os LC-PUFA n-6 apresentam múltiplas ligações duplas em configuração *cis*, sendo a primeira localizada no sexto carbono a partir da extremidade metílica (n-6) da cadeia carbônica. O principal precursor endógeno de PUFA n-6 de cadeia longa é o ácido linoleico (LA, 18:2n-6), um ácido graxo essencial obtido exclusivamente via dieta, uma vez que os vertebrados não possuem enzimas capazes de introduzir ligações duplas em posições além do carbono 9 a partir da extremidade carboxila. A biossíntese de PUFA n-6 de cadeia longa envolve uma sequência altamente regulada de dessaturações e elongações, que ocorrem predominantemente no retículo endoplasmático. Inicialmente, o LA é dessaturado na posição  $\Delta 6$  pela  $\Delta 6$ -desaturase, inserindo a terceira ligação dupla a partir da extremidade carboxílica, formando o ácido  $\gamma$ -linolênico (GLA, 18:3n-6). Essa enzima é um ponto crítico de controle metabólico e é regulada por fatores nutricionais, hormonais (insulina e leptina) e transcricionais, incluindo PPAR $\alpha$  e SREBP-1c, garantindo ajuste fino na produção de PUFA de acordo com o estado energético e lipídico da célula (Cerone; Smith, 2022; Gostinčar; Turk; Gunde-Cimerman, 2010; Nakamura; Nara, 2004; Nie *et al.*, 2021; Zazula *et al.*, 2025).

Após a dessaturação  $\Delta 6$ , o GLA sofre elongação catalisada por elongases específicas, que adicionam dois átomos de carbono à extremidade carboxila, resultando no dihomog- $\gamma$ -linolênico (DGLA, 20:3n-6). Posteriormente, o DGLA é dessaturado na posição  $\Delta 5$  pela  $\Delta 5$ -desaturase, formando o ácido araquidônico (AA, 20:4n-6), principal PUFA n-6 funcional em mamíferos. Todas essas reações requerem oxigênio molecular como aceptor de elétrons e cofatores redutores, principalmente NAD(P)H, transferidos via citocromo b5 e citocromo b5 redutase. O ácido araquidônico sintetizado é incorporado

em fosfolipídios de membranas celulares, especialmente fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina, funcionando como reservatório para mediadores lipídicos bioativos, incluindo prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. A distribuição subcelular do AA é estratégica: retículo endoplasmático e membranas nucleares armazenam AA em fosfolipídios, permitindo liberação rápida por fosfolipase A2 em resposta a sinais inflamatórios ou hormonais. Além disso, o balanceamento entre DGLA e AA é crucial para modular respostas inflamatórias e manter a integridade estrutural das membranas, demonstrando que a síntese e incorporação de PUFA n-6 são processos altamente integrados, regulados e essenciais para a homeostase celular (Cerone; Smith, 2022; Gostinčar; Turk; Gunde-Cimerman, 2010; Nakamura; Nara, 2004; Nie *et al.*, 2021; Zazula *et al.*, 2025).

Os ácidos graxos poli-insaturados da família n-3 apresentam múltiplas ligações duplas em configuração “cis”, sendo a primeira localizada no terceiro carbono a partir da extremidade metílica (n-3) da cadeia carbônica. O principal precursor endógeno de PUFA n-3 de cadeia longa é o ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA, 18:3n-3), essencial na dieta, pois vertebrados não possuem enzimas capazes de introduzir ligações duplas além da posição  $\Delta 9$  a partir da extremidade carboxílica. A síntese de PUFA n-3 de cadeia longa envolve uma sequência de dessaturações e elongações altamente reguladas, ocorrendo predominantemente no retículo endoplasmático, com etapas finais no peroxissoma para a formação do DHA (22:6n-3). Inicialmente, o ALA é dessaturado na posição  $\Delta 6$  por  $\Delta 6$ -desaturase, formando o ácido estearidônico (18:4n-3), seguido de elongação por elongases específicas, adicionando duas unidades de carbono à extremidade carboxílica, gerando o ácido eicosatetraenoico (20:4n-3). Posteriormente, ocorre a dessaturação  $\Delta 5$ , formando o ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), o principal PUFA n-3 de ação biológica. Para a síntese de DHA, o EPA é ainda elongado em docosapentaenoico (DPA, 22:5n-3), dessaturado  $\Delta 6$  e submetido a uma etapa de  $\beta$ -oxidação parcial no peroxissoma, completando a conversão em DHA (Cerone; Smith, 2022; Gostinčar; Turk; Gunde-Cimerman, 2010; Nakamura; Nara, 2004; Nie *et al.*, 2021; Zazula *et al.*, 2025)..

Essas reações dependem de oxigênio molecular e cofatores redutores como NAD(P)H, com participação de citocromo b5 e citocromo b5 redutase, sendo altamente reguladas por fatores nutricionais, hormonais (insulina, leptina) e transcricionais, incluindo PPAR $\alpha$  e SREBP-1c. O EPA e DHA produzidos são incorporados em fosfolipídios de membranas celulares, principalmente fosfatidilcolina e

fosfatidiletanolamina, conferindo fluidez, flexibilidade e funcionalidade às membranas, essenciais para a sinalização celular, transporte de proteínas de membrana e função mitocondrial. Além disso, esses PUFA n-3 servem como precursores de mediadores lipídicos bioativos, fundamentais na resolução da inflamação e proteção neural. A distribuição subcelular é estratégica: retículo endoplasmático, membranas plasmáticas e membranas nucleares atuam como reservatórios para liberação rápida em processos fisiológicos e patológicos, demonstrando que a síntese, elongação, dessaturação e incorporação de PUFA n-3 constituem um processo complexo, altamente regulado e crítico para a homeostase celular e para a saúde sistêmica (Cerone; Smith, 2022; Gostinčar; Turk; Gunde-Cimerman, 2010; Nakamura; Nara, 2004; Nie *et al.*, 2021; Zazula *et al.*, 2025).

## 4.2 EVOLUÇÃO DOS HOMINOIDEA E DE SUAS DIETAS

A alimentação constitui um dos traços mais distintivos da biologia e da cultura humanas. As preferências alimentares e a composição das dietas, observadas em diferentes sociedades, são produtos de uma complexa interação entre fatores ecológicos, culturais e evolutivos. Contudo, para além do contexto social contemporâneo, as mudanças dietéticas ocorridas ao longo da história evolutiva dos primatas Catarrhini foram determinantes para o surgimento de traços anatômicos, metabólicos e cognitivos que definem o gênero *Homo* (Andrews; Johnson, 2020b).

Durante o Mioceno Inferior (~ 23 Ma), os Catarrhini eram majoritariamente frugívoros e folívoros (Figura 4), adaptados a ambientes florestais densos e úmidos. Com a fragmentação desses habitats e a expansão de paisagens mais abertas e sazonais, novos desafios ecológicos exigiram flexibilidade alimentar e eficiência metabólica. Espécies capazes de diversificar suas fontes nutricionais, incorporando insetos, raízes, tubérculos e, posteriormente, carne, obtiveram vantagem seletiva (Crittenden; Schnorr, 2017b). Essa ampliação dietética marcou o início de uma trajetória evolutiva que culminaria na emergência da onívoros como traço adaptativo central, pavimentando o caminho para a linhagem humana.

A incorporação sistemática de alimentos de origem animal representou uma revolução energética e metabólica. Carnes, vísceras e medula óssea forneceram não apenas densidade calórica, mas também aminoácidos essenciais e LC-PUFA, especialmente o EPA e DHA, fundamentais para o desenvolvimento e manutenção do

tecido neural (Crittenden; Schnorr, 2017; Leonard; Snodgrass; Robertson, 2007). Essa alteração dietética sustenta a chamada hipótese do tecido caro (*expensive tissue hypothesis*), segundo a qual o aumento do volume encefálico foi viabilizado pela redução proporcional do trato gastrointestinal, possível apenas com uma dieta de alta qualidade e digestão mais eficiente (Aiello; Wheeler, 1995; Huang; Yu; Liao, 2018; Jiang *et al.*, 2021).

O modo de vida caçador-coletor dos Homininae consolidou a interdependência entre dieta, comportamento e morfologia. A caça cooperativa e o forrageamento exigiam planejamento, comunicação e memória espacial, demandando um cérebro mais complexo e energeticamente exigente. Paralelamente, o bipedalismo surgiu como adaptação locomotora vantajosa, otimizando deslocamentos em ambientes abertos e permitindo o transporte de alimentos e ferramentas. A necessidade de coordenação social, partilha de recursos e uso de instrumentos reforçou o papel da alimentação como força motriz da encefalização (Burini; Leonard, 2018; Grabowski *et al.*, 2023; Kuipers; Joordens; Muskiet, 2012; Leonard *et al.*, 2003).

Essas pressões seletivas resultaram em mudanças profundas na composição corporal e no metabolismo energético. O cérebro humano, que representa cerca de 2% da massa corporal, consome aproximadamente 20% da energia em repouso, impondo exigências metabólicas inéditas. Para compensar esse custo, as linhagens mais derivadas de Hominini desenvolveram estratégias de economia energética, com redução relativa da massa muscular, principalmente de músculos mastigatórios e de sustentação, e aumento das reservas adiposas, que atuam como importantes estoques energéticos de longo prazo (Leonard *et al.*, 2003; Leonard; Snodgrass; Robertson, 2007b).

A evolução do tecido muscular acompanhou essas transformações. A transição de atividades predominantemente arborícolas para o deslocamento terrestre e a caça de persistência favoreceu músculos mais resistentes à fadiga, com maior proporção de fibras oxidativas (tipo I) e aumento da eficiência mitocondrial. Esse refinamento bioenergético possibilitou que os hominíneos sustentassem longos períodos de esforço físico, mesmo com reservas limitadas de glicogênio, e mantivessem o fornecimento energético necessário para o funcionamento cerebral. Assim, o metabolismo muscular e o metabolismo neural passaram a atuar de forma integrada, compondo uma adaptação coevolutiva essencial para a sobrevivência do grupo (Crittenden; Schnorr, 2017b; Hora

*et al.*, 2022; Kuipers; Joordens; Muskiet, 2012; Leonard; Snodgrass; Robertson, 2007b; Marino; Sibson; Lieberman, 2022; van der Zwaard; Brocherie; Jaspers, 2021)

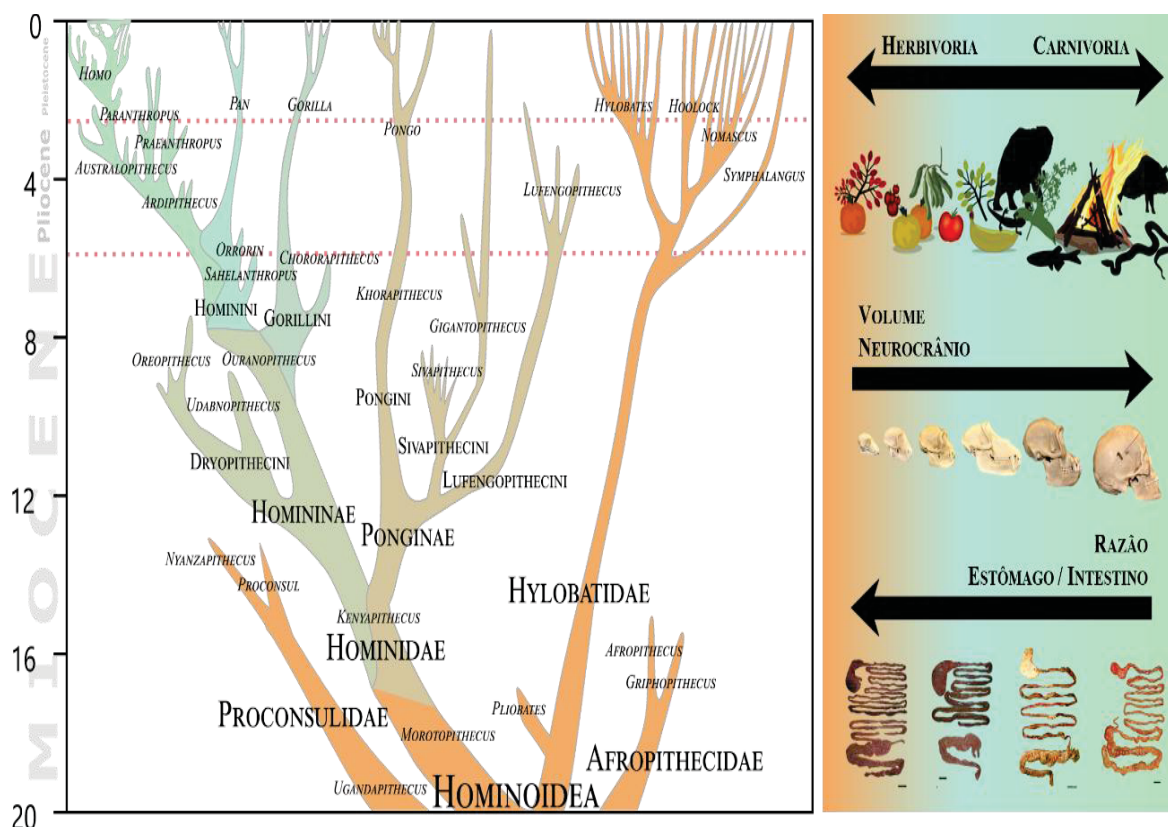
A domesticação do fogo e o cozimento dos alimentos durante o Pleistoceno (~ 1.8 Ma), ampliaram essa eficiência metabólica. O aquecimento tornou os alimentos mais digestíveis, reduziu a carga microbiana e aumentou a biodisponibilidade de nutrientes, diminuindo o custo energético da digestão. Essa inovação culinária aumentou significativamente a eficiência energética da alimentação, fornecendo suporte metabólico para cérebros maiores e comportamentos sociais e simbólicos mais complexos. Com a transição para o Holoceno e o surgimento da agricultura e da domesticação animal (~ 11,7 ka), a dieta humana passou de predominantemente carnívora e variada para uma base agrícola rica em carboidratos. A Revolução Neolítica, há cerca de 10 mil anos, foi um marco na sedentarização e no surgimento das primeiras civilizações estáveis. Entretanto, essa transição resultou em desequilíbrios nutricionais: a dependência de poucos cultivos reduziu a diversidade de micronutrientes e lipídios essenciais, levando a uma maior ingestão de ácidos graxos poli-insaturados da série n-6 e à diminuição dos n-3, alterando o equilíbrio inflamatório do organismo (Carmody; Wrangham, 2009; Gifford-Gonzalez, 2018; Quagliariello *et al.*, 2022; Saniotis; Henneberg, 2013; Simopoulos, 2000, 2011b; Simopoulos, Artemis P.; DiNicolantonio, 2016; van Casteren *et al.*, 2022).

Tais transformações foram acompanhadas por adaptações genéticas. A amplificação do número de cópias do gene AMY1 (amilase salivar) favoreceu populações com alto consumo de amido. Variações nos genes FADS1 e FADS2, responsáveis pela dessaturação e alongamento de ácidos graxos, refletiram a necessidade de manter a síntese endógena de LC-PUFA em contextos de menor disponibilidade dietética. A persistência da lactase, por sua vez, permitiu o aproveitamento do leite animal como nova fonte energética, ampliando a plasticidade alimentar humana (Hardy *et al.*, 2015; Koletzko *et al.*, 2019; Pajic *et al.*, 2019; Perry *et al.*, 2007; Séguérel; Bon, 2017).

Com a Revolução Industrial, a transição nutricional atingiu seu ápice. A abundância de alimentos ultraprocessados, ricos em gorduras saturadas e açúcares simples, rompeu o equilíbrio entre a fisiologia ancestral e o ambiente moderno. Esse descompasso, conhecido como *mismatch* evolutivo, expôs a vulnerabilidade de um metabolismo moldado pela escassez à superabundância calórica. O resultado foi o aumento exponencial de doenças metabólicas, como obesidade, resistência à insulina e

sarcopenia, associadas à redução da atividade física e à degradação da qualidade nutricional (Crittenden; Schnorr, 2017b; Haile; Neme; Belachew, 2017b; Saniotis; Henneberg, 2013).

**Figura 4** - Representação da árvore de consenso dos grandes símios das superfamílias Hominoidea (Gray, 1825) (Primates: Simiiformes) e Proconsuloidea (Leakey, 1963) (Primates: Simiiformes).



**Legenda:** Os ramos inferiores representam subfamílias extintas Proconsulinae (Leakey, 1963) (Simiiformes: Proconsuloidea) e Afropithecinae (Andrews, 1992) (Simiiformes: Proconsuloidea). Esquematisação da diversificação das famílias Hylobatidae (Gray, 1870) e Hominidae (Gray, 1825) no Mioceno Inferior ( $\pm 22$  milhões de anos). Diversificação das subfamílias Ponginae (Allen, 1925) e Homininae (Gray, 1925) no Mioceno Médio ( $\pm 14$  milhões de anos). Diversificação das tribos Gorillini (Frechkop, 1943) e Hominini (Gray, 1825) no Mioceno Superior ( $\pm 8$  milhões de anos). Presença de dietas estritamente herbívoras nas espécies basais de toda a infraordem Catarrhini (E. Geoffroy, 1812) e manutenção dessa característica nos Hylobatidae atuais. Transição gradual para dieta onívora nas espécies basais e atuais de Ponginae e Gorillini e predominância de dietas carnívoras em Homini. Relação direta da mudança alimentar com o aumento do volume do neurocrânio e redução da razão / intestino com o aumento da onívoros e carnívoros (Andrews; Johnson, 2020a; McGrosky *et al.*, 2019). Representação dos crânios de Proconsul (Hopwood, 1933), Hylobathes (Illiger, 1811), Sivapithecus (Pilgrim, 1910), Pongo (Lacépède 1799), Gorilla (Geoffroy, 1852) e Homo (Linnaeus, 1758). Representação do sistema digestório de Nomascus leucogenys (Ogilby, 1840), Symphalangus syndactylus (Chivers, 1974), Pongo pigmaeus (Linnaeus, 1760), Gorilla gorilla (Savage and Wyman, 1847). Cladograma adaptado e modificado de: [File:Hominini\\_lineage.svg#/media/File:Hominoidea\\_lineage.svg](#).

### 4.3 COMPOSIÇÃO LIPÍDICA NAS DIETAS HUMANAS

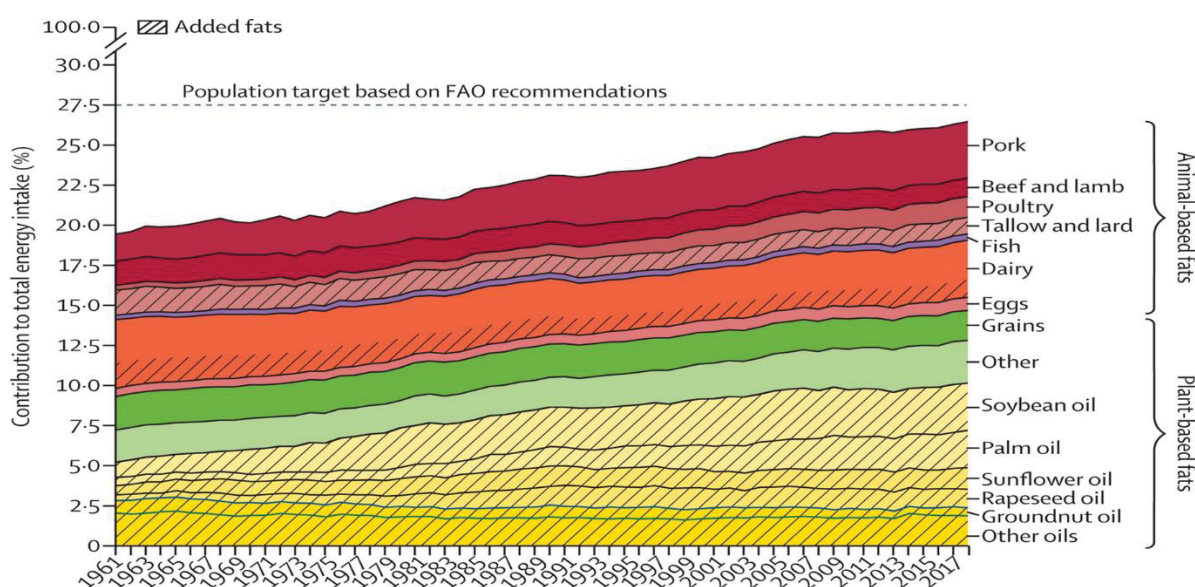
Durante o último máximo glacial (~20 ka), populações de homíníneos enfrentavam ambientes extremamente frios e sazonais, com alta variabilidade de alimentos. Nessas condições, indivíduos com maior capacidade de armazenar energia em tecido adiposo eram favorecidos, sendo selecionadas características metabólicas que otimizavam a captura e o uso eficiente de lipídios. O tecido adiposo desses grupos era predominantemente composto por triglicerídeos ricos em ácidos graxos saturados (SFA) e monoinsaturados (MUFA n-9 e n-7), moléculas energeticamente densas e resistentes à oxidação, garantindo fornecimento constante de energia durante períodos de escassez. As principais fontes de lipídios incluíam carne de caça (mamíferos de grande porte), gordura de vísceras e peixes de água fria, garantindo também aporte de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFA) n-3, como EPA e DHA, essenciais para o desenvolvimento e manutenção cerebral. Estimativas sugerem que, nesse contexto, 50-60% das calorias diárias podiam derivar de lipídios, com razão n-6/n-3 próxima de 1:1, refletindo equilíbrio entre os PUFA pró e anti-inflamatórios (Blasco *et al.*, 2019; Cordain *et al.*, 2005; Garnês, 2025; Kindler *et al.*, 2025; Simopoulos, 2000, 2011b).

Com a transição para o Holoceno e a consolidação da agricultura, a introdução de cereais cultivados, leguminosas e sementes oleaginosas aumentou a ingestão de ácido linoleico (n-6), enquanto a disponibilidade de EPA e DHA de fontes animais selvagens diminuiu (Figura 5). Consequentemente, a razão n-6/n-3 passou de aproximadamente 1:1 para valores entre 5:1 e 15:1, refletindo um deslocamento metabólico em direção a um perfil mais pró-inflamatório (Simopoulos, 2000; Mathias *et al.*, 2012). Durante o período agrícola, a ingestão média de lipídios variava entre 25-35% das calorias, com SFA representando 7-10%, MUFA 10-12% e PUFA 5-8%, predominando a série n-6 sobre a n-3. Fontes alimentares incluíam manteiga, óleos de sementes (linhaça, gergelim), oleaginosas e produtos lácteos, enquanto carnes de caça e pesca residual forneciam LC-PUFA essenciais (Cordain *et al.*, 2005; Eaton & Konner, 1985).

A Revolução Industrial (séculos XVIII e XIX) marcou uma amplificação radical da disponibilidade de lipídios na dieta humana. A produção em massa de óleos vegetais refinados (soja, milho, girassol), o aumento do consumo de carne processada e a popularização de produtos ultraprocessados elevaram os SFA e n-6, mantendo MUFA n-9 relativamente constante, presente em manteiga e azeite. Esse período promoveu uma

drástica alteração da razão n-6/n-3, alcançando valores entre 15:1 e 20:1, estabelecendo um perfil lipídico altamente pró-inflamatório e contribuindo para o aumento de doenças metabólicas crônicas, obesidade e resistência à insulina. A composição lipídica das dietas ocidentais modernas passou a apresentar 35-40% das calorias derivadas de lipídios, distribuídas em SFA 12-15%, MUFA 12-15% e PUFA 8-12%, com predominância de n-6 provenientes de óleos vegetais refinados e margarinas, enquanto EPA e DHA tornaram-se relativamente escassos (Calder, 2006, 2015b, 2022a; Simopoulos, Artemis, 2016b, 2016a; Simopoulos, Artemis P., 2020; Simopoulos, Artemis P.; DiNicolantonio, 2016).

**Figura 5** – Contribuição histórica de diferentes fontes vegetais e animais de gordura para o fornecimento médio global de gordura por pessoa (1961–2018).



**Legenda:** O gráfico ilustra o aumento consistente na contribuição total de gordura para a energia dietética global, que ultrapassou o alvo populacional de 27,5% baseado nas recomendações da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. As fontes são categorizadas em gorduras de base vegetal e animal, e o gráfico evidencia uma marcante transição dietética caracterizada pelo aumento significativo na participação das gorduras de base vegetal, notadamente óleos adicionados como o óleo de soja, óleo de palma e óleo de girassol. As gorduras provenientes de fontes animais (carne, laticínios) também aumentaram, mas o crescimento na ingestão total de gordura é predominantemente impulsionado pelo consumo crescente de óleos vegetais processados ao longo do período analisado. **Fonte:** (Bajželj; Laguzzi; Röö, 2021).

Em paralelo, algumas regiões mantiveram padrões lipídicos mais equilibrados. No Mediterrâneo, a dieta apresenta 35-40% das calorias de lipídios, com MUFA n-9 15-20%, SFA 7-10%, PUFA 5-10% e razão n-6/n-3 entre 3:1 e 5:1. Dietas japonesas ou do Leste Asiático possuem SFA 6-8%, MUFA 12-15%, PUFA 7-10% e alta ingestão de EPA/DHA, mantendo n-6/n-3 ~3:1. Fontes lipídicas incluem peixes, frutos do mar, algas,

sementes de gergelim, soja e azeites locais, garantindo equilíbrio entre PUFA pró e anti-inflamatórios, suporte ao metabolismo neural e cardiovascular (Dernini; Berry, 2015; Haile; Neme; Belachew, 2017; Zhang et al., 2015).

Nos Estados Unidos, a transição nutricional foi marcada por consumo elevado de carnes processadas, fast food, óleos de milho e soja, elevando SFA e n-6, com razão n-6/n-3 frequentemente acima de 15:1. A ingestão lipídica média alcança 35-40% das calorias, com SFA 12-14%, MUFA 12-14% e PUFA 8-12%, refletindo dietas altamente industrializadas, com déficit relativo de LC-PUFA n-3 (Simopoulos, 2002; Renaud et al., 2014). Na Índia, observa-se heterogeneidade marcada. Populações vegetarianas ou veganas urbanas consomem maior quantidade de óleos vegetais (girassol, canola, soja), ghee e oleaginosas, resultando em SFA 10-12%, MUFA 8-12%, PUFA 6-10%, com n-6/n-3 entre 10:1 e 15:1. Em comunidades costeiras e rurais, o consumo de peixes de água doce e salgada aumenta LC-PUFA n-3, equilibrando parcialmente a razão n-6/n-3 (Lakshmipriya *et al.*, 2020; Mani; Kurpad, 2016; Udipi *et al.*, 2006).

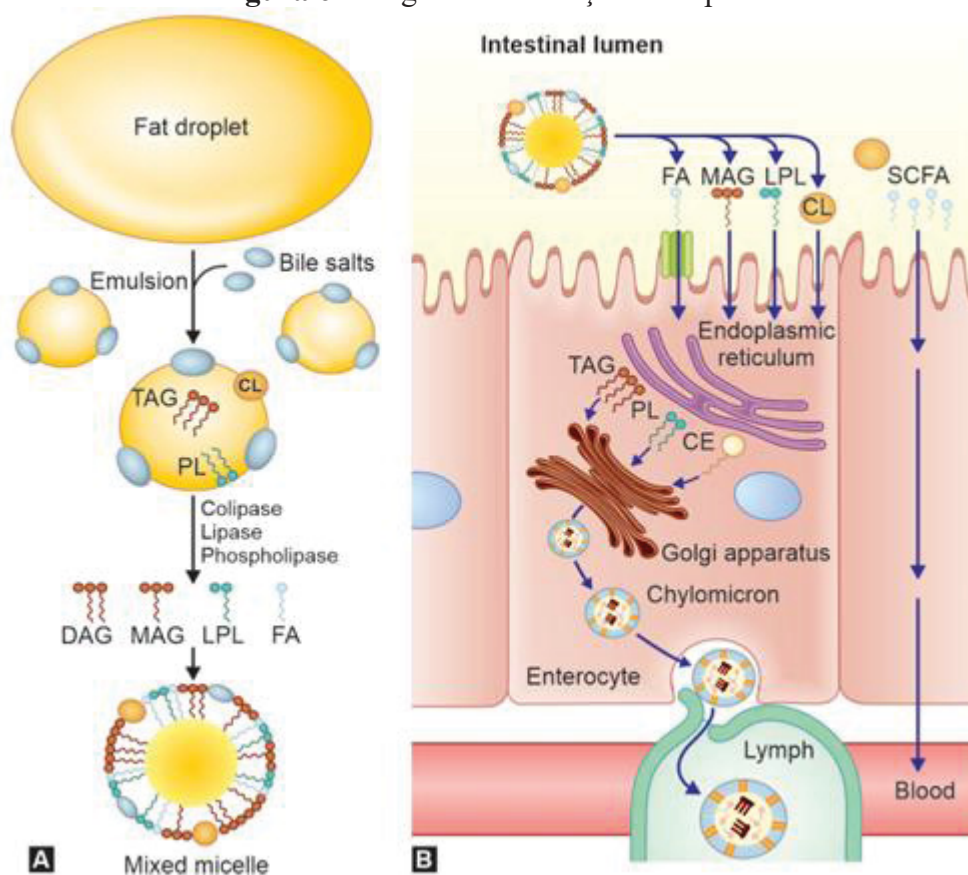
No Brasil, a dieta urbana contemporânea é caracterizada pelo predomínio de alimentos ultraprocessados, óleos vegetais refinados, carnes bovina e suína, frituras e produtos industrializados, com composição lipídica estimada em SFA 12-14%, MUFA 10-12%, PUFA 10-12%, e razão n-6/n-3 frequentemente acima de 15:1. Populações costeiras e indígenas ainda mantêm consumo regular de peixes, frutos do mar, castanhas, óleos de palma nativa e azeites regionais, promovendo melhor aporte de EPA e DHA, mantendo n-6/n-3 entre 4:1 e 6:1. No entanto, a superabundância calórica combinada à redução da atividade física contribui para obesidade, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares, refletindo o clássico *mismatch* evolutivo (Alves *et al.*, 2024; de Castro *et al.*, 2009; de Lima *et al.*, 2021; De Sousa *et al.*, 2019).

#### 4.4 ABSORÇÃO, TRANSPORTE E INCORPORAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

A absorção de ácidos graxos inicia-se no intestino delgado (Figura 6), sobretudo no jejuno, onde os lipídios alimentares, majoritariamente na forma de triglicerídeos, fosfolipídios e ésteres de colesterol, são inicialmente emulsificados por sais biliares secretados pela vesícula biliar. A emulsificação aumenta a área de superfície para a ação das lipases pancreáticas, incluindo a lipase pancreática clássica e a colipase, que

hidrolisam triglicerídeos em monoglicerídeos e ácidos graxos livres, e os fosfolipídios em lisofosfolipídios e ácidos graxos.

**Figura 6** – Digestão e absorção dos lipídios



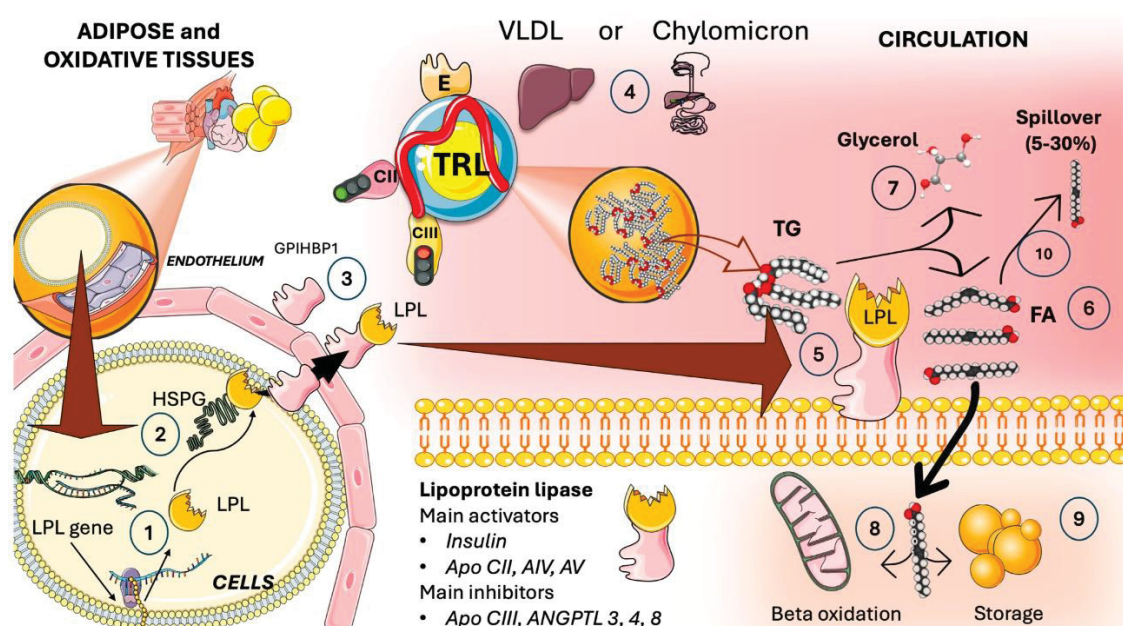
**Legenda:** **A** - Digestão intraluminal: as grandes gotículas de gordura são primeiramente emulsificadas pelos sais biliares em gotículas menores. A lipase pancreática, colipase e fosfolipase atuam sobre os triglicerídeos (TAG) emulsificados, quebrando-os em ácidos graxos (FA), monoglicerídeos (MAG) e lisofosfolipídios (LPL). Estes produtos se organizam em micelas mistas, que transportam os lipídios hidrofóbicos. **B** - Absorção pelo enterócito: Os FA, MAG e LPL são transportados para o retículo endoplasmático, onde são reesterificados para formar TAG e fosfolipídios (PL). Estes lipídios são então embalados no aparelho de Golgi com apolipoproteínas em quilomícrons, que são liberados na circulação linfática, enquanto os ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) são transportados pela circulação sanguínea. **Fonte:** (Harbans Lal; Ashuma Sachdeva, 2025).

Os ácidos graxos de cadeia curta e média ( $\leq 12$  carbonos) podem difundir passivamente através da membrana apical dos enterócitos, enquanto os ácidos graxos de cadeia longa ( $\geq 14$  carbonos), incluindo MUFA n-9, n-7 e LC-PUFA n-3 e n-6, dependem de proteínas transportadoras, como CD36/FAT, FABPpm (fatty acid binding protein, membrana plasmática) e FATP1-6 (fatty acid transport proteins), que facilitam sua entrada e previnem agregação lipídica intracelular. Esse transporte é regulado por fatores dietéticos, hormonais (insulina, colecistocinina) e sinalização intracelular, ajustando a captação de acordo com o estado energético do organismo (Cifarelli; Abumrad, 2018;



No plasma, os quilomícrons interagem com lipase lipoproteica (LPL), ancorada na superfície endotelial de capilares no tecido adiposo, músculo esquelético e coração, hidrolisando triglicerídeos em ácidos graxos livres que são então captados por células-alvo (Figura 8). O transporte intracelular é facilitado por FABPs citosólicas, que direcionam os ácidos graxos para mitocôndrias (para  $\beta$ -oxidação), retículo endoplasmático (para síntese lipídica) ou glicerofosfolípidios de membrana. A entrada de acil-CoA de cadeia longa na matriz mitocondrial é regulada pelo sistema carnitina-palmitoiltransferase (CPT1/CPT2), sendo altamente seletiva para ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados de diferentes famílias, e modulada por sinais energéticos como níveis de malonil-CoA (Feingold, 2024; Giudetti *et al.*, 2016; Pirahanchi; Anoruo; Sharma, 2023; Schreurs; Kuipers; Van Der Leij, 2010; Schwenk *et al.*, 2010; Storch; Corsico, 2023).

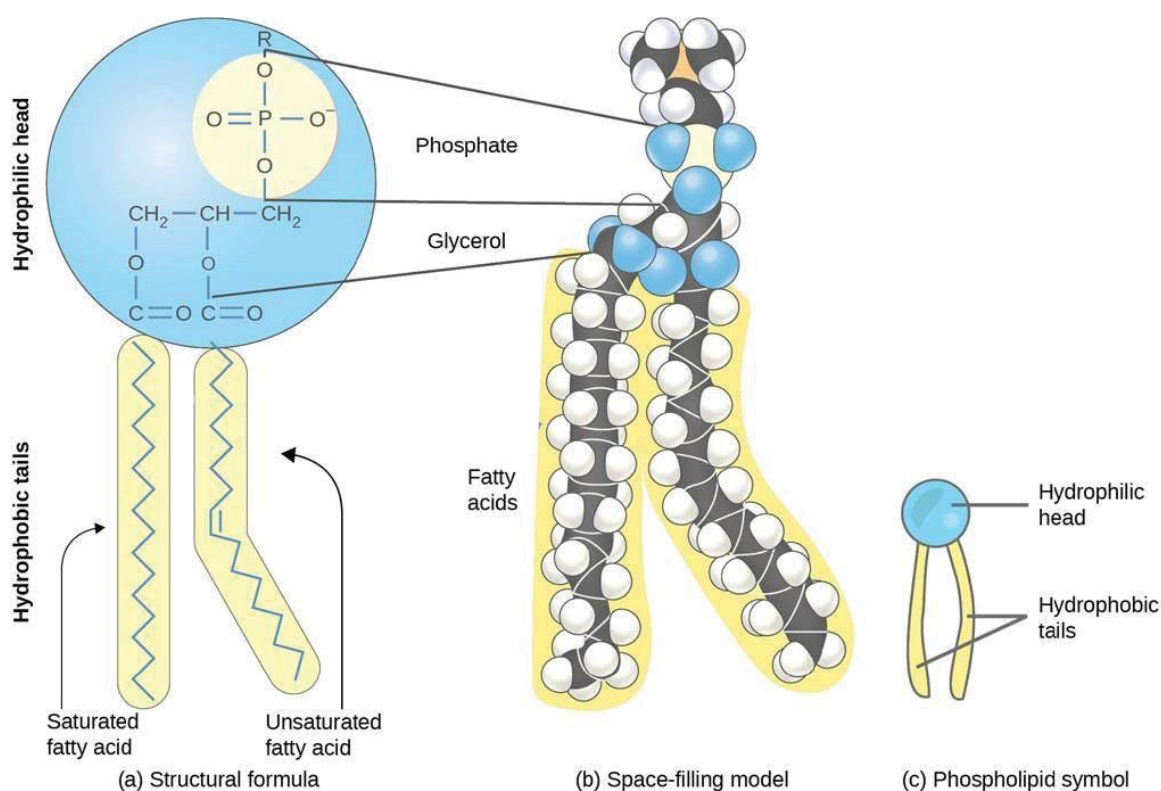
**Figura 8** – Ação da Lipase Lipoproteica na distribuição de Ácidos Graxos



**Legenda:** Fornecimento de triglicerídeos para o tecido adiposo e tecidos oxidativos (músculo e fígado) a partir de VLDL ou Quilomícron. O processo é iniciado pela LPL, uma enzima sintetizada pelas células (1) e ancorada à superfície endotelial via heparan sulfato proteoglicanos (HSPG) e GPIHBP1 (2 e 3). No lúmen vascular, as TRLs são ativadas pela Apo CII (4), permitindo que a LPL hidrolise os TG em Glicerol (7) e Ácidos Graxos (FA) (5). Os FA resultantes são captados pelos tecidos, onde podem ser utilizados para  $\beta$ -oxidação (produção de energia, 8) ou para armazenamento nas células de gordura (9). Uma porção dos FA (Spillover, 5-30%) retorna à circulação (10). O quadro detalha a regulação da LPL, indicando a Insulina e as Apo CII, AIV e AV como principais ativadores, e as Apo CIII, ANGPTL 3, 4, e 8 como principais inibidores. **Fonte:** (Gugliucci, 2024).

A incorporação de LC-PUFA n-3 e n-6 em fosfolipídios de membrana ocorre preferencialmente nas posições sn-2 e sn-1 do glicerol, conferindo fluidez, flexibilidade e funcionalidade à bicamada lipídica (Figura 9). Esses ácidos graxos também são precursores de moléculas bioativas, incluindo eicosanoides, resolvinas, maresinas e proteínas lipídicamente modificadas, que regulam processos inflamatórios, vasculares e neuronais. A distribuição específica é controlada por enzimas remodeladoras, como LPCAT (lysophosphatidylcholine acyltransferase), ACSL4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4) e PLA2 (fosfolipase A2), permitindo integração precisa entre sinalização lipídica e estrutura celular (Dyall *et al.*, 2022; Harayama; Shimizu, 2020; Hashidate-Yoshida *et al.*, 2015; Qiu, Yuxiang *et al.*, 2024).

**Figura 9** – Estrutura dos glicerofosfolipídeos



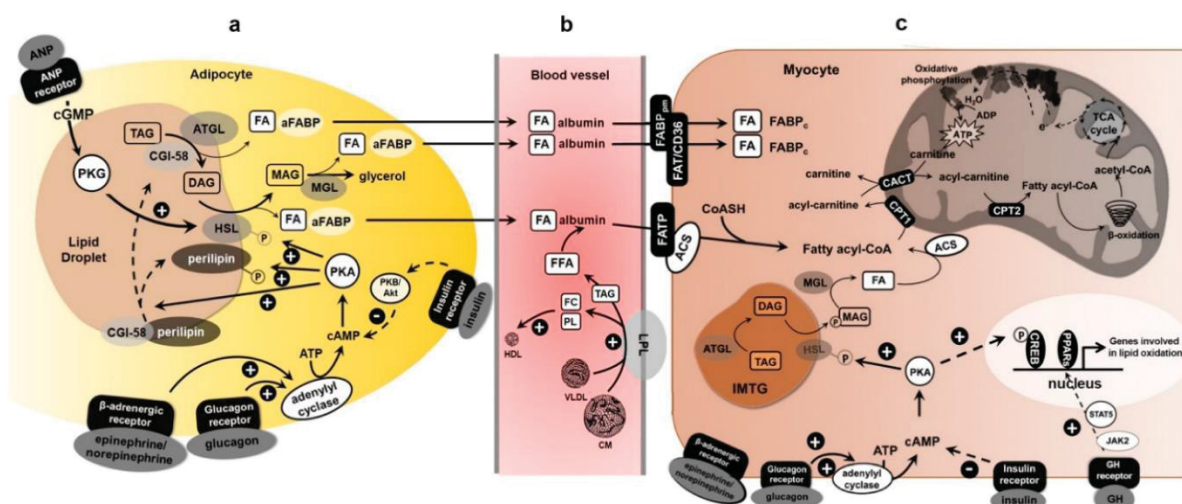
**Legenda:** Natureza anfífilica do fosfolipídio, essencial para a formação de bicamadas lipídicas. **A:** Fórmula estrutural, destacando o cabeça hidrofílica (composta por um grupo Fosfato, um Glicerol e um grupo R variável) e duas caudas hidrofóbicas formadas por ácidos graxos, sendo uma saturada e a outra insaturada (apresentando uma dobra). **B:** modelo de preenchimento de espaço (*Space-filling model*), que demonstra a conformação tridimensional da molécula. **C:** símbolo esquemático convencional, onde o círculo azul representa a cabeça polar e as linhas/caudas amarelas representam as caudas apolares. **Fonte:** <https://www.crodapharma.com/mediaassets/images/health-care/health-care-new-website/product-ranges-and-brands/natural-phospholipids/phosphatidylcholine.jpg>.

Além disso, a absorção e incorporação de ácidos graxos são influenciadas por fatores como idade, estado nutricional, composição da dieta, microbiota intestinal e capacidade antioxidante celular, sendo críticos para preservar a integridade dos LC-PUFA n-3 e n-6 frente à oxidação lipídica, altamente prevalente devido às múltiplas insaturações. A coordenação entre transporte, ativação, esterificação, incorporação em membranas e armazenamento intracelular evidencia a complexidade e a precisão do metabolismo de ácidos graxos, que conecta diretamente a ingestão dietética com a funcionalidade celular, modulando energia, sinalização, inflamação e saúde metabólica (Ali *et al.*, 2023; Chen, Yuhua *et al.*, 2024; Smolińska *et al.*, 2024; Woudstra; Thomson, 2002).

A Lipase Lipoproteica (LPL) constitui o elo central entre o transporte plasmático de lipídios e seu destino tecidual, regulando de forma precisa a partição energética dos ácidos graxos (Figura 10). Essa enzima hidrossolúvel, sintetizada principalmente por adipócitos e células musculares, é translocada para a superfície endotelial dos capilares, onde se ancora a proteoglicanos de heparan-sulfato para exercer sua função catalítica. A LPL hidrolisa os triglicerídeos presentes no núcleo dos quilomícrons de origem dietética e das VLDL hepáticas, liberando ácidos graxos livres (AGL) e glicerol no plasma. Esses AGL são rapidamente captados pelos tecidos adjacentes, sob regulação do estado metabólico (Lutz *et al.*, 2001; Muscella *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2022; Wu; Kersten; Qi, 2021).

No tecido adiposo, a ação da insulina no período pós-prandial estimula a atividade da LPL, direcionando os AGL para reesterificação e armazenamento sob a forma de triglicerídeos. Nos tecidos adiposo e muscular, esses triglicerídeos são organizados em gotículas lipídicas estabilizadas por proteínas da família perilipina, que controlam a liberação gradual dos ácidos graxos conforme a demanda energética celular. Em contraste, no músculo esquelético e cardíaco, a atividade da LPL fornece substrato para  $\beta$ -oxidação mitocondrial e geração de ATP. O metabolismo diferencial de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados nesses tecidos é essencial para a manutenção da homeostase energética, regulação do metabolismo oxidativo e prevenção de lipotoxicidade. (Brasaemle, 2007; Frühbeck *et al.*, 2014; Grisetti *et al.*, 2024; Kimmel; Sztalryd, 2016; Morales; Bucarey; Espinosa, 2017; Muscella *et al.*, 2020).

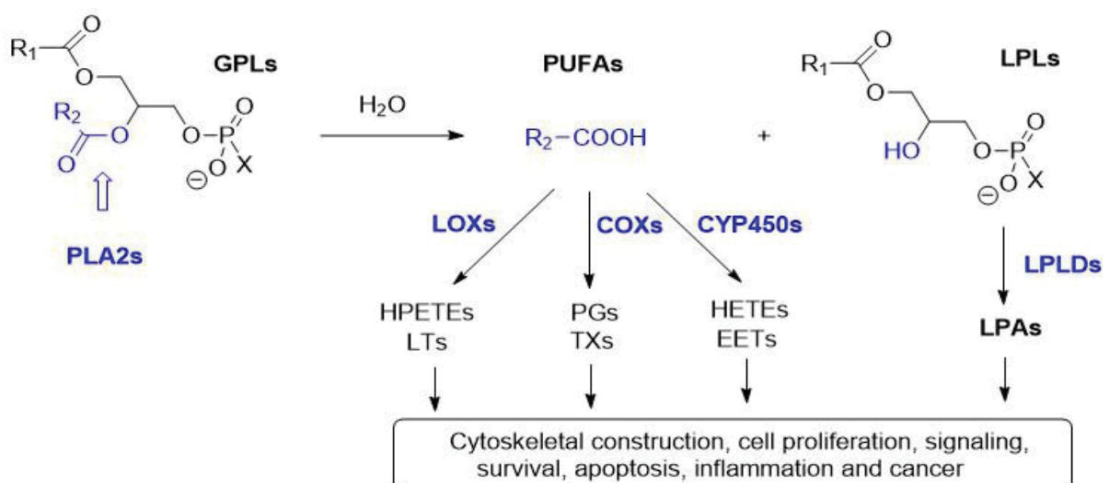
**Figura 10** – Mobilização e utilização de ácidos graxos



**Legenda:** Balanço dinâmico entre o armazenamento e a mobilização de lipídios. **A - Adipócito:** A lipólise é estimulada por hormônios (epinefrina, norepinefrina, glucagon) via receptores β-adrenérgicos, que ativam a adenilil ciclase para elevar o cAMP e ativar a PKA. A PKA fosforila a perilipina e a HSL (Lipase Sensível a Hormônio), promovendo a quebra de DAG (Diacilglicerol) em MAG (Monoglicerol) e FA (Ácidos Graxos), que são exportados para a circulação via aFABP. A lipólise também é regulada pela ATGL (Lipase de Triglicerídeos Adipocitários) e CGI-58. A Insulina inibe este processo via PKB/Akt. **B - Vaso Sanguíneo:** Os FA são transportados pela albumina, e os TAG das lipoproteínas (HDL, VLDL, CM) são hidrolisados pela LPL. **C - Células Musculares:** Os FA extracelulares são transportados para o citosol pelo FAT/CD36 e FATP. No miócito, os FA podem ser reesterificados em IMTG (Triglicerídeos Intramiocelulares) ou entrar na mitocôndria para β-oxidação via o sistema CPT1/CPT2 (Carnitina Palmitoiltransferase) e gerar ATP pelo Ciclo de TCA e fosforilação oxidativa. O metabolismo lipídico nuclear é regulado por fatores de transcrição como PPARs, com ativação e inibição por insulina e GH. **Fonte:** (Muscella et al., 2020).

#### 4.5 METABOLISMO E PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS BIOATIVOS

Os lipídios bioativos constituem uma classe funcional de moléculas derivadas de ácidos graxos que transcendem o papel estrutural das membranas celulares, atuando como mediadores centrais da sinalização intracelular, moduladores da inflamação, da apoptose, do metabolismo energético e da homeostase tecidual (Figura 11). Entre os principais lipídios bioativos destacam-se os eicosanóides, resolvinas, maresinas, protectinas, prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas, ceramidas, fosfatidilinosítídeos e diacilgliceróis. A síntese desses mediadores está intimamente relacionada à mobilização de ácidos graxos de membranas fosfolipídicas, catalisada pela PLA2, que libera os ácidos graxos da posição sn-2 do glicerol para reações enzimáticas subsequentes (Artru *et al.*, 2022; Casati *et al.*, 2021; Chiurchiù; Leuti; Maccarrone, 2018; Duan *et al.*, 2021; Korpak *et al.*, 2024; Wasserman; Venkatesan; Aguirre, 2020).

**Figura 11** – Produção de lipídios bioativos a partir da mobilização pela PLA2

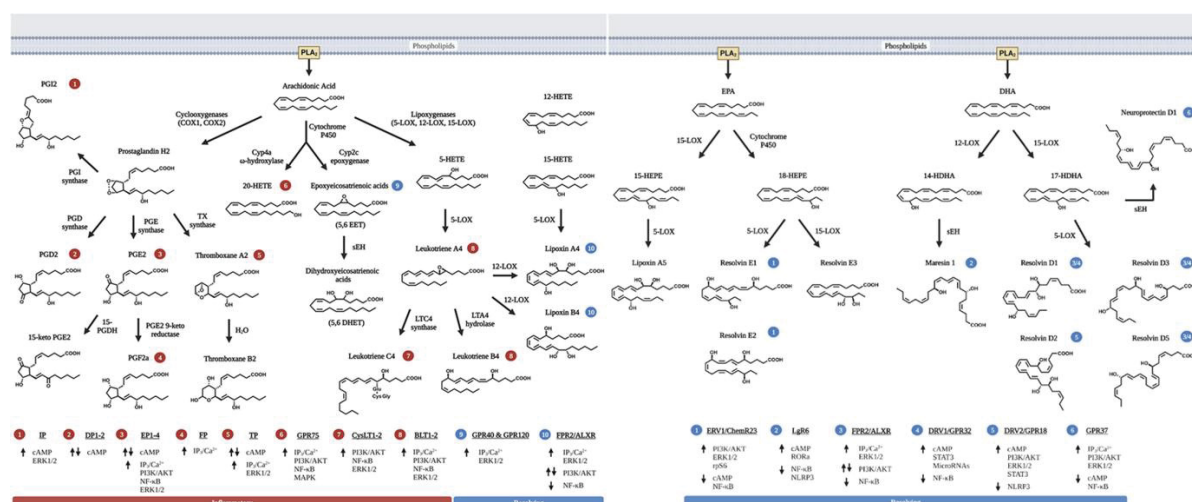
**Legenda:** Vias de liberação e metabolização de lipídios de membrana que geram moléculas sinalizadoras. A reação inicial envolve a hidrólise do grupo acila na posição sn-2 dos glicerofosfolípídios (GPLs) pela Fosfolipase A2 (PLA2), liberando os PUFAs (representados por  $R_2-COOH$ ) e um lisofosfolípido (LPLs). Os PUFAs são metabolizados por três principais famílias de enzimas: LOXs (Lipooxigenases), gerando HPETEs (ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos) e LTs (Leucotrienos); COXs (Ciclooxigenases), gerando PGs (Prostaglandinas) e TXs (Tromboxanos); e CYP450 (Citocromo P450), gerando HETEs (ácidos hidroxieicosatetraenóicos) e EETs (Epoxieicosatrienóicos). Os lisofosfolípídios (LPLs) são metabolizados pelas LPLDs (Lisofosfolipase D) em LPAs (Ácido Lisofosfatídico). Todos os metabólitos gerados atuam como moléculas bioativas envolvidas em funções celulares críticas, incluindo construção do citoesqueleto, proliferação celular, sinalização, sobrevivência, apoptose, inflamação e câncer. **Fonte:** (Khan; Ilies, 2023).

Nos vertebrados, os principais precursores endógenos: AA (20:4n-6), EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3), são metabolizados por três famílias enzimáticas centrais: ciclooxigenases (COX), lipoxigenases (LOX) e citocromos P450 (CYP450) (Figura 12). A via COX, mediada pelas isoformas COX-1 e COX-2, converte o AA em prostaglandinas, prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e tromboxanos, que, além de regular processos inflamatórios, agregação plaquetária, vasodilatação e hemostasia, modulam proliferação e sobrevivência celular, influenciando sinalizações intracelulares como MAPK/ERK, PI3K/Akt e NF- $\kappa$ B, remodelagem do citoesqueleto, migração celular e expressão gênica de fatores de crescimento (Biernacki; Skrzydlewska, 2025; Korbecki *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2025; Ni; Liu, 2021).

A via LOX gera leucotrienos e lipoxinas; os leucotrienos promovem quimiotaxia de leucócitos e amplificação da inflamação, enquanto as lipoxinas desempenham papel crucial na resolução inflamatória e manutenção da homeostase tecidual, agindo sobre receptores GPCR e fatores nucleares como PPAR $\gamma$ , modulando apoptose, autofagia,

integridade epitelial e remodelagem da matriz extracelular. Paralelamente, as enzimas CYP450 produzem epóxidos e hidroxiieicosanoides que modulam tonus vascular, angiogênese, metabolismo renal e energético, diferenciando adipócitos e influenciando canais iônicos e proteínas quinases dependentes de lipídios (Chandrasekharan; Sharma-Wali, 2015; Fleming, 2011; Panigrahy *et al.*, 2010; Serhan; Levy, 2018).

**Figura 12** – Lipídios bioativos derivados de AA, EPA e DHA



**Legenda:** Liberação PUFAs de membrana, como o AA, EPA e DHA, via ação da PLA2. Os metabólitos do AA formam a via inflamatória (vermelho), predominantemente através das COXs produzindo PG e TX e LOXs produzindo LT. As vias do EPA e DHA formam a via resolvente (azul), gerando moléculas como as Resolvinas e Maresinas. O painel inferior detalha os receptores EP, TP, GPR, ativados por esses mediadores e as vias de sinalização celular associadas cAMP, ERK, NF-κB, que regulam as respostas inflamatórias e a sua resolução. **Fonte:** (Alba et al., 2023).

Nos PUFA n-3, EPA e DHA são substratos para mediadores especializados na resolução da inflamação, incluindo resolvinas das séries E e D, maresinas e protectinas. A formação desses mediadores depende de oxidação sequencial mediada por LOX e CYP450, podendo atuar localmente ou em sinalização paracrina e endócrina. As resolvinas estabilizam membranas plasmáticas, mantêm a função sináptica e modulam receptores de neurotransmissores, além de regular transporte vesicular e sinalização mitocondrial, contribuindo para neuroproteção e plasticidade celular. As maresinas, sintetizadas predominantemente em macrófagos durante a resolução inflamatória, facilitam a fagocitose de células apoptóticas, remodelagem tecidual e expressão de proteínas de adesão e barreira endotelial. As protectinas derivadas do DHA exercem efeitos neuroprotetores e cardioprotetores, regulando canais de cálcio, bombas iônicas, equilíbrio redox e processos de autofagia, apoptose e proliferação celular em tecidos

neurais, musculares e epiteliais (Daly; O'Sullivan; O'Sullivan, 2022; Duvall; Levy, 2016; Ferreira *et al.*, 2022; Kwon, 2020).

Além dos eicosanoides e mediadores resolutivos (Figura 13), lipídios bioativos incluem ceramidas e esfingolipídios, derivados do metabolismo da esfingosina-1-fosfato (S1P) e diacilgliceróis (DAG), modulando apoptose, diferenciação celular, resistência à insulina, estresse oxidativo e sinalização inflamatória. A síntese de ceramidas inicia-se com a serina-palmitoiltransferase (SPT), seguida por N-acilação e desaturação, sendo sensível à disponibilidade de ácidos graxos saturados e ao estado redox celular. Ceramidas e esfingolipídios influenciam vias de sinalização como NF- $\kappa$ B, JNK e Akt, conectando o estresse metabólico à regulação do destino celular (Bandet *et al.*, 2019; Hammad; Lopes-Virella, 2023; Holland; Summers, 2008; Petersen; Shulman, 2017).

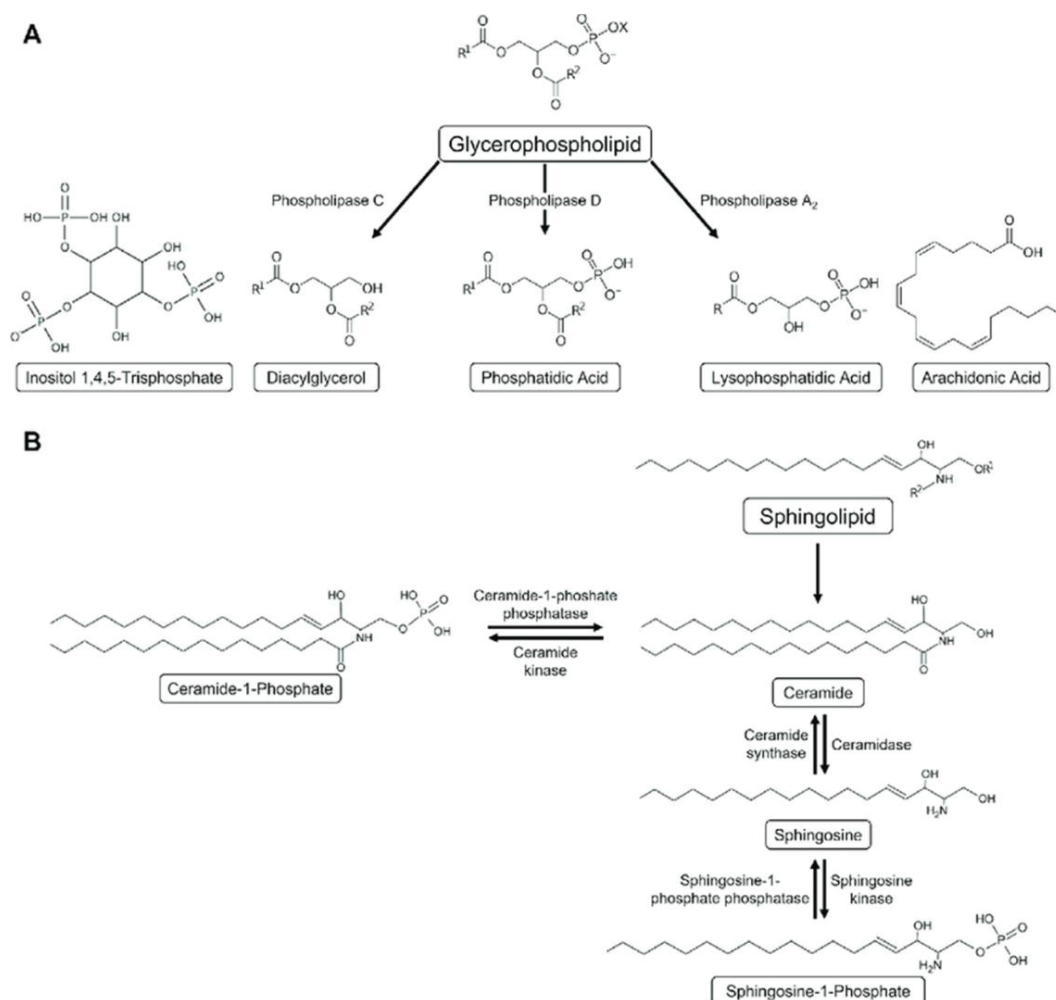
Os fosfatidilinositídeos, incluindo PI, PIP, PIP<sub>2</sub> e PIP<sub>3</sub>, funcionam como segundos mensageiros centrais em vias de sinalização como PI3K-Akt, controlando crescimento celular, metabolismo energético, transporte de glicose e sobrevivência celular. A hidrólise do PIP<sub>2</sub> pela fosfolipase C gera DAG e inositol-1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>), coordenando liberação de Ca<sup>2+</sup> intracelular, ativação de proteína quinases dependentes de lipídios e remodelagem do citoesqueleto, integrando sinais extracelulares à regulação metabólica, proliferativa e apoptótica (Czech, 2000; Harraz; Hill-Eubanks; Nelson, 2020; Luong *et al.*, 2025; Mandal, 2020; Tariq; Luikart, 2021).

O metabolismo de lipídios bioativos é altamente dinâmico, regulado por fatores nutricionais, hormonais e redox. Alterações na razão n-6/n-3 da dieta influenciam a composição das membranas celulares e, conseqüentemente, o perfil de eicosanoides e resolvinas produzidos, impactando inflamação, homeostase cardiovascular e neuroproteção. Enzimas remodeladoras como aciltransferases, fosfolipases e desaturases possibilitam reciclagem de ácidos graxos e geração de mediadores específicos em resposta a sinais fisiológicos ou patológicos (Artru *et al.*, 2022; Christi; Harwoo, 2020; Harwood, 2023; Serhan *et al.*, 2000; Stables; Gilroy, 2011).

A integração entre absorção, transporte, incorporação e metabolismo de ácidos graxos resulta em uma rede lipidômica adaptativa, capaz de ajustar continuamente a produção de lipídios bioativos conforme disponibilidade de substrato, estado inflamatório e demandas metabólicas. Dessa forma, os ácidos graxos atuam não apenas como blocos

estruturais de membranas, mas como reguladores ativos de funções biológicas essenciais, com papel central na homeostase celular, adaptação metabólica, proteção tecidual e potencial terapêutico em estratégias baseadas em lipídios funcionais (Dennis, 2015; Hammond; Burke, 2020; Kaffe *et al.*, 2024; Wasserman; Venkatesan; Aguirre, 2020; Wymann; Schneider, 2008).

**Figura 13** – Produção de segundos mensageiros produzidos a partir das fosfolipases

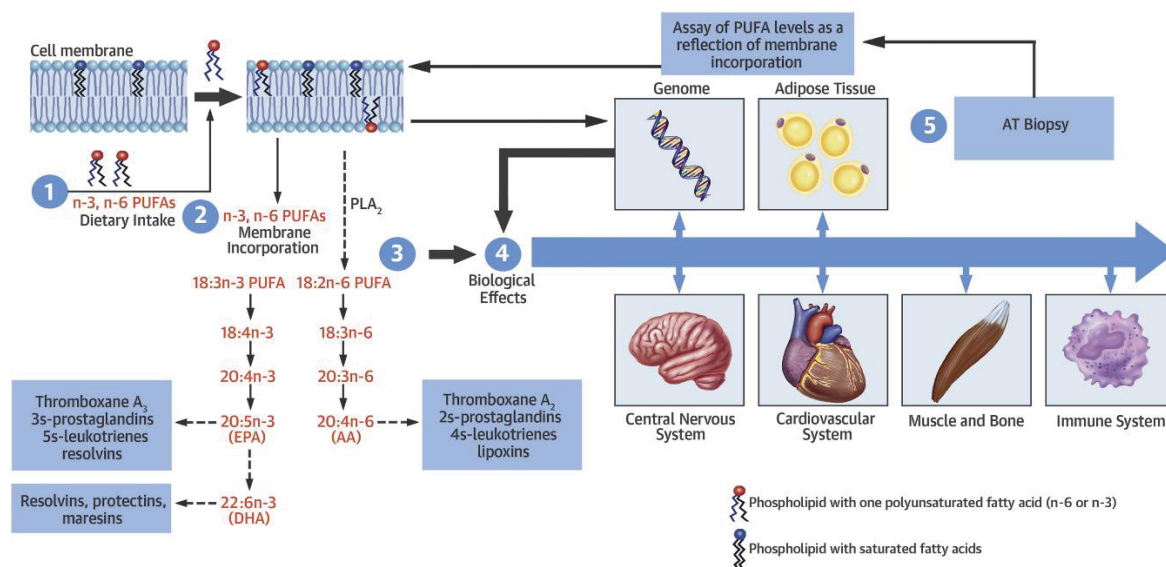


**Legenda:** Rotas enzimáticas que geram lipídios sinalizadores a partir de lipídios estruturais. **A:** hidrólise de glicerofosfolipídios por diferentes classes de fosfolipases: a Fosfolipase C gera Diacilglicerol e Inositol 1,4,5-Trisfosfato, a Fosfolipase D gera Ácido Fosfatídico, e a Fosfolipase A2 gera Lisofosfatídico e Ácido Araquidônico. **B:** metabolismo dos Esfingolipídios, destacando a interconversão entre Ceramida, Esfingosina e Esfingosina-1-Fosfato, regulada pelas enzimas Ceramida-1-fosfato fosfatase, Ceramida quinase, Ceramidas e Esfingosina-1-fosfato fosfatase, gerando moléculas de sinalização lipídica crucial. **Fonte:** (Spaulding; Bollag, 2022).

#### 4.6 EFEITOS BENÉFICOS NA SAÚDE HUMANA

Os LC-PUFAs desempenham papéis fundamentais na manutenção da saúde humana, participando ativamente de processos fisiológicos essenciais (Figura 14). Esses lipídios insaturados contribuem para a integridade estrutural das membranas celulares, regulação da resposta inflamatória, função cardiovascular, desenvolvimento neuromuscular e modulação do metabolismo energético (Christi; Harwoo, 2020; Grujić-Milanović *et al.*, 2021; Madore *et al.*, 2020; Miles; Childs; Calder, 2021b; Nicholls *et al.*, 2020a; Rahimi *et al.*, 2024; Shrestha *et al.*, 2020b). Além disso, numerosos estudos apontam para seus efeitos preventivos e terapêuticos em diversas condições clínicas, incluindo doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, inflamatórias e metabólicas, destacando sua importância na nutrição e na farmacologia moderna (Bayram; Kızıltan, 2024a; Isesele; Mazurak, 2021; Liput *et al.*, 2021; Simopoulos, Artemis P., 2020; Stoffel *et al.*, 2020; Tachtsis *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022b).

**Figura 14 – Efeitos sistêmicos dos PUFA**



**Legenda:** destino e a ação dos PUFA n-3 e n-6 no organismo. 1. PUFA dietéticos são consumidos e 2. incorporados na bicamada lipídica da membrana celular, substituindo lipídios existentes. 3. A liberação desses PUFA pela PLA<sub>2</sub> inicia cascatas metabólicas distintas: o AA e seus derivados geram mediadores predominantemente pró-inflamatórios, enquanto o EPA e o DHA geram mediadores anti-inflamatórios e resolutores. 4. Esses mediadores exercem efeitos biológicos cruciais no sistema nervoso central, sistema cardiovascular, músculo e osso e sistema imunológico. 5. Os níveis de PUFA no tecido adiposo podem ser utilizados como reflexo da incorporação de PUFA na membrana e são acessíveis por biópsia para avaliação clínica e de pesquisa. **Fonte:** (De Caterina; Madonna, 2018).

Os LC-PUFA, em especial os n-3 (EPA e DHA) e n-6 (AA), desempenham funções cruciais na homeostase fisiológica e no tratamento terapêutico de múltiplas patologias. Estes lipídios estruturais modulam a fluidez e a permeabilidade das membranas plasmáticas, influenciam a formação de microdomínios lipídicos e participam da sinalização intracelular por meio da geração de eicosanoides, resolvinas e protectinas, que regulam a resposta inflamatória e promovem a resolução do processo inflamatório (Calder, 2015b; Duan *et al.*, 2021; Korpak *et al.*, 2024). Adicionalmente, esses ácidos graxos exercem efeitos diretos na expressão gênica e na modulação epigenética de processos inflamatórios, agindo como ligantes de receptores nucleares como os PPARs, o que reforça seu papel central na regulação metabólica e imunológica (Marion-Letellier; Savoye; Ghosh, 2016; Shrestha *et al.*, 2020b).

Suas propriedades imunomoduladoras, neuroprotetoras e antioxidantes são amplamente investigadas em contextos clínicos, evidenciando seu potencial na mitigação de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, autoimunes, inflamatórias crônicas e metabólicas. Assim, os ácidos graxos ômega configuram-se como biomoléculas estratégicas para intervenções terapêuticas avançadas, com impacto significativo na modulação de processos patofisiológicos complexos (Christi; Harwoo, 2020; Korpak *et al.*, 2024; Liput *et al.*, 2021). Estudos apontam que a ação desses mediadores lipídicos não apenas modula a inflamação, mas também exerce papel determinante na proteção cardiovascular, regulação da pressão arterial, controle do metabolismo lipídico e prevenção da disfunção endotelial. Em populações idosas, os efeitos neuroprotetores e antioxidantes dos LC-PUFA contribuem para a preservação da função cognitiva e a atenuação dos processos degenerativos associados ao envelhecimento (Calder, 2022a; Liput *et al.*, 2021; Simopoulos, Artemis P., 2020).

Os LC-PUFA, desempenham um papel determinante na fisiopatologia e no manejo terapêutico das doenças metabólicas, incluindo resistência à insulina, obesidade e regulação do metabolismo energético (Calder, 2015b; Khan *et al.*, 2023). Esses lipídios modulam a sinalização celular em nível molecular, influenciando cascatas como as vias do receptor ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR- $\alpha$  e PPAR- $\gamma$ ), a via NF- $\kappa$ B e a sinalização mediada por adipocinas, resultando na atenuação do estado inflamatório crônico que caracteriza a resistência insulínica (Fedullo *et al.*, 2021; Feng *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2020; Romacho *et al.*, 2015). Os efeitos benéficos incluem ainda a ativação da AMPK, inibição da lipogênese hepática e estímulo à diferenciação de adipócitos bege, o

que contribui para a termogênese adaptativa e controle da adiposidade visceral (Flachs *et al.*, 2013; Kalupahana; Goonapienuwala; Moustaid-Moussa, 2020).

Adicionalmente, os ácidos graxos ômega-3 promovem a melhoria do perfil lipídico plasmático, a ativação da beta-oxidação mitocondrial e a indução de termogênese por meio da regulação da expressão de UCP-1 (proteína desacopladora 1) no tecido adiposo marrom, contribuindo para a redução da adiposidade e a melhora da homeostase energética (Baum *et al.*, 2015; Kalupahana; Goonapienuwala; Moustaid-Moussa, 2020; Pandurangan *et al.*, 2020; Simopoulos, Artemis, 2016b). A influência desses lipídios em órgãos metabolicamente ativos, como fígado, músculo esquelético e tecido adiposo, evidencia seu potencial terapêutico multifacetado na mitigação das disfunções metabólicas complexas associadas à obesidade e diabetes tipo 2. Entretanto, a heterogeneidade interindividual na resposta a esses compostos destaca a necessidade de abordagem personalizada, levando em conta polimorfismos genéticos e o microbioma intestinal como moduladores-chave da eficácia terapêutica (Berger *et al.*, 2017).

Além disso, evidências acumuladas sugerem que os LC-PUFA modulam positivamente processos associados ao envelhecimento, como estresse oxidativo, inflamação crônica de baixo grau (inflammaging) e perda de massa muscular. O EPA e o DHA promovem a expressão de genes antioxidantes e a preservação da integridade mitocondrial, contribuindo para a manutenção da funcionalidade celular em idosos (Azzolino *et al.*, 2024; Crivelli *et al.*, 2020; Qiu, Xiaorou *et al.*, 2024). Modelos experimentais também indicam que a suplementação com n-3 pode retardar a sarcopenia e o declínio cognitivo.

#### 4.7 EFEITOS ADVERSOS NA SAÚDE HUMANA

Os LC-PUFA, apresentam elevada suscetibilidade à oxidação lipídica em virtude da presença de múltiplas ligações duplas em sua estrutura molecular (Figura 15). Tal característica confere instabilidade química, tornando-os particularmente vulneráveis à degradação quando expostos a agentes ambientais como oxigênio, radiação luminosa, variações térmicas e íons metálicos catalíticos (Beltrame *et al.*, 2023; Christi; Harwoo, 2020; Klooster; Schroën; Berton-Carabin, 2023). A oxidação lipídica culmina na formação de produtos secundários altamente reativos, incluindo hidroperóxidos e aldeídos, os quais podem comprometer a integridade funcional dos lipídios e exercer efeitos citotóxicos e pró-inflamatórios. Dessa forma, a mitigação da oxidação é

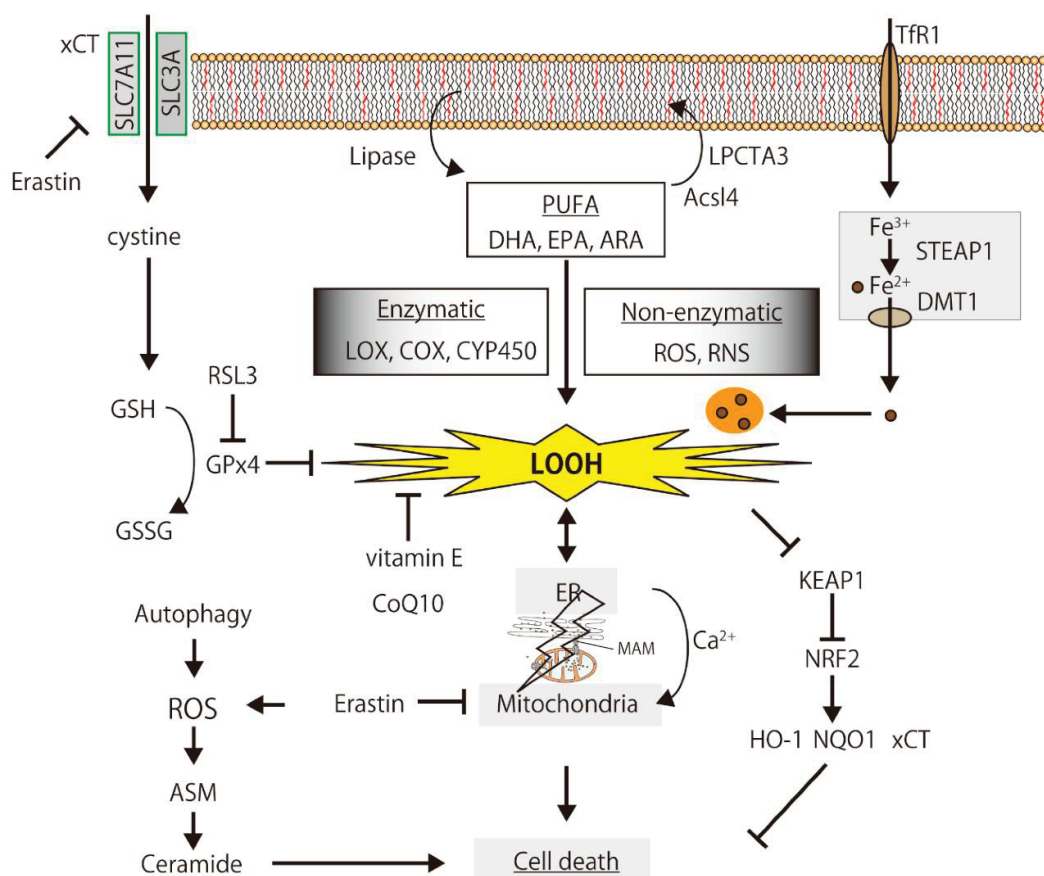
imprescindível para a preservação da estabilidade, segurança e eficácia dos ácidos graxos em formulações terapêuticas (Dellarosa *et al.*, 2015; Demets *et al.*, 2023; Nogueira *et al.*, 2019).

A degradação dos LC-PUFA é modulada por múltiplos fatores físico-químicos que aceleram os processos de oxidação lipídica e comprometem a integridade estrutural desses compostos. A exposição à radiação luminosa, particularmente na faixa do ultravioleta, induz a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), promovendo a peroxidação das ligações insaturadas (Dellarosa *et al.*, 2015; Mattioli *et al.*, 2022; Migliaccio *et al.*, 2019; Qiu, Baiyu *et al.*, 2024). A elevação da temperatura atua como catalisador, intensificando a cinética das reações oxidativas e facilitando a geração de radicais livres. A presença de oxigênio molecular representa o agente oxidante primário, que interage diretamente com as duplas ligações dos ácidos graxos, desencadeando cadeias reativas que culminam na decomposição lipídica (Ali *et al.*, 2019; Runeberg *et al.*, 2023). Além disso, variações no pH do meio podem alterar o estado ionizável dos lipídios e influenciar a velocidade das reações químicas envolvidas, afetando a estabilidade e a solubilidade dos ácidos graxos (Chen *et al.*, 2022; Suyuti; Hendradi; Purwanti, 2023). A convergência desses fatores configura um cenário desafiador para a preservação da estabilidade e funcionalidade dos ácidos graxos em sistemas farmacêuticos e nutracêuticos (Dellarosa *et al.*, 2015; Demets *et al.*, 2023; Nogueira *et al.*, 2019).

A peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados resulta na geração de uma variedade de produtos de oxidação secundários, incluindo hidroperóxidos lipídicos, aldeídos reativos, cetonas e epóxidos, os quais exibem elevada reatividade química (Christi; Harwoo, 2020; Klooster; Schroën; Berton-Carabin, 2023). Estes metabólitos oxidados interagem covalentemente com macromoléculas celulares essenciais, como proteínas, fosfolipídios e ácidos nucleicos, desencadeando danos bioquímicos e estruturais que comprometem a funcionalidade celular (Biobaku *et al.*, 2019a; Chaudhary *et al.*, 2023; Ucar *et al.*, 2019). A acumulação crônica desses produtos promove disfunção mitocondrial, desequilíbrio redox e amplificação da resposta inflamatória sistêmica, fatores que contribuem para a progressão de patologias complexas, tais como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e metabólicas (Gonzalez *et al.*, 2020; Jiang; Liu; Li, 2021a). Adicionalmente, a formação desses compostos compromete as propriedades organolépticas e a estabilidade nutricional das formulações, impactando negativamente

sua eficácia terapêutica e segurança toxicológica (Ali *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2022; Dellarosa *et al.*, 2015; Runeberg *et al.*, 2023; Suyuti; Hendradi; Purwanti, 2023).

**Figura 15** – Mecanismo de morte celular envolvidos na morte celular



**Legenda:** vias de morte celular programada dependente de ferro (ferroptose). Os PUFA, como DHA, EPA e AA, incorporados na membrana celular, são oxidados em hidroperóxidos lipídicos (LOOH) por processos enzimáticos (LOX, COX, CYP450) ou não-enzimáticos (ROS, RNS). A acumulação de LOOH leva à morte celular. A GPx4 (Glutathione Peroxidase 4) é a enzima central de defesa, que utiliza GSH para neutralizar LOOH. A entrada de cistina via xCT (SLC7A11) é crucial para manter os níveis de GSH. A ferroptose é exacerbada pelo acúmulo de ferro (Fe<sup>2+</sup>) e inibida por antioxidantes como a vitamina E e CoQ10, e pela via de transcrição NRF2-HO-1/NQO1. O bloqueio da via xCT pela Erastin induz a ferroptose. **Fonte:** (Iuchi; Takai; Hisatomi, 2021).

No entanto, alguns autores apontam que a ingestão de n-3 em excesso pode acarretar prejuízos similares àqueles decorrente das altas concentrações n-6 presentes nas dietas ocidentais modernas, como aumento dos processos inflamatórios e danos oxidativos, ganho de peso e alterações metabólicas e estruturais (Bianconi *et al.*, 2018b; Church *et al.*, 2010b). Já estão presentes na literatura alguns trabalhos que mostram a redução do efeito potencial benéfico da suplementação com EPA e DHA em doses acima de 4 e 6 g/dia em humanos com relação ao risco de doenças cardiovasculares (Rizos et

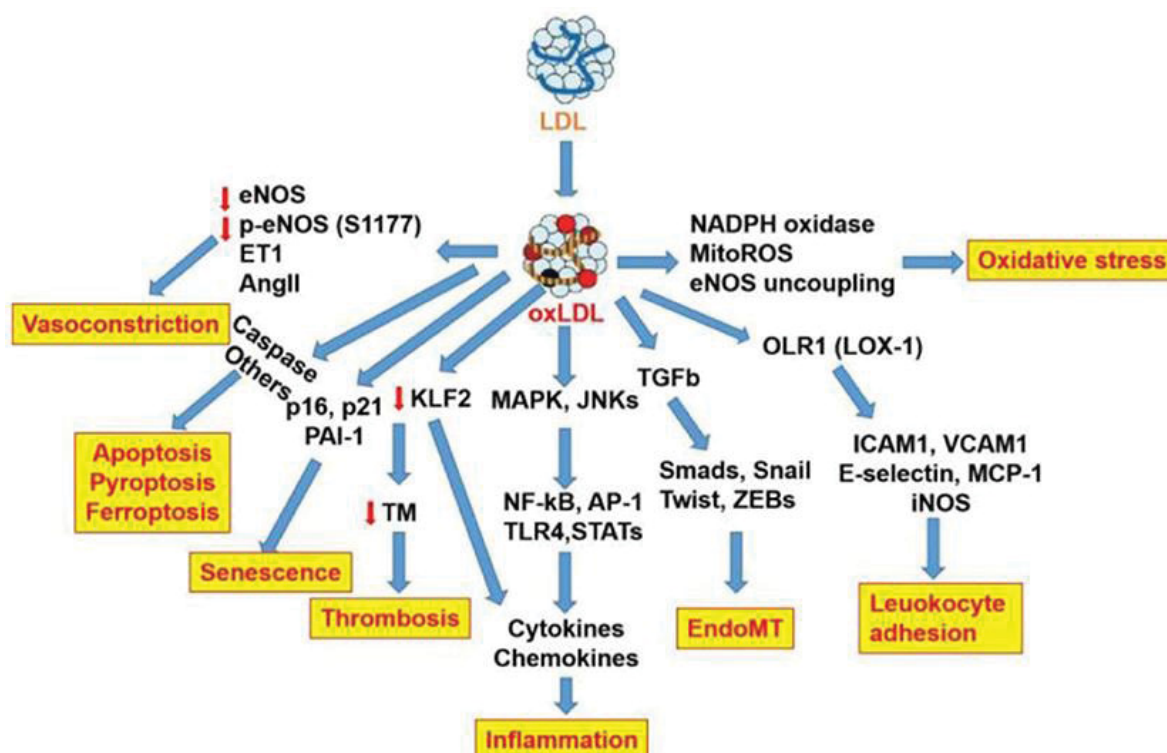
al., 2012; Zhu; Bo; Liu, 2019), pressão arterial (Zhang et al., 2022) e diabetes (Hu, Mingyuan et al., 2022). Com relação ao diabetes, outros estudos demonstraram efeitos controversos no aumento progressivo das doses de suplementação com ômega 3. Em populações orientais há redução da incidência, enquanto em populações americanas o aumento na suplementação é acompanhado pelo aumento de diabetes e síndrome metabólica (Neuenschwander et al., 2020). Há também indícios de que o excesso de n-3 possa induzir peroxidação lipídica, especialmente quando a ingestão de antioxidantes é insuficiente, exacerbando o estresse oxidativo sistêmico (Sherratt et al., 2021).

A regulamentação relativa às dosagens específicas de ácidos graxos n-6 e n-3 em suplementos nutricionais apresenta-se ainda fragmentada e pouco rigorosa em nível global, o que gera implicações clínicas relevantes (Uriho *et al.*, 2019b; Zhu; Bo; Liu, 2019b). Diferentes agências reguladoras adotam critérios heterogêneos para a recomendação e controle das concentrações de EPA e DHA em formulações comerciais, refletindo a complexidade inerente à avaliação de sua biodisponibilidade, eficácia e segurança (Hooper *et al.*, 2019; Sioen *et al.*, 2017b). Essa ausência de padronização dificulta a prescrição precisa e a monitoração terapêutica, aumentando o risco de subdosagem, que pode comprometer os efeitos benéficos desejados, ou sobredosagem, que está associada a potenciais efeitos adversos, como alterações na coagulação sanguínea e interações medicamentosas. Ademais, a variabilidade na qualidade e na concentração dos suplementos disponíveis no mercado impõe desafios adicionais à prática clínica, enfatizando a necessidade urgente de protocolos regulatórios mais robustos e uniformes para garantir a segurança, a eficácia e a consistência terapêutica dos ácidos graxos ômega-3 em aplicações nutricionais e farmacêuticas (Anthony *et al.*, 2024; Hands; Frame, 2024; Radcliffe *et al.*, 2016).

O consumo excessivo ou desequilibrado de ácidos graxos, particularmente dos LC-PUFA n-3 e n-6, pode ocasionar efeitos adversos clínicos significativos que comprometem a homeostase fisiológica e a integridade funcional dos sistemas biológicos. Estudos demonstram que altas doses de n-3, sobretudo EPA e DHA, promovem inibição da agregação plaquetária por modulação da via do ácido araquidônico, resultando em aumento do tempo de sangramento e risco potencial de eventos hemorrágicos, especialmente em indivíduos submetidos a terapias anticoagulantes ou com distúrbios hemostáticos pré-existent (Golanski; Szymanska; Rozalski, 2021; Javaid *et al.*, 2024; Wachira; Larson; Harris, 2014). Além disso, o desequilíbrio na razão n-6/n-3 pode

interferir na regulação imunológica, afetando a produção de mediadores inflamatórios e imunomoduladores, o que pode levar tanto à imunossupressão quanto a respostas inflamatórias exacerbadas, contribuindo para a susceptibilidade a infecções e disfunções autoimunes (Liput *et al.*, 2021; Neuenschwander *et al.*, 2020b). Interações medicamentosas também têm sido documentadas, sobretudo envolvendo antiagregantes plaquetários, anticoagulantes e imunossupressores, exigindo monitoramento rigoroso em contextos clínicos (Gross *et al.*, 2017; Javaid *et al.*, 2024).

**Figura 16** – Vias de sinalização mediadas por oxLDL



**Legenda:** A oxidação da LDL no subendotélio inicia múltiplas vias que levam à disfunção vascular e aterosclerose. A oxLDL é gerada a partir da LDL através do estresse oxidativo (via NADPH oxidase, MitoROS e desacoplamento da eNOS). Uma vez formada, a oxLDL ativa diversas cascatas: 1. A ligação ao receptor OLR1 (LOX-1) leva à adesão de leucócitos (via ICAM1, VCAM1, MCP-1 e iNOS). 2. A oxLDL induz vasoconstrição através da diminuição da eNOS e do aumento de ET1/AngII. 3. A ativação de vias como TGFβ (via Smads, Snail, Twist, ZEBs) promove a transição endotélio-mesenquimal (EndoMT). 4. A oxLDL ativa as vias MAPK e JNKs, culminando na liberação de citocinas e quimiocinas, induzindo inflamação (via NF-κB, AP-1). 5. A oxLDL promove a senescência (via p16/p21 e PAI-1) e a trombose (via redução de TM e KLF2). 6. Finalmente, a oxLDL ativa caspases, levando à apoptose, à piroptose e à ferroptose.

**Fonte:** (Jiang *et al.*, 2022).

A toxicidade relacionada ao consumo excessivo de LC-PUFA (Figura 16) manifesta-se por alterações adversas no perfil lipídico, incluindo aumento das lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (LDL<sub>ox</sub>), que são reconhecidas como fatores

pró-aterogênicos críticos ao promover estresse oxidativo, disfunção endotelial e inflamação vascular crônica (Findeisen *et al.*, 2022; Hajri, 2018; Poznyak *et al.*, 2021). A ingestão desbalanceada entre n-6 e n-3 pode comprometer a síntese fisiológica de eicosanoides derivados de AA e de EPA, desregulando a resposta inflamatória e favorecendo estados pró-inflamatórios persistentes que influenciam negativamente o metabolismo sistêmico (Calder, 2022a; Liput *et al.*, 2021; Simopoulos, Artemis P., 2020; Yang *et al.*, 2023a). A literatura também evidencia que o excesso pode alterar a fluidez das membranas celulares e modular negativamente receptores nucleares envolvidos na homeostase metabólica, como os PPARs, amplificando os riscos metabólicos e cardiovasculares (Ahmadi *et al.*, 2023; Sherratt *et al.*, 2021).

Considerando a heterogeneidade interindividual na absorção, metabolismo e efeitos farmacodinâmicos dos LC-PUA, a monitorização clínica individualizada é crucial para a segurança e eficácia do tratamento. A avaliação periódica de biomarcadores lipídicos, parâmetros de coagulação, marcadores inflamatórios e função imunológica permite ajustes precisos das doses, minimizando riscos e potencializando benefícios terapêuticos. Ademais, a avaliação do equilíbrio da razão n-6/n-3 e do status antioxidante sistêmico auxilia na otimização da terapia, prevenindo complicações associadas ao estresse oxidativo e à disfunção metabólica. Assim, a personalização do tratamento com ácidos graxos ômega emerge como um requisito indispensável para o uso seguro e efetivo desses compostos na prática clínica contemporânea (Berger *et al.*, 2017; Shafi Bhat *et al.*, 2024; Tseng *et al.*, 2025).

A ingestão de EPA e DHA acima de 3 g/dia requer monitoramento clínico rigoroso, uma vez que doses elevadas podem transitar da faixa terapêutica para níveis associados a efeitos adversos. Quando a suplementação ultrapassa 4–6 g/dia, os benefícios cardiovasculares observados em doses moderadas tendem a se estabilizar e, em alguns casos, podem até se reverter, refletindo um efeito de platô ou sobrecarga lipídica. Entre os riscos potenciais associados a essa suplementação excessiva destacam-se o aumento do tempo de sangramento devido à inibição da agregação plaquetária, a modificação da fluidez das membranas celulares que altera a função de receptores nucleares e canais iônicos, e a elevação das lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (LDLox), fatores que podem contribuir para estresse oxidativo vascular, disfunção endotelial e maior propensão a eventos trombóticos e hemorrágicos (Church *et al.*, 2010b; Dennis, 2015; Hammond; Burke, 2020; Kaffe *et al.*, 2024; Wymann; Schneider, 2008).

Esses efeitos adversos indicam que a administração de LC-PUFA deve ser cuidadosamente ajustada à fisiologia individual e ao estado clínico do paciente, considerando fatores como polimorfismos genéticos, status antioxidante, função hepática e cardiovascular, bem como interações com medicamentos anticoagulantes ou antiagregantes. A atenção à razão n-6/n-3 e à qualidade do suplemento é igualmente essencial para minimizar riscos metabólicos, imunológicos e cardiovasculares. Dessa forma, a definição de limites seguros e a personalização das doses tornam-se estratégias centrais para maximizar os efeitos benéficos dos ácidos graxos n-3, evitando a indução de disfunções celulares e sistêmicas associadas à sua suplementação excessiva (De Caterina; Madonna, 2018; Hajeyah *et al.*, 2020; Iuchi; Takai; Hisatomi, 2021; Jiang *et al.*, 2022).

#### 4.8 LIPÍDIOS COMO DISRUPTORES ENDÓCRINOS

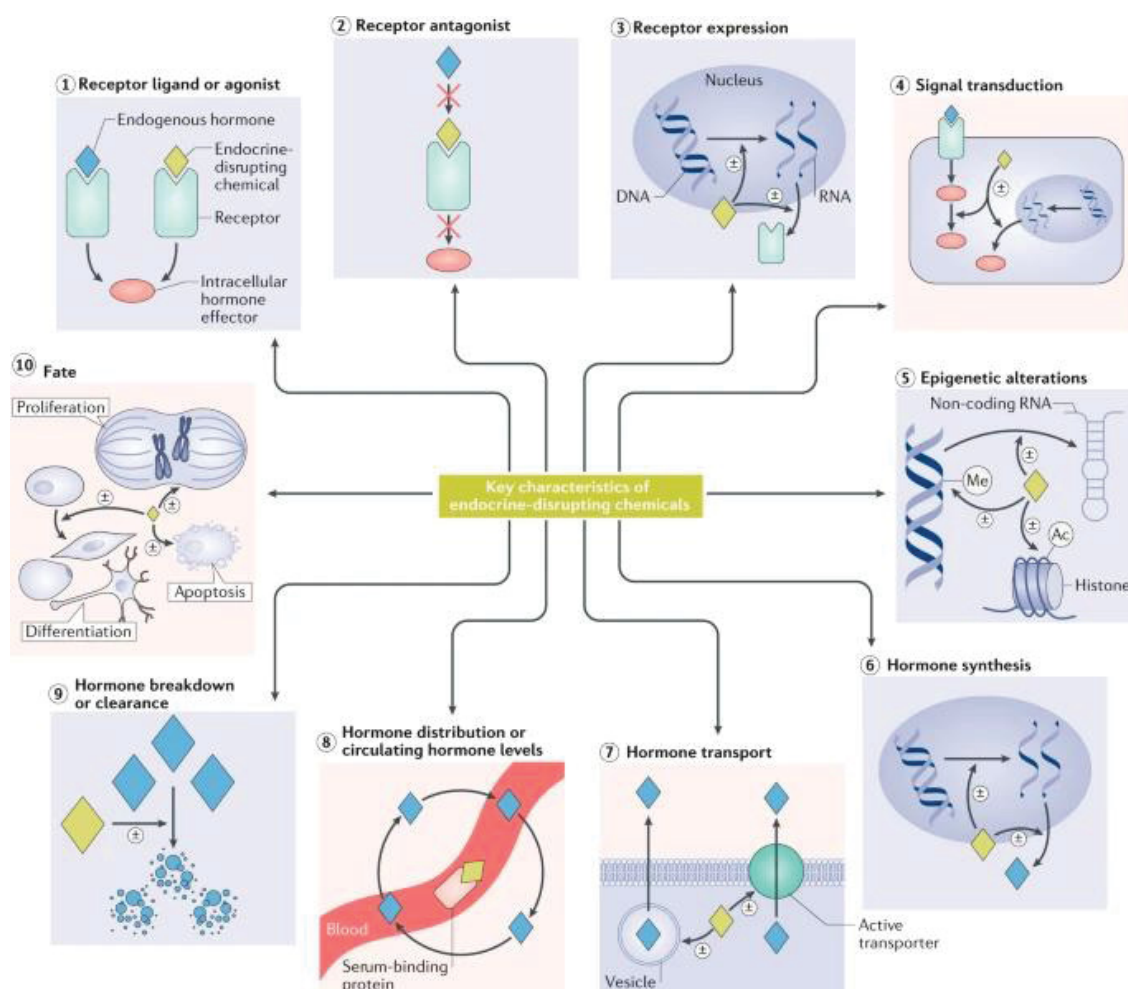
A crescente compreensão da interface entre lipídios oxidados e sinalização hormonal tem revelado um eixo de perturbação endócrina intimamente vinculado ao metabolismo lipídico celular. As espécies oxidadas derivadas de ácidos graxos poli-insaturados, em especial aldeídos reativos e oxilipinas eletrofilicas, não apenas alteram a integridade estrutural das membranas, mas também interagem diretamente com receptores nucleares e fatores de transcrição hormonossensíveis. Essa reatividade confere aos lipídios um papel paradoxal: ao mesmo tempo em que constituem mediadores metabólicos essenciais, tornam-se moduladores atípicos do sistema endócrino, capazes de interferir na homeostase esteroideal, tireoidiana e glicídica. O ambiente intracelular, sob estresse oxidativo persistente, favorece a formação de adutos lipoperoxídicos com proteínas regulatórias, afetando sensores redox e cofatores envolvidos na expressão gênica dependente de hormônios. Esse processo não se restringe à toxicidade celular direta, mas reverbera sobre a arquitetura de sinalização interorgânica, deslocando o eixo metabólico para um estado de desregulação endócrino-inflamatória crônica (Ağagündüz *et al.*, 2024; Alotaibi, 2024; Du *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021).

Entre os mecanismos centrais dessa disrupção, destaca-se a interferência lipídica sobre a rede de receptores nucleares, incluindo PPARs, LXRs, RXRs, CAR e PXR, cuja ativação é sensível à presença de ligantes lipofílicos endógenos. Espécies oxidadas derivadas de PUFA competem com ligantes fisiológicos, alterando a dinâmica conformacional desses receptores e, consequentemente, o recrutamento de coativadores

e correpressores transcricionais. Tal modulação indevida reverbera em cascatas metabólicas que envolvem a expressão de genes lipogênicos, gliconeogênicos e esteroidogênicos. Em hepatócitos, por exemplo, o excesso de oxilipinas pode estimular de modo aberrante vias de PPAR $\alpha$  e LXR, amplificando a síntese de lipídios e promovendo resistência insulínica. Em tecidos esteroidogênicos, como adrenais e gônadas, a ativação desbalanceada de PPAR $\gamma$  e RXR compromete a esteroidogênese, redirecionando o fluxo de colesterol e alterando a disponibilidade de pregnenolona e andrógenos. Dessa forma, o acúmulo de espécies lipídicas oxidadas e seus produtos secundários não apenas reflete o estado redox, mas adquire caráter sinalizador patológico, atuando como mediadores de disfunção endócrino-metabólica (Davies *et al.*, 2001; Delerive *et al.*, 2000; Handschin; Meyer, 2005; Nunn; Bell; Barter, 2007; Rakateli; Huchzermeier; van der Vorst, 2023).

O impacto endócrino dos lipídios oxidados transcende a regulação imediata da expressão gênica e alcança o domínio epigenético, onde promove alterações persistentes na programação celular (Figura 17). A exposição crônica a espécies lipídicas reativas durante fases críticas do desenvolvimento induz modificações em padrões de metilação do DNA, remodelamento de histonas e perfis de microRNAs associados à homeostase metabólica e à sinalização hormonal. A modulação epigenética de genes controlados por PPARs, GR (receptor de glicocorticoides) e ER (receptores de estrogênio) é particularmente sensível a variações na composição lipídica materna, de modo que o excesso de ácidos graxos altamente insaturados e seus produtos oxidativos pode reconfigurar de forma duradoura o metabolismo energético da prole. Esses ajustes, que em um contexto adaptativo poderiam otimizar a sobrevivência, tornam-se patológicos em ambientes pós-natais de abundância calórica, contribuindo para a emergência de fenótipos metabólicos desbalanceados, incluindo resistência à insulina, hiperlipidemia e disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Chung; Kim, 2024; Fradin; Bougnères, 2014; González-Becerra *et al.*, 2019; Hajri *et al.*, 2021; Mostafavi Abdolmaleky; Zhou, 2024).

**Figura 17** – As principais características das substâncias químicas que perturbam o sistema endócrino.

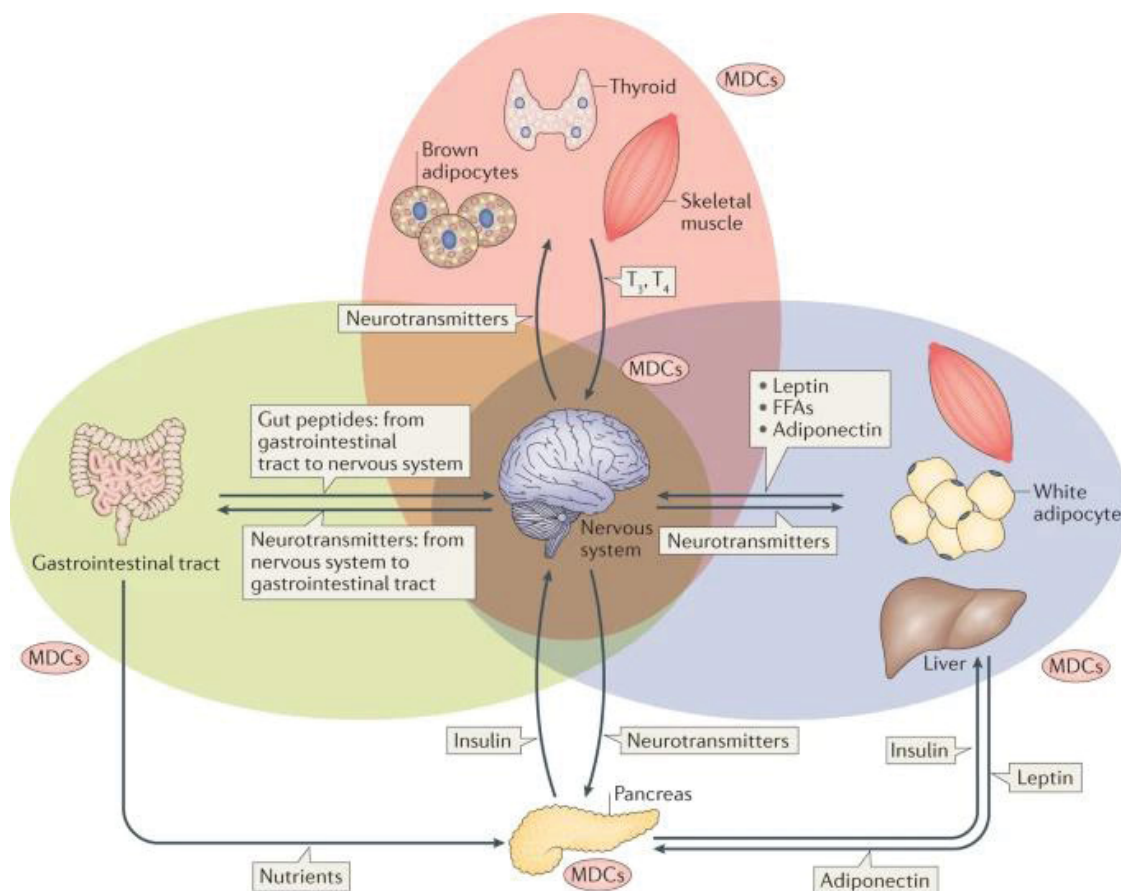


**Legenda:** As setas identificam as dez características-chave específicas (CCs) dos disruptores endócrinos (DEs). O símbolo  $\pm$  indica que um DE pode aumentar ou diminuir processos e efeitos. A CC1 afirma que um DE pode interagir com ou ativar receptores hormonais. A CC2 afirma que um DE pode antagonizar receptores hormonais. A CC3 afirma que um DE pode alterar a expressão de receptores hormonais. A CC4 afirma que um DE pode alterar a transdução de sinal (incluindo alterações na expressão de proteínas ou RNA, modificações pós-traducionais e/ou fluxo iônico) em células responsivas a hormônios. A CC5 afirma que um DE pode induzir modificações epigenéticas em células produtoras ou responsivas a hormônios. A CC6 afirma que um DE pode alterar a síntese hormonal. A CC7 afirma que um DE pode alterar o transporte de hormônios através das membranas celulares. A CC8 afirma que um DE pode alterar a distribuição hormonal ou os níveis de hormônios circulantes. A CC9 afirma que um DE pode alterar o metabolismo ou a depuração hormonal. A CC10 afirma que um DE pode alterar o destino de células produtoras ou responsivas a hormônios. As ações dos DEs representadas incluem amplificação e atenuação de efeitos. Ac, grupo acetil; Me, grupo metil. **Fonte:** (La Merrill *et al.*, 2020).

No sistema neuroendócrino, a ação disruptiva dos lipídios manifesta-se pela interferência na integração central de sinais metabólicos e hormonais. A incorporação excessiva de PUFA e derivados oxidados nas membranas neuronais altera a microviscosidade sináptica e modifica a dinâmica de receptores acoplados a proteína G, canais iônicos e transportadores de neurotransmissores, afetando a transmissão serotoninérgica, dopaminérgica e noradrenérgica. Essas alterações perturbam a sinalização hipotalâmica responsável pela regulação do apetite, do gasto energético e da liberação de hormônios tróficos. A ativação aberrante de receptores nucleares lipofílicos em neurônios hipotalâmicos, particularmente PPAR $\gamma$  e LXR, compromete o feedback entre leptina, insulina e grelina, desorganizando o controle neuroendócrino da homeostase energética. Além disso, a peroxidação lipídica mitocondrial no tecido neural amplifica a produção de ROS e compromete o acoplamento redox, intensificando o dano oxidativo e desencadeando vias apoptóticas e ferroptóticas em neurônios sensíveis à modulação hormonal, como os que regulam o eixo gonadotrófico e tireoidiano (Hajri *et al.*, 2021; Maciejczyk *et al.*, 2018; Petrovic *et al.*, 2020; Sarruf *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2019).

O excesso de lipídios altamente insaturados e suas oxidações não apenas altera a função neuronal, mas exerce efeitos profundos sobre o sistema imunológico, modulando respostas celulares e humorais de forma complexa. A competição entre PUFA n-3 e n-6 pelas vias enzimáticas de COX e LOX altera o perfil de eicosanoides produzidos, resultando em uma supressão parcial da sinalização pró-inflamatória. Embora a redução da inflamação possa ser inicialmente protetora, a exposição crônica a altas concentrações de mediadores anti-inflamatórios e oxylipinas leva à atenuação da ativação de macrófagos, diminuição da quimiotaxia neutrofílica, redução na maturação de células dendríticas e comprometimento da produção de citocinas centrais, incluindo IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . Consequentemente, o equilíbrio homeostático do sistema imune é desestabilizado, aumentando a susceptibilidade a infecções oportunistas e diminuindo a eficácia de respostas vacinais, particularmente em indivíduos com função imune já comprometida ou em fases críticas do desenvolvimento (Liput *et al.*, 2021; Pauls *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2007; Zaloga, 2021; Zeyda *et al.*, 2005).

**Figura 18**– Órgãos afetados por substâncias químicas que perturbam o metabolismo.



**Legenda:** A homeostase energética depende do controle da ingestão e do gasto energético. Substâncias químicas que perturbam o metabolismo (MDCs) alteram diretamente a ingestão de energia, modulando o comportamento neuronal responsável pela ingestão de alimentos. Indiretamente, as MDCs perturbam o transporte epitelial no intestino e a composição da microbiota, o que pode alterar os níveis séricos de nutrientes. Além disso, as MDCs alteram a biossíntese e, provavelmente, também a liberação de peptídeos intestinais, que regulam a ingestão de alimentos e o balanço energético. As MDCs também afetam a liberação de insulina pelas células  $\beta$ , impactando tanto a ingestão quanto o armazenamento de energia. O armazenamento de energia pode ser prejudicado como consequência da ação das MDCs no cérebro, músculo esquelético, tecido adiposo branco e fígado. A perturbação da sinalização da insulina nesses órgãos ou a ação direta das MDCs sobre eles interfere na produção e secreção de importantes moléculas sinalizadoras, incluindo ácidos graxos livres (AGLs) e leptina, que desempenham papéis importantes no pâncreas endócrino e no cérebro. O gasto energético é prejudicado pelas MDCs que atuam diretamente na glândula tireoide, modificando os níveis séricos de  $T_3$  e  $T_4$ , e por aquelas que alteram a função mitocondrial no músculo esquelético e no tecido adiposo marrom. **Fonte:** (Nadal et al., 2017).

A interface entre imunidade e regulação endócrina é intensamente afetada pela exposição excessiva a lipídios oxidativos (Figura 18). A sinalização aberrante de PPARs, LXR e RXR em linfócitos, células dendríticas e hepatócitos remodela a secreção de adipocinas e hormônios inflamatórios, modulando diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal. Alterações na liberação de cortisol, leptina e adiponectina impactam tanto a regulação do

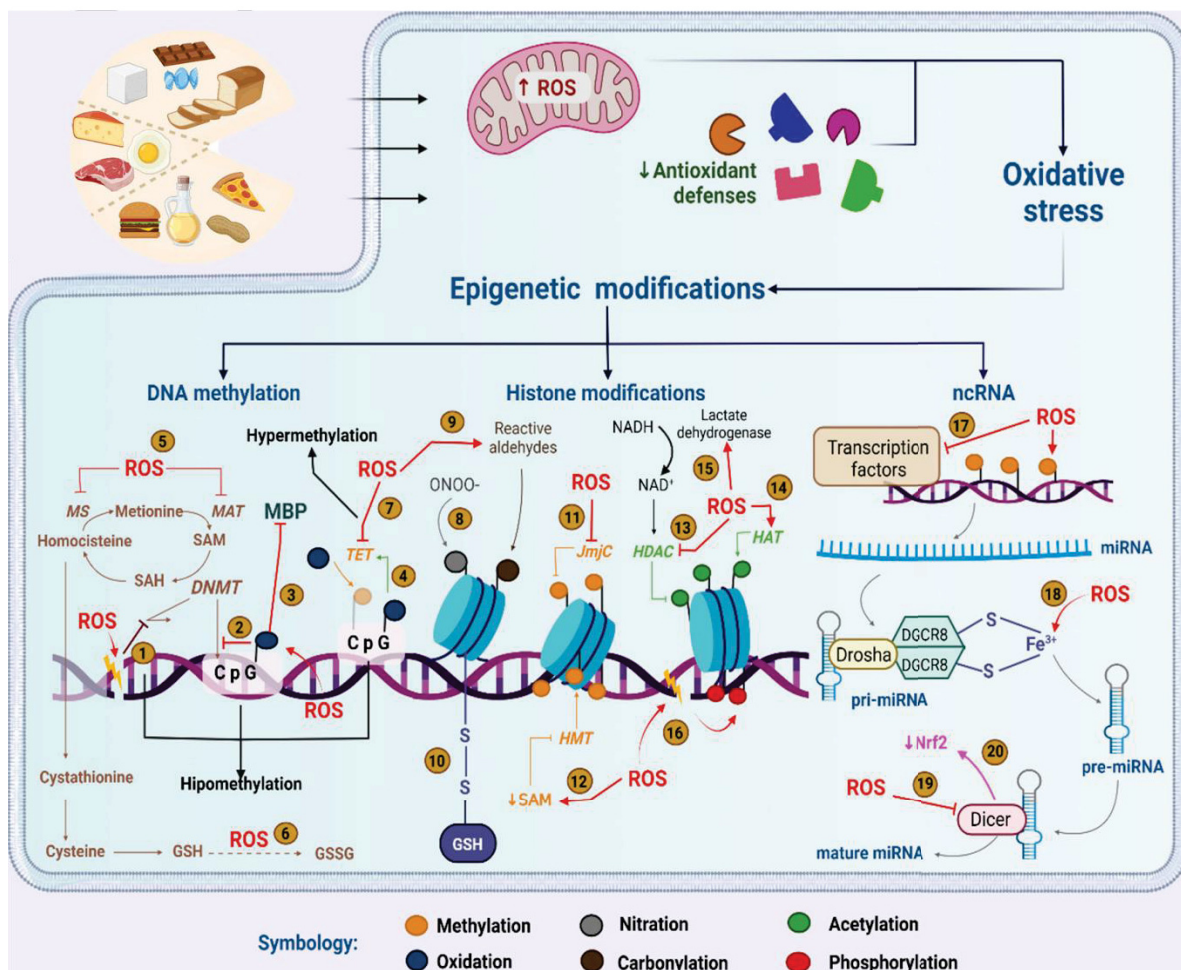
metabolismo energético quanto a resposta imune adaptativa, criando um ciclo de retroalimentação no qual disfunções endócrinas exacerbam imunossupressão e vice-versa. A exposição contínua a produtos lipídicos oxidados em períodos perinatais ou durante o crescimento infantil pode reprogramar o desenvolvimento do sistema imune e metabólico, promovendo fenótipo de baixa resistência a estresses oxidativos, disfunção mitocondrial e maior predisposição a doenças metabólicas, autoimunes e inflamatórias crônicas na vida adulta (Grabacka *et al.*, 2021; Hong; Tontonoz, 2008; Kidani; Bensinger, 2012; Yoshikawa *et al.*, 2003).

A incorporação excessiva de PUFA oxidados nas membranas neuronais e musculares altera drasticamente a microviscosidade lipídica, modulando a excitabilidade elétrica, o potencial de membrana e a propagação de potenciais de ação. Essa desestabilização da bicamada fosfolipídica interfere na sinalização sináptica dopaminérgica, serotoninérgica e glutamatérgica, prejudicando a plasticidade neuronal, a transmissão sináptica e a integração sensorio-motora. O estresse oxidativo induzido por peróxidos lipídicos aumenta a vulnerabilidade mitocondrial, compromete a produção de ATP e eleva a geração de espécies reativas de oxigênio, criando um ciclo de dano redox que afeta neurônios, fibras musculares esqueléticas e cardiomiócitos. Consequentemente, funções motoras finas, coordenação, resistência muscular e regulação autonômica podem ser comprometidas, especialmente em tecidos com alta demanda metabólica, como córtex, hipocampo, músculo esquelético e cardíaco (Di Miceli; Bosch-Bouju; Layé, 2020; Mollica *et al.*, 2021; Tigerholm *et al.*, 2012; Vásquez *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2020).

Nos tecidos reprodutivos, a oxidação lipídica exacerba a peroxidação das membranas gonadais (Figura 19), alterando esteroidogênese e sinalização nuclear mediada por PPARs, LXR e RXR. Nos testículos, a peroxidação de fosfolipídios plasmáticos reduz a motilidade espermática, altera a morfologia do espermatozoide e interfere na espermatogênese, enquanto nos ovários promove anovulação, disfunção folicular e alterações na qualidade oocitária. Além disso, as oxylipinas e aldeídos reativos podem mimetizar ou antagonizar estrogênios e andrógenos, interferindo na regulação hipotalâmico-hipofisária e na secreção de LH e FSH, impactando a fertilidade e a função gonadal. Paralelamente, desequilíbrios metabólicos induzidos por PUFA oxidativos afetam a homeostase hepática e adipocitária, modulando resistência insulínica, sinalização de leptina e adiponectina, evidenciando que os efeitos disruptivos desses lipídios transcendem a esfera sexual e incluem ampla disfunção metabólica

sistêmica (Agarwal *et al.*, 2012; Agarwal; Gupta; Sharma, 2005; Debbbarh *et al.*, 2021; Mohasseb *et al.*, 2011; Olaniyi *et al.*, 2021; Peltola *et al.*, 1996; Santoro *et al.*, 2020).

**Figura 19** – O papel do estresse oxidativo nas modificações epigenéticas induzidas por poluentes ambientais.



**Legenda:** As espécies reativas de oxigênio (ROS) podem interferir na atividade das DNMTs (1), na sua capacidade de metilar citocinas (2) ou na sua ligação ao complexo MBP (3). A oxidação da guanina torna a citocina metilada mais suscetível à oxidação pelas enzimas TET (4). Além disso, as ROS esgotam o SAM por meio da oxidação de MAT e MS (5) ou pela utilização de homocisteína para regenerar GSH (6), causando hipometilação do DNA. No entanto, as ROS também podem inibir as TETs (7). O ONOO- nitrata as histonas (8), enquanto os aldeídos reativos modificam as histonas por carbonilação (9). A glutationilação é uma modificação relevante nas histonas devido ao estresse oxidativo (10). Além disso, as ROS inibem as desmetilases JmJc (11) ou atenuam a atividade das HMTs pela diminuição do SAM (12). Adicionalmente, as ROS inibem as HDACs (13) e estimulam as HATs (14). Contudo, as ROS podem ativar as HDACs por meio de um aumento nos níveis de NAD<sup>+</sup> (15). As histonas podem ser fosforiladas após danos ao DNA (16). As ROS causam desregulação de fatores de transcrição (17), síntese de pré-miRNA por interação com Fe<sup>3+</sup> (18) e inibição da atividade da Dicer, o que prejudica a maturação do miRNA (19) e os níveis de NRF2 (20). **Fonte:** (Rubio *et al.*, 2023).

#### 4.9 DOHAD E PROGRAMAÇÃO FETAL

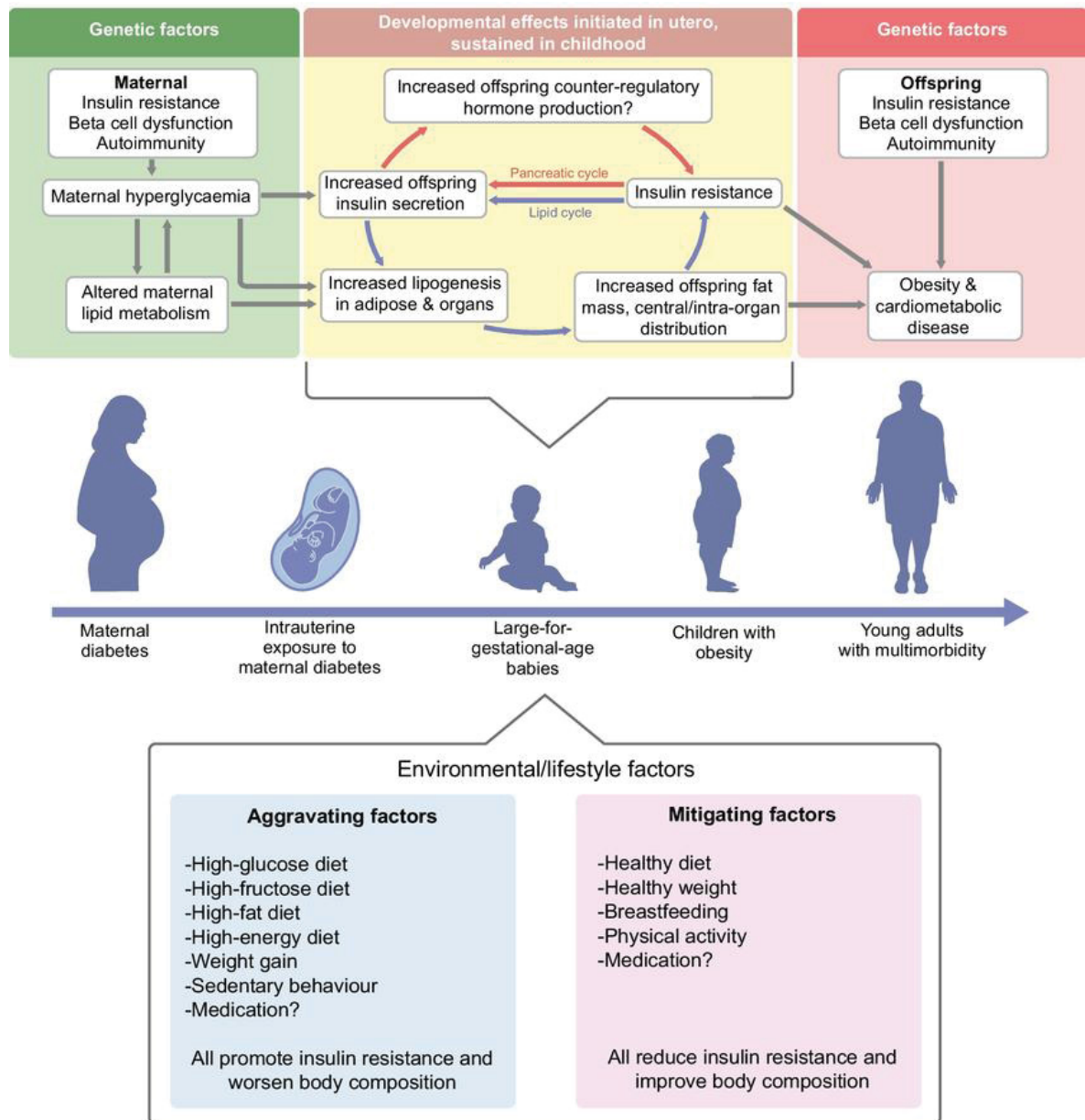
A programação fetal constitui um fenômeno biológico pelo qual o ambiente intrauterino exerce influência determinante sobre o desenvolvimento estrutural e funcional dos tecidos, modulando de forma permanente o metabolismo e a fisiologia do organismo. Durante o período gestacional, o embrião encontra-se em um estado de elevada plasticidade celular, no qual as vias de diferenciação, os eixos hormonais e os mecanismos epigenéticos são altamente sensíveis a estímulos externos. Essa susceptibilidade programadora traduz-se em uma capacidade adaptativa do feto, capaz de ajustar a expressão gênica e o perfil metabólico em resposta a sinais nutricionais, hormonais e ambientais provenientes da mãe e da placenta. Contudo, tais ajustes, embora inicialmente vantajosos para a sobrevivência intrauterina, podem resultar em descompasso metabólico quando o ambiente pós-natal diverge daquele previsto durante o desenvolvimento, predispondo a distúrbios endócrinos, cardiovasculares e metabólicos ao longo da vida. Esse princípio constitui a base conceitual do paradigma conhecido como *Developmental Origins of Health and Disease* (DOHaD), segundo o qual a etiologia de diversas doenças crônicas não transmissíveis pode ter origem em processos de adaptação fetal diante de condições ambientais adversas (Barker *et al.*, 2013; Fleming; Velazquez; Eckert, 2015; Hanson; Gluckman, 2015; Wadhwa *et al.*, 2009).

Nos estágios iniciais do desenvolvimento, particularmente durante os mil primeiros dias de vida, ocorre uma intensa atividade de proliferação, diferenciação e remodelamento celular em múltiplos tecidos. Esse intervalo representa uma janela crítica de vulnerabilidade biológica, na qual pequenas variações no suprimento de nutrientes, oxigênio e hormônios são capazes de desencadear alterações duradouras na expressão gênica, na densidade mitocondrial e na organização funcional de sistemas orgânicos. A placenta atua como interface regulatória entre o ambiente materno e o feto, integrando sinais metabólicos, imunológicos e endócrinos que coordenam o crescimento e a maturação tecidual. Interferências nesse microambiente, como variações nos gradientes de glicose, lipídios, aminoácidos ou hormônios, afetam diretamente os circuitos de sinalização que controlam a diferenciação de células progenitoras e a formação de órgãos, conduzindo a adaptações permanentes no metabolismo energético, na sensibilidade hormonal e na capacidade de resposta ao estresse oxidativo. Dessa forma, o período gestacional não apenas estabelece a base estrutural do organismo, mas também define o seu padrão de reatividade metabólica e endócrina, constituindo um determinante essencial da saúde ao longo de todo o ciclo vital (Azis *et al.*, 2023; Beluska-Turkan *et al.*, 2019; Dahlen *et al.*, 2021; Eriksson, 2016; Fall, 2013; Hoffman; Reynolds; Hardy, 2017).

Durante o desenvolvimento embrionário e fetal, o controle da expressão gênica é rigidamente coordenado por mecanismos epigenéticos que estabelecem padrões estáveis de identidade celular e regulação metabólica. A metilação de DNA, as modificações pós-traducionais de histonas e a regulação mediada por microRNAs compõem um sistema integrado de codificação bioquímica que traduz sinais ambientais em estados funcionais específicos. Esses mecanismos não alteram a sequência nucleotídica, mas modulam a acessibilidade da cromatina e, conseqüentemente, a transcrição gênica. No contexto da programação fetal, a exposição a variações nutricionais ou hormonais altera os níveis de cofatores metabólicos como S-adenosilmetionina,  $\text{NAD}^+$  e acetil-CoA, que são essenciais para as reações de metilação e acetilação de histonas. Assim, o metabolismo celular interage diretamente com o controle epigenético, permitindo que o estado energético e redox do embrião determine a estabilidade de perfis transcricionais duradouros. A hipometilação ou hipermetilação de promotores gênicos em vias relacionadas à biogênese mitocondrial, ao metabolismo lipídico ou à sensibilidade insulínica pode estabelecer predisposições metabólicas que se manifestam tardiamente como resistência à insulina, dislipidemia e disfunções endócrinas (Gluckman; Buklijas; Hanson, 2015; Indrio et al., 2017; Vickers, 2014; Waterland; Michels, 2007).

Além da regulação direta do DNA (Figura 20), o remodelamento da cromatina exerce papel fundamental na definição da plasticidade celular durante a organogênese. Enzimas como as histona acetiltransferases (HATs) e desacetilases (HDACs) respondem a variações no balanço energético, modulando a compactação da cromatina e a transcrição de genes associados ao crescimento e diferenciação tecidual. Durante a embriogênese, oscilações nos níveis de oxigênio e substratos metabólicos afetam a atividade de dioxigenases dependentes de  $\alpha$ -cetoglutarato, como as TET e as JmjC, que participam da demetilação de DNA e histonas, respectivamente. Dessa forma, o ambiente intrauterino influencia a topologia da cromatina de modo dinâmico, estabelecendo assinaturas epigenéticas específicas que persistem mesmo após o nascimento. A manutenção dessas marcas ao longo das divisões celulares garante a memória metabólica dos tecidos, fazendo com que o fenótipo fisiológico do indivíduo reflita, em parte, as condições ambientais e nutricionais experimentadas durante o desenvolvimento fetal (Corry et al., 2009; Dhat et al., 2023; Ho; Crabtree, 2010; Palini et al., 2011; Yoo; Crabtree, 2009).

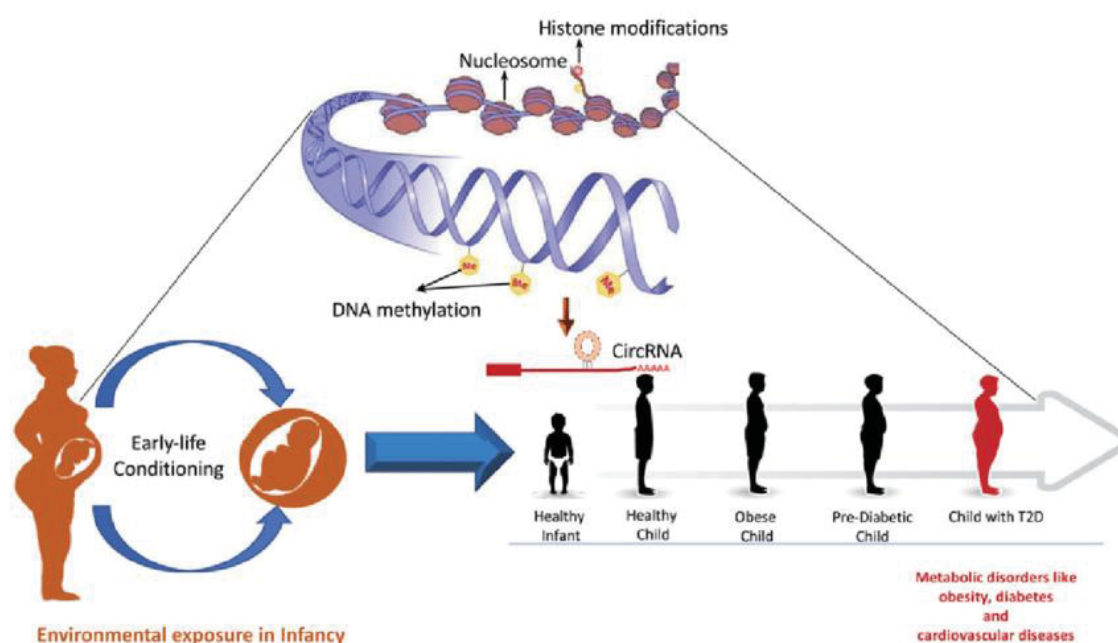
**Figura 20**– Hipótese: os efeitos do diabetes materno no desenvolvimento da obesidade infantil são parcialmente mediados por alterações no metabolismo/distribuição de lipídios e pelo aumento da função pancreática da prole desde o nascimento.



**Legenda:** Uma hipótese unificadora para o desenvolvimento de bebês grandes para a idade gestacional e obesidade infantil após exposição à hiperglicemia intrauterina. Hipótese: os efeitos do desenvolvimento da hiperglicemia materna sobre a obesidade infantil são mediados direta ou indiretamente por meio de alterações no metabolismo/distribuição lipídica da prole e aumento da função pancreática da prole desde o nascimento. Esses fatores exercem efeitos de curto prazo na composição corporal, mas também regulam cronicamente vias metabólicas importantes na vida pós-natal (o ciclo lipídico e o ciclo pancreático), resultando em obesidade e doenças cardiometabólicas. **Fonte:** (Meek, 2023).

A placenta desempenha papel central como interface metabólica e epigenética entre o organismo materno e o feto, atuando como um órgão sensor e regulador das condições ambientais intrauterinas. Sua função transcende a simples transferência de nutrientes e gases, configurando-se como um sistema de sinalização integrativo que traduz o estado fisiológico materno em respostas moleculares fetais. A atividade metabólica placentária é altamente dependente da disponibilidade de oxigênio, glicose, aminoácidos e lipídios, os quais modulam vias de sinalização sensíveis ao estado energético, como mTOR, AMPK e HIF-1 $\alpha$ . A ativação diferencial dessas vias altera a expressão de transportadores e enzimas metabólicas, ajustando o fornecimento de substratos essenciais ao crescimento fetal. Simultaneamente, a placenta secreta hormônios, citocinas e microvesículas contendo microRNAs e outros reguladores epigenéticos (Figura 21), capazes de modificar a expressão gênica fetal de forma indireta. Essa comunicação molecular estabelece uma rede bidirecional de regulação, na qual o metabolismo materno, as condições inflamatórias e o estresse oxidativo são continuamente traduzidos em sinais epigenéticos que influenciam o desenvolvimento e a programação metabólica do feto (Fowden *et al.*, 2009; Jansson; Aye; Goberdhan, 2012; Lazo-De-La-Vega-Monroy *et al.*, 2020; Nugent; Bale, 2015; Sferruzzi-Perri *et al.*, 2017).

**Figura 21** – Mecanismos epigenéticos no contexto da teoria DOHaD.

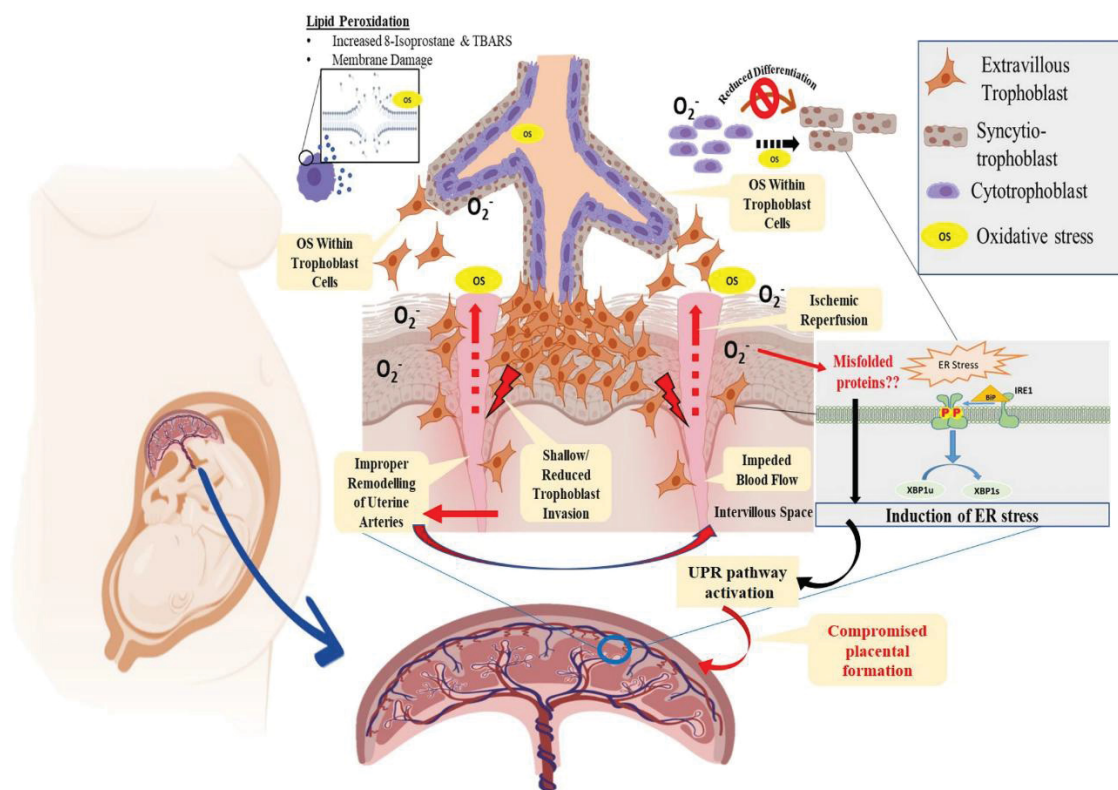


**Legenda:** Durante a gestação ou no início da vida da prole, a exposição a fatores ambientais pode levar ao estabelecimento de modificações epigenéticas, como modificações de histonas, metilação do DNA e regulação mediada por RNAs não codificantes. A persistência dessas modificações mais tarde na vida pode predispor a prole ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos, como obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares. **Fonte:** (Agarwal *et al.*, 2018).

A função mitocondrial placentária constitui um ponto crítico dessa interface, uma vez que a eficiência na produção de ATP e o controle redox determinam a homeostase bioenergética do ambiente intrauterino. Mitocôndrias placentárias apresentam dinâmica própria de biogênese e remodelamento, ajustando-se às demandas energéticas em função do crescimento fetal e da nutrição materna. O desequilíbrio entre oxidação mitocondrial e defesa antioxidante leva à formação de EROS, que, além de danificar lipídios e proteínas, atuam como segundos mensageiros capazes de induzir alterações epigenéticas persistentes. A oxidação de cofatores como NADH e FADH<sub>2</sub> influencia a razão redox celular, alterando a disponibilidade de acetil-CoA e  $\alpha$ -cetoglutarato, intermediários-chave nas reações de acetilação e desmetilação de histonas. Assim, disfunções mitocondriais placentárias modulam de forma direta a arquitetura epigenômica fetal, afetando vias de diferenciação celular, maturação de órgãos e sensibilidade a hormônios anabólicos. A correlação entre metabolismo oxidativo, sinalização redox e plasticidade epigenética evidencia a placenta como um elo essencial entre o ambiente materno e a programação metabólica transgeracional (Côté *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2020; Lien; Simmons, 2025; Lu; Sferruzzi-Perri, 2021; Salazar-Petres *et al.*, 2022).

O ambiente redox placentário exerce influência determinante sobre a eficiência metabólica, o transporte de nutrientes e a integridade estrutural da interface materno-fetal. O equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e os sistemas antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, é essencial para a manutenção da homeostase (Figura 22). A elevação fisiológica de EROS durante o desenvolvimento inicial atua como sinalizador necessário à angiogênese e à diferenciação trofoblástica; entretanto, o excesso decorrente de hipoxia, inflamação materna ou disfunção mitocondrial compromete a função das vilosidades coriônicas e desencadeia cascatas de dano oxidativo. A peroxidação lipídica, particularmente de fosfolipídios ricos em ácidos graxos poli-insaturados, altera a fluidez e a permeabilidade das membranas trofoblásticas, afetando diretamente a capacidade de transporte seletivo da placenta. Paralelamente, o acúmulo de aldeídos reativos e produtos de oxidação lipídica, como o 4-hidroxinonenal e o malondialdeído, promove modificações covalentes em proteínas de transporte e enzimas antioxidantes, amplificando o estresse oxidativo de forma autossustentada. Essa condição é frequentemente associada a restrição de crescimento intrauterino, pré-eclâmpsia e alterações epigenéticas que persistem no tecido fetal (Sferruzzi-Perri *et al.*, 2019; Vornic *et al.*, 2024a; Voros *et al.*, 2025; Wu *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2022).

**Figura 22** – Mecanismo Integrado de Estresse Oxidativo e Estresse do Retículo Endoplasmático (RE) na Patogênese da Pré-Eclâmpsia

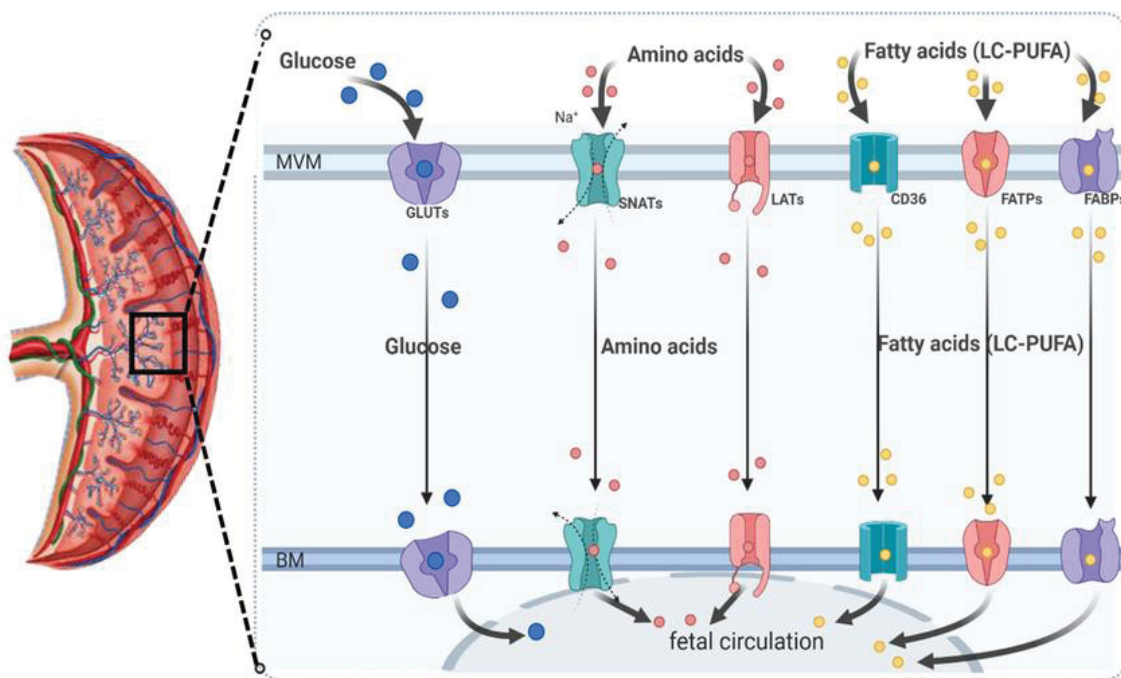


**Legenda:** Representação gráfica que ilustra a patogênese molecular mediada pelo estresse oxidativo na pré-eclâmia, onde espécies reativas de oxigênio (ROS) são geradas como consequência da lesão de isquemia-reperfusão no compartimento feto-materno, originada pela invasão superficial das células do trofoblasto. Isso leva a uma remodelação inadequada das artérias espirais uterinas, hipóxia e um programa anormal de invasão e diferenciação do trofoblasto. A geração de ROS induz o estresse oxidativo, resultando em lesão do retículo endoplasmático (RE) e dobramento incorreto de proteínas, por meio da ativação da via de resposta a proteínas mal dobradas (UPR). A imagem foi elaborada por IM e SB. **Fonte:** (Mukherjee et al., 2021).

Os transportadores de ácidos graxos, especialmente as proteínas FAT/CD36, FATP e FABP, exercem papel essencial na transferência e regulação do aporte lipídico ao feto. Esses sistemas localizam-se predominantemente na membrana sinciciotrofoblástica e no citoplasma placentário, coordenando a captação, ativação e esterificação de ácidos graxos livres para incorporação em fosfolípidios de membrana ou armazenamento em gotículas lipídicas. A atividade desses transportadores é modulada por hormônios e citocinas maternas, particularmente insulina, leptina e TNF- $\alpha$ , e pela razão redox local, que afeta a oxidação mitocondrial e a disponibilidade de cofatores energéticos. A expressão diferencial de FAT/CD36 e FATP durante a gestação ajusta o fornecimento de lipídios conforme o estágio de desenvolvimento fetal, garantindo o aporte de ácidos graxos de cadeia longa essenciais à formação das membranas neuronais e à mielinização (Figura 23). Contudo, a exposição

prolongada a estados pró-oxidativos ou inflamatórios altera a glicosilação e o turnover dessas proteínas, reduzindo a eficiência de transporte e comprometendo o suprimento energético fetal, o que repercute em déficits estruturais e funcionais no pós-natal (Díaz *et al.*, 2015; Dubé *et al.*, 2012; Stanirowski, 2024; Wu *et al.*, 2023).

**Figura 23** – Diagrama esquemático representando os transportadores de macronutrientes placentários mais relevantes para a circulação materno-fetal através do sinciciotrofoblasto.



**Legenda:** MVM, membrana plasmática microvillositária; BM, membrana plasmática basal; GLUTs, transportadores de glicose; SNATs, transportadores de aminoácidos neutros acoplados ao sódio; LATs, transportador de aminoácidos neutros de grande porte (independente de sódio); CD36, translocase de ácidos graxos; FATP, proteínas transportadoras de ácidos graxos; FABPs, proteína de ligação a ácidos graxos da membrana plasmática; LC-PUFA, ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa. **Fonte:** (Guadix *et al.*, 2023).

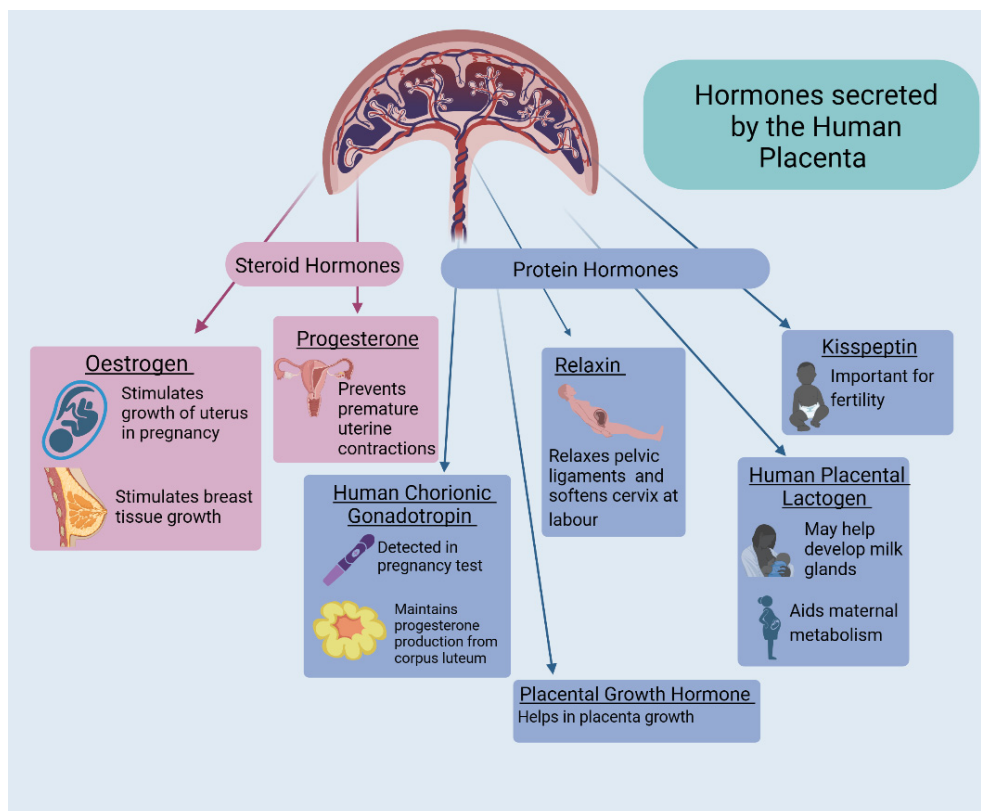
A placenta também atua como um órgão endócrino dinâmico, secretando uma variedade de hormônios que regulam o metabolismo materno e o crescimento fetal. Entre os principais estão a gonadotrofina coriônica (hCG), o lactogênio placentário humano (hPL), o estrogênio e a progesterona, que coordenam adaptações sistêmicas no metabolismo de glicose, lipídios e aminoácidos, garantindo disponibilidade constante de substratos energéticos para o feto. O hPL, em particular, promove resistência insulínica materna controlada, redirecionando o fluxo de nutrientes ao compartimento fetal, enquanto o estrogênio modula a expressão de transportadores e enzimas placentárias envolvidas na  $\beta$ -oxidação e na síntese de lipídios. Sob condições de estresse oxidativo, há desregulação na síntese hormonal, com redução da produção de progesterona e aumento compensatório de cortisol e citocinas pró-inflamatórias, o que

amplifica a sinalização de perigo celular e compromete o equilíbrio materno-fetal. Essa disfunção endócrino-oxidativa resulta em um microambiente placentário programador, capaz de alterar a expressão gênica fetal e predispor o organismo em desenvolvimento a distúrbios metabólicos, neuroendócrinos e cardiovasculares ao longo da vida (Armistead *et al.*, 2020; Newbern; Freemark, 2011; Stern *et al.*, 2021).

O estado de estresse oxidativo placentário influencia diretamente a disponibilidade de cofatores metabólicos essenciais, como NAD<sup>+</sup>, FAD e acetil-CoA, que modulam a atividade de vias anabólicas e catabólicas no feto em desenvolvimento. A relação entre ROS e sistemas antioxidantes não apenas determina a integridade estrutural das vilosidades coriônicas, mas também atua como sinalizador para a maturação de tecidos metabólicos-chave, incluindo fígado, músculo esquelético e tecido adiposo. Quando a produção de espécies reativas excede a capacidade de neutralização antioxidante, ocorre ativação de sensores de estresse, como NRF2 e MAPK, que promovem alterações transitorias ou permanentes na expressão de genes relacionados à defesa antioxidante, à diferenciação celular e ao metabolismo energético. Esse cenário estabelece um mecanismo pelo qual condições maternas adversas, incluindo hipoxia, inflamação crônica ou dieta desequilibrada, podem programar respostas metabólicas e epigenéticas persistentes no feto (Jovandaric *et al.*, 2023; Negre-Salvayre *et al.*, 2022; Newbern; Freemark, 2011; Wu; Tian; Lin, 2015).

O transporte placentário de ácidos graxos constitui um componente crítico dessa programação metabólica (Figura 24). As proteínas de captação e transporte funcionam em sinergia com as enzimas de ativação e esterificação, regulando não apenas a quantidade, mas também a qualidade dos lipídios disponibilizados ao feto. Ácidos graxos de cadeia longa, particularmente os poli-insaturados essenciais, são incorporados em fosfolipídios de membrana neuronal, em triglicerídeos armazenados e em moléculas sinalizadoras intracelulares, influenciando diretamente a organogênese cerebral, a mielinização e o desenvolvimento de órgãos metabólicos. A atividade desses transportadores é modulada por hormônios placentários, como hPL, estrogênio e progesterona, e é sensível ao estado redox local, de modo que variações no equilíbrio entre ROS e antioxidantes alteram a eficiência do transporte lipídico. Alterações nesse sistema podem gerar déficits sutis na disponibilidade de substratos essenciais, com repercussões estruturais e funcionais observáveis mesmo na vida adulta, incluindo alterações na composição de membranas celulares, na eficiência energética e na programação de vias de sinalização metabólica e endócrina (Cetin; Alvino, 2009; Chassen *et al.*, 2018; Lager *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2023).

**Figura 24** – Classificação e Funções dos Hormônios Secretados pela Placenta Humana

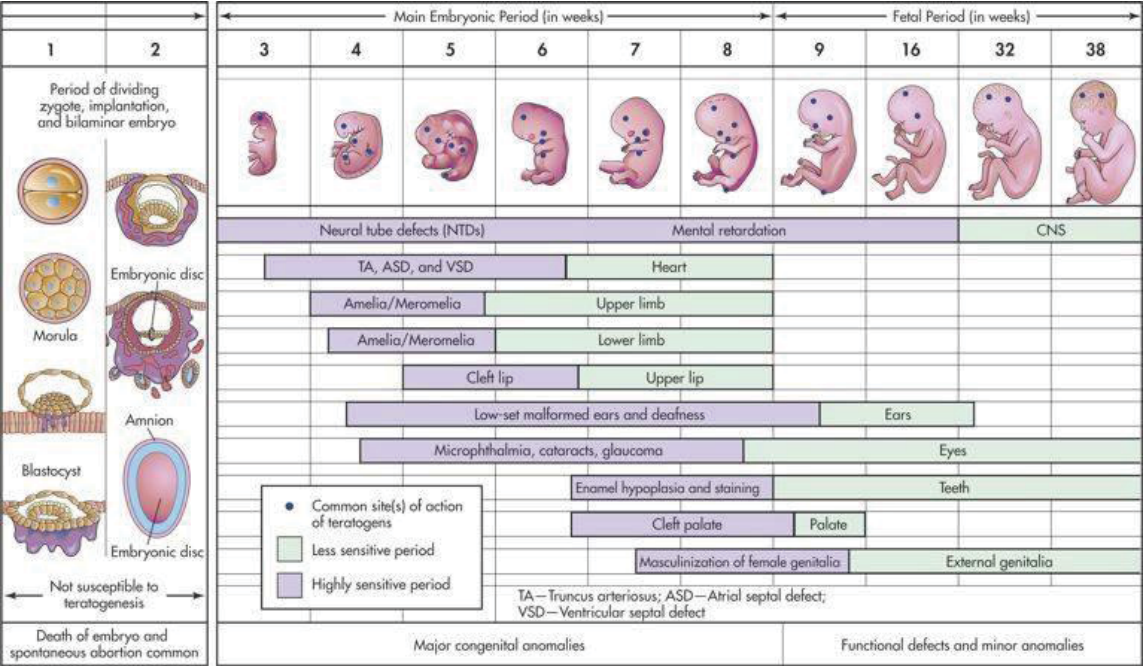


**Legenda:** A placenta humana atua como uma glândula endócrina vital, secretando hormônios esteroides (como o Estrogênio e a Progesterona, essenciais para o desenvolvimento uterino e manutenção da gestação) e hormônios proteicos (como o hCG, Relaxina e hPL, que regulam a fertilidade e o metabolismo materno). Contudo, essa complexa regulação hormonal está vulnerável à interferência de Desreguladores Endócrinos (EDCs). A ação desses compostos é variada, abrangendo dez mecanismos-chave (KCs), incluindo a atuação como ligantes ou antagonistas de receptores, a alteração da síntese e distribuição hormonal, a modulação da expressão gênica e a indução de alterações epigenéticas. O impacto da exposição a EDCs, ao desviar ou bloquear as vias hormonais cruciais (como a Progesterona e o Estrogênio), pode resultar em desfechos adversos da gravidez, destacando a necessidade de estudos sobre a toxicologia ambiental no contexto da saúde materno-fetal. **Fonte:** [yourhormones.info/glands/placenta](http://yourhormones.info/glands/placenta).

As janelas críticas de vulnerabilidade durante o desenvolvimento fetal coincidem com períodos de intensa proliferação celular, diferenciação e remodelamento tecidual, como a implantação, a gastrulação e a organogênese (Figura 25). Durante a implantação, o embrião estabelece contato com o endométrio materno e inicia a formação da placenta, processo altamente sensível a variações nutricionais e ao ambiente redox. Alterações na disponibilidade de substratos energéticos, na razão redox local ou na sinalização hormonal podem comprometer a invasão trofoblástica, a angiogênese e a formação adequada das vilosidades coriônicas, estabelecendo padrões estruturais e funcionais que repercutem em todo o organismo. Pequenas perturbações nesse estágio podem modificar a expressão de genes de crescimento, fatores

angiogênicos e transportadores de nutrientes, criando uma predisposição latente a distúrbios metabólicos e cardiovasculares que só se manifestam posteriormente na vida (Andersen *et al.*, 2006; Knöfler *et al.*, 2019; Lee; Kim, 2021; Vornic *et al.*, 2024b).

**Figura 25** – Janelas críticas para o surgimento de alterações morfofuncionais



**Legenda:** O desenvolvimento embrionário e fetal é caracterizado por janelas de vulnerabilidade, sendo o período embrionário (3-8 semanas) o estágio mais sensível à teratogênese, quando a exposição a agentes nocivos (teratogênicos) pode induzir grandes anomalias congênitas, devido à intensa organogênese. Os Desreguladores Endócrinos (EDCs) atuam como uma classe particular de teratogênicos ao interferir na sinalização hormonal, crucial para a correta diferenciação e desenvolvimento dos órgãos. Os EDCs exercem seus efeitos através de dez mecanismos-chave (KCs), incluindo: mimetismo ou antagonismo de receptores (KC 1 e 2), modulação da expressão ou síntese hormonal (KC 3 e 6), alteração da transdução de sinal (KC 4), e indução de modificações epigenéticas (KC 5). Uma vez que os hormônios regulam a proliferação e diferenciação celular (KC 10), a perturbação dessas vias pelos EDCs durante os períodos críticos pode levar a defeitos estruturais ou funcionais permanentes, reforçando a importância de avaliar a exposição a esses químicos durante a gestação. **Fonte:** <https://nursekey.com/drug-therapy-during-pregnancy-and-breast-feeding/>.

Durante a gastrulação e a organogênese, a diferenciação de linhagens celulares primordiais e a formação de órgãos são extremamente sensíveis a estresses nutricionais, inflamatórios e oxidativos. A escassez de micronutrientes, o excesso de ROS ou a desregulação hormonal interferem em vias de sinalização como Wnt, Notch, Hedgehog e mTOR, comprometendo a especificação de tecidos, a maturação mitocondrial e a programação metabólica dos órgãos-alvo. Esses desajustes podem gerar adaptações compensatórias que, embora favoreçam a sobrevivência fetal imediata, configuram um fenótipo programado para ambientes pobres ou estressantes, resultando em maior suscetibilidade a resistência insulínica,

hipertensão, dislipidemia, disfunção endócrina e alterações neuromotores na vida adulta. Dessa forma, a combinação entre a intensidade do estresse intrauterino e o período crítico de desenvolvimento determina a magnitude e a permanência das alterações fenotípicas, reforçando o conceito de que a programação fetal é um processo altamente dependente do timing temporal de exposição aos estímulos ambientais (Boopathy *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2008; Manolagas; Almeida, 2007).

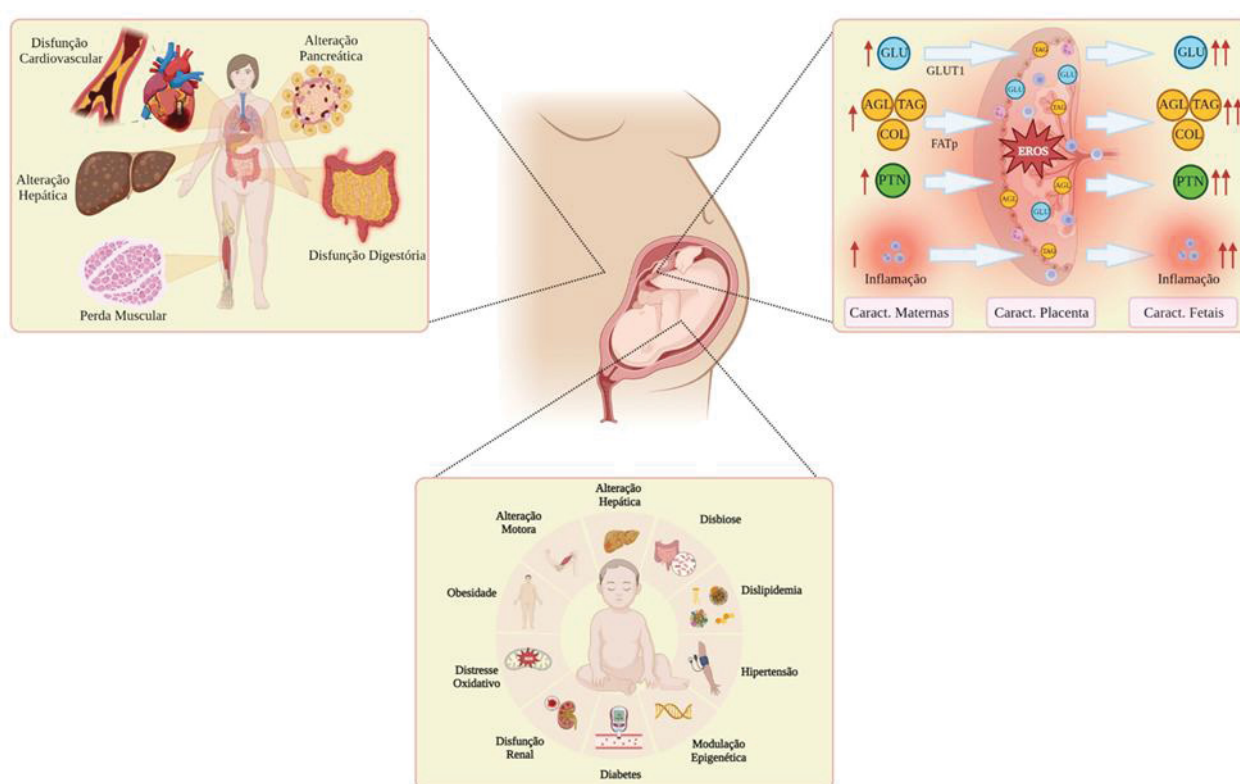
Durante a implantação, a exposição a deficiências nutricionais, como a restrição proteica ou a escassez de micronutrientes essenciais (ferro, zinco, vitamina B12), altera a expressão de fatores de crescimento e proteínas de adesão celular, comprometendo a formação adequada do trofoblasto e a vascularização inicial da placenta. Paralelamente, o aumento de espécies reativas de oxigênio devido a estresse oxidativo materno ou hipoxia local induz modificações epigenéticas nos genes reguladores da angiogênese e do metabolismo energético, incluindo metilação diferencial de promotores de VEGF, GLUT1 e PPARs. Esses ajustes adaptativos podem inicialmente preservar a viabilidade fetal, mas preparam o organismo para uma programação metabólica voltada à eficiência energética máxima, o que aumenta a predisposição à obesidade, resistência insulínica e hipertensão arterial na vida adulta (Barbato *et al.*, 2024; Belkacemi *et al.*, 2011; Daniel *et al.*, 2016; Gu *et al.*, 2024; Pereira *et al.*, 2015).

Na gastrulação, processos críticos de formação das três camadas germinativas são modulados por sinais nutricionais e hormonais. A restrição calórica ou desequilíbrios na disponibilidade de aminoácidos e lipídios essenciais interferem na ativação de vias de sinalização como mTOR, AMPK e Hedgehog, comprometendo a proliferação de células progenitoras e a alocação de precursores metabólicos aos órgãos em desenvolvimento. Estresse oxidativo nesta fase aumenta a formação de aldeídos reativos e peróxidos lipídicos, que modificam proteínas estruturais e regulatórias, afetando a integridade da matriz extracelular e a diferenciação tecidual. Consequentemente, o fígado, pâncreas e tecido adiposo se programam para padrões metabólicos conservativos, favorecendo um fenótipo de maior armazenamento lipídico, menor capacidade de  $\beta$ -oxidação e respostas inflamatórias exacerbadas diante de desafios nutricionais pós-natais (Dennery, 2007; Gu *et al.*, 2024; Lal *et al.*, 2022).

Durante a organogênese (Figura 26), que envolve a formação e maturação de sistemas cardiovasculares, renais, neurológicos e endócrinos, estresses nutricionais ou oxidativos alteram profundamente a arquitetura e a funcionalidade dos órgãos. A insuficiência de micronutrientes ou a sobrecarga oxidativa interfere na biogênese mitocondrial, na expressão de

transportadores de glicose e lipídios e na maturação de células beta pancreáticas e cardiomiócitos, induzindo alterações permanentes na sensibilidade hormonal, na função metabólica e na regulação do estresse oxidativo. Alterações epigenéticas neste período, incluindo modificações de histonas e metilação de DNA em genes-chave de homeostase metabólica, determinam o risco aumentado de diabetes tipo 2, hipertensão, disfunções renais e cardiovasculares, bem como predisposição a distúrbios neuroendócrinos (Cai *et al.*, 2021; Lillycrop; Burdge, 2011; Loche; Ozanne, 2016; Peral-Sanchez *et al.*, 2022).

**Figura 26** – Desregulação Endócrina, Inflamação Placentária e Programação Fetal: Implicações para a Saúde Metabólica Materna e Doenças Crônicas na Prole.



**Legenda:** A complexa interface materno-fetal atua como um sistema de regulação metabólica e hormonal altamente vulnerável. A figura central na gravidez ilustra como o desequilíbrio na unidade feto-materna leva a desfechos adversos. Alterações metabólicas na placenta (como o aumento de Glicose - GLU, Ácidos Graxos Livres - AGL/TAG, Colesterol - COL e a diminuição de Protaminas - PTN), frequentemente exacerbadas pelo aumento de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e Inflamação, resultam em consequências sistêmicas. Na mãe, essa disfunção contribui para alterações cardiovasculares, pancreáticas, hepáticas, disfunção digestiva e perda muscular. É crucial notar que essas vias podem ser iniciadas ou agravadas pela ação de Desreguladores Endócrinos (EDCs), que, através de seus dez mecanismos-chave (como a modulação de receptores e a alteração da síntese hormonal), comprometem diretamente os eixos endócrinos envolvidos nesse metabolismo. Como resultado, o feto/criança apresenta um risco aumentado de consequências a longo prazo, incluindo Obesidade, Dislipidemia, Hipertensão, Disfunção Renal, Diabetes, alterações no neurodesenvolvimento (Alteração Motora) e disbiose, muitas vezes perpetuadas por Modulações Epigenéticas. **Fonte:** elaborado pelos autores, 2025.

Além da programação metabólica individual, os efeitos durante essas janelas críticas podem ser transmitidos transgeracionalmente por mecanismos epigenéticos germinativos. Alterações na metilação do DNA, modificação de histonas e padrões de microRNAs nas células germinativas maternas ou paternas podem perpetuar respostas adaptativas do organismo em desenvolvimento, mesmo na ausência do estresse original. Por exemplo, disregulações na disponibilidade de nutrientes ou exposição a estresse oxidativo podem alterar a programação de genes reguladores do eixo HPA, do metabolismo lipídico e da sensibilidade à insulina nas gerações subsequentes, aumentando a incidência de obesidade, resistência insulínica, hipertensão e disfunções endócrinas em descendentes não diretamente expostos ao insulto ambiental. Essa transmissão transgeracional demonstra que a programação fetal não se limita ao indivíduo gestante, mas atua como um mecanismo de memória biológica que integra a história nutricional e metabólica materna e paterna na determinação do fenótipo metabólico futuro (Jimenez-Chillaron *et al.*, 2016; Legoff *et al.*, 2019; Somer; Thummel, 2014; Tang *et al.*, 2023; Tiffon, 2018).

O desenvolvimento do sistema imunológico fetal também é altamente sensível a essas janelas críticas. A maturação de linfócitos T, B e células NK depende de sinais metabólicos e de citocinas placentárias, sendo modulada por estresse oxidativo, restrição de aminoácidos e disponibilidade de ácidos graxos essenciais. Exposição a desequilíbrios nutricionais ou aumento de ROS durante a organogênese ou na fase de maturação linfocitária altera a expressão de receptores de superfície, citocinas reguladoras e fatores de transcrição como NF- $\kappa$ B e STATs. Consequentemente, o feto desenvolve uma programação imunológica adaptativa, caracterizada por tendência à imunossupressão ou respostas inflamatórias exacerbadas, que pode persistir no pós-natal e aumentar a susceptibilidade a infecções, autoimunidade e disfunções imunometabólicas (Akhtar *et al.*, 2017; Langley-Evans; Carrington, 2006; Li *et al.*, 2025).

O desenvolvimento do sistema neuromotor fetal é particularmente vulnerável aos efeitos de estresse oxidativo e variações nutricionais durante a organogênese e a neurogênese. A diferenciação neuronal, a formação de sinapses e a mielinização são processos altamente dependentes de energia, ácidos graxos de cadeia longa e equilíbrio redox. Exposição a ROS excessivas ou restrição de substratos essenciais, como glicose e ácidos graxos poli-insaturados, compromete a expressão de fatores neurotróficos (BDNF, NGF) e proteínas estruturais do citoesqueleto, alterando a conectividade sináptica e a maturação dos circuitos motores. Além disso, a modulação epigenética, incluindo metilação de promotores de genes de neurotransmissores e histona acetilação em neurônios em desenvolvimento, estabelece padrões

de excitabilidade e plasticidade que podem persistir no pós-natal, influenciando coordenação motora, aprendizagem e respostas adaptativas ao estresse neural (Akhtar *et al.*, 2017; Basak; Mallick; Duttaroy, 2020; Cernigliaro *et al.*, 2024; He *et al.*, 2025; Urbonaite *et al.*, 2022).

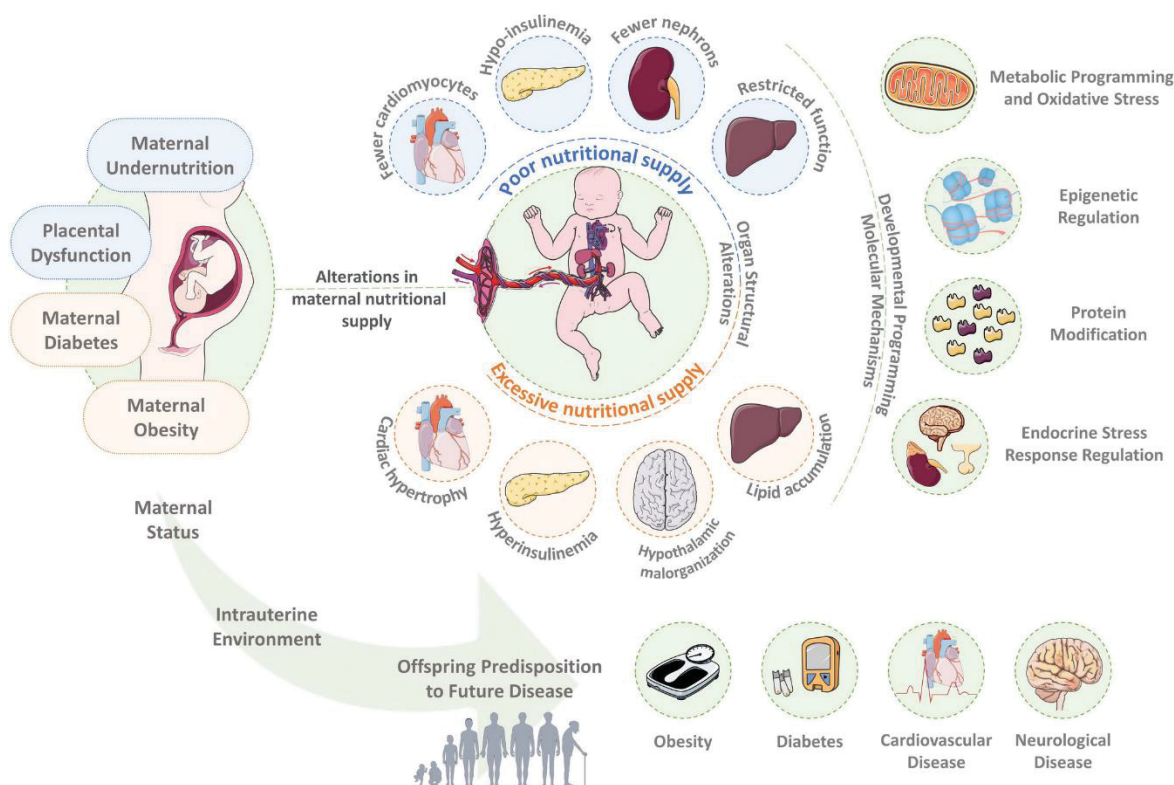
O desenvolvimento muscular fetal também é programado por interações entre metabolismo energético, estresse oxidativo e sinalização hormonal. A proliferação e diferenciação de mioblastos dependem da disponibilidade de aminoácidos, ácidos graxos e ATP mitocondrial, sendo moduladas por ROS como sinais de maturação e diferenciação. Estresse oxidativo excessivo ou desequilíbrios nutricionais afetam a expressão de fatores de crescimento como IGF-1 e miogenina, além de alterar vias de sinalização como mTOR e AMPK, comprometendo a formação e hipertrofia das fibras musculares. Consequentemente, o fenótipo muscular pós-natal pode apresentar menor massa magra, resistência à fadiga alterada e predisposição a disfunções metabólicas associadas à sarcopenia precoce ou obesidade (Du *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2025; Lian *et al.*, 2022; Rozance *et al.*, 2021; Tong, Jun F. *et al.*, 2009).

O sistema reprodutivo fetal, por sua vez, é altamente sensível a desregulações hormonais e metabólicas. A diferenciação gonadal, a formação dos ductos reprodutivos e a maturação de células germinativas dependem de um microambiente placentário equilibrado, incluindo níveis adequados de estrogênio, progesterona e gonadotrofina coriônica. Estresse oxidativo ou déficits nutricionais durante essas fases críticas alteram a expressão de genes-chave da esteroidogênese, receptores hormonais e fatores de transcrição como SF-1 e SOX9, podendo comprometer a reserva ovariana, a espermatogênese e a funcionalidade endócrina futura. Além disso, essas alterações podem induzir mudanças epigenéticas persistentes que modulam a sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, determinando riscos aumentados de infertilidade, puberdade precoce ou disfunção hormonal ao longo da vida (Agarwal *et al.*, 2012; Agarwal; Gupta; Sharma, 2005; Fujisawa *et al.*, 2022; Weller *et al.*, 2016).

O metabolismo energético fetal é fortemente modulável pelos nutrientes maternos e pelo estado redox placentário, sendo determinante para a programação de órgãos metabolicamente ativos como fígado, músculo esquelético e tecido adiposo (Figura 27). Durante a organogênese, a disponibilidade de glicose, aminoácidos e ácidos graxos regula a atividade de vias sensíveis à energia, incluindo AMPK, mTOR e PPARs, que coordenam proliferação celular, diferenciação e biogênese mitocondrial. Exposição a desequilíbrios nutricionais ou aumento de espécies reativas de oxigênio pode induzir alterações permanentes na eficiência mitocondrial, na capacidade de  $\beta$ -oxidação e na sensibilidade à insulina, criando um estado de “memória

metabólica” que persiste após o nascimento, aumentando a predisposição a resistência insulínica, obesidade e disfunções endócrinas (De Gusmo Correia *et al.*, 2012; Marciniak *et al.*, 2017; Rodríguez-Cano *et al.*, 2020; Salazar-Petres *et al.*, 2022).

**Figura 27** – A programação materno-fetal propõe mecanismos que predis põem a prole a doenças a longo prazo.



**Legenda:** O ambiente intrauterino é regulado principalmente pelo estado materno, como nutrição e funcionalidade placentária. Alterações no metabolismo, imunidade, inflamação e sistema endócrino maternos modificam o ambiente intrauterino do feto, modulando o fornecimento de nutrientes. Essas alterações maternas podem deixar marcas nos tecidos fetais, predispondo a prole a doenças, incluindo obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e neurológicas, levando a um ciclo intergeracional de transmissão de doenças metabólicas em duas camadas: a primeira compreende o comprometimento direto dos tecidos fetais devido a defeitos congênitos, como hipertrofia cardíaca, hiper/hipoinsulinemia e acúmulo de lipídios hepáticos; a segunda camada inclui as consequências da programação fetal, que podem ocorrer por meio de mecanismos celulares e moleculares, incluindo programação metabólica, estresse oxidativo, modificação de proteínas e desregulação endócrina. Todas essas alterações podem desencadear eventos futuros que predis põem a doenças. **Fonte:** (Grilo et al., 2021).

Os ácidos graxos poli-insaturados, especialmente n-3 e n-6, desempenham papel central nesse contexto ao modular a composição das membranas mitocondriais e a produção de mediadores lipídicos. A incorporação de PUFA na membrana determina fluidez, permeabilidade e eficiência da fosforilação oxidativa, enquanto os derivados bioativos, como eicosanoides, resolvinas e protectinas, atuam na sinalização redox e na regulação da inflamação. Deficiências

ou excessos desses lipídios no período gestacional alteram a expressão de transportadores de ácidos graxos e enzimas metabolizadoras (como FAT/CD36, FATP, ACSL), modificando a disponibilidade de substratos energéticos e o perfil de sinalização intracelular. Essa regulação fina integra informações nutricionais e oxidativas do ambiente materno, permitindo adaptações metabólicas imediatas, mas ao mesmo tempo criando vulnerabilidades que podem se manifestar como disfunção metabólica crônica na vida adulta (Basak; Duttaroy, 2023; Fan *et al.*, 2018; Rodríguez-Cano *et al.*, 2020; Srinivas *et al.*, 2023).

O fígado fetal representa um dos órgãos mais sensíveis às condições nutricionais e oxidativas durante a gestação, configurando-se como um centro integrador do metabolismo energético. Alterações na disponibilidade de glicose, aminoácidos e ácidos graxos modulam a expressão de transportadores e enzimas-chave, incluindo GLUTs, CPT1, ACC e FAS, impactando diretamente a síntese de lipídios e a  $\beta$ -oxidação mitocondrial. Exposição a estresse oxidativo ou desequilíbrios nutricionais durante a organogênese hepática pode induzir hipometilação ou hipermetilação de promotores gênicos associados ao metabolismo lipídico, à gluconeogênese e à sensibilidade insulínica, estabelecendo uma “memória metabólica” que persiste pós-natalmente. Esse fenômeno aumenta a suscetibilidade a esteatose hepática, resistência insulínica e dislipidemias, evidenciando como pequenas perturbações no microambiente intrauterino podem reprogramar permanentemente o metabolismo hepático (Diniz *et al.*, 2023; Thompson; Al-Hasan, 2012; Zhou *et al.*, 2019).

O tecido adiposo fetal, embora em estágio inicial de desenvolvimento, responde de forma dinâmica aos sinais nutricionais e hormonais maternos, especialmente insulina, leptina e hormônios placentários. A disponibilidade de ácidos graxos e a composição lipidômica das membranas influenciam a diferenciação de preadipócitos, a formação de adipócitos brancos, bege e marrons, e a expressão de UCPs, PPAR $\gamma$  e C/EBPs. Estresse oxidativo e excesso de substratos energéticos promovem alterações epigenéticas em genes relacionados à lipogênese, termogênese e sensibilidade hormonal, predispondo a hiperplasia adipocitária, armazenamento excessivo de lipídios e disfunção endócrina do tecido adiposo. Esses efeitos se traduzem em maior risco de obesidade central, resistência insulínica e inflamação sistêmica ao longo da vida, evidenciando a importância da janela intrauterina como período crítico para a programação metabólica do tecido adiposo (Desai; Ross, 2011; Lin *et al.*, 2017; Moreno-Mendez *et al.*, 2020).

O músculo esquelético fetal constitui outro órgão-alvo central, sendo crucial para a regulação da homeostase energética e da sensibilidade à insulina na vida adulta. Durante o desenvolvimento, a proliferação e diferenciação de mioblastos, a formação de fibras musculares e a biogênese mitocondrial são altamente dependentes da disponibilidade de aminoácidos, ácidos graxos e energia oxidativa. Alterações no suprimento de substratos ou excesso de espécies reativas de oxigênio interferem na expressão de genes de miofibrilas, proteínas contráteis, transportadores de glicose (GLUT4) e enzimas de  $\beta$ -oxidação (CPT1, HADH), além de modular vias de sinalização como AMPK, mTOR e PGC-1 $\alpha$ . Consequentemente, há potencial redução da massa muscular, comprometimento da capacidade oxidativa e menor plasticidade metabólica, predispondo a intolerância à glicose, fraqueza muscular e maior risco de síndrome metabólica na vida adulta (Dunlop *et al.*, 2015; Kim; Albrecht; Pepe, 2024; Muroya *et al.*, 2021; Reed *et al.*, 2014; Yan *et al.*, 2013b).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 ANIMAIS

Todos os procedimentos adotados no presente trabalho estão de acordo com as Diretrizes Brasileiras para Cuidado e Uso de Animais para Fins Científicos e de Ensino estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as diretrizes internacionais para pesquisa animal (Percie du Sert *et al.*, 2020), e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo 1459/2022) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR).

Para este estudo foram utilizadas 200 ratas e 32 ratos da linhagem *Wistar*, com idade de aproximadamente 120 dias, obtidas e mantidas no Biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, em ambiente controlado sob fotoperíodo de 12h; temperatura de  $22 \pm 2$  °C; água e ração *ad libitum* com ração padrão, conforme detalhado na Tabela 1 fornecida pela Nuvilab® (Quimtia S.A., Colombo, Paraná, Brasil). Os animais foram alojados em trios em gaiolas padrão com dimensões de 41 cm de comprimento, 34 cm de largura e 17 cm de altura.

### 5.2 SUPLEMENTAÇÃO

Para a realização da suplementação, foi utilizado como fonte de n-3, o óleo de peixe, composto de extrato marinho, contendo 180 g de ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5 n-3) e 120 g de ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6 n-3), adquirido da Vitamins Sundown Naturals® (Recife, Pernambuco, Brasil). Como fonte de n-6, o óleo de soja, composto de extrato de sementes, contendo 580 g de ácido linoléico (18:2 n-6), adquirido da Bunge® (Luziânia, Goiás, Brasil). Como fonte de n-9, o óleo de oliva, composto de extrato de frutos extravirgem, contendo 640 g de ácido oleico (18:1 n-9), adquirido da Victor Guedes Indústria e Comércio S.A. (São Miguel do Rio Torto, Portugal). A administração do óleo correspondente ao peso de cada animal e as doses administradas foram feitas por via oral em bolo único diariamente, com auxílio de pipeta de volume regulável, durante o período referente à duração de cada um dos experimentos. As características nutricionais de todos os óleos estão representadas na tabela 2.

**Tabela 1 – Composição da ração padrão.**

<b>Ingredientes</b>	<b>g/kg</b>
<b>Carboidratos</b>	<b>500 g</b>
Amido de Milho	400 g
Sacarose	100 g
<b>Proteína</b>	<b>220 g</b>
Caseína	220 g
<b>Lipídios</b>	<b>75 g</b>
Óleo de Soja	75 g
<b>Fibras</b>	<b>150 g</b>
<b>Vitaminas</b>	<b>10 g</b>
Vitamina A	42.86 mg
Vitamina E	30 mg
Vitamina K	3 mg
Vitamina B	18 mg
Niancina	60 mg
Ácido Pantotenico	20 mg
Ácido Fólico	1 mg
Biotina	0.05 mg
Colina	600 mg
<b>Minerais</b>	<b>35 g</b>
Ferro	50 mg
Zinco	60 mg
Cobre	10 mg
Iodina	2 mg
Manganês	60 mg
Selênio	0.05 mg
Cobalto	1.5 mg
<b>Conteúdo Energético (kcal)</b>	<b>3390</b>
Total de Energia kcal (%)	
Carboidratos	63 %
Lipídios	9 %
Proteínas	28 %

### 5.3 ACASALAMENTOS

Para os experimentos de acasalamento dos animais, foi realizado um período inicial de 21 dias de aclimação, seguido por 21 dias de suplementação das ratas. Após esse período, iniciou-se a ciclagem e a preparação para o acasalamento. As ratas foram expostas, por 12 horas, à maravalha suja de urina dos ratos destinados ao acasalamento, com o objetivo de induzir o proestro. Em seguida, as ratas foram colocadas nas caixas com os machos, na proporção de duas fêmeas para cada macho, em um esquema rotativo, garantindo que cada macho acasalasse com pelo menos duas fêmeas de cada grupo. O período de acasalamento foi de 24 horas, sendo que a partir deste momento, as ratas foram mantidas isoladamente em caixas padrão com enriquecimento ambiental, para evitar estresse, interrupções da gestação ou abortos.

**Tabela 2 – Composição dos óleos.**

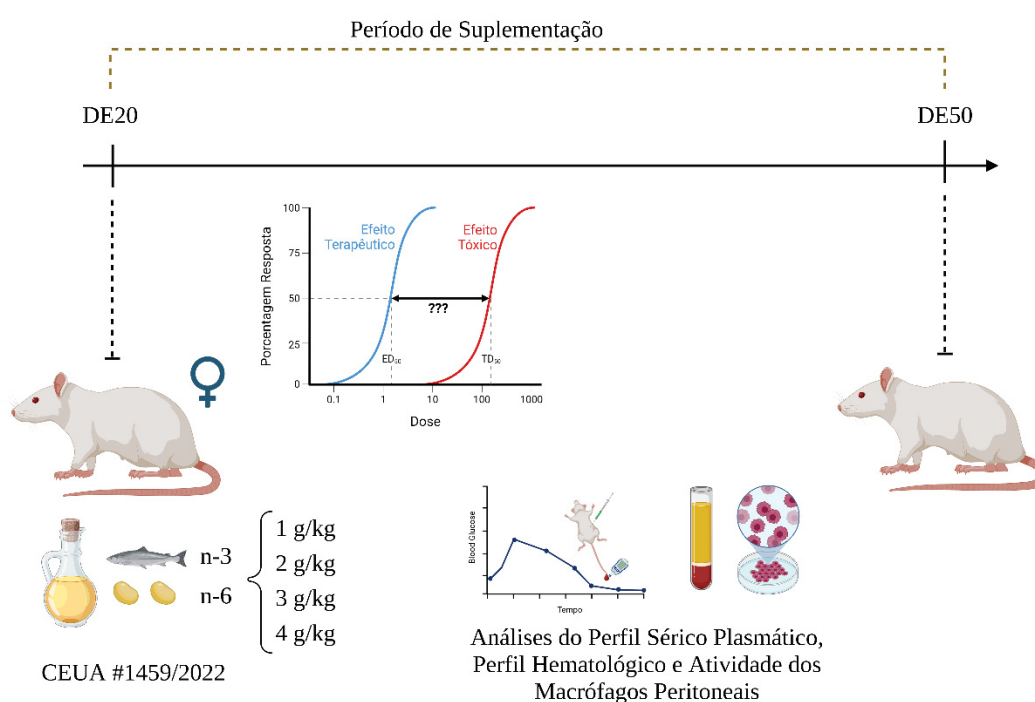
<b>Ingredientes</b>	<b>Óleo de Peixe</b>	<b>Óleo de Soja</b>	<b>Óleo de Oliva</b>
<b>Carboidratos</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>
<b>Proteínas</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>
<b>Gorduras Totais</b>	<b>720mg</b>	<b>930 mg</b>	<b>920 mg</b>
Gorduras Trans	0 mg	0 mg	0 mg
Gorduras Saturadas	190 mg	160 mg	135 mg
Gorduras Monoinsaturadas	190 mg	250 mg	710 mg
<i>Ômega 9</i>	<i>186 mg</i>	<i>245 mg</i>	<i>695 mg</i>
Gorduras Polinsaturadas	335 mg	520 mg	75 mg
<i>Ômega 6</i>	<i>35 mg</i>	<i>470 mg</i>	<i>63 mg</i>
<i>Ômega 3</i>	<i>300 mg</i>	<i>50 mg</i>	<i>12 mg</i>
<b>Colesterol</b>	<b>5 mg</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>
<b>Fibras</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>
<b>Sódio</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>	<b>0 mg</b>
<b>Vitamina E</b>	<b>1 mg</b>	<b>0,21 mg</b>	<b>0,14 mg</b>
<b>Conteúdo Energético (kcal)</b>	<b>7,2 kcal</b>	<b>8,4 kcal</b>	<b>8,4 kcal</b>

## 5.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

### 5.4.1 Experimento I: Curva Dose-Resposta

Para a determinação das doses utilizadas no estudo (Figura 28), foram empregadas 72 ratas nulíparas após um período de aclimação de 21 dias para garantir condições estáveis de experimentação. Esses animais foram aleatoriamente divididos em nove grupos experimentais, seguindo o esquema a seguir:

**Figura 28** – Delineamento do experimento de curva de dose resposta.



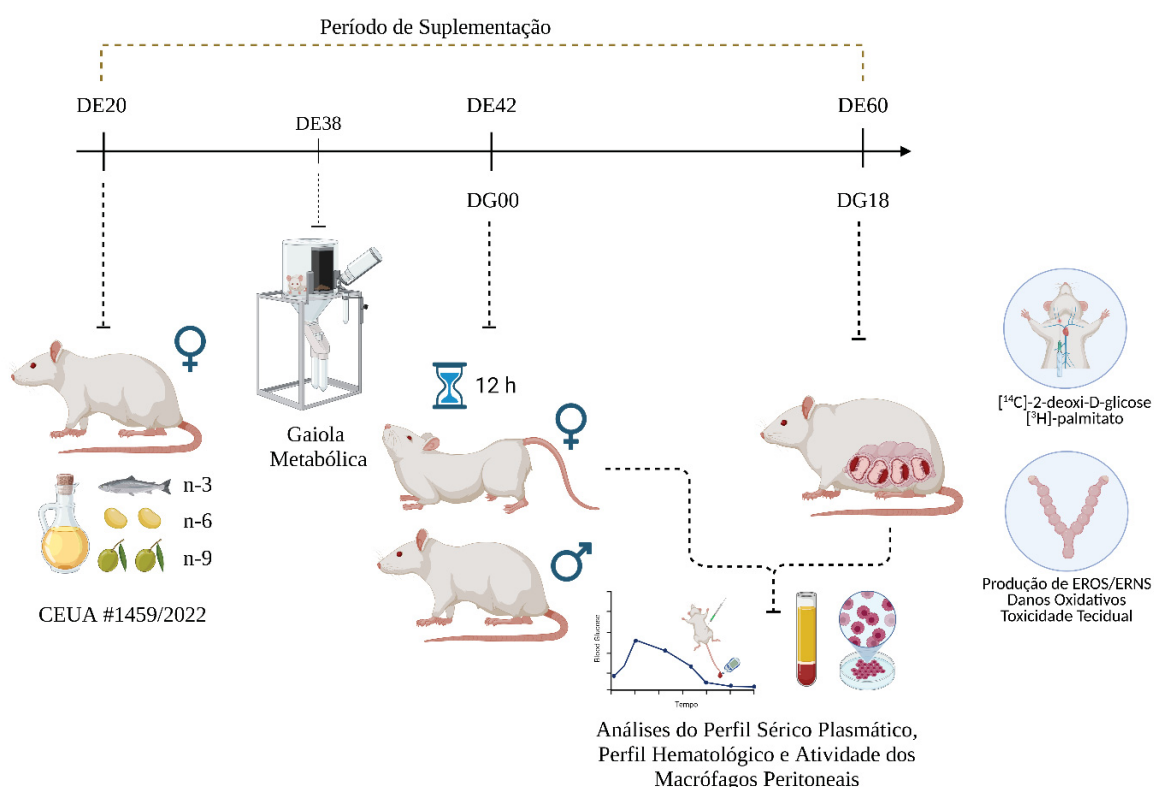
**Fonte:** elaborado pelos autores, 2025

- Grupo Controle consistiu de ratas que não receberam qualquer forma de suplementação durante o período do estudo.
- Grupos Suplementados com n-3 (SPL3) foram compostos por ratas que receberam diariamente 1, 2, 3 ou 4 g/kg de um composto de extratos marinhos ricos em ácidos graxos n-3, diariamente durante 30 dias.
- Grupos Suplementados com n-6 (SPL6) incluíram ratas que receberam diariamente 1, 2, 3 ou 4 g/kg de um composto de extratos vegetais ricos em ácidos graxos n-6, diariamente durante 30 dias.

#### 5.4.2 Experimento II: Efeito da gestação no estabelecimento de síndrome metabólica

A partir da determinação da dose de 4 g/kg (Tabela 3) como não mais segura, para determinar o possível efeito da gestação como potencializadora dos efeitos encontrados (Figura 29), foram utilizadas 80 ratas, com aproximadamente 120 dias e nulíparas após um período de aclimação de 21 dias para garantir condições estáveis de experimentação. Esses animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais, seguindo o esquema a seguir:

**Figura 29** – Delineamento do experimento de efeito da gestação no estabelecimento de síndrome metabólica



**Fonte:** elaborado pelos autores, 2025

- Grupo Controle (CTLE): composto por fêmeas que não receberam nenhuma suplementação;
- Grupo suplementado com n-3 (SPL3) composto por fêmeas que foram suplementadas diariamente com 4 g/kg de composto de extratos marinhos (óleo de peixe), rico em ácidos graxos n-3;
- Grupo suplementado com n-6 (SPL6) composto por fêmeas que foram suplementadas diariamente com 4 g/kg de composto de extratos vegetais (óleo de soja), rico em ácidos graxos n-6;

- Grupo suplementado com n-9 (SPL9) composto por fêmeas que foram suplementadas diariamente com 4 g/kg de composto de extratos vegetais (óleo de oliva), rico em ácidos graxos n-9.

**Tabela 3 – Composição de Ácidos Graxos da dieta regular e dos suplementos com ômega 3, 6 e 9 fornecidos aos animais.**

Ácidos Graxos (g/100 g total)	Ração AR-1 (Nuvital©)	Óleo de Soja (Bunge ©)	Óleo de Peixe (Sundown ©)	Óleo de Oliva (Gallo ©)
12:0	7,16	2,04	0,5	nd
14:0	4,6	0,61	11,4	0,1
16:0	22,34	6,74	14,8	13,5
16:1 (n-7)	nd	0,34	nd	0,5
18:0	4,4	1,01	1,6	2,5
18:1 (n-9)	17,0	23,03	10,6	70,0
18:2 (n-6)	26,8	57,89	0,57	7,5
18:3(n-3)	2,24	7,9	1,74	0,5
20:4(n-6)	nd	0,34	1,04	nd
20:5(n-3)	0,36	0,13	24,5	nd
22:6(n-3)	nd	nd	18,6	nd
<b>Ração n-6: n-3</b>	~10:1	~7:1	~1:28	~15:1
<b>Ração PUFA: MUFA</b>	~2:1	~3:1	~4:1	~10:1
<b>Consumo n-6: n-3</b>	~10:1	~14:1	~6:1	~12:1
<b>Consumo PUFA: MUFA</b>	~2:1	~3:1	~3:1	~1:2

Durante toda a fase de acasalamento e gestação a suplementação com os respectivos suplementos foi mantida, a fim de garantir a transferência dos ácidos graxos aos fetos em desenvolvimento, pela circulação placentária. A partir da confirmação da prenhez, as ratas foram separadas para a coleta dos materiais, seguindo o esquema experimental abaixo:

- Ensaio A: 8 fêmeas por grupo foram eutanasiadas no dia da confirmação do cruzamento (DG0) para as análises do perfil corporal, plasmático, hematológico e inflamatório. Aproximadamente 48 horas antes da eutanásia, foi realizado o teste de tolerância à glicose.
- Ensaio B: 8 fêmeas por grupo foram eutanasiadas 18 dias após a confirmação do cruzamento (GD18) para as análises do perfil corporal, plasmático, hematológico e inflamatório

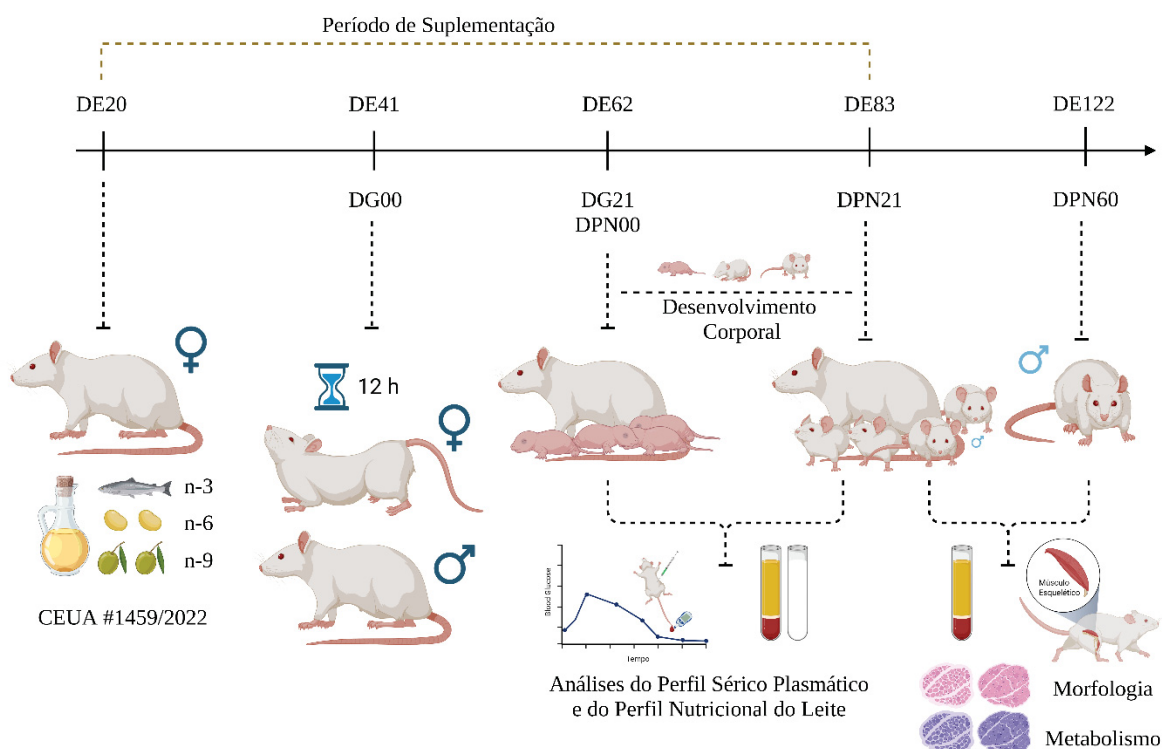
e para as análises de danos oxidativos no útero e na placenta. Aproximadamente 48 horas antes da eutanásia, foi realizado o teste de tolerância à glicose;

- Ensaio C: 4 fêmeas por grupo foram eutanasiadas 18 dias após a confirmação do acasalamento (GD18) e destinadas para as análises de incorporação e transferência de glicose e palmitato radiomarcados.

#### 5.4.3 Experimento III: Efeito da síndrome metabólica sobre o desenvolvimento da prole

A partir da confirmação da gestação como potencializadora dos efeitos da síndrome metabólica, foram utilizadas 64 ratas da linhagem Wistar, com aproximadamente 120 dias e nulíparas após um período de aclimação de 21 dias para garantir condições estáveis de experimentação. Esses animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais, seguindo o esquema a seguir:

**Figura 30** – Delineamento do experimento de efeito da síndrome metabólica sobre o desenvolvimento da prole



**Fonte:** elaborado pelos autores, 2025

- Grupo Controle (CTLE): composto por fêmeas que não receberam nenhuma suplementação;
- Grupo suplementado com n-3 (SPL3) composto por fêmeas que foram suplementadas diariamente com 4 g/kg de composto de extratos marinhos (óleo de peixe), rico em ácidos graxos n-3;
- Grupo suplementado com n-6 (SPL6) composto por fêmeas que foram suplementadas diariamente com 4 g/kg de composto de extratos vegetais (óleo de soja), rico em ácidos graxos n-6;
- Grupo suplementado com n-9 (SPL9) composto por fêmeas que foram suplementadas diariamente com 4 g/kg de composto de extratos vegetais (óleo de oliva), rico em ácidos graxos n-9.

Durante toda a fase de acasalamento e gestação a suplementação com os respectivos suplementos foi mantida, a fim de garantir a transferência dos ácidos graxos aos fetos em desenvolvimento, pela circulação placentária. A partir da confirmação da prenhez, as ratas foram separadas para a coleta dos materiais, seguindo o esquema experimental abaixo:

- Ensaio A: 8 fêmeas por grupo foram eutanasiadas três dias após o parto (DPN03) para as análises do perfil corporal, plasmático, inflamatório e as características nutricionais do leite. Aproximadamente 48 horas antes da eutanásia, foi realizado o teste de tolerância à glicose.
- Ensaio B: 8 fêmeas por grupo foram eutanasiadas 23 dias após o parto (DPN23) para as análises do perfil corporal, plasmático, inflamatório e as características nutricionais do leite. Aproximadamente 48 horas antes da eutanásia, foi realizado o teste de tolerância à glicose.

As proles dessas ratas foram mantidas até o desmame, para o acompanhamento do desenvolvimento corporal e de marcadores do desenvolvimento muscular. Aos 21 dias de vida, metade dos animais foram eutanasiados para coleta de material, enquanto a outra metade foi eutanasiada aos 60 dias de vida.

## 5.5 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE

Após 8 horas de jejum, as ratas foram dessensibilizadas em câmara de CO<sub>2</sub> para a realização da incisão na extremidade da cauda e a coleta de sangue para determinação da glicemia basal. A seguir a injeção intraperitoneal da sobrecarga de glicose e realizada pela

injeção de 75 mg de glicose a cada 100 gramas de peso corporal, no quadrante inferior direito do abdome das ratas. Pela incisão na cauda, foi coletado sangue nos tempos 0, 10, 20, 40, 80, 160 minutos para a determinação da glicemia com auxílio de glicosímetro manual e tiras reativas da marca On Call ® Plus II (ACON Laboratories, Inc., San Diego, USA).

## 5.6 INCORPORAÇÃO E TRANSPORTE DE [ $^{14}\text{C}$ ]2-DEOXI-D-GLICOSE E [ $^3\text{H}$ ]-ÁCIDO PALMÍTICO

Aos 18 dias de gestação, parte das ratas foi anestesiada com injeção intraperitoneal com solução anestésica de cloridrato de cetamina (90 mg/kg), cloridrato de xilazina (10 mg/kg) e maleato de acepromazina (3 mg/kg). Tendo-se aferida a sedação profunda, foi realizada a injeção de solução de 100  $\mu\text{L}$  de [ $^{14}\text{C}$ ]2-deoxi-D-glicose (20  $\mu\text{Ci/mL}$ ) e [ $^3\text{H}$ ] ácido palmítico (20  $\mu\text{Ci/mL}$ ) na veia braquial direita (Esterman *et al.*, 1997; Kamei *et al.*, 1999; Thomas; Oon; Lowy, 2001). Após 10 minutos de circulação, as ratas foram eutanasiadas, o tecido adiposo periuterino, o útero, ovários, placentas e fetos foram dissecados e imediatamente homogeneizados em Tris-HCl 50 mM pH 7,4 (1:10 m/v) em banho de gelo e centrifugados a 12.000 g (4 °C; 20 min), 100  $\mu\text{L}$  do sobrenadante coletado foi utilizado para a determinação da radiação, com adição de 1 mL de líquido de cintilação, para a determinação em contador beta Beckman-LS 6000 ic Liquid Scintillator da radioatividade incorporada. Para padronização, foi realizada a dosagem de proteínas solúveis pelo método de Bradford com curva padrão de albumina de soro bovino (Bradford, 1976). Os valores foram expressos como cpm/mg de proteína.

## 5.7 MARCADORES DO DESENVOLVIMENTO CORPORAL E MUSCULAR

Os filhotes resultantes dessas gestações foram submetidos a análises comportamentais e mensurações murinométricas para avaliar a evolução do desenvolvimento corporal e motor. Diariamente, os animais foram pesados, mensurado o comprimento nasoanal e a circunferência abdominal para a avaliação do desenvolvimento corporal. A maturação motora dos animais foi acompanhada pelos testes de aversão ao precipício, ângulo máximo de sustentação, suspensão pelos membros escapulares, recuperação de decúbito e preensão palmar.

Para a avaliação do amadurecimento dos reflexos motores, os animais foram submetidos ao teste de preensão palmar a partir do PND01 até o desaparecimento deste reflexo primitivo. Os animais foram gentilmente segurados pela região dorsal e um objeto pontiagudo aproximado levemente à face palmar do membro escapular direito. O teste foi repetido três vezes para cada animal. Foram considerados imaturos os animais que em pelo menos duas tentativas apresentaram o reflexo de fechamento das mãos (Feather-Schussler; Ferguson, 2016).

Para avaliar a coordenação motora e o equilíbrio dos roedores, foi utilizado o teste de recuperação de decúbito a partir do PND01 até o aparecimento completo do reflexo em todos os animais. Os animais foram posicionados em decúbito dorsal para a avaliação da capacidade de recuperação do decúbito em até 30 segundos. O teste foi repetido três vezes para cada animal. Foram considerados maduros os animais que em pelo menos duas tentativas apresentaram o reflexo de rotação (Feather-Schussler; Ferguson, 2016).

Para a mensuração do desenvolvimento de força muscular, foi utilizado o teste de aversão ao precipício, os animais foram posicionados na borda de uma mesa com os membros escapulares e a cabeça fora da superfície de apoio. A resposta foi considerada positiva quando, em até 30 segundos, o animal se deslocava na direção oposta. Caso o animal não se movimentasse ou caísse antes de completar 30 segundos, uma segunda tentativa era realizada. Este teste foi aplicado desde o dia pós-natal (PND) 0 até o aparecimento do reflexo esperado (Feather-Schussler; Ferguson, 2016).

Para a avaliação do desenvolvimento da resistência muscular, foi utilizado o teste de ângulo máximo de sustentação entre os dias PND06 e PND10. Os animais foram posicionados sobre uma tela de metal, permitindo que houvesse o agarramento com os quatro membros. O ângulo de elevação da tela era gradualmente elevado, e o registro do ângulo máximo de sustentação tetrápode era mensurado para cada animal (Feather-Schussler; Ferguson, 2016).

Para avaliar o desenvolvimento de força, resistência e coordenação motoras em conjunto, foi utilizado o teste de suspensão pelos membros escapulares entre os dias PND10 e PND15. Os animais foram posicionados com os membros escapulares sob uma barra suspensa, sobre um aparato com altura padronizada. O tempo de latência até a queda foi mensurado, e posteriormente utilizado para o cálculo de força de suspensão dos animais, juntamente com o peso corporal (Feather-Schussler; Ferguson, 2016).

Por fim, a avaliação da capacidade locomotora dos animais foi mensurada pelo teste do dia de andar adulto. A partir do PND06, os roedores foram observados diariamente em um ambiente familiar para reduzir o estresse e comportamentos anômalos. O andar adulto foi caracterizado por uma marcha coordenada tetrápode, sem arrastar o corpo no chão, demonstrando equilíbrio e controle motor adequados. O dia em que o roedor exibiu pela primeira vez uma marcha adulta foi registrado (Feather-Schussler; Ferguson, 2016).

## 5.8 EUTANÁSIA E COLETA DE MATERIAL

As ratas foram eutanasiadas por decapitação, o sangue total foi coletado, parte dele destinado para as análises hematológicas, o restante centrifugado para a separação do plasma, que foi armazenado em ultrafreezer para análises bioquímicas. As ratas foram pesadas, o comprimento nasoanal e circunferência abdominal mensurados, para os cálculos de índice de Lee, volume e densidade corporal. Foi realizada a coleta dos macrófagos peritoneais, os tecidos adiposos mesentérico, perigonadal e retroperitoneal dissecados, pesados e destinados para o cálculo de peso relativo e adiposidade abdominal. Também, o útero, ovário, placenta e tecido adiposo perigonadal foi coletado e destinado para a análise de marcadores do distresse oxidativo. Das ratas após o parto, foi realizada a coleta de leite para análise do perfil nutricional.

Aos dias DPN21 e DPN60, as proles foram eutanasiadas por decapitação, o sangue total foi coletado, parte dele destinado para as análises hematológicas, o restante centrifugado para a separação do plasma, que foi armazenado em ultrafreezer para análises bioquímicas. Os ratos foram pesados, o comprimento nasoanal e circunferência abdominal mensurados, para os cálculos de índice de Lee, volume e densidade corporal. Os tecidos adiposos mesentérico, perigonadal e retroperitoneal dissecados, pesados e destinados para o cálculo de peso relativo e adiposidade abdominal. Por fim, os músculos diafragma, extensor longo dos dedos, plantar, sóleo e tibial anterior foram dissecados, pesados e medidos, para os cálculos de volume e densidade. Os músculos foram destinados para análises estruturais e marcadores bioquímicos.

## 5.9 PERFIL BIOQUÍMICO E HEMATOLÓGICO

O plasma foi destinado para a determinação das concentrações séricas de glicose, colesterol total e a fração HDL, triacilgliceróis totais, lactato, proteínas totais, albumina, fosfato, cálcio, cloreto e magnésio pelo emprego de kits comerciais de análise colorimétrica (Vida Biotecnologia®). As leituras das absorbâncias foram realizadas em leitor de microplacas (Infinite® 200 PRO SERIES TECAN) e os valores expressos conforme indicação do fabricante. Para a determinação das frações de colesterol LDL e VLDL foi empregada a equação de Friedewald (Friedewald et al. 1972), também foram calculados os índices de Castelli I e II e a razão de lipídios plasmáticos para a determinação do risco de doenças cardiovasculares. Para a quantificação do crematório, 75 µL de leite foram alocados em capilares de vidro de 0,05 mm de diâmetro, centrifugados durante 15 min a 15.000 g, para determinação de nata, gordura e calorias do leite (Lemons; Schreiner; Gresham, 1980).

Para determinar o perfil hematológico, amostras de sangue periférico foram coletadas e homogeneizadas em tubo contendo EDTA tetrassódico. Imediatamente, foram confeccionadas extensões sanguíneas em lâminas de vidro e após a fixação em temperatura ambiente foram coradas pelo método de May-Grunwald-Giemsa. O esfregaço sanguíneo foi avaliado em microscopia de luz em objetiva de 100X, por contagem diferencial, contagem global por estimativa e avaliação morfológica de leucócitos. Também, parte do sangue periférico foi depositado em tubos capilares e destinado imediatamente para a quantificação do microhematócrito. Os capilares foram centrifugados a 10.000 g (T. Amb; 10 min) em microcentrifuga de hematócrito, os valores foram comparados em tabela padrão (Vigneshwar *et al.*, 2021).

## 5.10 ANÁLISE DOS MACRÓFAGOS PERITONEAIS

Para todos os ensaios de macrófagos, foram plaqueados em placas de 96 poços, 100 µL de solução contendo  $2 \times 10^6$  células/mL, que foram incubados durante 45 min à 37°C para a adesão dos macrófagos. A capacidade de adesão dos macrófagos foi avaliada após incubação e fixação das células com metanol 50%. Em seguida, coradas com solução de Giemsa (0,1%) durante 10 minutos. A placa foi lavada com PBS e o corante solubilizado em 200 µL metanol 50%. A leitura da absorbância foi realizada a 550nm (Rosen; Gordon, 1987).

A capacidade fagocitária foi realizada a partir da incubação das células durante 30 min com a solução de zimosan e vermelho neutro. Após esse período, as células foram fixadas com

solução de formol cálcio de Baker e lavadas com PBS. O vermelho neutro que se encontrava dentro dos fagossomos foi solubilizado utilizando-se de solução de extração (10% ácido acético e 40% etanol em água destilada), e após 30 minutos realizada a leitura da absorbância a 550 nm (Bonatto *et al.*, 2004).

Para a análise de volume de retenção lisossomal, as células foram incubadas com a solução de vermelho neutro 2%. Após 30 minutos, o sobrenadante foi descartado e os poços lavados com PBS para a eliminação do vermelho neutro não internalizado nas células. Foi adicionada solução de extração para solubilizar o vermelho neutro retido dentro dos lisossomos e após 30 minutos, a absorbância foi lida a 550 nm (Coles; Farley; Pipe, 1995).

### 5.11 MARCADORES DE DISTRESSE OXIDATIVO

Fragmentos do útero e da placenta foram homogeneizados em tampão Tris-HCl 50 mM pH 7,4 em banho de gelo e centrifugados a 12.000 g (4 °C; 20 min), o sobrenadante coletado foi utilizado para a determinação da atividade de enzimas do sistema antioxidante. Para padronização, foi realizada a dosagem de proteínas solúveis pelo método de Bradford com curva padrão de albumina de soro bovino (Bradford, 1976), posteriormente à quantificação, todas as amostras foram padronizadas para 1 mg de proteína.

A produção de superóxido foi estimada através da formação de azul de formazan a partir da redução do azul de nitrotetrazólio (NBT). Os homogenatos foram incubados durante 1 hora, em meio contendo 0,2% de NBT em PBS a 37 °C. Então, foram adicionados 120 µL de KOH, 2M e 140 µL de DMSO (dimetil sulfóxido) para solubilizar o NBT. Após 30 minutos a absorbância foi lida a 550 nm (Pick; Mizel, 1981).

A produção de peróxido de hidrogênio foi mensurada a partir da oxidação de vermelho fenol, pela peroxidase. Cada poço recebeu 100 µL da solução de vermelho fenol contendo peroxidase e zimosan, e foram incubados durante 30 minutos. Em seguida foi adicionado 10 µL de NaOH 1 M e, após 30 min a absorbância foi lida a 550 nm (Pick; Mizel, 1981).

A concentração de GSH e de outros tióis não proteicos (NP-SH) foi determinada através da interação dos tióis com o DTNB e formação de um cromóforo amarelado. Para a realização do ensaio foi necessária a precipitação das proteínas da amostra pela adição de TCA 30% (1:5 v/v) e centrifugação a 7000 g a 4 °C durante 10 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a quantificação dos tióis com a adição de 250 µM de DTNB e a absorbância pela geração do

cromóforo foi medida a 415 nm. Os valores foram expressos em nM de tióis x mg de proteína-1 (Sedlak; Lindsay, 1968).

O índice de peroxidação lipídica (LPO) foi determinado pela geração de um cromóforo pela complexação de Fe<sup>+2</sup> e xilenol laranja, estabilizado por hidroxitolueno butilado (BHT). A absorbância pela geração do cromóforo foi medida a 560 nm. Os valores foram expressos em nM hidroperóxidos x mg de proteína-1 (Jiang; Woollard; Wolff, 1991).

A quantificação dos danos oxidativos às proteínas foi determinada pela reação de proteínas carboniladas com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), formando dinitrofenil hidrazonas. Essa interação foi quantificada a 360 nm. Os valores foram expressos em nM de carbonilas x mg proteína-1 (Levine *et al.*, 1994).

A quantificação do conteúdo de metalotioneína foi realizada a partir da detecção dos resíduos de cisteínas em extratos etanólicos, através da interação dos tióis com o DTNB e formação de um cromóforo amarelado. As amostras foram preparadas em tampão de sacarose (SR: sacarose 0,5 M, Tris 26 mM, fluoreto de fenilmetilsulfonila 0,5 mM, p-mercaptoetanol 1,3 mM) e centrifugadas a 18.000 g a 4°C durante 45 min. O sobrenadante foi submetido à extração com etanol/clorofórmio para obter uma fração de metaloproteína parcialmente purificada. Nesta fração, os grupos sulfidril foram quantificados a 412 nm. A glutationa reduzida (GSH) foi utilizada como padrão, os valores foram expressos em nM de tióis x mg de proteína-1 (Viarengo *et al.*, 1997).

A atividade enzimática da colinesterase total (ChE – EC 3.1.1.8) foi determinada pela geração do 2-nitrobenzoato-5-mercaptotocolina a partir da interação da tiocolina e do DTNB, o aumento da absorbância pela formação do cromóforo foi acompanhado a 405 nm (SR: 487 µM de DTNB; 2,25 mM de iodeto de acetiltiocolina). Os valores foram expressos em nM de acetiltiocolina hidrolisados x min<sup>-1</sup> x mg proteína-1 (Ellmann *et al.*, 1961).

### 5.13 MARCADORES DE ALTERAÇÕES METABÓLICAS

Os músculos extensor longo dos dedos, sóleo e tibial anterior foram homogeneizados em tampão Tris-HCl 50 mM pH 7,4 em banho de gelo. Posteriormente, os homogenatos foram sonicados durante 20 segundos para o rompimento das membranas intracelulares e centrifugados a 12.000 RCF (g) a 4 °C durante 10 min, o sobrenadante foi coletado e utilizado para a determinação das atividades enzimáticas. Para padronização, foi realizada a dosagem de

proteínas solúveis pelo método de Bradford com curva padrão de albumina de soro bovino (Bradford, 1976), posteriormente todas as amostras foram diluídas em tampão Tris-HCl pH 7,4 (1:20 v/v para os músculos), para manter a concentração proteica abaixo de 1 mg/dL, possibilitando maior tempo de linearidade das reações.

A atividade enzimática da lactato desidrogenase (LDH – EC 1.1.1.27) foi determinada por meio da produção de lactato a partir do consumo de piruvato, sendo a redução da absorbância avaliada pela oxidação do NADH, acompanhada em 343 nm (SR: 50 mM de tampão Tris-HCl pH 7,4; 1 mM de piruvato de sódio; 100 mM de KCl; 254  $\mu$ M de NADH). Os valores foram expressos em nM de NADH oxidado.min<sup>-1</sup>.mg de proteína<sup>-1</sup> (Thuesen; McCullough; Childress, 2005).

A atividade enzimática da glutamato desidrogenase (GLDH – EC 1.4.1.2) foi determinada por meio da produção de  $\alpha$ -cetoglutarato a partir do consumo de glutamato, sendo o aumento da absorbância avaliado pela redução do NAD<sup>+</sup> em 343 nm (SR: 100 mM de tampão Tris-HCl pH 7,4; 2 mM de NAD<sup>+</sup>; 800  $\mu$ M de ADP; 40 mM de l-glutamato). Os valores foram expressos em  $\mu$ M de NAD<sup>+</sup> reduzido.min<sup>-1</sup>.mg de proteína<sup>-1</sup> (Bidigare; Frederic; King, 1981; Ciardiello *et al.*, 2000).

A atividade enzimática da aspartato aminotransferase (AST – EC 2.6.1.1) foi determinada por meio da produção de malato pela MDH do SR, avaliando-se o consumo do oxaloacetato produzido a partir do consumo de  $\alpha$ -cetoglutarato e aspartato. A redução da absorbância pela oxidação do NADH foi acompanhada em 343 nm. Os valores foram expressos em mM NADH oxidado.min<sup>-1</sup>.mg proteína<sup>-1</sup> (SR: kit comercial Bioclin®).

A atividade enzimática da alanina aminotransferase (ALT – EC 2.6.1.2) foi determinada por meio da produção de lactato pela LDH do SR, avaliando-se o consumo do piruvato produzido a partir do consumo de  $\alpha$ -cetoglutarato e alanina. A redução da absorbância pela oxidação do NADH foi acompanhada a 343 nm. Os valores foram expressos em mM NADH oxidado.min<sup>-1</sup>.mg proteína<sup>-1</sup> (SR: kit comercial Bioclin®).

A atividade enzimática da fosfatase alcalina (ALP – EC 3.1.3.1) foi determinada avaliando-se a transferência do grupamento fosfato do substrato p-nitrofenilfosfato para o 2-amino-2-metil-1-propanol do SR. O aumento da absorbância pela produção do p-nitrofenol foi acompanhada a 405 nm. Os valores foram expressos em mM p-Nitrofenol.min<sup>-1</sup>.mg proteína<sup>-1</sup> (SR: kit comercial Bioclin®).

#### 5.14 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

O músculo plantar foi dissecado cuidadosamente envolvido em talco neutro após a dissecação e foi mantido em temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos (Buratti *et al.*, 2019). As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer até o processamento. Para a análise histomorfológica, foram adquiridos cortes transversais de sete micrômetros de espessura das regiões proximais, utilizando uma câmara criostática regulada a -25 °C (Leica, Wetzlar, Alemanha). Um total de cinco cortes transversais foram montados em lâminas de vidro e utilizados para avaliação histomorfológica pelas colorações de Hematoxilina e Eosina (Junqueira; Junqueira, 1983) e Picrosirius red para a detecção dos tipos de colágeno (Junqueira; Cossermelli; Brentani, 1978). Para determinar o perfil do tipo de fibra muscular, foram preparadas lâminas com quatro seções de cada animal. Esta lâmina foi submetida à reação de nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH-TR) (Dubowitz; Brooke, 1973). O material obtido foi utilizado para avaliar a proporção de fibras musculares tipo I, IIA e IIB, baseando-se na análise do metabolismo oxidativo e glicolítico.

#### 5.15 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

A aquisição de imagens para análise morfométrica foi realizada utilizando um microscópio de luz (Carl Zeiss™ Primo Star™). As lâminas coradas com Picrosirius Red foram fotografadas utilizando um microscópio de luz polarizada (Carl Zeiss™ AxioImager™). Ambos os microscópios foram equipados com câmera (Carl Zeiss™ AxioCam ERc 5s) e vinculados ao software ZEN 3.1 (Carl Zeiss™). Para análise das imagens foi utilizado o software Image-Pro Plus 6.0® (Media Cybernetics, MD, Rockville, EUA). Adicionalmente, foi utilizado o programa GNU - GIMP 2.10.30 (GNU General Public License®, Berkeley, Califórnia, Estados Unidos) para quantificação de pixels, que incluiu análise de tecido conjuntivo.

Para análise histomorfométrica, foram utilizadas imagens abrangendo fibras musculares inteiras para determinar a área relativa de análise. Isso incluiu a contagem de algumas fibras, núcleos e capilares. A partir destes dados foram calculados os seguintes parâmetros: Densidade da fibra (DENS = número de fibras por mm<sup>2</sup>); Relação de capilares por fibra (relação CF = número de capilares/número de fibras); Proporção de núcleos por fibra (proporção NF = vários núcleos/número de fibras); Porcentagem de núcleos centrais (NC%). As áreas transversais (AST) das fibras musculares, os diâmetros maior (LD) e menor (SD) das fibras musculares e

dos núcleos também foram medidos. Essas medidas foram empregadas para calcular: domínio mionuclear (relação CSA/NF da fibra muscular) e razão da área de seção transversal dos núcleos sarcoplasmáticos (relação CSA SN = (núcleos NF x CSA)/fibra CSA). Um total de 150 eventos foram avaliados por animal para essas medições.

A quantificação do colágeno foi executada de forma semelhante, envolvendo a quantificação de pixels associados ao colágeno tipo I (em vermelho), ao colágeno tipo III (em verde) e às áreas sobrepostas de ambos (em amarelo). Para quantificar o número de fibras musculares dos tipos I, IIA e IIB foram utilizadas lâminas tratadas com reação NADH-TR. Foram contadas todas as fibras da imagem, totalizando aproximadamente 150 fibras por animal. Posteriormente, foi computado o número de cada tipo de fibra e a partir desses dados foi calculado o percentual para a proporção de cada tipo de fibra. Para evitar a recontagem, as fibras já contadas foram marcadas na imagem. Para a medição da área de seção transversal (CSA), bem como dos diâmetros maior (LD) e menor (SD), foram medidas 50 fibras de cada tipo por animal.

## 5.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos por média  $\pm$  desvio padrão e analisados por meio da estatística descritiva e inferencial no programa R (versão 4.1.0). Para a escolha do teste estatístico apropriado, os dados foram avaliados quanto a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett). Quando as suposições foram satisfeitas, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) de um fator, seguida por um teste post-hoc de Tukey. Para variáveis séricas que foram avaliadas em diferentes momentos, foi realizado teste de ANOVA para medidas repetidas, seguido pelo teste post-hoc de Tukey, quando apropriado. Quando aplicável, os dados foram submetidos ao teste ANOVA de duas vias e pelo teste post-hoc Tukey. Em todos os casos, o nível de significância adotado foi de 5%.

A partir dos resultados obtidos, foi calculado o índice de resposta integrada aos biomarcadores (IBR) (Sanchez; Burgeot; Porcher, 2013), buscando avaliar o aumento ou a redução para cada variável observada. Para o IBR, foi calculada a razão entre os dados de cada variável das amostras dos grupos suplementados (SPL3 ou SPL6) e das doses (1g, 2g, 3g e 4g) em relação ao grupo controle. Cada razão foi transformada logaritmicamente ( $Y_{i+1}$ ) e em seguida foram calculadas as médias gerais ( $\mu$ ) e desvios padrão ( $s$ ). Em seguida, os valores logarítmicos de  $Y_{i+1}$  ( $y_i$ ) foram padronizados pela fórmula  $= (z_i = \frac{y_i - \mu}{s})$ . O mesmo

procedimento também foi realizado para o grupo controle, calculando os valores padrão ( $Z_0$ ). Foi calculada a diferença entre  $Z_i$  e  $Z_0$  ( $A$ ), determinando o valor da resposta de cada biomarcador em cada tempo de exposição. A soma dos valores de  $A$  define o valor do IBR para cada dose de suplementação em cada grupo de variáveis. Os dados de cada variável foram representados em gráficos tipo radar, indicando o desvio de cada variável investigada em relação ao grupo controle (SPL3 ou SPL6 0 g/kg). Para avaliar o padrão multivariado de resposta biológica, as variáveis foram agrupadas em cinco categorias: características corporais, homeostase glicêmica, homeostase lipídica, perfil celular e atividade dos macrófagos. Essas categorias foram analisadas por meio do Índice de Resposta Biológica, permitindo uma visão integrada dos efeitos das suplementações

As matrizes das variáveis de Características Corporais ( $x, y, z$ ), Perfil Plasmático ( $x, y, z$ ), Perfil Hematológico ( $x, y, z$ ) e Atividade dos Fagócitos ( $x, y, z$ ) analisadas nos dias gestacionais 0 e 18 foram referidas como matrizes de causa. Por outro lado, as matrizes das variáveis de Produção de Espécies Reativas ( $x, y$  e  $z$ ), Acúmulo de Danos Oxidativos ( $x, y$  e  $z$ ) e Toxicidade Tecidual ( $x, y$  e  $z$ ) do útero e placenta, bem como a Incorporação Materna ( $x, y$  e  $z$ ), Incorporação Fetal ( $x, y$  e  $z$ ) e a Razão de Transferência ( $x, y$  e  $z$ ), foram chamadas de matrizes de consequência. Todas essas matrizes foram padronizadas com base na distribuição  $z$  e submetidas à Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) utilizando as respectivas Matrizes de Distância Euclidiana. O fator fixo utilizado foi a suplementação (CTLE, SPL3, SPL6 e SPL9), e essa análise foi conduzida com o auxílio do pacote "vegan" e sua função "adonis2". As comparações entre fatores foram realizadas por meio da MANOVA Permutacional com correção de Bonferroni, utilizando o pacote "EcolUtils" e sua função "adonis.pair". A representação gráfica utilizada foi o biplot da Análise de Coordenadas Principais, com a ajuda do pacote "ape" e sua função "pcoa".

Para avaliar a associação entre o fator de suplementação e o período gestacional, as coordenadas dos vetores das matrizes de Características Corporais ( $x, y, z$ ), Perfil Plasmático ( $x, y, z$ ), Perfil Hematológico ( $x, y, z$ ) e Atividade dos Fagócitos ( $x, y, z$ ) analisadas nos dias gestacionais 0 e 18 foram usadas como pontos de referência. O Tamanho de Efeito foi calculado com a criação de modelos lineares usando o pacote "effectsize" e sua função "eta\_squared". O índice  $f$  de Cohen foi utilizado como referência para a adequação dos modelos. A representação gráfica empregada foi um histograma, utilizando o pacote "ggplot2" e sua função "ggdensity".

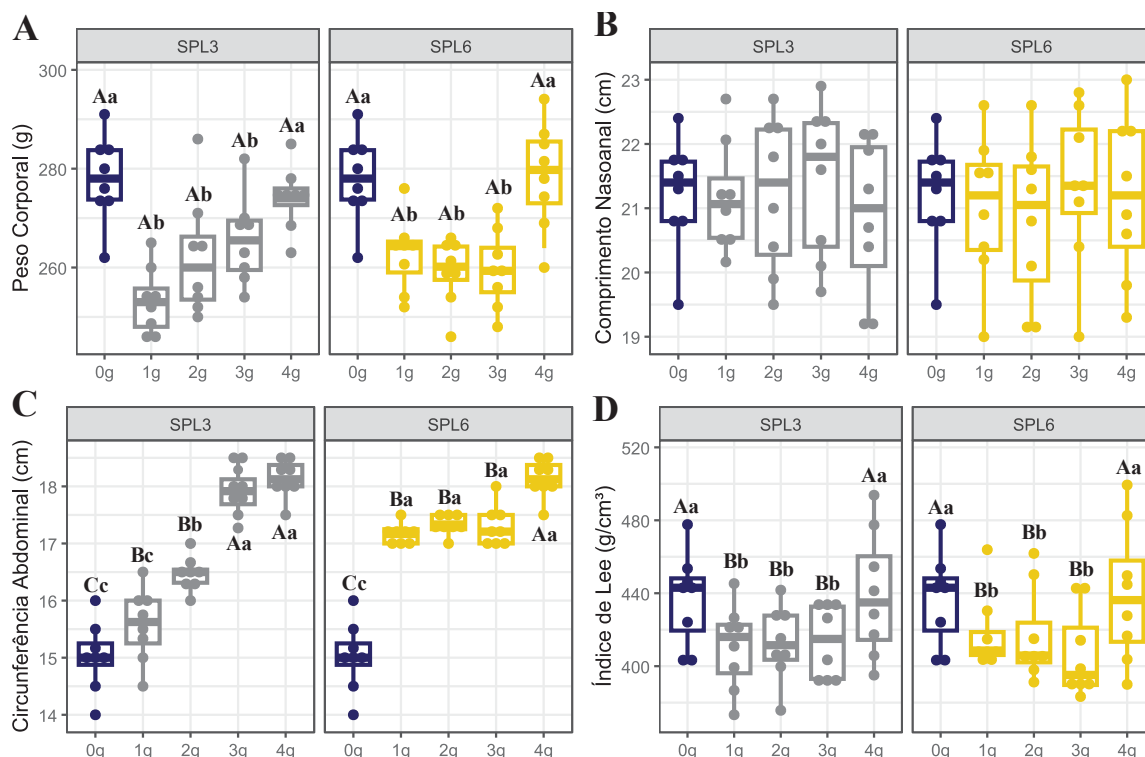
Para explorar a associação entre as matrizes de causa (características corporais, perfil plasmático, perfil hematológico e atividade dos fagócitos) e as matrizes de consequência (produção de espécies reativas, acúmulo de danos oxidativos e toxicidade tecidual do útero e placenta, bem como a incorporação materna, incorporação fetal e razão de transferência), realizou-se uma análise de partição de variância para a matriz de distância euclidiana das variáveis, assumindo toda a variação dos dados das PCoA relativas ao eixo x como modelo A, e relativas ao eixo y como modelo B. Existindo associação entre essas variáveis, foi realizada a análise de partição de variância para cada variável de resposta, com testes dos efeitos das matrizes de variáveis preditoras. A distância baseada na análise de redundância parcial (dbRDA) foi empregada para avaliar o efeito de cada componente, e os resultados foram interpretados de forma conjunta. Além disso, foram consideradas as contribuições das variáveis preditoras e suas combinações para cada variável de resposta, a fim de definir os efeitos individuais desses fatores sobre as variáveis de consequência. O dbRDA parcial foi calculado utilizando a função "capscale" com a distância de Bray-Curtis, e a partição da variância foi obtida com a função "varpart", pertencentes ao pacote "vegan".

## 6. IDENTIFICAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NO MODELO DE ESTUDO DOSE-RESPOSTA

### 6.1 CARACTERÍSTICAS CORPORAIS

A análise de parâmetros corporais nas fêmeas, demonstrou que as diferentes quantidades de PUFA fornecidas, atuaram sobre o peso corporal de forma bastante particularizada., apesar de não haver diferença do peso corporal em razão da suplementação ( $F_{1,79} = 0,3575$ ;  $CV = 3,27\%$ ;  $p = 0,5515$ ), e tão pouco houve interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 2,0194$ ;  $CV = 3,27\%$ ;  $p = 0,1011$ ) (Figura 31A). Foi possível observar que nas doses de 1 à 3 g/kg houve redução do peso corporal, tanto na presença de SPL3 como de SPL6 ao serem comparadas ao CTLE ( $F_{4,79} = 18,3987$ ;  $CV = 3,27\%$ ;  $p < 0,0001$ ). Curiosamente, na dose de 4g/kg esse efeito foi perdido nas em ambos os grupos suplementados. Com relação ao Comprimento Nasoanal (Figura 31B), não houve diferença entre as suplementações ( $F_{1,79} = 0,0312$ ;  $CV = 5,39\%$ ;  $p = 0,8601$ ), ou entre as doses ( $F_{4,79} = 0,6161$ ;  $CV = 5,39\%$ ;  $p = 0,6525$ ) e também não houve interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 0,3464$ ;  $CV = 5,39\%$ ;  $p = 0,8456$ ), resultado já esperado, uma vez que as fêmeas eram adultas.

Como reflexo da alteração de peso corporal, o Índice de Lee das ratas também foi menor nas ratas suplementadas com 1 a 3 g/kg de óleo de peixe ou de soja ( $F_{4,79} = 4,4461$ ;  $CV = 6,36\%$ ;  $p = 0,0029$ ) (Figura 31D). Entretanto, não foi identificada diferença entre as suplementações ( $F_{1,79} = 0,0341$ ;  $CV = 6,36\%$ ;  $p = 0,8542$ ) e tampouco interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 0,1529$ ;  $CV = 6,36\%$ ;  $p = 0,9611$ ). Assim, independentemente do AG fornecido, nas doses de 1 a 3 g/kg houve redução do índice de Lee, uma consequência direta da redução de peso corporal, enquanto na dose de 4 g/kg o índice foi igual ao encontrado no CTLE. As mensurações da circunferência abdominal (Figura 31C) diferiram entre os animais suplementados ( $F_{1,79} = 15,1169$ ;  $CV = 2,57\%$ ;  $p < 0,0001$ ), bem como entre as doses ( $F_{4,79} = 0,6161$ ;  $CV = 5,39\%$ ;  $p = 0,6525$ ). Entretanto, não foi identificada interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 0,3464$ ;  $CV = 5,39\%$ ;  $p = 0,8456$ ). Nas ratas SPL3, observa-se um aumento dose-dependente na circunferência abdominal, enquanto, nas ratas SPL6, esse aumento é expressivo mesmo na menor dose. Enquanto a suplementação com 2g/kg de SPL3 promoveu aumento de *ca.* 3% na circunferência abdominal, a mesma dose de SPL6 promoveu um incremento significativamente maior (*ca.*13%). Nas doses de 3 e 4 g/kg a suplementação com SPL3 produziu incrementos semelhantes aos observados com SPL6 (20%).

**Figura 31** - Representação Gráfica das Características Corporais.

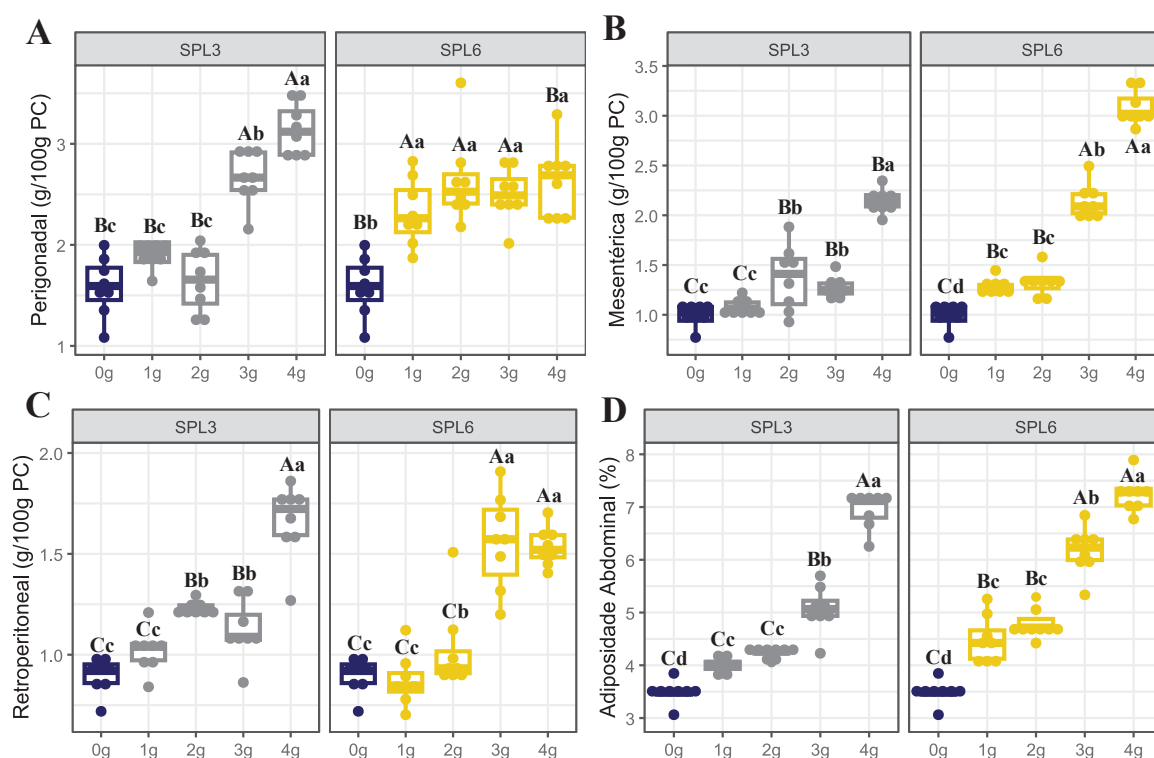
**Legenda:** A: Avaliação do Peso Corporal (g); B: Mensuração do Comprimento Nasoanal (cm); C: Mensuração da Circunferência Abdominal (cm); D: Cálculo do Índice de Lee (g/cm<sup>3</sup>); Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3. Amarelo: ratas SPL6. Letras maiúsculas se referem ao fator suplementação e letras minúsculas se referem ao fator dose. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

Com relação ao perfil de adiposidade das ratas, foi possível observar que no o tecido adiposo mesentérico (Figura 32B), houve diferença entre as suplementações ( $F_{1,79} = 126,1409$ ; CV = 10%;  $p < 0,0001$ ), entre as doses ( $F_{4,79} = 264,5409$ ; CV = 10%;  $p < 0,0001$ ), bem como houve interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 36,4948$ ; CV = 10%;  $p < 0,0001$ ). Também, foi possível observar que no tecido adiposo retroperitoneal (Figura 32C), houve diferença entre as doses ( $F_{4,79} = 51,5818$ ; CV = 13,66%;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 9,5409$ ; CV = 13,66%;  $p < 0,0001$ ), entretanto, não houve diferença entre as suplementações ( $F_{1,79} = 0,1719$ ; CV = 13,66%;  $p = 0,6793$ ). No tecido adiposo perigonadal (Figura 32A), houve diferença entre as suplementações ( $F_{1,79} = 4,6921$ ; CV = 13,32%;  $p = 0,0337$ ), entre as doses ( $F_{4,79} = 43,2089$ ; CV = 13,32%;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 14,7869$ ; CV = 13,32%;  $p < 0,0001$ ).

De maneira geral, as ratas SPL3 apresentaram aumento gradual no peso dos depósitos de gordura a partir da dose de 2 g/kg nos tecidos mesentérico e retroperitoneal, enquanto, no tecido adiposo perigonadal, o ganho de peso foi observado somente a partir da dose de 3 g/kg.

Nas ratas SPL6 foi observado um aumento progressivo e de maior intensidade no peso desses depósitos a partir da dose de 1g/kg, exceto no tecido adiposo retroperitoneal, em que o aumento só foi detectado a partir da dose de 3g/kg. Assim, o aumento isolado do peso de cada tecido adiposo, contribuiu para que houvesse significativo aumento na adiposidade abdominal (Figura 32D), tanto em razão das suplementações ( $F_{1,79} = 417,7528$ ;  $CV = 7,25\%$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto das doses ( $F_{4,79} = 235,6979$ ;  $CV = 7,25\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e pela interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 5,3959$ ;  $CV = 7,25\%$ ;  $p < 0,0001$ ). Observa-se um aumento do efeito dependente na adiposidade abdominal em ambos os AG, com um efeito potencializado na presença de n-6. No entanto, na dose de 4 g/kg, ambos os grupos apresentam valores médios semelhantes de adiposidade abdominal.

**Figura 32** – Representação Gráfica do Perfil de Adiposidade

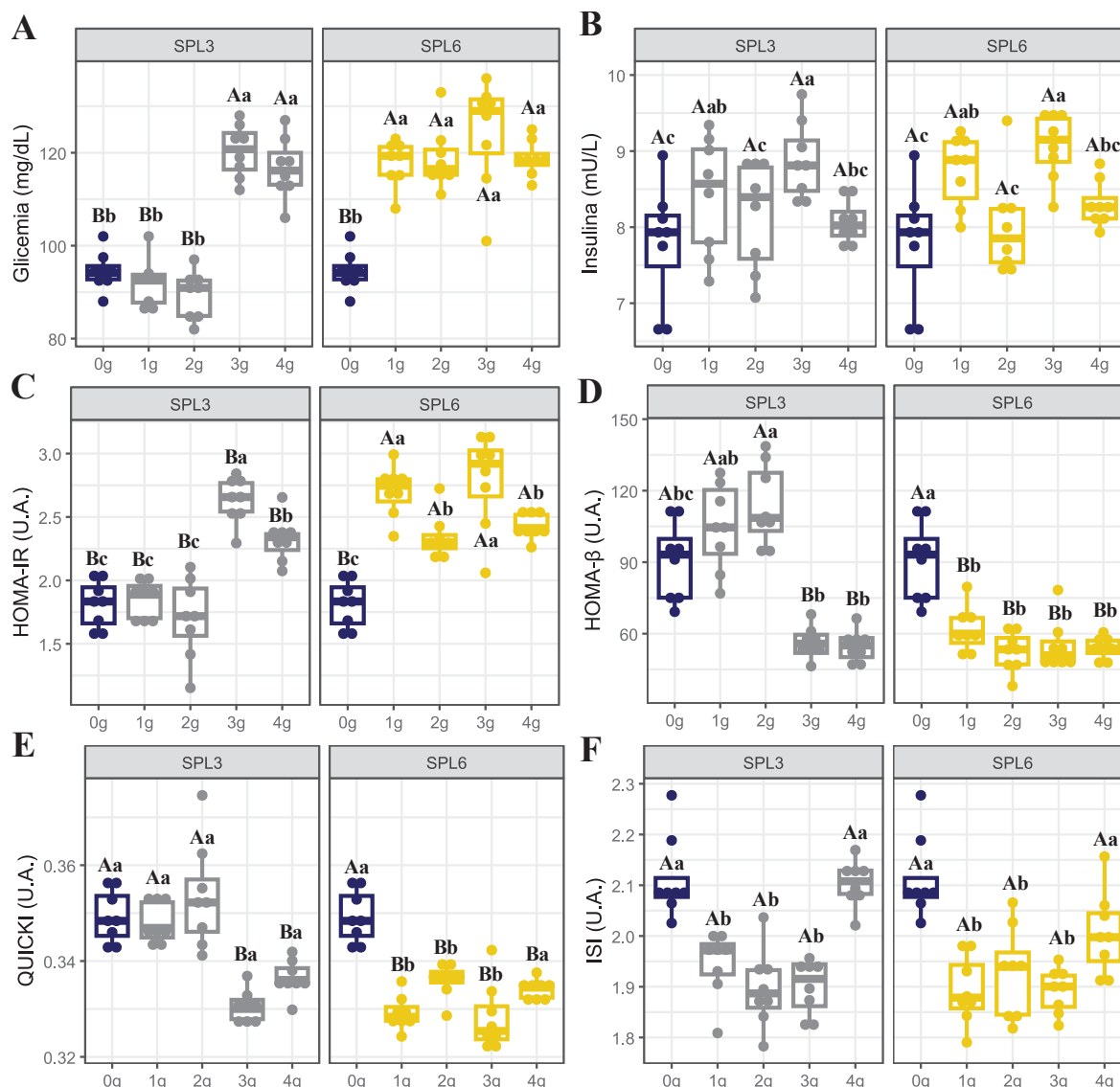


**Legenda:** A: Peso do Tecido Adiposo Perigonadal (g/100g de Peso Corporal); B: Peso do Tecido Adiposo Mesentérico (g/100g de Peso Corporal); C: Peso do Tecido Adiposo Retroperitoneal (g/100g de Peso Corporal); D: Estimativa de Adiposidade Abdominal (%). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras maiúsculas se referem ao fator suplementação e letras minúsculas se referem ao fator dose. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

## 6.2 PERFIL GLICÊMICO E RESPONSIVIDADE

O efeito das suplementações também foi verificado com relação a glicemia (Figura 33A), onde foi observado efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 79,1539$ ;  $CV = 5,66\%$ ;  $p < 0,0001$ ), entre as doses ( $F_{4,79} = 53,2015$ ;  $CV = 5,66\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 21,1608$ ;  $CV = 5,66\%$ ;  $p < 0,0001$ ). Observou-se que nas doses de 3 e 4 g/kg de SPL3 houve aumento nos valores basais de glicemia em jejum ( $\sim 22\%$ ) proporcionais aos encontrados com a suplementação em todas as doses de SPL6. Nas doses de 1 e 2 g/kg de SPL3 os valores de glicose circulante se mantiveram equivalentes aos observados nas ratas CTLE, enquanto as doses de 3 e 4 g/kg elevaram as concentrações aos valores observados nas ratas SPL6. Em relação insulinemia (Figura 33B), foi observado apenas efeito da dose ( $F_{4,79} = 9,4986$ ;  $CV = 7,65\%$ ;  $p < 0,0001$ ), não sendo observado efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 2,7138$ ;  $CV = 7,65\%$ ;  $p = 0,0581$ ), tampouco interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 2,3704$ ;  $CV = 7,65\%$ ;  $p = 0,0606$ ). Neste sentido, as ratas suplementadas com 3 g/kg de qualquer AG apresentaram maiores valores de insulina plasmática, seguidas pelas doses de 1 g/kg e 4 g/kg. A dose de 2 g, em ambos os AG, não promoveu alterações os valores circulantes de insulina.

Os resultados do Modelo de Avaliação da Homeostase da Resistência à Insulina (HOMA-IR, Figura 33C), demonstraram que houve efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 52,5709$ ;  $CV = 9,67\%$ ;  $p < 0,0001$ ), entre as doses ( $F_{4,79} = 40,4128$ ;  $CV = 9,67\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 11,8085$ ;  $CV = 9,67\%$ ;  $p < 0,0001$ ). Assim, observou-se que as doses de 1 e 2 g/kg de SPL3 não modificaram a resistência periférica, enquanto as doses de 3 e 4 g de SPL3 reduziram a responsividade à insulina de maneira similar à todas as doses de SPL6 (*ca.* de 38%). Entretanto, também, o Modelo de Avaliação da Homeostase da Função das Células Beta (HOMA- $\beta$ , Figura 33D), demonstrou o efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 49,4309$ ;  $CV = 18,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ), entre as doses ( $F_{4,79} = 25,1348$ ;  $CV = 18,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 18,1446$ ;  $CV = 18,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ). De maneira contrária ao observado no HOMA-IR, as ratas suplementadas com 1 e 2 g/kg de SPL3 mantiveram índices de função das células beta em comparação com as CTLE, enquanto as doses de 3 e 4 g/kg ocorreu redução de aproximadamente 33% na função das células  $\beta$ . As ratas suplementadas com SPL6, independentemente da dose, apresentaram redução de da função das células  $\beta$  em proporção semelhante ao efeito encontrado por ação das maiores doses de SPL3

**Figura 33** – Representação Gráfica da Glicemia e Responsividade

**Legenda:** A: Glicemia Plasmática (mg/dL); B: Insulina Plasmática (mU/L); C: Índice de Resistência à Insulina - HOMA-IR (U.A.); D: Índice de Função das Células β Pancreáticas - HOMA-β (U.A.); E: Índice Quantitativo de Sensibilidade à Insulina - QUICKI (U.A.); F: Índice de Sensibilidade à Insulina - ISI (U.A.). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras maiúsculas se referem ao fator suplementação e letras minúsculas se referem ao fator dose. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

De maneira semelhante, a análise do Índice Quantitativo de Verificação da Sensibilidade à Insulina (QUICKI, Figura 33E), apresentou efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 45,6365$ ;  $CV = 1,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ), entre as doses ( $F_{4,79} = 33,2688$ ;  $CV = 1,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 11,4029$ ;  $CV = 1,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ). Assim, as ratas suplementadas com 3 e 4 g/kg de SPL3 apresentaram sensibilidade à insulina reduzida, enquanto as doses de 1 e 2 g/kg mantiveram a responsividade igual ao CTLE. Já nas ratas SPL6, todas as doses promoveram redução no índice de sensibilidade. Por fim, o Índice de Sensibilidade à Insulina (ISI, Figura

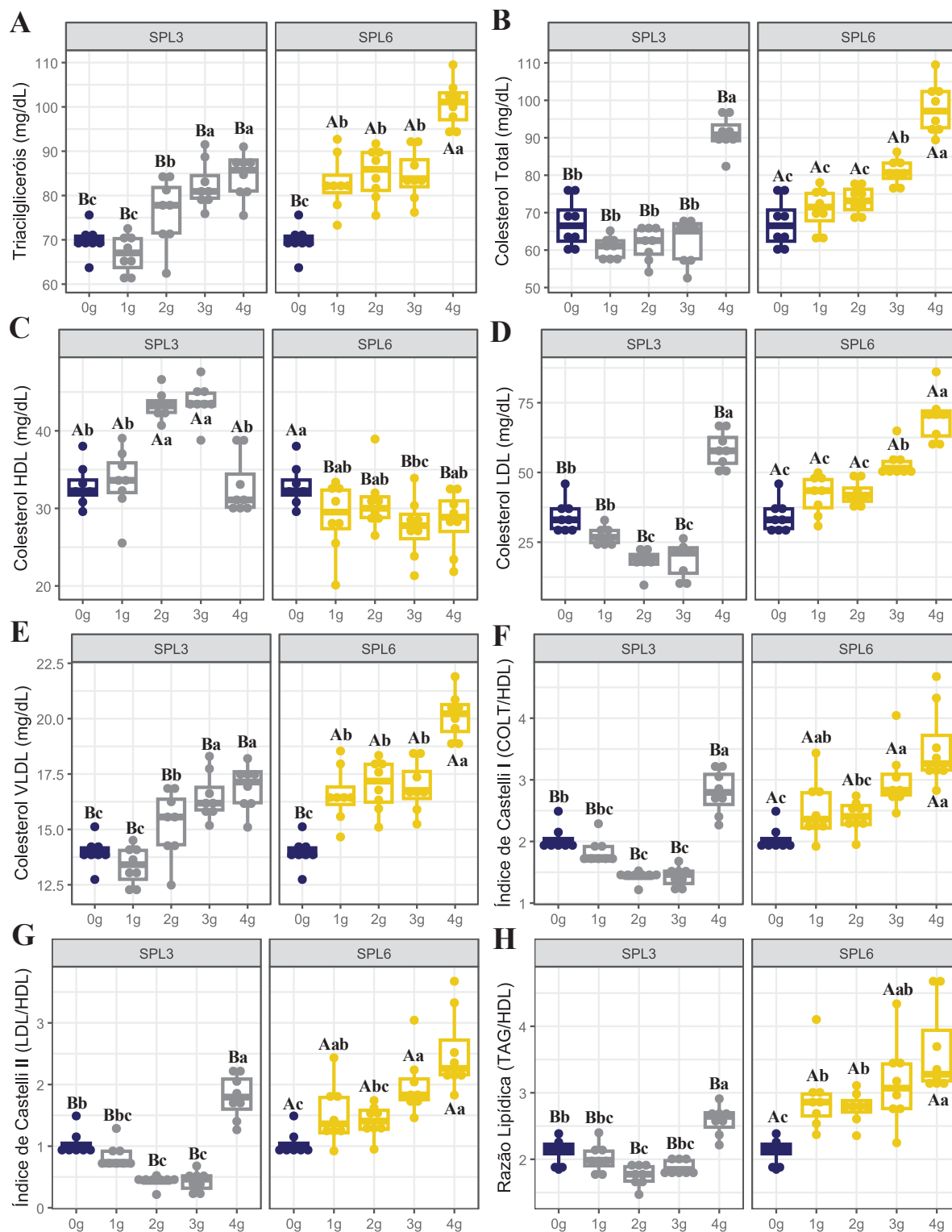
33F), demonstrou existir diferença apenas entre as doses ( $F_{4,79} = 31,1742$ ;  $CV = 3,54\%$ ;  $p < 0,0001$ ), não havendo diferença entre as suplementações ( $F_{1,79} = 2,6424$ ;  $CV = 3,54\%$ ;  $p = 0,1085$ ), nem interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 2,1109$ ;  $CV = 3,54\%$ ;  $p = 0,0885$ ). Neste caso, observou-se que nas doses 1, 2 e 3g/kg houve redução da sensibilidade para ambos os AG, sendo que em 4 g/kg os valores foram equivalentes aos do CTLE.

### 6.3 PERFIL LIPÍDICO E MARCADORES DE RISCO

Em relação ao perfil lipídico (Figura 34), concentrações de triacilgliceróis (Figura 34A), colesterol total (Figura 34B), frações HDL (Figura 34C), LDL (Figura 34D) e VLDL (Figura 34E), foi observado, em todas as variáveis estudadas, o efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 53,2709$ ;  $CV = 6,58\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 66,1929$ ;  $CV = 7,08\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 99,5659$ ;  $CV = 10,28\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 170,5928$ ;  $CV = 14,62\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 53,2709$ ;  $CV = 6,58\%$ ;  $p < 0,0001$ ; respectivamente), o efeito entre as doses ( $F_{4,79} = 43,0367$ ;  $CV = 6,58\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 85,9988$ ;  $CV = 7,08\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 10,5946$ ;  $CV = 10,28\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 86,8428$ ;  $CV = 14,62\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 43,0367$ ;  $CV = 6,58\%$ ;  $p < 0,0001$ ; respectivamente) e a interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 8,1109$ ;  $CV = 6,58\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 6,7789$ ;  $CV = 7,08\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 14,7009$ ;  $CV = 10,28\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 20,2587$ ;  $CV = 14,62\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 8,1109$ ;  $CV = 6,58\%$ ;  $p < 0,0001$ ; respectivamente).

A partir das determinações circulantes, foi observada diferença clara nas respostas às suplementações. As doses de 1, 2 e 3 g/kg de SPL3 mantiveram os níveis de colesterol total equivalentes aos do CTLE, além de promoverem aumento gradual do colesterol HDL e redução proporcional do colesterol LDL. Por outro lado, as doses de 3 e 4 g/kg de SPL3 resultaram em aumento gradual dos níveis de triacilgliceróis e colesterol VLDL. Com relação às ratas suplementadas com SPL6, foi possível identificar resposta dose-dependente, com aumento progressivo de triacilgliceróis, colesterol total, e das frações LDL e VLDL, e a diminuição de HDL. A comparação desses parâmetros entre os dois tipos de suplementação demonstrou que, em doses equivalentes, o aumento global da lipemia foi menor nas ratas SPL3, mesmo quando a suplementação com SPL3 começou a perder seus efeitos benéficos.

**Figura 34 – Perfil Lipídico e Marcadores de Risco**



**Legenda:** A: Triacilgliceróis (mg/dL); B: Colesterol Total (mg/dL); C: Colesterol HDL (mg/dL); D: Colesterol LDL (mg/dL); E: Colesterol VLDL (mg/dL); F: Índice de Castelli I (Colesterol Total/ Colesterol HDL); G: Índice de Castelli II (Colesterol LDL/ Colesterol HDL); Razão Lipídica (Triacilgliceróis/ Colesterol HDL). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras maiúsculas se referem ao fator suplementação e letras minúsculas se referem ao fator dose. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

Com relação aos valores dos Índices de Castelli I (Figura 34F) e II (Figura 34G), marcadores de risco cardiovascular, foram observados efeitos da suplementação ( $F_{1,79} = 101,4719$ ; CV = 15,19%;  $p < 0,0001$ ; em ambos), da dose ( $F_{4,79} = 32,0158$ ; CV = 15,19%;  $p < 0,0001$ ; em ambos), além de interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 8,1109$ ; CV = 15,19%;  $p < 0,0001$ ; em ambos). Da mesma forma, na razão de lipídios (Figura 34H) também foi modificada por efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 104,6889$ ; CV = 14,79%;  $p < 0,0001$ ), da dose ( $F_{4,79} = 16,3718$ ; CV = 14,79%;  $p < 0,0001$ ), além de existir interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 6,9989$ ; CV = 14,79%;  $p < 0,0001$ ). Os resultados indicaram que a suplementação com SPL3, até a dose de 3 g/kg, promoveu redução significativa nesses índices, sugerindo um efeito benéfico e cardioprotetor associado a essa dosagem. No entanto, foi observado que a dose de 4 g/kg teve um efeito contrário ao esperado, promovendo a elevação dos valores e, por conseguinte, aumentando os riscos de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Esses dados se aproximam dos resultados observados na suplementação com SPL6, onde se identificou uma resposta dose-dependente, na qual os riscos cardiovasculares aumentam proporcionalmente ao aumento da dose de suplementação. Esses achados sugerem a importância de um controle criterioso na recomendação e uso de SPL3, buscando maximizar os benefícios e evitar possíveis efeitos adversos.

#### 6.4 PERFIL DAS CÉLULAS DE DEFESA

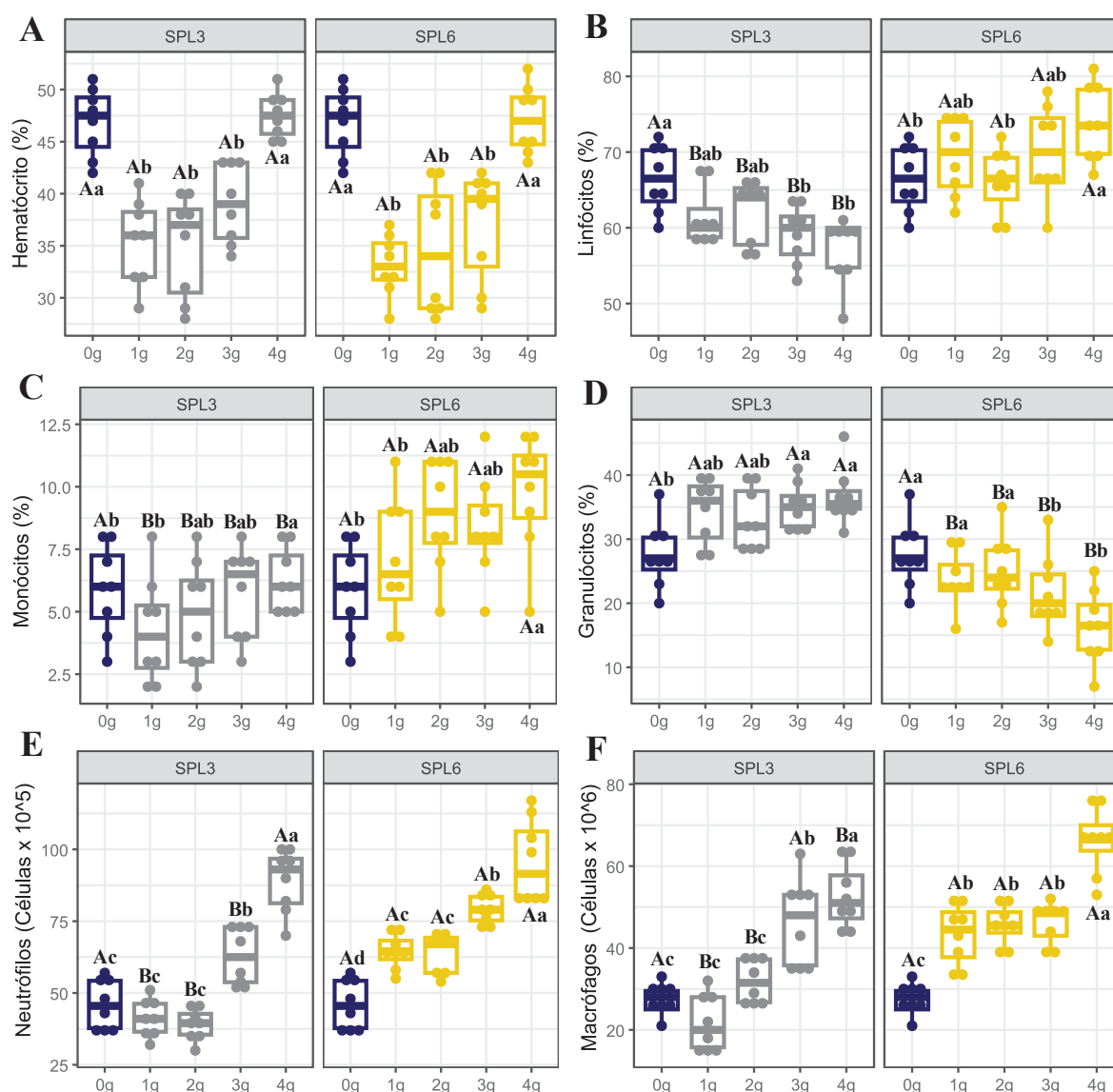
Com relação ao perfil das células do sistema imunológico (Figura 35), não foi observado efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 1,2039$ ; CV = 10,13%;  $p = 0,2763$ ), tampouco entre os fatores ( $F_{4,79} = 0,2609$ ; CV = 10,13%;  $p = 0,9017$ ) a quantificação das frações do hematócrito (Figura 36A). Entretanto, houve diferença entre as doses ( $F_{4,79} = 39,5718$ ; CV = 10,13%;  $p < 0,0001$ ). Foi possível observar que os efeitos das suplementações foram similares. As doses de 1, 2 e 3 g/kg, independentemente do tipo de suplementação, promoveram redução nos valores de hematócrito, enquanto a administração de 4 g/kg, seja qual for a suplementação utilizada, manteve os valores iguais aos do CTLE. Esses dados sugerem que esse parâmetro pode ser modificado pelas suplementações. Com relação ao percentual de linfócitos circulantes, foi observado o efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 58,5499$ ; CV = 7,13%;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 7,5889$ ; CV = 7,13%;  $p < 0,0001$ ), enquanto não foi identificado efeito entre as doses ( $F_{4,79} = 0,6498$ ; CV = 7,13%;  $p = 0,6284$ ) (Figura 37B). Os resultados revelaram um efeito oposto entre as suplementações estudadas. As ratas que receberam SPL3 apresentaram redução gradual na porcentagem de linfócitos à medida que a dose aumentava, sugerindo efeito imunomodulador que reduz a disponibilidade linfocitária. Em contrapartida,

as ratas suplementadas com SPL6 apresentaram aumento gradual na porcentagem de linfócitos, indicando efeito potencialmente estimulador desse tipo de suplementação, sobre a resposta linfocitária.

De maneira similar, na contagem de monócitos (Figura 35C), foram observados efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 31,6419$ ;  $CV = 30,61\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e efeito das doses ( $F_{4,79} = 3,5189$ ;  $CV = 30,61\%$ ;  $p = 0,0112$ ), mas não foi identificada interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 2,2788$ ;  $CV = 30,61\%$ ;  $p = 0,0693$ ). Os resultados mostraram uma redução na contagem de monócitos nas ratas suplementadas com SPL3, enquanto as ratas que receberam SPL6 apresentaram um aumento no número de monócitos circulantes. Em conjunto vemos que as suplementações exercem efeitos antagônicos sobre essa variável, indicando potencial ativação de mecanismos inflamatórios pelos AGs n-6, enquanto AGs n-3 podem exercer efeito de supressão. De forma contrária, a contagem de granulócitos (Figura 35D) demonstrou efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 86,6949$ ;  $CV = 17,98\%$ ;  $p < 0,0001$ ), e houve interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 8,6089$ ;  $CV = 17,98\%$ ;  $p < 0,0001$ ), entretanto, não houve diferença entre as doses avaliadas ( $F_{4,79} = 0,5814$ ;  $CV = 17,98\%$ ;  $p = 0,5814$ ). Foi possível observar que a suplementação com SPL3 resultou em um aumento gradual na contagem de granulócitos (eosinófilos e basófilos), sugerindo efeito estimulatório sobre a viabilidade e população celular circulante. Em contraste, a suplementação com SPL6 levou a uma redução no número de granulócitos. Esses dados sugerem que as suplementações podem modular parâmetros da resposta imunológica regulados por este tipo celular.

Por fim, ao se avaliar a contagem de neutrófilos (Figura 35E) e de macrófagos peritoneais (Figura 4F), foram observados efeitos da suplementação ( $F_{1,79} = 53,7578$ ;  $CV = 5,19\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 42,3609$ ;  $CV = 6,92\%$ ;  $p < 0,0001$ , respectivamente), da dose ( $F_{4,79} = 76,7179$ ;  $CV = 5,19\%$ ;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 55,4818$ ;  $CV = 6,92\%$ ;  $p < 0,0001$ , respectivamente), além de interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 6,1047$ ;  $CV = 5,19\%$ ;  $p = 0,0002$ ;  $F_{4,79} = 8,0067$ ;  $CV = 6,92\%$ ;  $p < 0,0001$ , respectivamente). Nas doses de 1 e 2 g/kg de SPL3, foi identificada redução na contagem de neutrófilos e macrófagos, enquanto todas as doses de SPL6 resultaram em um aumento na contagem dessas células, de forma dose-dependente. De forma similar, as doses de 3 e 4 g/kg da suplementação com SPL3 também promoveram aumento na contagem de neutrófilos e macrófagos, alcançando valores próximos aos observados com SPL6. Esses dados sugerem que doses elevadas de AGs n-3 podem regular uma possível estimulação da resposta imunológica, assim como AGs n-6, e podem modular positivamente a resposta inflamatória.

Figura 35 – Perfil de Células de Defesa



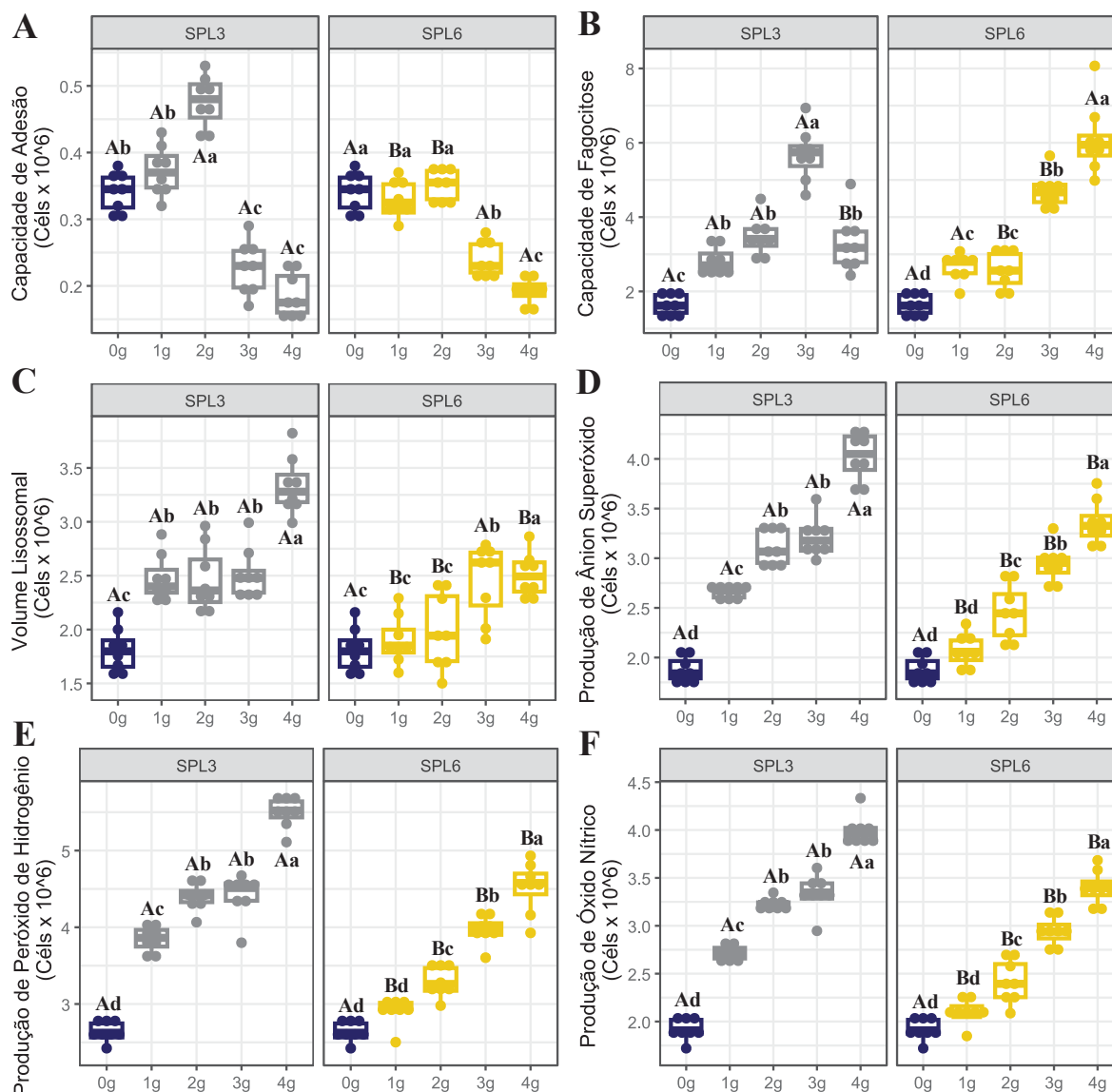
**Legenda:** A: Hematócrito (%); B: Linfócitos (%); C: Monócitos (%); D: Granulócitos – Eosinófilos e Basófilos (%); E: Neutrófilos (Células x 10<sup>5</sup>); F: Macrófagos (Células x 10<sup>6</sup>). Azul: ratos CTLE; cinza: ratos SPL3; Amarelo: ratos SPL6. Letras maiúsculas se referem ao fator suplementação e letras minúsculas se referem ao fator dose. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

## 6.5 ATIVIDADE DOS MACRÓFAGOS PERITONEAIS

Parâmetros de atividade dos macrófagos peritoneais estão apresentados na Figura 36. Com relação à capacidade de adesão (Figura 36A), foi observado efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 18,5249$ ;  $CV = 10,11\%$ ;  $p < 0,0001$ ), da dose ( $F_{4,79} = 142,3398$ ;  $CV = 10,11\%$ ;  $p < 0,0001$ ) e da interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 13,4747$ ;  $CV = 10,11\%$ ;  $p < 0,0001$ ). Observou-se que a suplementação com SPL3 aumentou a capacidade de adesão celular de maneira dose-dependente, até a dose de 3 g/kg, enquanto na dose de 4 g/kg houve significativa redução na

capacidade de adesão. Esses resultados sugerem que em níveis moderados de suplementação, pode haver efeito positivo sobre capacidade de adesão das células, que passa a ter efeito inibitório em dosagens mais elevadas. De forma semelhante, a suplementação com SPL6 promoveu uma redução na capacidade de adesão a partir da dose de 3 g/kg, reforçando o impacto das dosagens mais altas na modulação dessa característica celular. Com relação à fagocitose (Figura 36B), não foi identificado efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 1,4211$ ; CV = 16,13%;  $p = 0,0001$ ), mas sim efeito da dose ( $F_{4,79} = 109,8962$ ; CV = 16,13%;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 30,5268$ ; CV = 16,13%;  $p < 0,0001$ ). Nas ratas suplementadas com SPL3, observou-se um aumento na capacidade de fagocitose em todas as doses, com um destaque para a dose de 3 g/kg, que promoveu uma atividade fagocitária superior em comparação às demais doses. Em contraste, a capacidade de fagocitose aumentou de forma dose-dependente nas ratas suplementadas com SPL6.

A avaliação do volume lisossomal (Figura 36C) demonstrou efeito da suplementação ( $F_{1,79} = 18,5249$ ; CV = 10,11%;  $p < 0,0001$ ), da dose ( $F_{4,79} = 43,3398$ ; CV = 10,11%;  $p < 0,0001$ ) e interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 13,4747$ ; CV = 10,11%;  $p < 0,0001$ ). Observou-se que a suplementação com AGs n-3 promoveu aumento na taxa de retenção lisossomal, com efeito consistente em todas as doses, embora à dose de 4 g/kg o efeito tenha se apresentado mais acentuado. Nas ratas suplementadas com AG n-6, o aumento na retenção lisossomal foi identificado nas doses de 3 e 4 g/kg. Por fim, a produção de ânion superóxido (Figura 36D), peróxido de hidrogênio (Figura 36E) e de óxido nítrico (Figura 36F), foram influenciadas pela suplementação ( $F_{1,79} = 106,7451$ ; CV = 6,81%;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 226,3702$ ; CV = 5,42%;  $p < 0,0001$ ;  $F_{1,79} = 214,5489$ ; CV = 5,25%;  $p < 0,0001$ , respectivamente), pela dose ( $F_{4,79} = 216,4979$ ; CV = 6,81%;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 295,2189$ ; CV = 5,42%;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 343,2812$ ; CV = 5,25%;  $p < 0,0001$ , respectivamente) e ainda houve interação entre os fatores ( $F_{4,79} = 9,6452$ ; CV = 6,81%;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 19,9541$ ; CV = 5,42%;  $p < 0,0001$ ;  $F_{4,79} = 17,4018$ ; CV = 5,25%;  $p < 0,0001$ , respectivamente). Para todas as espécies reativas analisadas, foi possível observar um efeito dose-resposta para ambas as suplementações, indicando que com o aumento da dose há incremento na produção de espécies reativas, pelos macrófagos.

**Figura 36 -Atividade dos Macrófagos Peritoneais**

**Legenda:** A: Capacidade de Adesão (Células x 10<sup>6</sup>); B: Capacidade de Fagocitose (Células x 10<sup>6</sup>); C: Volume Lisossomal (Células x 10<sup>6</sup>); D: Produção de Ânion Superóxido (Células x 10<sup>6</sup>); E: Produção de Peróxido de Hidrogênio (Células x 10<sup>6</sup>); F: Produção de Óxido Nítrico (Células x 10<sup>6</sup>). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras maiúsculas se referem ao fator suplementação e letras minúsculas se referem ao fator dose. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

## 6.6 ÍNDICE DE RESPOSTA BIOLÓGICA

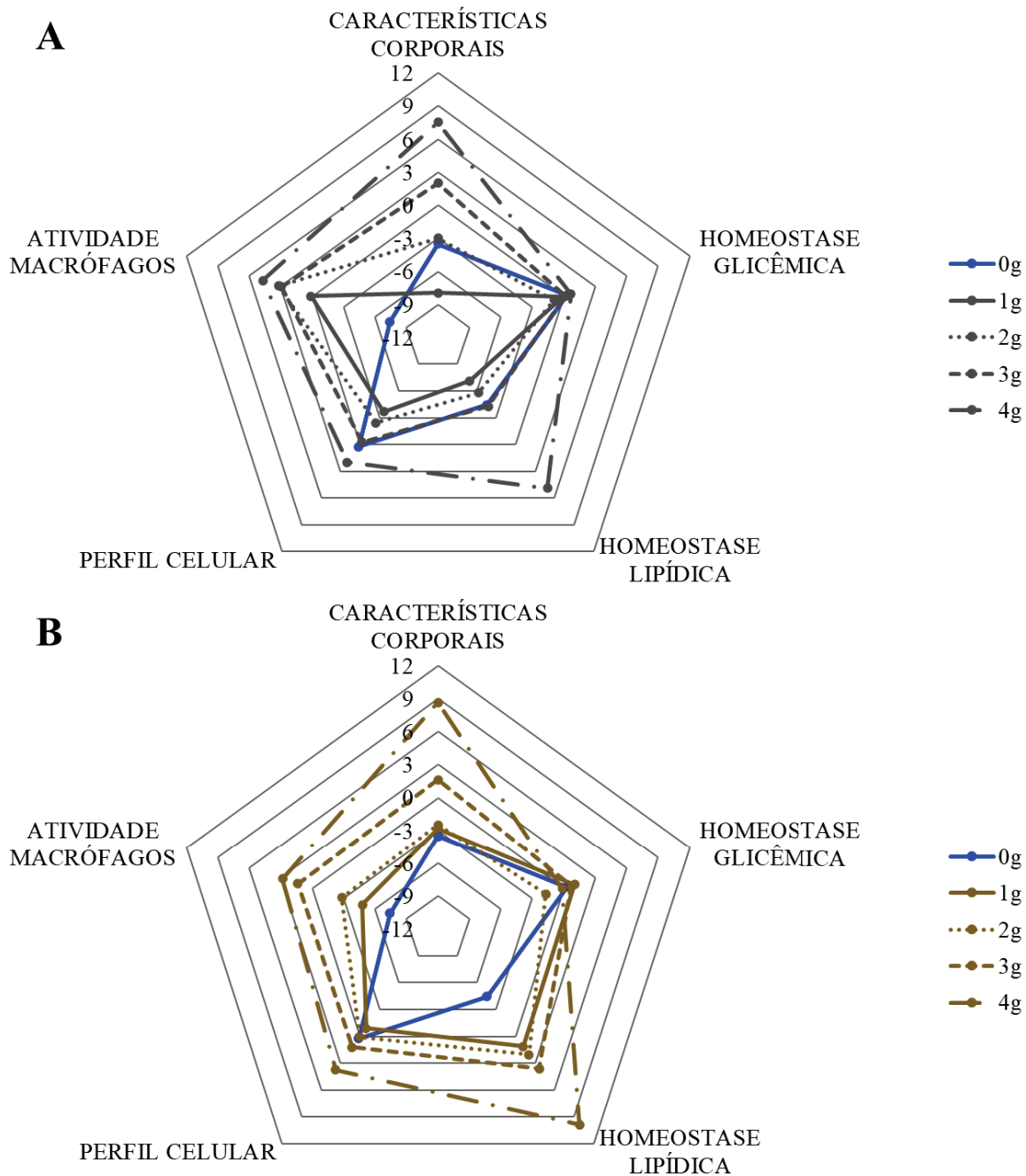
Os dados integrativos, obtidos pelo índice de resposta biológica, das ratas suplementadas, estão apresentados na figura 6 (SPL3 (Figura 37A) e SPL6 (Figura 37B)). Esses dados sugerem um aumento nas características indicativas de obesidade, mas apenas nas doses mais altas, de 3 e 4 g/kg ( $\chi^2 = 22,2431$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,0001$ ;  $\chi^2 = 16,0889$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,0029$ , respectivamente). Esses resultados sugerem que a suplementação, em doses elevadas, pode influenciar os indicadores de obesidade, destacando a importância de monitorar

cuidadosamente as doses para evitar efeitos adversos na composição corporal. Entretanto, nenhuma das suplementações resultou em alterações significativas quanto à homeostase glicêmica, indicando que tanto SPL3 quanto SPL6 ( $\chi^2 = 0,0201$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,9897$ ;  $\chi^2 = 0,0198$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,9987$ , respectivamente), mesmo em doses elevadas, não comprometeram o controle das concentrações de glicose circulante e, tampouco, favoreceram um quadro de diabetesidade.

Também foi possível identificar que as doses de 1 e 2 g/kg de SPL3 promoveram melhora na homeostase lipídica, em especial pela ação dos AGs n-3 sobre as concentrações de TAG, colesterol total e HDL, um efeito amplamente conhecido desses ácidos graxos, indicando um impacto positivo sobre o perfil lipídico. Em contraste, a dose de 4 g/kg de SPL3 resultou em um desequilíbrio da homeostase lipídica, semelhante ao observado em todas as doses de SPL6, que induziram quadros de dislipidemia. Esses achados sugerem que, enquanto doses moderadas de SPL3 podem ser benéficas para a regulação lipídica, doses mais elevadas, podem comprometer a homeostase lipídica e levar a alterações indesejáveis, como a dislipidemia de forma semelhante a qualquer dose de SPL6, ( $\chi^2 = 14,5498$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,0057$ ;  $\chi^2 = 23,1487$ ,  $df = 4$ ,  $p = < 0,0001$ , respectivamente).

Em relação ao perfil das células do sistema imunológico, nenhuma das suplementações promoveu alterações significativas na contagem dessas células, indicando que tanto SPL3 quanto SPL6 não modificam de maneira relevante o repertório de células imunológicas ( $\chi^2 = 0,0321$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,9783$ ;  $\chi^2 = 0,0279$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,9899$ , respectivamente), apesar de se identificar flutuações na contagem entre as doses mais altas destes ácidos graxos. Por fim, todas as doses de ambos os ácidos graxos aumentaram de maneira dose-dependente, a atividade dos macrófagos peritoneais ( $\chi^2 = 27,7331$ ,  $df = 4$ ,  $p < 0,0001$ ;  $\chi^2 = 21,4382$ ,  $df = 4$ ,  $p = 0,0002$ , respectivamente). Esse aumento foi mais expressivo nas ratas suplementadas com SPL3, especialmente nas doses mais baixas, o que pode indicar potencial melhora na capacidade de defesa do sistema imunológico. No entanto, quando associado ao quadro de dislipidemia e às alterações corporais observadas, esse aumento na atividade imunológica pode ter efeitos adversos, sugerindo que, na presença de risco de desequilíbrio metabólico, a resposta de célula de defesa pode favorecer um cenário pró-inflamatório.

**Figura 37 – Índice de Resposta Biológica**

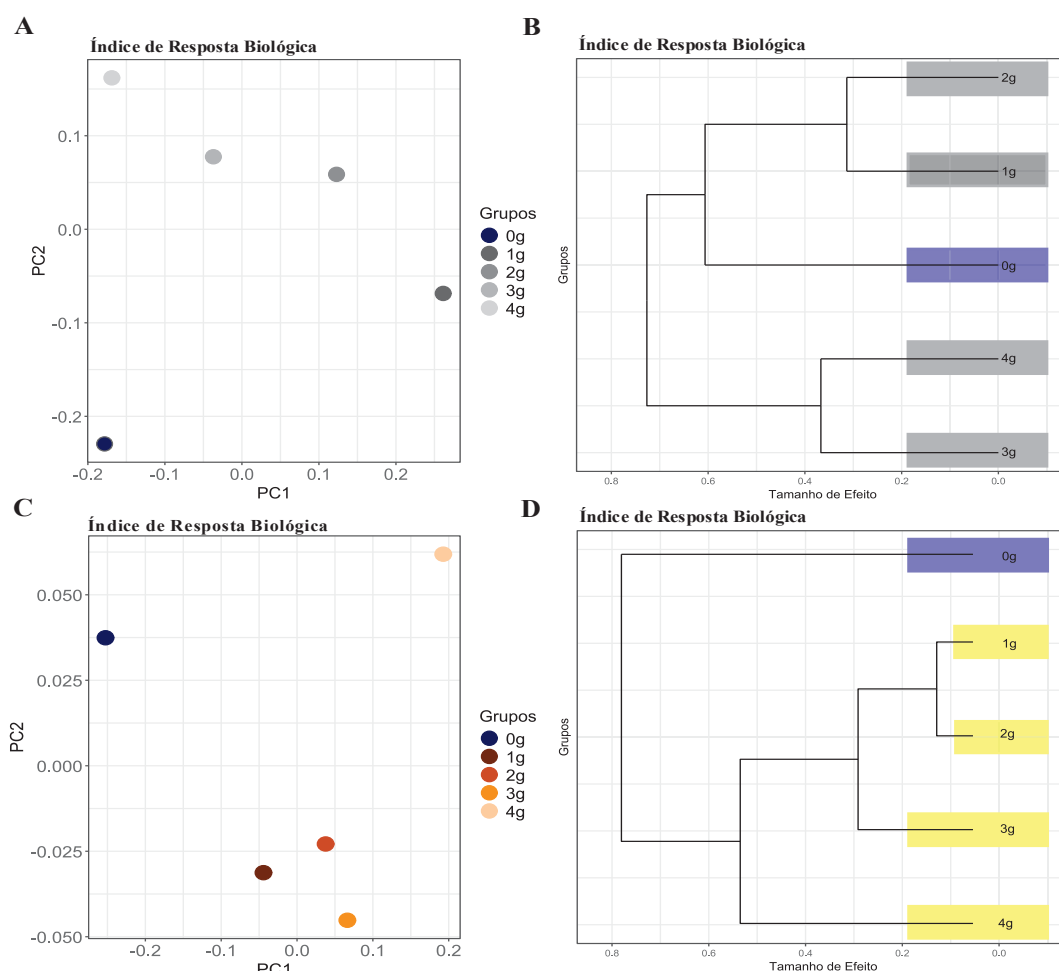


**Legenda:** Gráficos de radar do Índice de Resposta Biológica. A: Grupos suplementados com n-3. B: Grupos suplementados com n-6. Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6.

Por fim, os dados foram submetidos à análise de similaridade e agrupamento utilizando o método de vizinho mais próximo, com o intuito de identificar possíveis doses benéficas e não seguras de ambos os ácidos graxos (Figura 38). Os resultados mostraram que qualquer dose de SPL3 e SPL6 promove alterações em relação às ratas à ausência de suplementação (CTLE). Especificamente nas ratas suplementadas com SPL3 (Figuras 38A e B), observou-se que as doses de 1 e 2 g/kg apresentaram uma maior similaridade entre si e estavam mais próximas do

perfil das ratas CTLE. Isso se deve, principalmente, à melhoria nas características corporais, na homeostase lipídica e no potencial aumento da capacidade de defesa imunológica. Em contrapartida, as doses de 3 e 4 g/kg se distanciaram do perfil CTLE, possivelmente devido à indução de alterações corporais, da ocorrência de dislipidemia e ao aumento acentuado da atividade dos macrófagos. Esses achados enfatizam a importância de uma dosagem cuidadosa para maximizar os benefícios das suplementações enquanto se minimizam os riscos de efeitos adversos ( $\chi^2 = 64,2818$ ,  $df = 4$ ,  $p < 0,0001$ ). Com relação à suplementação com AG n-6 (SPL6), todas as doses avaliadas se afastaram do perfil das ratas CTLE (Figura 38C e D), evidenciando o efeito dose-dependente relacionado ao surgimento de alterações obesogênicas e dislipidêmicas, além da atividade aumentada dos macrófagos ( $\chi^2 = 48,5539$ ,  $df = 4$ ,  $p < 0,0001$ ).

**Figura 38** – Análise Multivariada do Agrupamento do Índice de Resposta Biológica



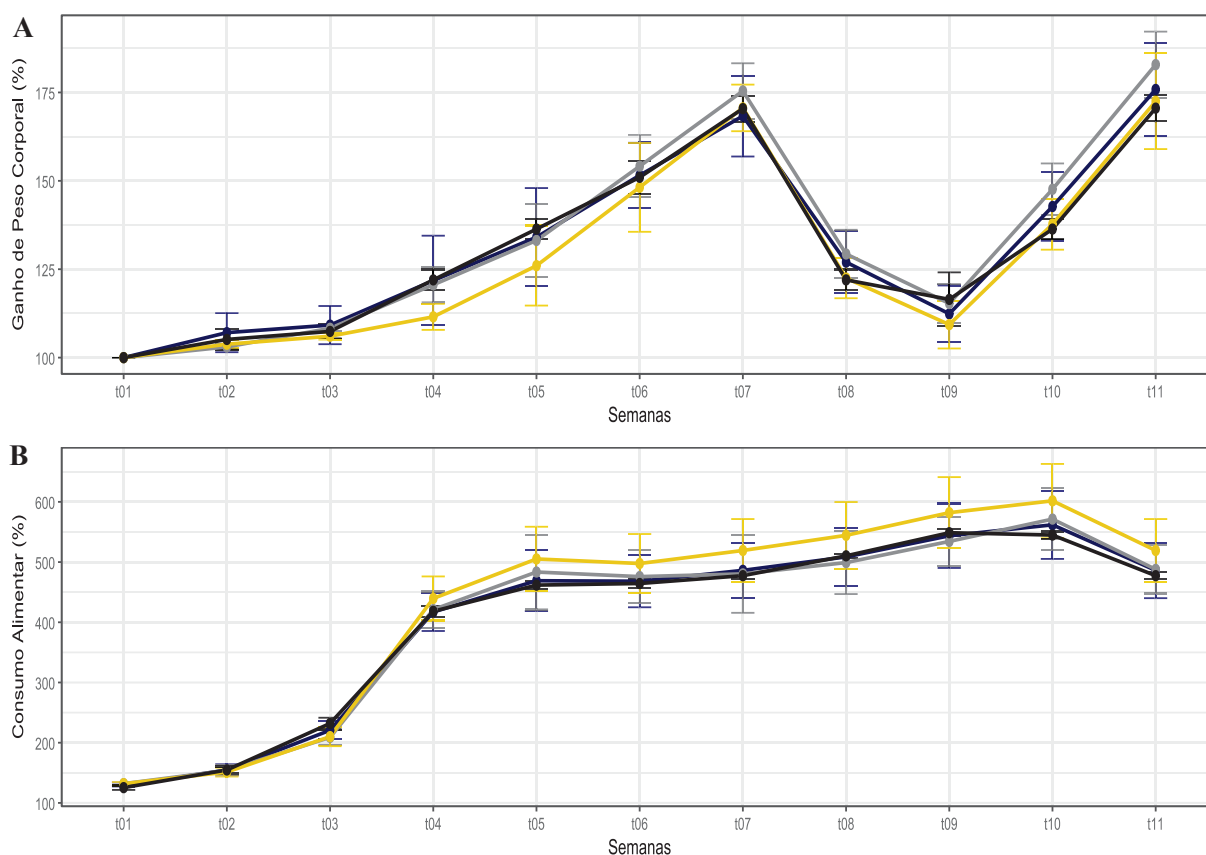
**Legenda:** Análise multivariada do Índice de Resposta Biológica. A: Análise de Componentes Principais dos grupos referentes à suplementação com n-3. B: Dendrograma de agrupamento hierárquico correspondente à análise apresentada em A. C: Análise de Componentes Principais dos grupos referentes à suplementação n-6. D: Dendrograma de agrupamento hierárquico correspondente à análise apresentada em C. A distribuição dos grupos reflete o efeito dose-dependente sobre o índice composto de resposta biológica.

## 7. AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE SÍNDROME METABÓLICA GESTACIONAL

### 7.1 GANHO DE PESO CORPORAL E CONSUMO ALIMENTAR

O ganho de peso corporal foi acompanhado durante as 111 semanas experimentais (Experimentos II e III). A análise do ganho de peso corporal percentual (Figura 39A) dessas fêmeas indicou que não houve diferença de ganho de peso entre os grupos ( $p = 0,7711$ ), sendo que todas as progenitoras ganharam peso de forma similar ao longo das semanas experimentais ( $p < 0,0001$ ). De forma similar, o consumo alimentar (Figura 39B) não diferiu entre os grupos ( $p = 0,17030$ , sendo que todas as progenitoras tiveram acréscimo no consumo alimentar de forma similar ao longo das semanas experimentais ( $p < 0,0001$ ).

**Figura 39** – Representação gráfica do Ganho de Peso e Consumo Alimentar

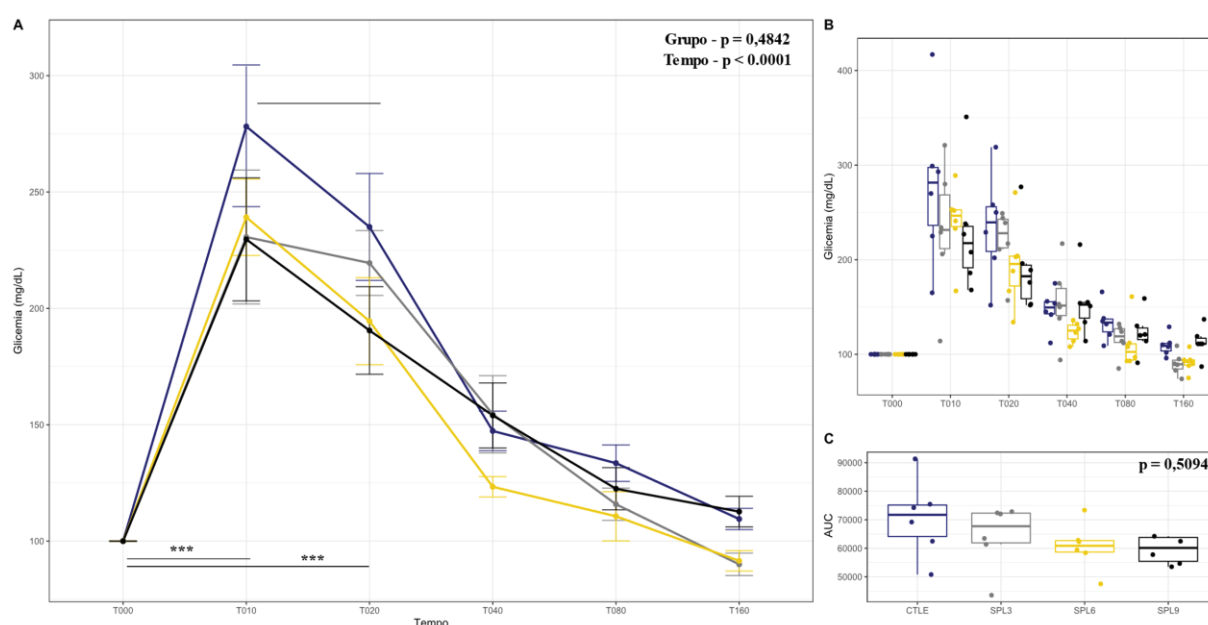


**Legenda:** A: Ganho de Peso Corporal (%); B: Consumo Alimentar (%). Ambas as medidas acompanhadas para os Experimentos II e III, durante as 11 semanas experimentais (aclimação, acasalamento, gestação e lactação). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9.

## 7.2 AVALIAÇÃO DAS RATAS EM PERÍODO PRÉ-GESTACIONAL

Os resultados obtidos do teste de tolerância à glicose intraperitoneal (ipGTT) demonstraram que no período pré-gestacional (Figura 40) não há diferença entre os grupos ( $p = 0,4842$ ; Figura 40B), o que sugere que nenhuma das suplementações foi hábil em induzir um quadro de intolerância periférica à glicose. Na avaliação de variação da curva de glicemia, todos os grupos apresentam pico de glicemia após 10 minutos da injeção intraperitoneal da solução hipertônica de glicose e o mesmo padrão de variação da curva de glicemia ao longo do tempo ( $p < 0,0001$ ; Figura 40A). A variação total da glicemia ao longo do intervalo de realização do teste também não diferiu entre os grupos experimentais ( $p = 0,5094$ ; Figura 40C), sugerindo que a suplementação não modifica a capacidade de captação do organismo de captar glicose.

**Figura 40** – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Período Pré-Gestacional.



**Legenda:** A e B: Avaliação da variação glicêmica ao longo do teste; C: Área sob a curva da variação glicêmica durante todo o teste. Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

Tratando-se das características corporais (Figura 41A), é possível identificar que as diferentes suplementações empregadas foram hábeis em modificar parâmetros corporais das ratas dos grupos SPL em comparação com as do grupo CTLE. O deslocamento à direita dos polígonos representativos dos dados em relação ao eixo x, permite sugerir que houve aumento dos valores nominais das variáveis. A análise das flutuações dos parâmetros, permite identificar que o deslocamento dos dados está associado principalmente ao aumento na adiposidade

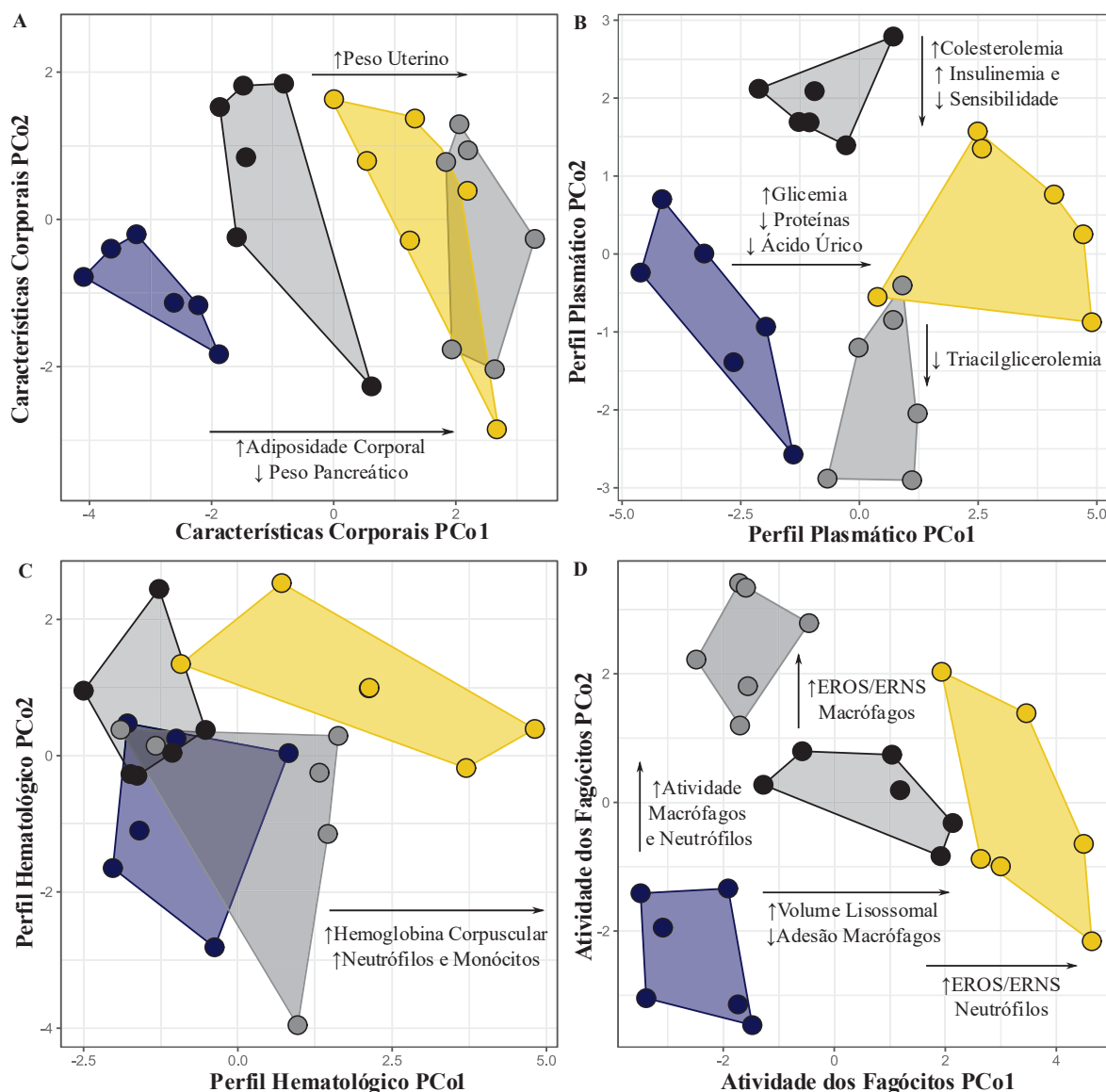
corporal ( $p < 0,0001$ ). Adicionalmente, as ratas dos grupos SPL6 e SPL3, além de apresentarem um aumento da adiposidade e do peso uterino em relação às ratas do grupo SPL9, acompanhado de incremento significativo no peso uterino ( $p < 0,0001$ ), intensificam o deslocamento dos polígonos.

Em relação ao perfil plasmático (Figura 41B), as ratas SPL apresentaram aumento da glicemia ( $p = 0,0055$ ) e redução das proteínas ( $p = 0,0006$ ) e do ácido úrico plasmático ( $p = 0,0004$ ) quando comparadas às CTLE, que provocou o deslocamento positivo dos polígonos em relação ao eixo x ( $p < 0,0001$ ). No entanto, a comparação entre os grupos suplementados demonstra que as ratas SPL3 e SPL6, quando comparadas às SPL9, apresentaram deslocamento negativo em relação ao eixo y, em decorrência do aumento da colesterolemia ( $p < 0,0001$ ), aumento da insulinemia ( $p = 0,0286$ ) e consequente redução da sensibilidade periférica à insulina ( $p = 0,0053$ ). Por fim, as ratas SPL3 ainda apresentaram deslocamento negativo quando comparadas às SPL6 e SPL9, em decorrência da redução da triacilglicerolemia ( $p = 0,0032$ ).

A figura 41C apresenta os resultados do perfil hematológico das ratas. Nessa análise, apenas as ratas SPL6 apresentaram alterações significativas, quando comparadas às CTLE, em razão do aumento da hemoglobina corpuscular ( $p = 0,0454$ ), da percentagem de neutrófilos e monócitos sanguíneos ( $p < 0,0001$ , em ambos). Essas variações individuais foram responsáveis pelo deslocamento positivo do polígono em relação ao eixo x ( $p < 0,0001$ ). As ratas dos grupos SPL3 e SPL9 não apresentaram diferenças, quando comparadas às CTLE ( $p > 0,05$ ).

A avaliação da atividade dos fagócitos demonstra que as ratas SPL apresentaram alterações significativas, quando comparadas às CTLE (Figura 41D). Esse resultado pode ser identificado em razão do deslocamento positivo dos polígonos representativos dos grupos suplementados em relação ao eixo y ( $p < 0,0001$ ). Essa modificação do padrão de resposta dos fagócitos é decorrente do aumento de fagocitose e retenção dos macrófagos peritoneais e neutrófilos sanguíneos ( $p < 0,0001$ ). A comparação entre os grupos demonstra que as ratas suplementadas apresentaram diferenças entre si, em que as ratas SPL3 apresentaram maior deslocamento positivo em relação ao eixo y, em razão do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio ( $p < 0,0001$ ) e nitrogênio ( $p = 0,0001$ ) pelos macrófagos peritoneais. Com relação às ratas SPL9 e SPL6, o deslocamento positivo apresentado em relação ao eixo x, foi determinado pelo aumento do volume lisossomal dos macrófagos e neutrófilos ( $p < 0,0001$ , em ambos) e redução da adesão dos macrófagos ( $p < 0,0001$ ). Por fim, as ratas SPL6 apresentaram maior deslocamento em relação ao eixo x, em decorrência do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio ( $p < 0,0001$ ) e nitrogênio pelos neutrófilos ( $p = 0,0041$ ).

**Figura 41** – Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características Maternas no período pré-Gestacional.

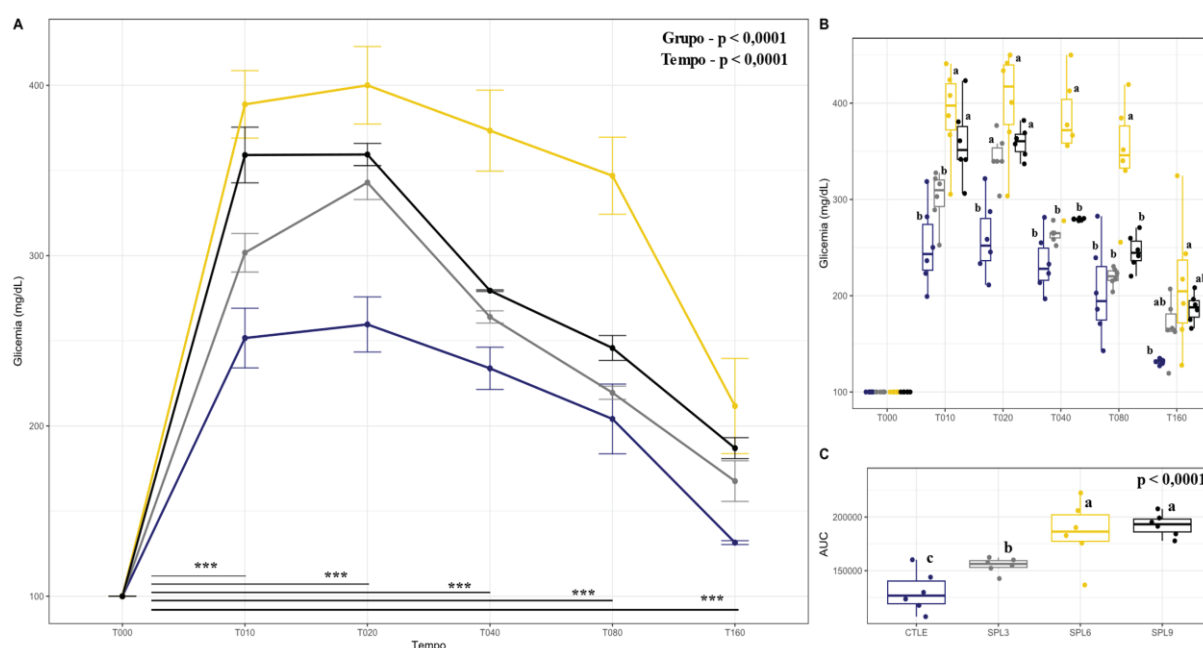


**Legenda:** A: Características Corporais (Peso Corporal, CNA, Índice de Lee, Fígado, Tecidos Adiposos Mesentérico, Retroperitoneal e Perigonadal, Adiposidade Corporal, Útero); B: Perfil Plasmático (Insulina, HOMA-IR, HOMA- $\beta$ , QUICKI, Proteínas, Albumina, Glicose, Triacilgliceróis, Colesterol Total, Ácido Úrico,  $\text{PO}_4^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ); C: Perfil Hematológico (HT, HB, RBC, MCH, MCHC, MCV, LYNF, MON, NEUT); D: Atividade dos Fagócitos (Adesão dos macrófagos e Fagocitose, Volume Lisossomal,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e NO dos macrófagos e neutrófilos). Eixos X e Y: correlação entre todas as variáveis da matriz de distância. Cada polígono representa um grupo experimental, sendo azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; amarelo: ratas SPL6; preto: ratas SPL9. Setas indicam as variáveis que influenciam a dispersão dos grupos ( $p < 0,05$ ).

### 7.3 AVALIAÇÃO DAS RATAS EM PERÍODO PERINATAL (DIA GESTACIONAL 18)

As análises obtidas do teste de tolerância periférica à glicose, realizado no período perinatal (Figura 42), evidenciam que no pico da glicemia após 10 min da injeção da solução de glicose, as ratas SPL6 e SPL9 apresentaram os maiores valores de glicose plasmática, quando comparadas às CTLE e SPL3 ( $p < 0,0001$ ; Figura 42B). As tomadas de valor da glicemia a partir desse ponto de análise demonstram que as ratas suplementadas, independentemente do grupo, apresentaram redução na velocidade de captação de glicose até o final do teste, sem o retorno na glicemia aos valores basais ( $p < 0,0001$ ; Figura 42A). De forma semelhante, quando analisada a variação da glicemia total, as ratas SPL6 e SPL9 apresentaram maior variação quando comparadas às ratas CTLE e SPL3, enquanto as SPL3 apresentaram maior variação somente em comparação às CTLE ( $p < 0,0001$ ; Figura 42C).

**Figura 42** – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Período Perinatal (DG18).



**Legenda:** A e B: Avaliação da variação glicêmica durante 160 minutos de avaliação; C: Área sob a curva da variação glicêmica durante todo o teste. Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

A análise de características corporais permitiu identificar alterações significativas nas ratas dos grupos SPL em comparação com as do grupo CTLE, conforme evidenciado pelo deslocamento positivo dos polígonos em relação ao eixo x (Figura 43A). Essa modificação do perfil dos parâmetros está associada ao aumento na adiposidade corporal ( $p < 0,0001$ ). Adicionalmente, foi possível identificar que as ratas dos grupos SPL6 e SPL9 também

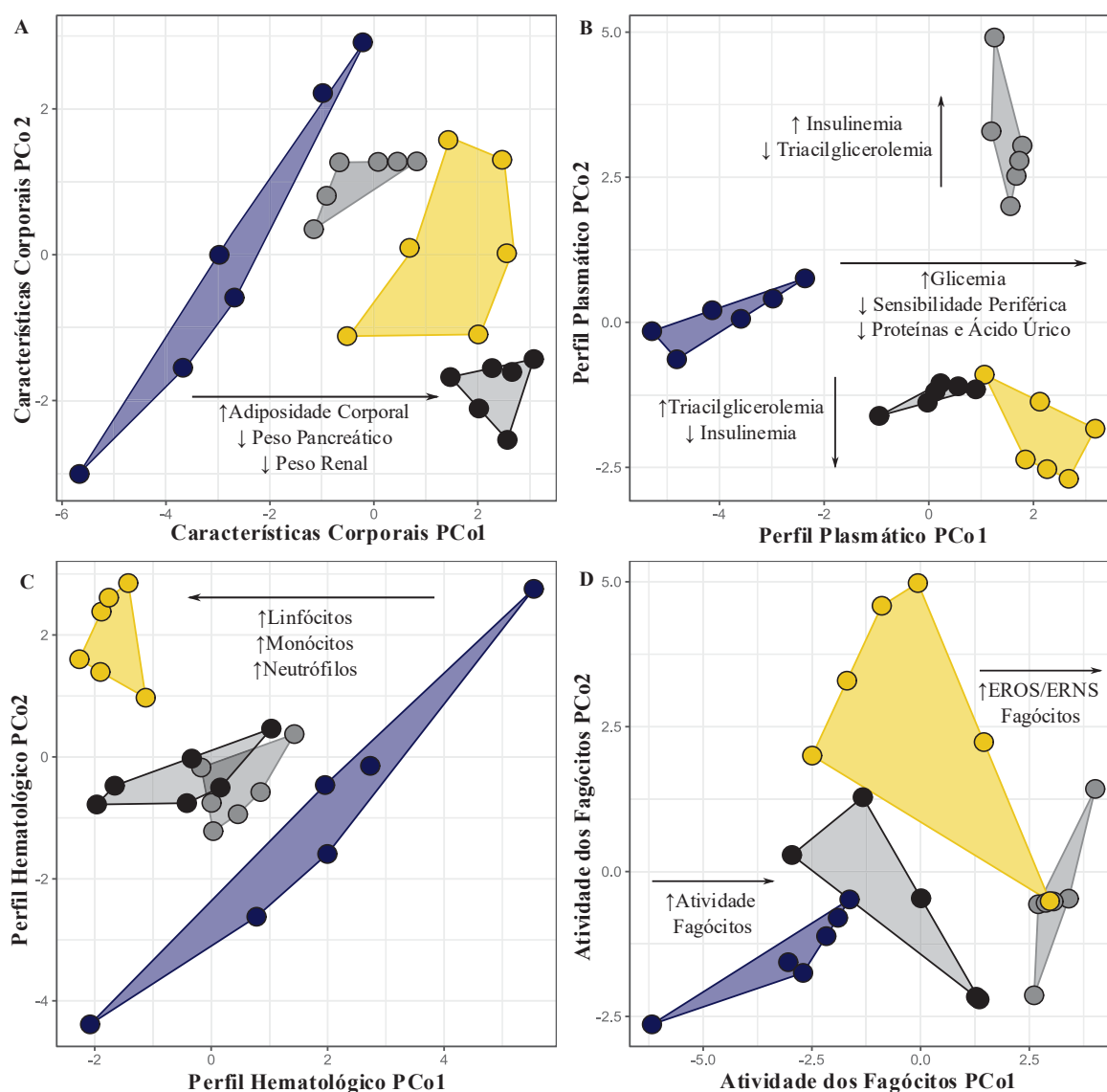
apresentaram aumento da adiposidade, redução do peso do rim e do pâncreas em relação às ratas do grupo SPL3, intensificando o deslocamento dos polígonos.

Em relação ao perfil plasmático também foi possível verificar que as ratas SPL apresentaram alterações significativas, quando comparadas às CTLE (Figura 43B). O deslocamento positivo dos polígonos representativos dos grupos suplementados em relação ao eixo x ( $p < 0,0001$ ), permite identificar as diferenças entre os grupos. Essas alterações são decorrentes do aumento da glicemia ( $p = 0,0055$ ), redução da sensibilidade periférica à insulina ( $p < 0,0001$ ), redução das proteínas ( $p < 0,0001$ ) e do ácido úrico plasmático ( $p < 0,0001$ ). No entanto, em razão do aumento da triacilglicerolemia ( $p = 0,0005$ ) e redução da insulinemia ( $p = 0,0012$ ), as ratas SPL9 e SPL6 apresentaram deslocamento negativo em relação ao eixo y em comparação ao CTLE. Por fim, nas ratas SPL3 ocorreu deslocamento positivo em relação ao eixo y, em decorrência da redução da triacilglicerolemia ( $p = 0,0005$ ) e aumento da insulinemia ( $p = 0,0012$ ), quando comparadas às SPL6 e SPL9.

A análise de parâmetros hematológicos das ratas permitiu identificar que as ratas SPL apresentaram alterações significativas, quando comparadas às CTLE (Figura 43C), o que é atestado pelo deslocamento negativo do polígono em relação ao eixo x ( $p < 0,0001$ ). Essa alteração é decorrente do aumento das percentagens de linfócitos ( $p < 0,0001$ ), neutrófilos ( $p < 0,0001$ ) e monócitos ( $p < 0,0001$ ). As ratas SPL6 foram as que apresentaram maior deslocamento, em razão do incremento no número dessas células quando comparadas às SPL9 e SPL3.

Por fim, também foi identificado o efeito das suplementações em relação à atividade dos fagócitos (Figura 43D). Nas ratas SPL foram identificadas alterações significativas, quando comparadas às CTLE, em razão do deslocamento positivo dos polígonos em relação aos eixos x e y ( $p < 0,0001$ ). Tal deslocamento em relação ao CTLE é decorrente do aumento da fagocitose e volume lisossomal dos macrófagos peritoneais e neutrófilos sanguíneos ( $p < 0,0001$ ). Além de diferir do CTLE, o grupo SPL3 apresentou diferenças em relação aos outros grupos suplementados, pois apresentou aumento da produção de espécies reativas de oxigênio ( $p < 0,0001$ ) e nitrogênio ( $p < 0,0001$ ) pelos macrófagos peritoneais e neutrófilos sanguíneos, promovendo o deslocamento positivo em relação ao eixo x.

**Figura 43** - Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características Maternas no período perinatal (DG 18).



**Legenda:** A: Características Corporais (Peso Corporal, CNA, Índice de Lee, Fígado, Tecidos Adiposos Mesentérico, Retroperitoneal e Perigonadal, Adiposidade Corporal, Útero); B: Perfil Plasmático (Insulina, HOMA-IR, HOMA-β, QUICKI, Proteínas, Albumina, Glicose, Triacilgliceróis, Colesterol Total, Ácido Úrico,  $\text{PO}_4^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ); C: Perfil Hematológico (HT, HB, RBC, MCH, MCHC, MCV, LYNF, MON, NEUT); D: Atividade dos Fagócitos (Adesão dos macrófagos e Fagocitose, Volume Lisossomal,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e NO dos macrófagos e neutrófilos). Eixos X e Y: correlação entre todas as variáveis da matriz de distância. Cada polígono representa um grupo experimental, sendo Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9. Setas indicam as variáveis que influenciam na dispersão dos grupos ( $p < 0,05$ ).

## 7.4 EFEITO DO ESTADO GRAVÍDICO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MATERNAS

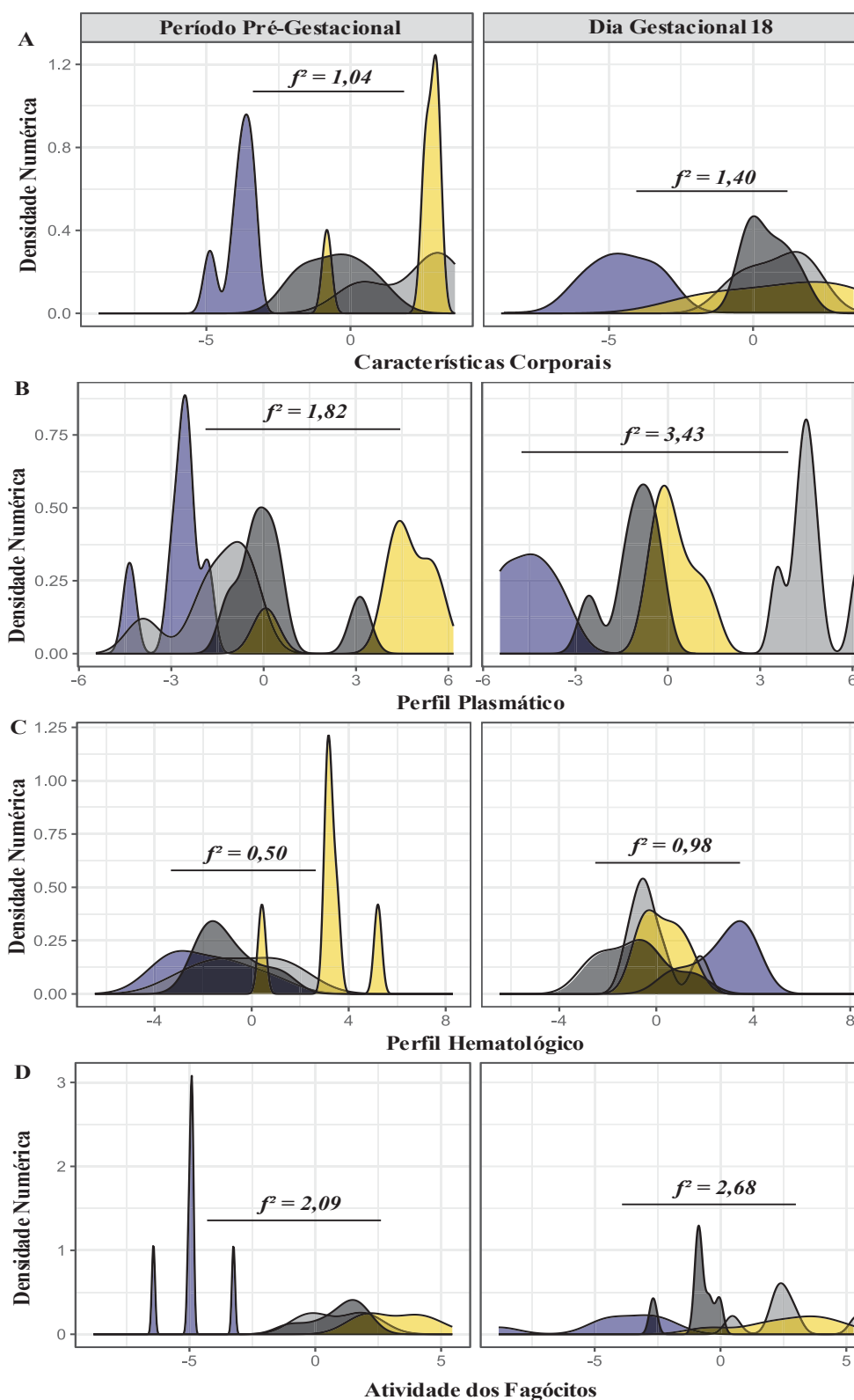
Caracterizando as alterações corporais das ratas no período pré-gestacional, pode-se observar a participação das suplementações como fatores de modificação das características corporais (em todos os grupos;  $p < 0,0001$ ) quando comparadas ao grupo CTLE ( $f^2 = 1,04$ ) (Figura 44A). Na presença do estado gravídico é possível identificar que existe potencialização das alterações corporais ( $f^2 = 1,40$ ), onde nos grupos suplementados as alterações pré-estabelecidas pela suplementação são reforçadas quando comparadas às CTLE ( $p < 0,001$ , em todos os grupos).

De forma similar, a caracterização das alterações plasmáticas das ratas (Figura 44B) permitiu observar relação entre as suplementações e as mudanças identificadas quando comparadas às CTLE ( $p < 0,001$ , em todos os grupos) no período pré-gestacional ( $f^2 = 1,82$ ). Quando as alterações plasmáticas foram avaliadas na presença do estado gravídico, foi possível identificar que as alterações plasmáticas são potencializadas por este estado ( $f^2 = 3,43$ ), de forma que os grupos suplementados, quando comparados ao grupo CTLE, apresentam reforço das alterações pré-estabelecidas pela suplementação ( $p < 0,001$ , em todos os grupos).

Por fim, a análise das alterações hematológicas no período pré-gestacional, permitiu identificar que somente a suplementação com PUFA n-6 apresentou relação ( $p < 0,0001$ ) com as mudanças identificadas em comparação ao grupo CTLE ( $f^2 = 0,50$ ) (Figura 44C). No entanto, o estado gravídico promove nos grupos SPL3 e SPL9 alterações similares àquelas encontradas no grupo SPL6 no estado pré-gestacional, enquanto ocorre potencialização das alterações hematológicas nas SPL6 ( $f^2 = 0,98$ ), quando comparadas às CTLE ( $p < 0,01$ , em todos os grupos).

Por fim, na caracterização das alterações da atividade dos fagócitos em relação ao período de vida das ratas (Figura 44D), pode-se observar que as suplementações têm efeito sobre esses parâmetros ( $p < 0,0001$ , em todos os grupos), durante o período pré-gestacional, quando em comparação ao grupo CTLE ( $f^2 = 2,09$ ). Na presença do estado gravídico existe potencialização das alterações de atividade dos fagócitos ( $f^2 = 2,68$ ), onde as alterações pré-estabelecidas apresentam-se exacerbadas nos grupos suplementados quando comparadas às CTLE ( $p < 0,0001$ , em todos os grupos).

**Figura 44** - Características Maternas em relação ao período de vida avaliados.

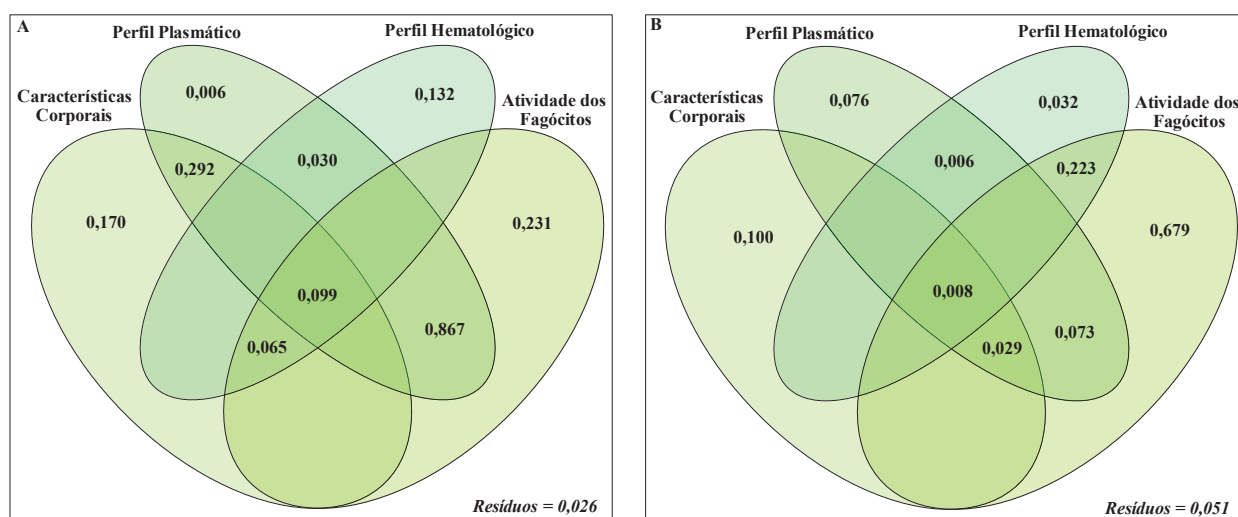


**Legenda:** A: Características Corporais; B: Perfil; C: Perfil Hematológico; D: Atividade dos Fagócitos. Eixo X: Variação da dispersão dos dados em cada um dos modelos. Y: densidade numérica de dados em cada intervalo avaliado. Primeira coluna: dados no período pré-gestacional. Segunda coluna: dados no dia gestacional 18. Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9. Linhas indicam o tamanho de efeito entre SPL e CTLE ( $p < 0,05$ ).

## 7.4 RELAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MATERNAS

A partir do particionamento da variância em dois modelos, representado pelas coordenadas dos pontos em relação ao eixo x (Figura 45A) e pelas coordenadas dos pontos em relação ao eixo y (Figura 45B), foi possível identificar que os parâmetros avaliados participam da explicação de 97,4% dos achados no modelo A e 94,9% no modelo B como variáveis de consequência nos modelos. Somente 2,6% da variação no modelo A e 5,1% no modelo B permaneceram sem relação com as variáveis avaliadas, fato que pode ser explicado por efeitos aleatórios nos modelos. No primeiro modelo, a interação entre a variação do perfil plasmático e da atividade dos macrófagos participa da explicação de 86,7% dos dados, mas apesar disso, a associação da variação observada nas características corporais e do perfil plasmático explica apenas 29,2% dos dados. De forma individualizada, 17% dos dados são explicados pelas características corporais, 13,2% dos dados são explicados pelo perfil hematológico e 23,1% dos dados são explicados pela atividade dos fagócitos. Enquanto isso, no segundo modelo, a explicação de 22,3% dos dados está relacionada com a interação entre a variação do perfil hematológico e da atividade dos macrófagos, embora de forma individualizada, 67,9% dos dados sejam explicados pela atividade dos fagócitos e 10% dos dados sejam explicados pelas características corporais.

**Figura 45** – Diagrama de Venn do Particionamento da variância com as contribuições de cada matriz de variáveis predictoras das Características Maternas no Período Gestacional 18.



**Legenda:** A: Pontos referentes ao eixo X das PCoAs. B: Pontos referentes ao eixo Y das PCoAs. Valores representados das retenções de variância em cada modelo ( $p < 0,05$ ). Resíduos: valores de variância não representados pelos modelos.

## 7.6 DISTRESSE OXIDATIVO E INCORPORAÇÃO DE [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG E [ $^3\text{H}$ ]-16:0

Tratando-se da Produção de Espécies Reativas pelo tecido uterino, observaram-se alterações significativas nas ratas dos grupos SPL em comparação com as do grupo CTLE, conforme evidenciado pelo deslocamento positivo dos polígonos em relação ao eixo x (Figura 46A). Essa modificação está associada ao aumento da produção de ânion superóxido ( $p < 0,0001$ ), de peróxido de hidrogênio ( $p < 0,0001$ ) e de óxido nítrico ( $p < 0,0001$ ). O aumento na produção de EORs promoveu aumento do Acúmulo de Danos Oxidativos nas ratas SPL quando comparadas às CTLE (Figura 46B). Foi possível identificar, em todos os grupos suplementados, aumento na taxa de peroxidação de lipídios ( $p < 0,0001$ ) e carbonilação de proteínas ( $p < 0,0001$ ), acompanhados da redução dos tióis não-proteicos ( $p < 0,0001$ ). Não foi identificado aumento na colinesterase e metalotioneína, marcadores de Toxicidade Tecidual (Figura 46C).

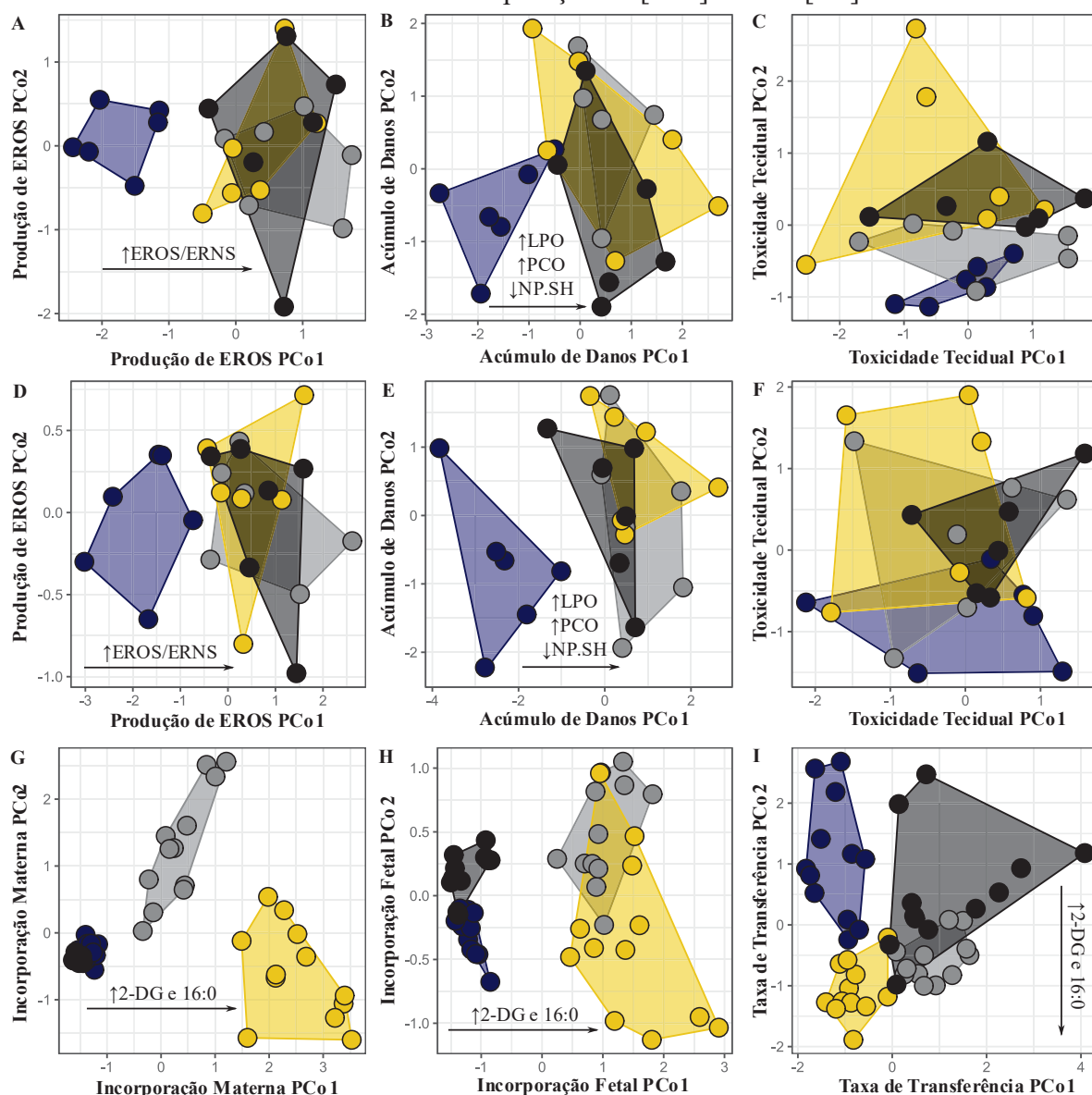
A avaliação do tecido placentário também revelou que a Produção de Espécies Reativas foi modificada nas ratas dos grupos SPL em comparação com as do grupo CTLE (Figura 46D). foi identificado aumento na produção de ânion superóxido ( $p < 0,0001$ ), de peróxido de hidrogênio ( $p < 0,0001$ ) e de óxido nítrico ( $p < 0,0001$ ). Assim como no tecido uterino, o Acúmulo de Danos Oxidativos (Figura 46E) foi aumentado nas ratas SPL quando comparadas às CTLE, em especial pelo aumento na taxa de peroxidação de lipídios ( $p < 0,0001$ ) e carbonilação de proteínas ( $p < 0,0001$ ), que foi acompanhado da redução dos tióis não-proteicos ( $p < 0,0001$ ). Também não foi identificado aumento nos marcadores de Toxicidade Tecidual (Figura 46F).

A incorporação de [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG e [ $^3\text{H}$ ]-16:0 pelos tecidos maternos está representada na Figura 45G. Foi possível observar que nas ratas SPL3 e SPL6 a incorporação das moléculas radiomarcadas foi significativamente diferente quando comparada às ratas CTLE. O efeito da suplementação foi identificado pelo deslocamento positivo dos polígonos em relação ao eixo x ( $p < 0,0001$ ). Essa alteração é decorrente do aumento da incorporação de [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG ( $p < 0,0001$ ) e [ $^3\text{H}$ ]-16:0 ( $p < 0,0001$ ) no tecido uterino. As ratas SPL6 apresentaram maior incorporação, sendo significativamente diferentes das ratas SPL3 ( $p = 0,0052$ ). Não houve diferença entre as ratas CTLE e SPL9 ( $p > 0,05$ ).

Da análise da Incorporação Fetal (Figura 46H), foi possível identificar que os fetos das ratas SPL apresentaram aumento na incorporação de [ $^{14}\text{C}$ ]2-DG ( $p < 0,0001$ ) e [ $^3\text{H}$ ]-16:0 ( $p < 0,0001$ ), quando comparados aos CTLE. Os fetos das ratas SPL9 apresentaram menor incorporação quando comparados aos animais SPL3 e SPL6 ( $p = 0,0002$ ). Por fim, os fetos das

ratas SPL6 apresentaram maior incorporação de  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$  ( $p = 0,0051$ ), em comparação aos das ratas SPL3. Com relação à Taxa de Transferência (Figura 46I), as ratas SPL apresentaram maior taxa quando comparadas às CTLE ( $p < 0,0001$ ). Quando comparadas entre si, as ratas SPL9 apresentaram menor taxa de transferência que as SPL3 e SPL6 ( $p = 0,0012$ ). Já as ratas SPL, quando comparadas às ratas SPL6, apresentaram maior taxa de transferência de  $[^{14}\text{C}]\text{2-DG}$  ( $p < 0,0001$ ) e menor taxa de transferência de  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$  ( $p < 0,0001$ ).

**Figura 46** - Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) dos marcadores de Distresse Oxidativo e Incorporação de  $[^{14}\text{C}]\text{2-DG}$  e  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$ .

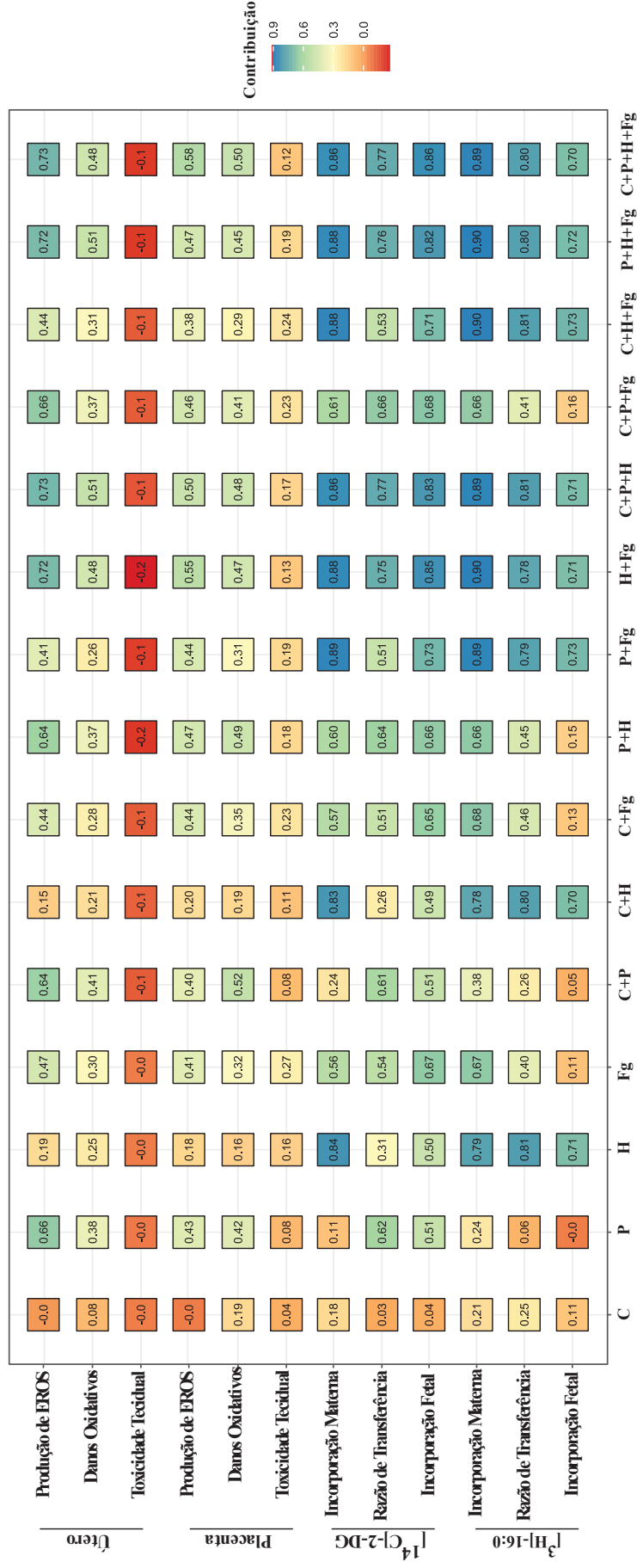


**Legenda:** A: Produção de EROS Útero; B: Danos Oxidativos Útero; C: Toxicidade Tecidual Útero; D: Produção de EROS Placenta; E: Danos Oxidativos Placenta; F: Toxicidade Tecidual Placenta; G: Incorporação Materna; H: Incorporação Fetal; I: Razão de Transferência. Cada polígono representa um grupo experimental, sendo azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; amarelo: ratas SPL6; preto: ratas SPL9. Setas indicam as variáveis que influenciam a dispersão dos grupos ( $p < 0,05$ ).

## 7.7 EFEITO DAS CARACTERÍSTICAS MATERNAS SOBRE DISTRESSE OXIDATIVO E TRANSFERÊNCIA DE NUTRIENTES.

A fim de observar se as características maternas influenciavam as características uterinas, placentárias e a incorporação de  $[^{14}\text{C}]2\text{-DG}$  e  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$ , foi empregada Análise de Redundância Baseada em Distância, cuja sumarização dos resultados está apresentada na Figura 46. De forma isolada, houve fraca influência das Características Corporais Maternas sobre as características uterinas (máx. 0,08), placentárias (máx. 0,19), de incorporação de  $[^{14}\text{C}]2\text{-DG}$  (máx. 0,18) e de incorporação de  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$  (máx. 0,25). Com relação às características plasmáticas maternas, essas influenciaram moderadamente a produção de EROS (0,66), a taxa de transferência (0,62) e de incorporação fetal (0,51) de  $[^{14}\text{C}]2\text{-DG}$ . Ao se analisar as relações envolvendo o perfil Hematológico, identificou-se que houve forte influência desses parâmetros sobre a incorporação materna de  $[^{14}\text{C}]2\text{-DG}$  (0,84) e enquanto a influência sobre a incorporação fetal foi moderada (0,50). Com relação à incorporação de  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$ , houve forte influência desses parâmetros sobre a incorporação materna (0,79), fetal (0,81) e sobre a taxa de transferência (0,71). Por fim, a houve influência moderada da atividade dos Fagócitos sobre a incorporação materna (0,56), fetal (0,54) e transferência (0,67) de  $[^{14}\text{C}]2\text{-DG}$ , bem como da incorporação materna (0,67) de  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$ . Porém, ao se avaliar a associação das características maternas, especialmente as características plasmáticas e hematológicas, ou atividade dos fagócitos, identifica-se que os efeitos que anteriormente eram fracos ou moderados são potencializados. Assim, a influência dos fatores observada na Figura 47, está relacionada à maior produção de espécies reativas no útero (acima de 0,6) e na placenta (próximo a 0,5), aumento dos danos oxidativos no útero e na placenta (próximo a 0,5), enquanto que, as incorporações maternas e fetais, e a transferência de  $[^{14}\text{C}]2\text{-DG}$  e  $[^3\text{H}]\text{-16:0}$  foram altamente potencializadas pela associação das características maternas (acima de 0,7). Por fim, em nenhum dos modelos analisados houve influência sobre a toxicidade tecidual do útero (abaixo de 0,1) e da placenta (abaixo de 0,2).

**Figura 47** - Valores da contribuição do dbRDA das matrizes de Características Corporais (C), Perfil Plasmático (P), Perfil Hematológico (H), Atividade dos Fagócitos (Fg) isoladas e combinadas sobre cada variável de consequência.



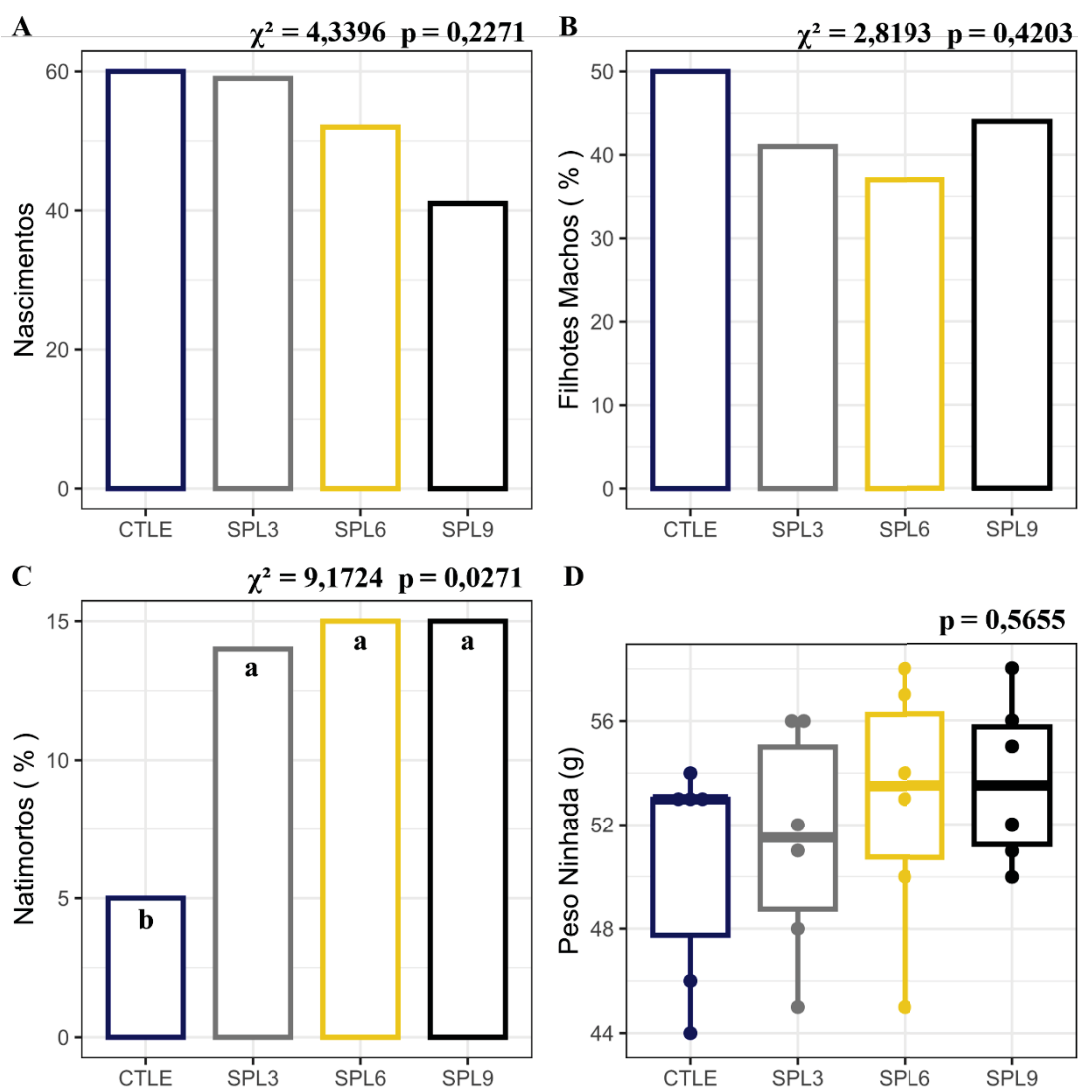
**Legenda:** Produção de EROS: ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico; Danos oxidativos: proteínas, tióis não-proteicos, lipoperoxidação, proteínas carboniladas; Toxicidade tecidual: colinesterases totais e metalotioneína; Incorporação Materna: tecido adiposo perigonadal, ovário, útero; Incorporação Fetal: placenta e feto; Razão de Transferência: concentração materna/concentração fetal, concentração útero/concentração placenta.

## 8. REPERCUSSÕES DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA SOBRE A PROLE

### 8.1 NASCIMENTOS E DESENVOLVIMENTO DA PROLE

A avaliação de parâmetros das proles, demonstra que em relação aos nascimentos (Figura 48), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos quanto ao número total de filhotes nascidos ( $\chi^2 = 4,3396$ ;  $p = 0,2271$ ; Figura 48A), à proporção de machos por ninhada ( $\chi^2 = 2,8193$ ;  $p = 0,4203$ ; Figura 48B) e ao peso inicial das ninhadas ( $p = 0,5655$ ; Figura 48D). Por outro lado, verificou-se maior taxa de mortalidade neonatal nas proles oriundas de ratas suplementadas em comparação ao grupo controle (CTLE), independentemente do tipo de intervenção dietética ( $\chi^2 = 9,1724$ ;  $p = 0,0271$ ; Figura 48C).

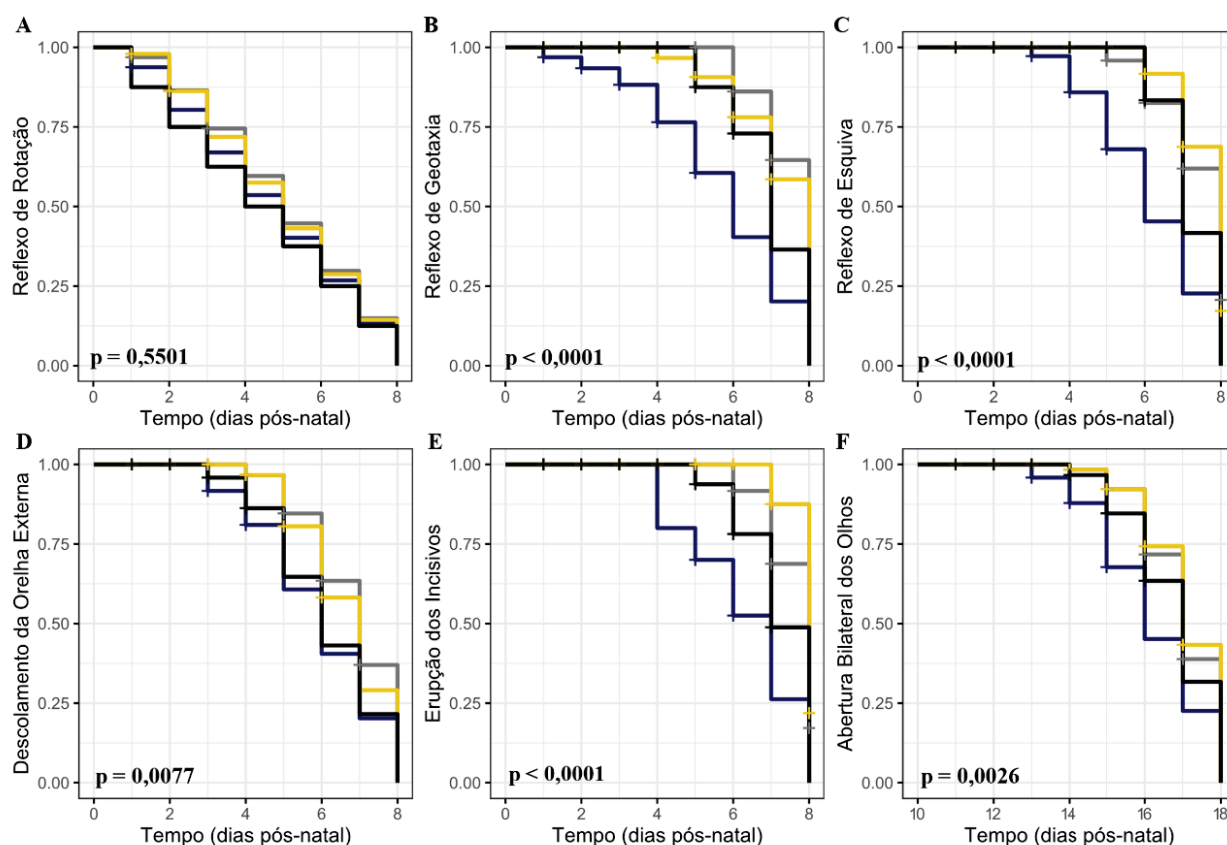
**Figura 48** – Representação Gráfica da Caracterização das proles no DPN0.



**Legenda:** A: Nascimentos; B: Filhotes machos (%); C: Natimortos (%); D: Peso da ninhada (g). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

O efeito das diferentes suplementações sobre o desenvolvimento motor e corporal das proles está representado na Figura 49. Com relação ao desenvolvimento motor das proles de ratas suplementadas, independentemente do grupo, foi identificado atraso no reflexo de geotaxia ( $p < 0,0001$ ; Figura 49B) e no reflexo de esquiva ao abismo ( $p < 0,0001$ ; Figura 49C) quando comparadas às CTLE, não tendo sido observada diferença entre os grupos no surgimento do reflexo de rotação ( $p = 0,5501$ ; Figura 49A). De forma semelhante, foi identificado atraso na idade de ocorrência da erupção dos incisivos superiores ( $p < 0,0001$ ; Figura 49E), descolamento da orelha externa ( $p = 0,0077$ ; Figura 49D) e na abertura bilateral dos olhos ( $p = 0,0023$ ; Figura 49F) das proles das ratas SPL3 e SPL6 quando comparadas às proles CTLE e SPL9.

**Figura 49** – Representação Gráfica dos Marcadores de Desenvolvimento Corporal da Prole.

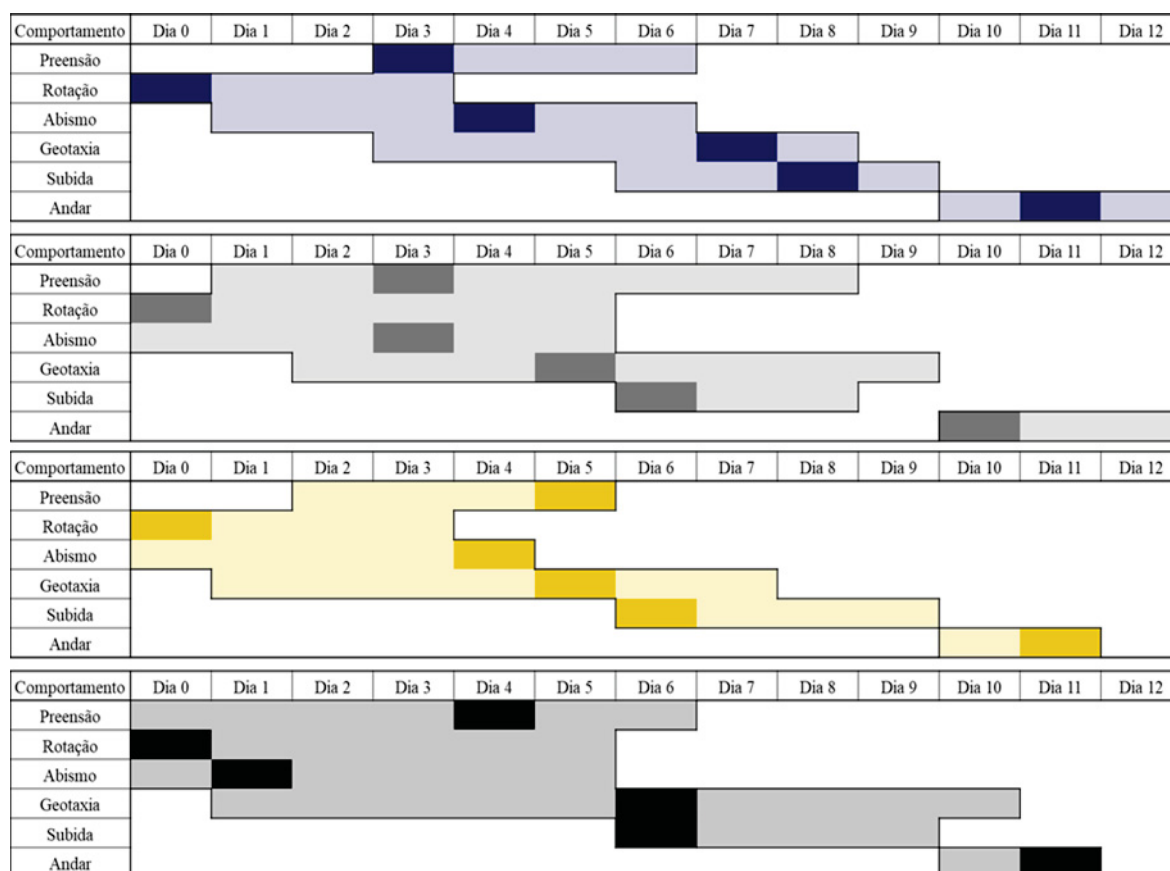


**Legenda:** A: Reflexo de Rotação; B: Reflexo de Geotaxia; C: Reflexo de Esquiva; D: Descolamento da Orelha Externa; E: Erupção dos Incisivos; F: Abertura Bilateral dos Olhos. Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança.

Avaliando os marcos de desenvolvimento de forma integrada (Figura 50), é possível observar diferenças marcantes no padrão temporal de surgimento das características entre os grupos. O padrão de desenvolvimento nas proles CTLE foi tomado como o padrão de referência do desenvolvimento, para efeito de comparação dos outros grupos. Quando comparados ao CTLE, os grupos suplementados revelaram um deslocamento progressivo no tempo de aquisição das características, sendo o grupo SPL3 o que apresentou atraso em relação ao controle, com a moda deslocada para dias posteriores.

Diferentemente do padrão amplo observado no CTLE, o intervalo de surgimento no SPL3 foi relativamente mais concentrado, com menor dispersão temporal. Isso sugere que, embora mais tardio, o surgimento desta característica ocorreu de maneira uniforme dentro do grupo. O grupo SPL6, também apresentou atraso em relação ao CTLE, mas destacou-se por apresentar um padrão de desenvolvimento heterogêneo. O intervalo de aparecimento das características avaliadas foi mais estendido, com maior dispersão entre os indivíduos. Além disso, observou-se a presença de dois períodos de maior concentração (amarelo mais intenso), indicando que a aquisição das características de desenvolvimento pós-natal não ocorreu de forma linear e contínua, mas sim em dois momentos distintos.

Esse comportamento evidencia uma variabilidade acentuada no estabelecimento da característica, prolongando-se durante vários dias do desenvolvimento pós-natal. Por fim, foi no grupo SPL9 que foi identificado o padrão mais tardio de desenvolvimento. A aquisição das características elencadas ocorreu quase exclusivamente no terço final do período de observação (12 dias), em um intervalo bastante delimitado. Diferentemente do SPL6, que apresentou dispersão acentuada, o SPL9 demonstrou um padrão compacto, com a moda praticamente coincidente ao período total de surgimento, sugerindo menor variabilidade entre os indivíduos.

**Figura 50**– Representação Gráfica dos Marcadores de Desenvolvimento Corporal da Prole.

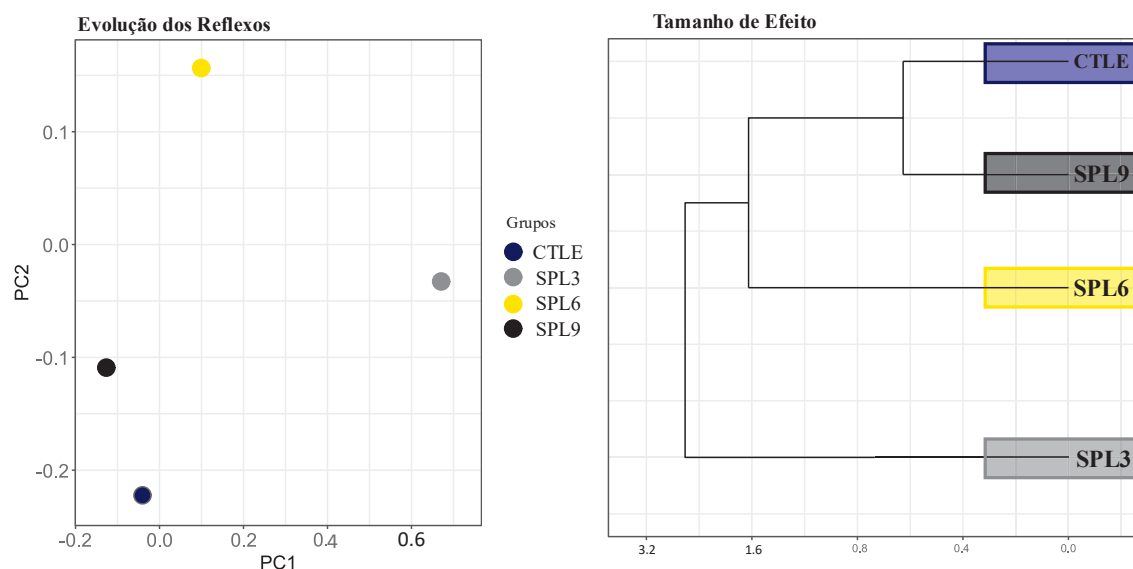
**Legenda:** Mapa de desenvolvimento dos grupos experimentais ao longo dos dias de avaliação. As linhas representam as variáveis analisadas e as colunas correspondem ao tempo (dias). Cada cor indica um grupo experimental distinto: azul – CTLE; cinza – SPL3; amarelo – SPL6; preto – SPL9.

A análise multivariada da evolução dos reflexos nos machos das proles está representada na Figura 11. Na análise de componentes principais (PCA, Figura 51A), é possível observar uma clara separação dos grupos experimentais, indicando padrões distintos de aquisição dos reflexos ao longo do desenvolvimento. Em razão do padrão de desenvolvimento, o grupo CTLE apresentou-se no quadrante inferior esquerdo, refletindo um perfil diferente e distante do conjunto suplementado. O grupo SPL3 também se localizou no eixo negativo do primeiro componente, mas em posição intermediária, sugerindo semelhança parcial com o CTLE, ainda que mantendo um padrão próprio. O grupo SPL6 foi projetado para a região superior do gráfico, caracterizando o perfil de desenvolvimento mais distinto dos demais, enquanto o grupo SPL9 concentrou-se no quadrante direito, evidenciando uma trajetória própria e relativamente isolada.

O dendrograma de agrupamento hierárquico (Figura 51B) confirmou esses achados, ao revelar proximidade do grupo SPL9 com o CTLE, seguido por SPL6, enquanto o SPL3 se

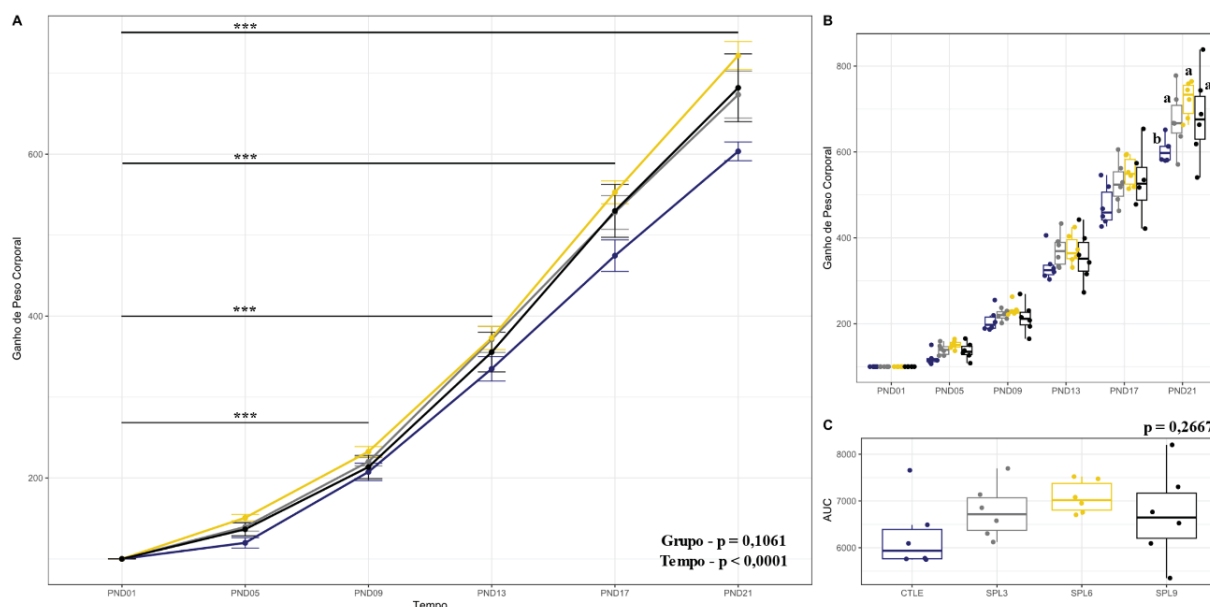
destacou como o mais distante, configurando-se como o grupo com maior divergência em relação ao padrão controle. Esses resultados demonstram que, apesar de todos os grupos suplementados apresentarem alterações no desenvolvimento de reflexos em comparação ao CTLE, o grau de similaridade variou, de forma que o SPL9 está colocado em maior proximidade do padrão controle e SPL3 o mais divergente.

**Figura 51** – Representação Gráfica do Agrupamento do Desenvolvimento Corporal.



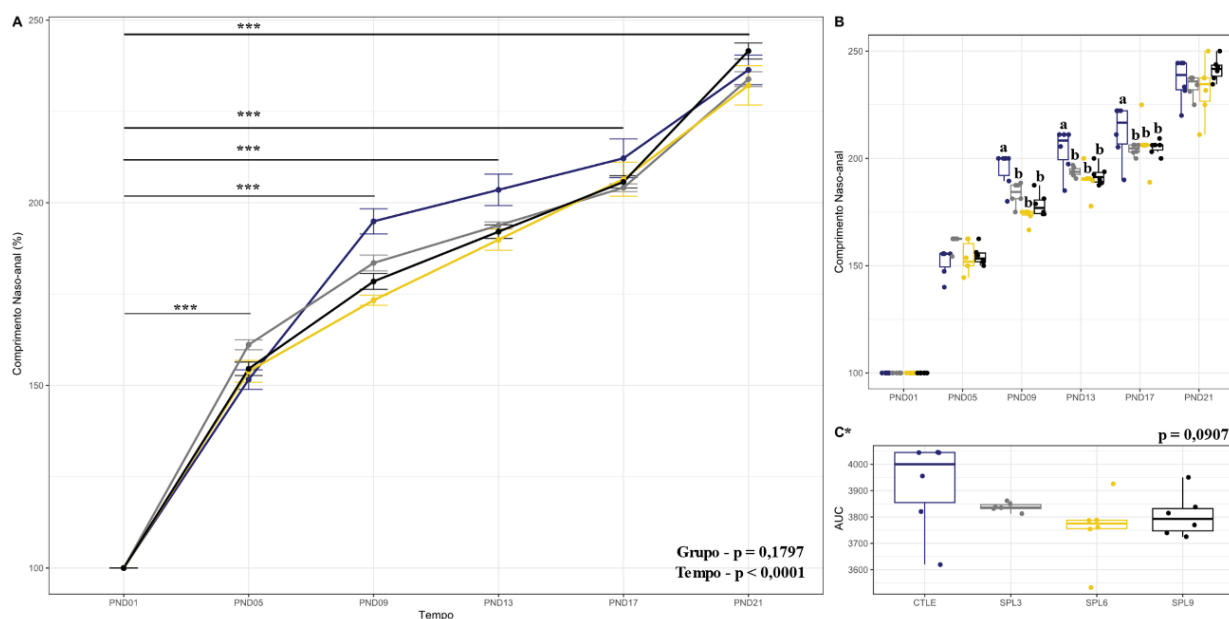
**Legenda:** Análise multivariada da evolução dos reflexos em machos dos diferentes grupos experimentais. À esquerda, análise de componentes principais (PCA) representando a distribuição dos grupos CTLE (azul), SPL3 (preto), SPL6 (amarelo) e SPL9 (cinza) em função dos dois primeiros eixos principais. À direita, dendrograma de agrupamento hierárquico baseado no tamanho de efeito, evidenciando a proximidade entre os grupos e suas relações de similaridade quanto ao desenvolvimento reflexo.

Com relação ao desenvolvimento corporal da prole, foi possível identificar que o ganho de peso das proles durante a lactação (Figura 52), não foi diferente entre os grupos ( $p = 0,1061$ ; Figura 52B). Entretanto, a avaliação do peso no DPN21 demonstrou que os animais proles de mães suplementadas, independentemente do grupo, apresentaram maior peso que os CTLE ( $p < 0,0001$ ; Figura 52A), apesar do padrão de ganho de peso ao longo do tempo ser igual entre os grupos. Da mesma forma, não há diferença entre os grupos no ganho total de peso ao longo do período experimental ( $p = 0,2667$ ; Figura 52C).

**Figura 52**– Representação Gráfica do Ganho de Peso Corporal da Prole.

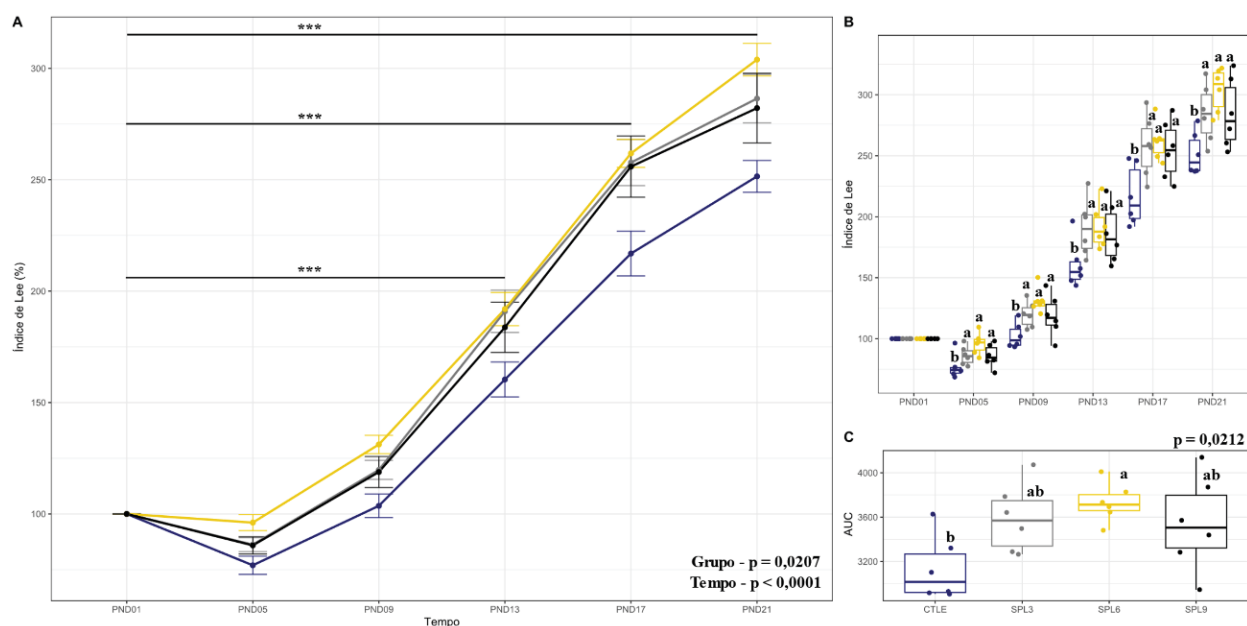
**Legenda:** A e B: Avaliação da variação do ganho de peso; C: Área sob a curva da variação do ganho de peso durante todo o período experimental. Azul: proles CTLE; cinza: proles SPL3; Amarelo: proles SPL6; Preto: proles SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

Quanto ao crescimento corporal das proles durante a lactação (Figura 53), não foi possível observar diferença entre os grupos ( $p = 0,1797$ ; Figura 53B), embora nos dias DPN09, DPN13 e DPN17, as proles de mães suplementadas apresentaram menor comprimento nasoanal que os CTLE, independentemente do grupo. No entanto, todos os grupos apresentam o mesmo padrão de crescimento ao longo do tempo ( $p < 0,0001$ ; Figura 53A). Da mesma forma, não há diferença no crescimento ao longo do período experimental entre os grupos experimentais ( $p = 0,0907$ ; Figura 53C).

**Figura 53**– Representação Gráfica do Crescimento Corporal da Prole.

**Legenda:** A e B: Avaliação da variação do crescimento corporal; C: Área sob a curva da variação do crescimento corporal durante todo o período experimental. Azul: proles CTLE; cinza: proles SPL3; Amarelo: proles SPL6; Preto: proles SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

Por fim, foi possível observar que, durante a lactação, o índice de Lee das proles das ratas suplementadas, independentemente do grupo, foi maior quando comparado aos CTLE, a partir do DPN05 ( $p = 0,0207$ ; Figura 54B). Apesar dessa diferença, todos os grupos apresentam o mesmo padrão de ganho de peso ao longo do tempo ( $p < 0,0001$ ; Figura 54A), a partir do DPN13. Os animais das proles de mães suplementadas apresentaram maior índice de Lee ao longo de todo o período experimental, quando comparados aos CTLE ( $p = 0,0212$ ; Figura 54C).

**Figura 54** – Representação Gráfica do Índice de Lee da Prole.

**Legenda:** A e B: Avaliação da variação do Índice de Lee; C: Área sob a curva da variação do Índice de Lee durante todo o período experimental. Azul: proles CTLE; cinza: proles SPL3; Amarelo: proles SPL6; Preto: proles SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

## 8.2 CARACTERÍSTICAS DA PROLE AOS 21 DIAS DE VIDA.

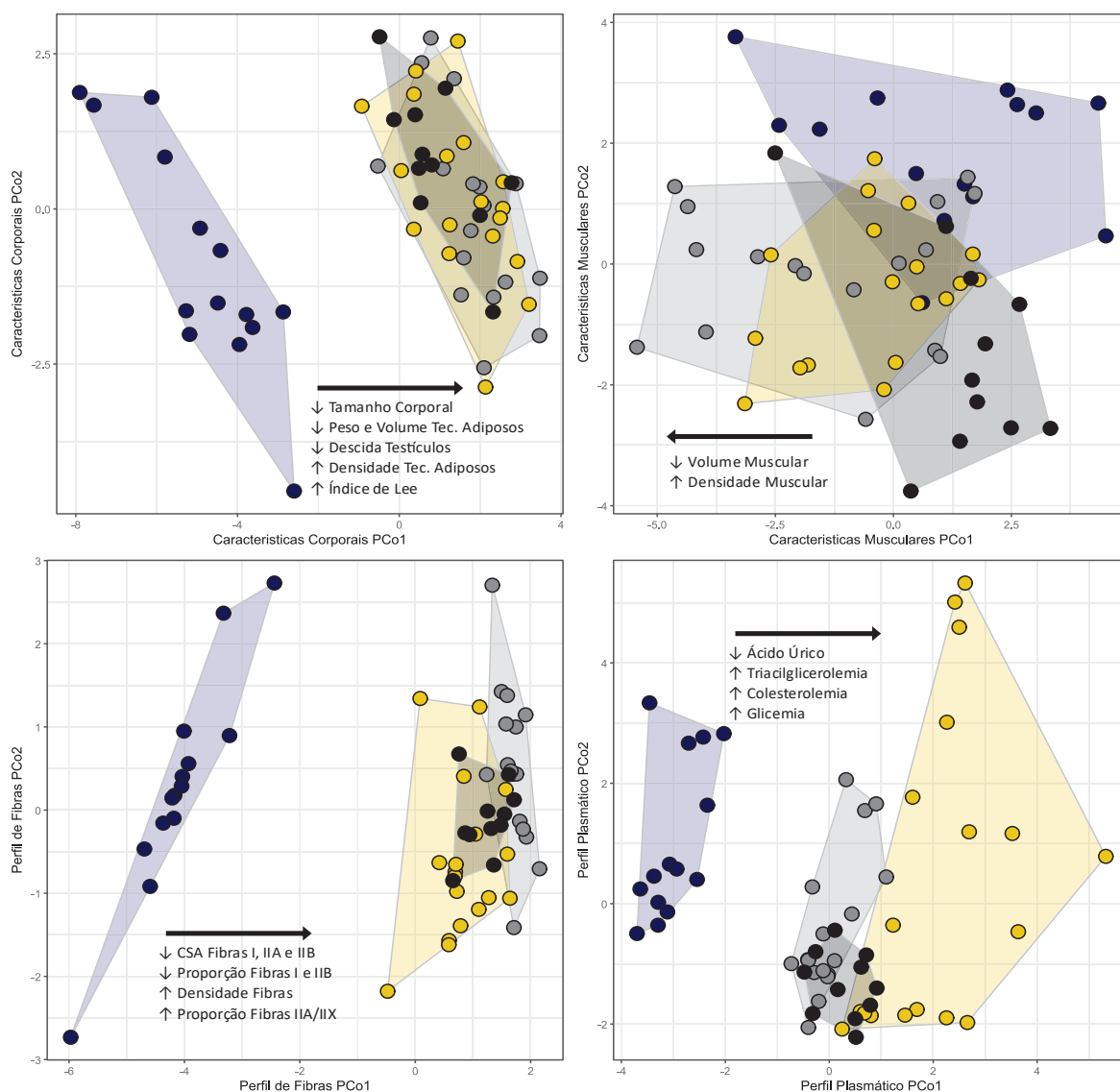
Ao desmame, as características corporais das proles foram acessadas. O padrão de crescimento das proles CTLE, foi considerado como padrão de crescimento considerado normal, sem deposição de massa corporal significativa. Em comparação ao padrão descrito pelos animais controle, os animais dos grupos SPL apresentaram um deslocamento na PCoA que sugere redução ou atraso no crescimento corporal (Figura 55A), como consequência de efeitos adversos da suplementação materna sobre a disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento da prole ( $p < 0,0001$ ).

A análise das características musculares demonstrou que os grupos SPL apresentaram redução no volume dos músculos, acompanhada do aumento na densidade, quando comparados aos CTLE ( $p < 0,0001$ ), sugerindo que todos os AGPIs estudados foram hábeis em modificar o desenvolvimento muscular (Figura 55B). Os efeitos da exposição aos AGPIs durante o desenvolvimento também foram identificados em relação à estrutura do músculo estriado esquelético. Nos grupos SPL houve redução da área de secção transversa das fibras musculares tipo I e IIB, acompanhada de aumento da densidade e da proporção de fibras IIA/IIX (Figura 55C). Dados que indicam que a suplementação impactou a distribuição e o tamanho das fibras

musculares. Esse perfil de modificações sugere que houve um possível atraso na maturação das fibras ( $p < 0,0001$ ).

Por fim, a avaliação dos marcadores plasmáticos revelou que os grupos SPL apresentaram aumento das concentrações de triacilgliceróis, colesterol e glicemia em comparação ao grupo CTLE e menor concentração de ácido úrico (Figura 55D). Esses achados indicam que a suplementação pode ter induzido alterações no metabolismo sistêmico, refletindo um potencial comprometimento na homeostase energética ( $p < 0,0001$ ).

**Figura 55** – Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características das Proles aos 21 dias de vida.



**Legenda:** A: Características Corporais; B: Características Musculares; C: Perfil de Fibras; D: Perfil Plasmático. Cada polígono representa um grupo experimental, sendo azul: prole CTLE; cinza: prole SPL3; amarelo: prole SPL6; preto: prole SPL9. Setas indicam as variáveis que influenciam a dispersão dos grupos ( $p < 0,05$ ).

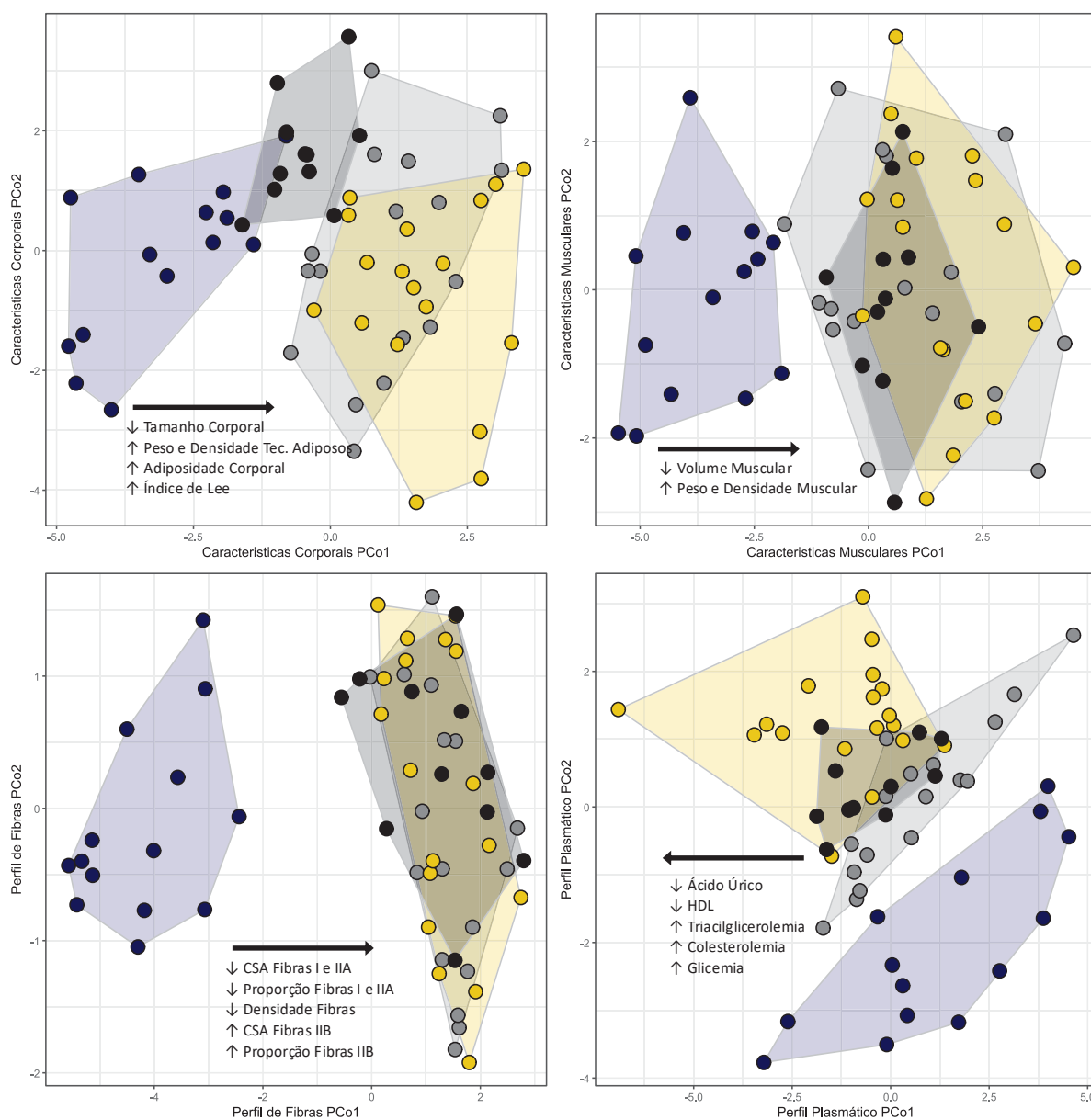
### 8.3 CARACTERÍSTICAS DA PROLE AOS 60 DIAS DE VIDA

Aos 60 dias de vida foi possível verificar que as características corporais das proles CTLE mantiveram o padrão de desenvolvimento observado aos 21 dias e agora, próximo à maturidade sexual, ainda não apresentam comprometimento na deposição de massa corporal. Em contraste, os grupos SPL mantiveram o desenvolvimento reduzido e confirmaram a alteração do desenvolvimento corporal. Mantiveram-se menores, mas agora apresentaram maior peso e adiposidade corporal ( $p < 0,0001$ ; Figura 56A).

A análise das características musculares demonstrou que o prejuízo de desenvolvimento muscular não foi revertido, de modo que os animais dos grupos SPL mantiveram-se com menor tamanho dos músculos e maior peso e densidade, quando comparados aos CTLE (Figura 56B), confirmando que o desenvolvimento muscular foi prejudicado pela exposição a todos os AGIs ( $p < 0,0001$ ). Com relação às características das fibras musculares, os grupos SPL apresentaram redução da área de secção transversa e na proporção das fibras musculares tipo I e IIA, e aumento da densidade e da proporção de fibras IIB, indicando que a suplementação impactou a distribuição e o tamanho das fibras musculares (Figura 56C). Esse perfil mostra o reflexo do comprometimento do desenvolvimento e na maturação das fibras ( $p < 0,0001$ ).

Por fim, a análise de marcadores plasmáticos demonstrou que os grupos SPL apresentaram redução da concentração de ácido úrico e de colesterol HDL, acompanhada de aumento na concentração de triacilgliceróis, colesterol total e glicemia em comparação ao grupo controle (Figura 56D). Esses achados indicam que a suplementação pode ter induzido alterações no metabolismo sistêmico, refletindo um potencial comprometimento na homeostase energética ( $p < 0,0001$ ).

**Figura 56** – Representação Gráfica em Forma de Gráfico de Dispersão das Relações Multivariadas da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) das Características das Proles aos 60 dias de vida.



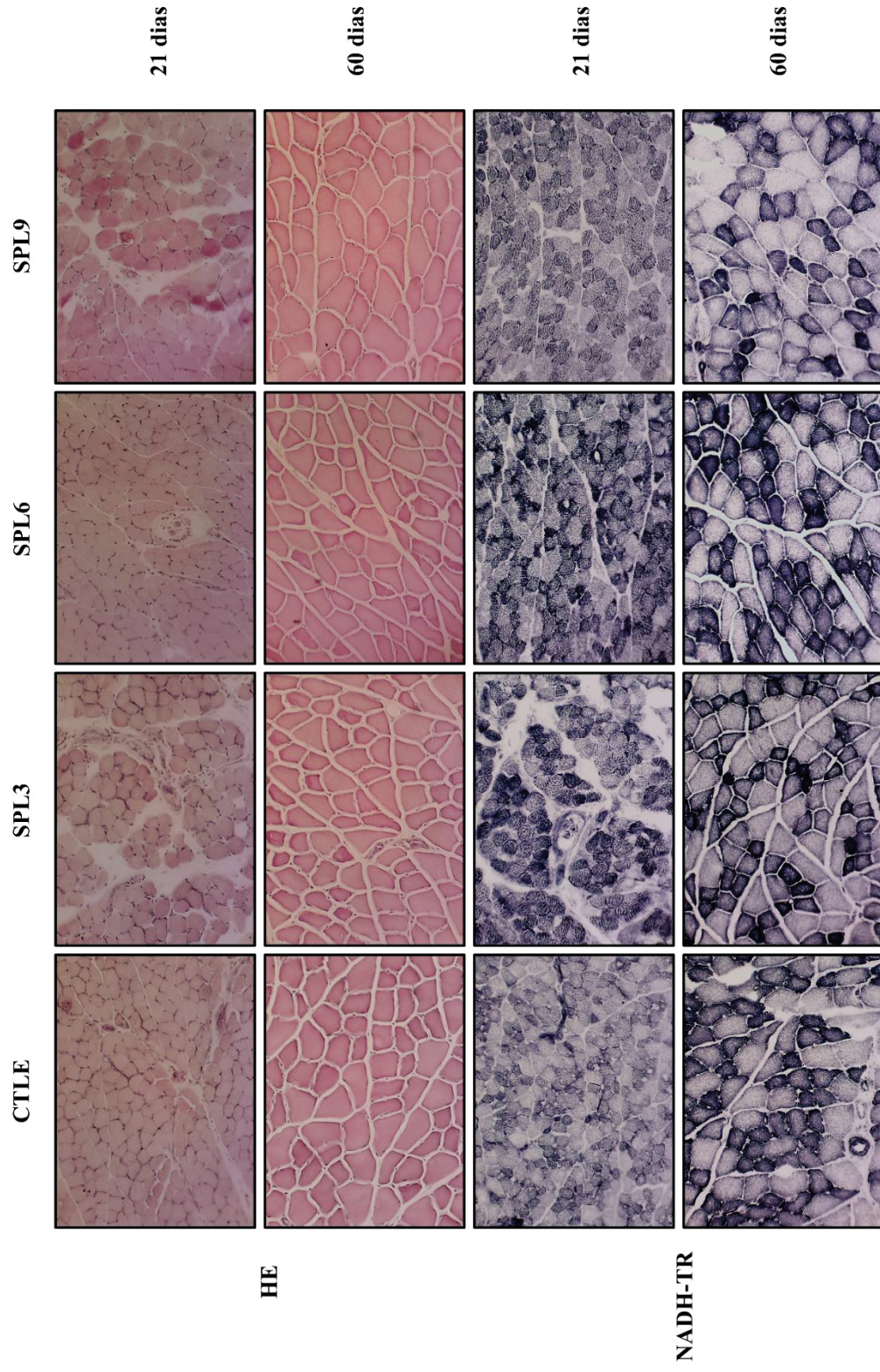
**Legenda:** A: Características Corporais; B: Características Musculares; C: Perfil de Fibras; D: Perfil Plasmático. Cada polígono representa um grupo experimental, sendo azul: prole CTLE; cinza: prole SPL3; amarelo: prole SPL6; preto: prole SPL9. Setas indicam as variáveis que influenciam a dispersão dos grupos ( $p < 0,05$ ).

#### 8.4 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DO MÚSCULO PLANTAR

A análise histológica do tecido muscular esquelético evidenciou diferenças estruturais e metabólicas entre os grupos SPL e CTLE associadas à idade e à intervenção experimental (Figura 57). A avaliação do grupo controle revelou fibras musculares organizadas, com formato poliédrico homogêneo e núcleos periféricos, características indicativas de integridade tecidual. O espaço intersticial continha quantidades reduzidas de matriz extracelular, sem sinais de fibrose ou infiltrado celular. A avaliação aos 21 dias evidenciou uma maior proporção de fibras musculares com diâmetro reduzido e núcleos centrais, padrão compatível com um estágio de maturação muscular em andamento. Em contraste, os SPL aos 21 e 60 dias exibiram aumento na heterogeneidade do tamanho das fibras, além de maior deposição de tecido conjuntivo entre as fibras musculares, sugerindo processos de remodelação ou degeneração muscular.

Com relação ao NADH-TR foi possível identificar as alterações no metabolismo energético das fibras musculares. O grupo CTLE demonstrou um padrão equilibrado entre fibras oxidativas e glicolíticas, com distribuição homogênea da coloração. Na idade de 21 dias, observou-se uma menor intensidade da coloração oxidativa em determinadas áreas, indicando uma menor densidade mitocondrial e um metabolismo predominantemente glicolítico, característico de fibras em diferenciação (IIX). Nos animais de grupos SPL aos 21 e 60 dias, identificou-se um aumento na heterogeneidade da coloração, com predomínio de fibras com menor intensidade da marcação oxidativa, sugerindo um declínio na capacidade metabólica e na atividade mitocondrial.

**Figura 57** – Características Histológicas do Músculo Plantar aos 21 e 60 dias.

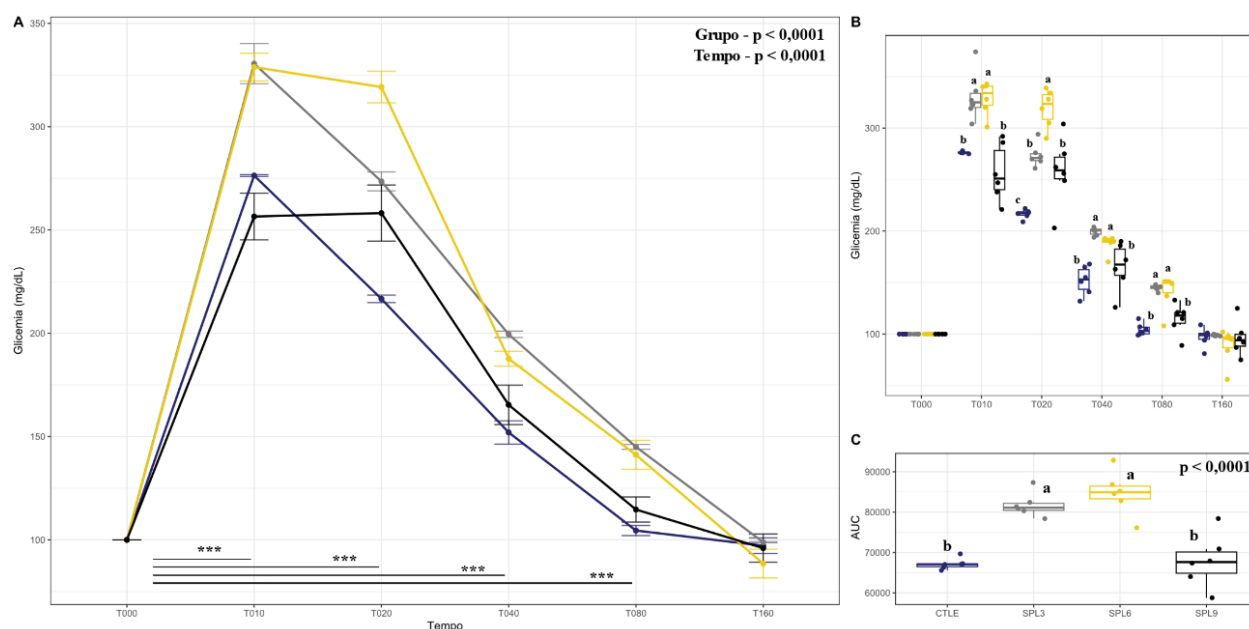


**Legenda:** CTLE: prole de ratas controle (Coluna 1); SPL3: prole de ratas suplementadas com n-3 (Coluna 2); SPL6: prole de ratas suplementadas com n-6 (Coluna 3); SPL9: prole de ratas suplementadas com n-9 (Coluna 4). Criosecções transversais em 7  $\mu$ m submetidas à coloração de Hematoxilina e Eosina para as análises morfológicas e morfológicas (Linhas 1 e 2), à reação de NADH-TR para a tipagem de fibras (Linhas 3 e 4). Avaliações aos 21 dias (Linhas 1 e 3) e aos 60 dias (Linhas 2 e 4).

## 8.5 AVALIAÇÃO DAS PROGENITORAS EM PERÍODO PÓS-NATAL

Para avaliar efeitos duradouros da suplementação sobre o organismo das progenitoras, a capacidade de captação periférica de glicose e as características corporais foram avaliadas em dois momentos após o nascimento das ninhadas: DPN03 e DPN23. Foi possível observar que no DPN03 (Figura 58), no pico da glicemia aos 10 minutos após a injeção intraperitoneal da solução hipertônica de glicose, as ratas SPL3 e SPL6 apresentaram maiores valores de glicose plasmática em comparação às CTLE e SPL9 ( $p < 0,0001$ ; Figura 58B). Além disso, a partir desse ponto, as ratas suplementadas, independentemente do grupo, apresentaram redução na velocidade de captação de glicose, de maneira particularizada. Enquanto as SPL9 retomaram as concentrações similares às das ratas CTLE em 20 minutos de observação, as SPL3 e SPL6 demandaram até 80 minutos para recuperação completa ( $p < 0,0001$ ; Figura 58A). Consequentemente, as ratas SPL3 e SPL6 exibiram maior variação total da glicemia em relação às CTLE e SPL9 ( $p < 0,0001$ ; Figura 58C).

**Figura 58** – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Período Perinatal (DPN03).

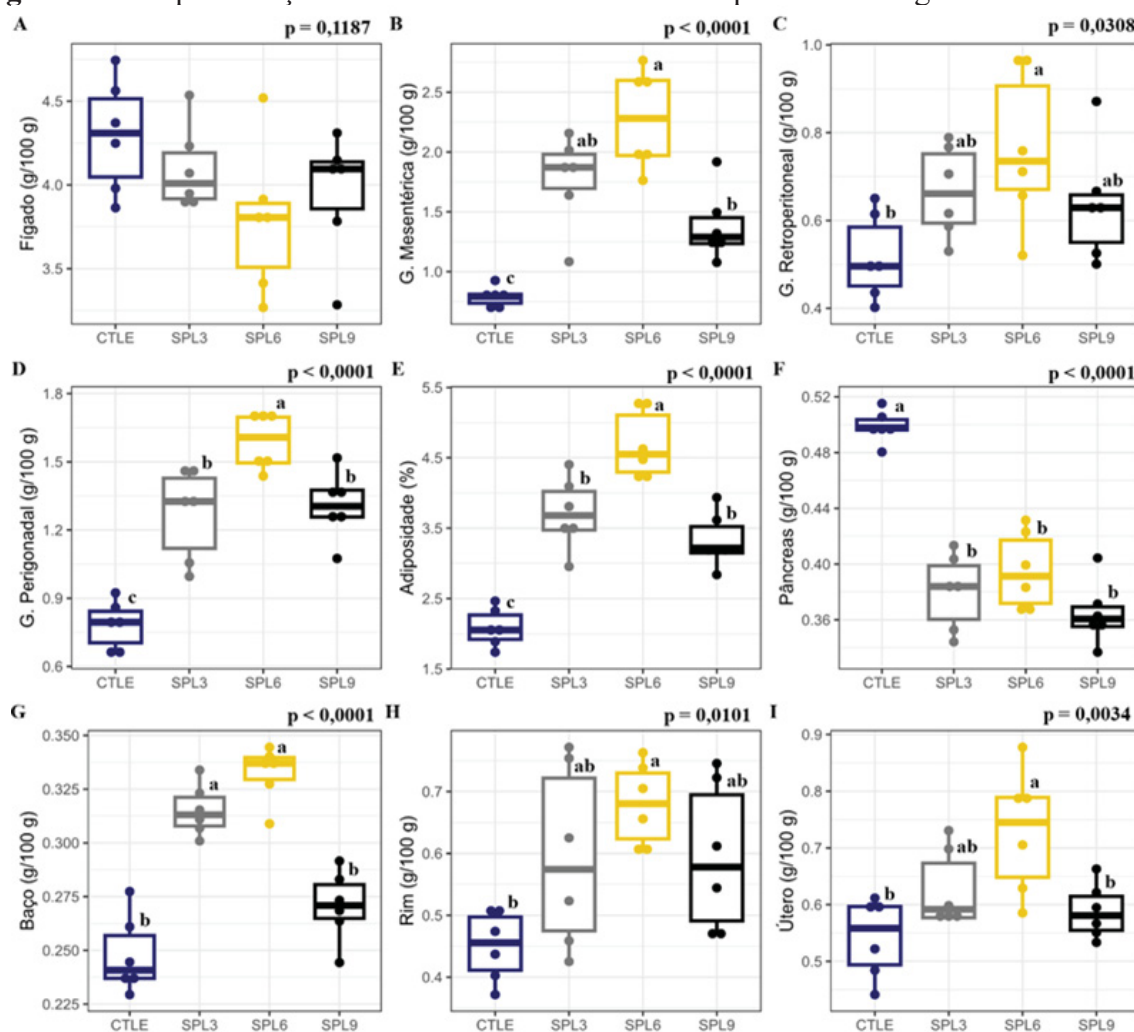


**Legenda:** A e B: Avaliação da variação glicêmica durante 160 minutos de avaliação; C: Área sob a curva da variação glicêmica durante todo o teste. Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

Com relação às características corporais das progenitoras foi observado, no DPN03 (Figura 59), que as ratas SPL apresentaram aumento do peso dos tecidos adiposos mesentéricos ( $p < 0,0001$ ; Figura 59B), retroperitoneais ( $p = 0,0308$ ; Figura 59C), perigonadais ( $p < 0,0001$ ;

Figura 59D) em comparação aos animais CTLE. Essas variações contribuíram para o aumento da adiposidade corporal total em comparação às CTLE ( $p < 0,0001$ ; Figura 59E). Entre os grupos SPL, as ratas SPL6 apresentaram maiores valores, sendo estatisticamente diferentes das ratas SPL3 e SPL9. A avaliação do peso dos órgãos revelou que não houve diferenças de peso do fígado ( $p = 0,1187$ ; Figura 59A), enquanto no pâncreas houve redução de peso em todas as ratas suplementadas, em relação às CTLE ( $p < 0,0001$ ; Figura 59F). Para o baço as ratas SPL3 e SPL6 exibiram aumento de peso em comparação às CTLE e SPL9 ( $p < 0,0001$ ; Figura 59G), enquanto para o rim todas as ratas suplementadas apresentaram aumento do peso quando comparadas às CTLE ( $p < 0,0001$ ; Figura 59H). Por fim, com relação ao útero, as ratas SPL6 e SPL3 apresentaram aumento de peso em relação às CTLE e SPL9 ( $p < 0,0001$ ; Figura 59I).

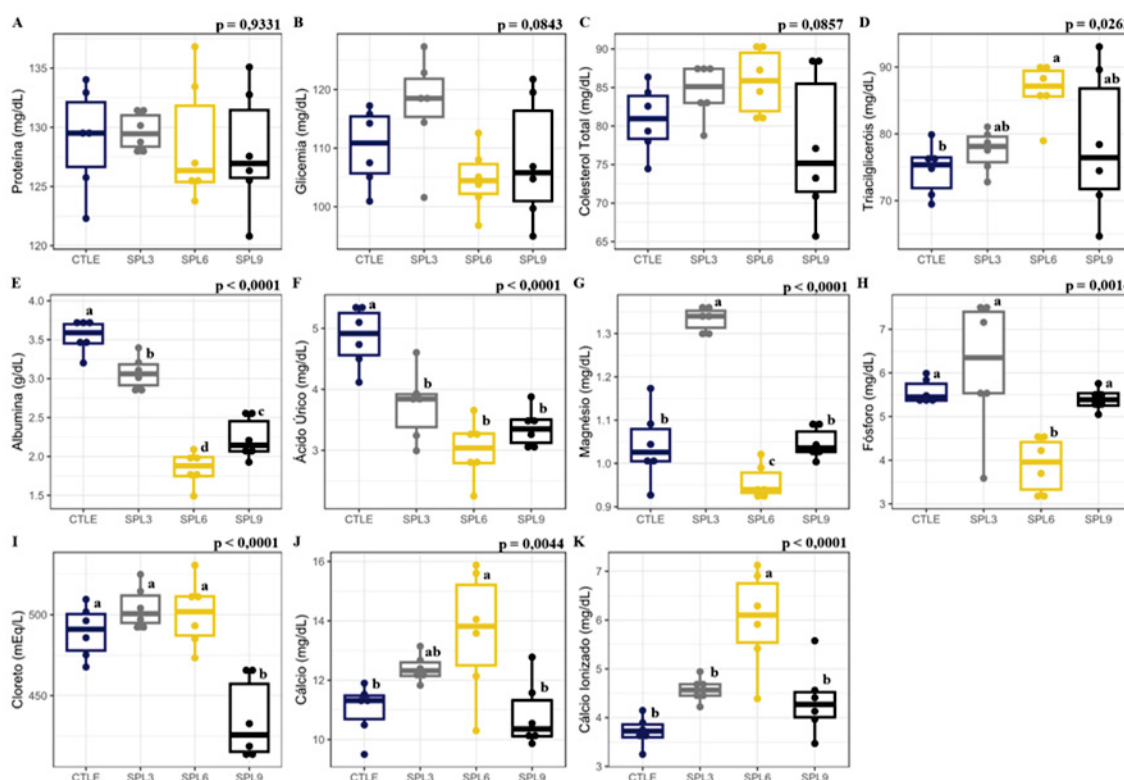
**Figura 59** – Representação Gráfica das Características Corporais das Progenitoras no DPN03.



**Legenda:** A: Peso do Fígado (g / 100 g PC); Tecidos Adiposos Mesentérico (B), Retroperitoneal (C) e Perigonadal (D); E: Adiposidade Abdominal (%); F: Pâncreas (g / 100 g PC); G: Baço (g / 100 g PC); H: Rim (g / 100 g PC); I: Útero (g / 100 g PC). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança. \*Kruskal-Wallis.

No DPN03 (Figura 60), também foram avaliados parâmetros séricos das ratas. Não foram encontradas diferenças entre os grupos para proteínas totais ( $p = 0,9331$ ; Figura 51A), glicemia ( $p = 0,0843$ ; Figura 60B) e colesterol total ( $p = 0,0857$ ; Figura 60C). Em contrapartida, os níveis de triacilgliceróis totais ( $p = 0,0262$ ; Figura 60D) estavam aumentados nas ratas SPL6 em relação às CTLE, SPL3 e SPL9. Observou-se ainda que as ratas suplementadas, apresentaram redução nos valores de albumina ( $p < 0,0001$ ; Figura 60E) bem como de ácido úrico ( $p < 0,0001$ ; Figura 60F), quando comparadas às CTLE. O magnésio aumentou nas ratas SPL3 em relação às CTLE e SPL9 ( $p < 0,0001$ ; Figura 60G), enquanto as SPL6 apresentaram redução. Quanto ao fósforo ( $p = 0,0014$ ; Figura 60H), as ratas SPL6 apresentaram diminuição em comparação aos demais grupos, enquanto para o cálcio ionizado houve aumento; as ratas SPL6 apresentaram valores aumentados em relação aos demais grupos ( $p < 0,0001$ ; Figura 60K). Também foi identificado aumento das concentrações de cálcio total nas ratas SPL3 e SPL6 em comparação às CTLE e SPL9 ( $p = 0,0044$ ; Figura 60J). Por fim, houve redução nas concentrações de cloreto nas ratas SPL9 em relação aos demais grupos ( $p < 0,0001$ ; Figura 60I).

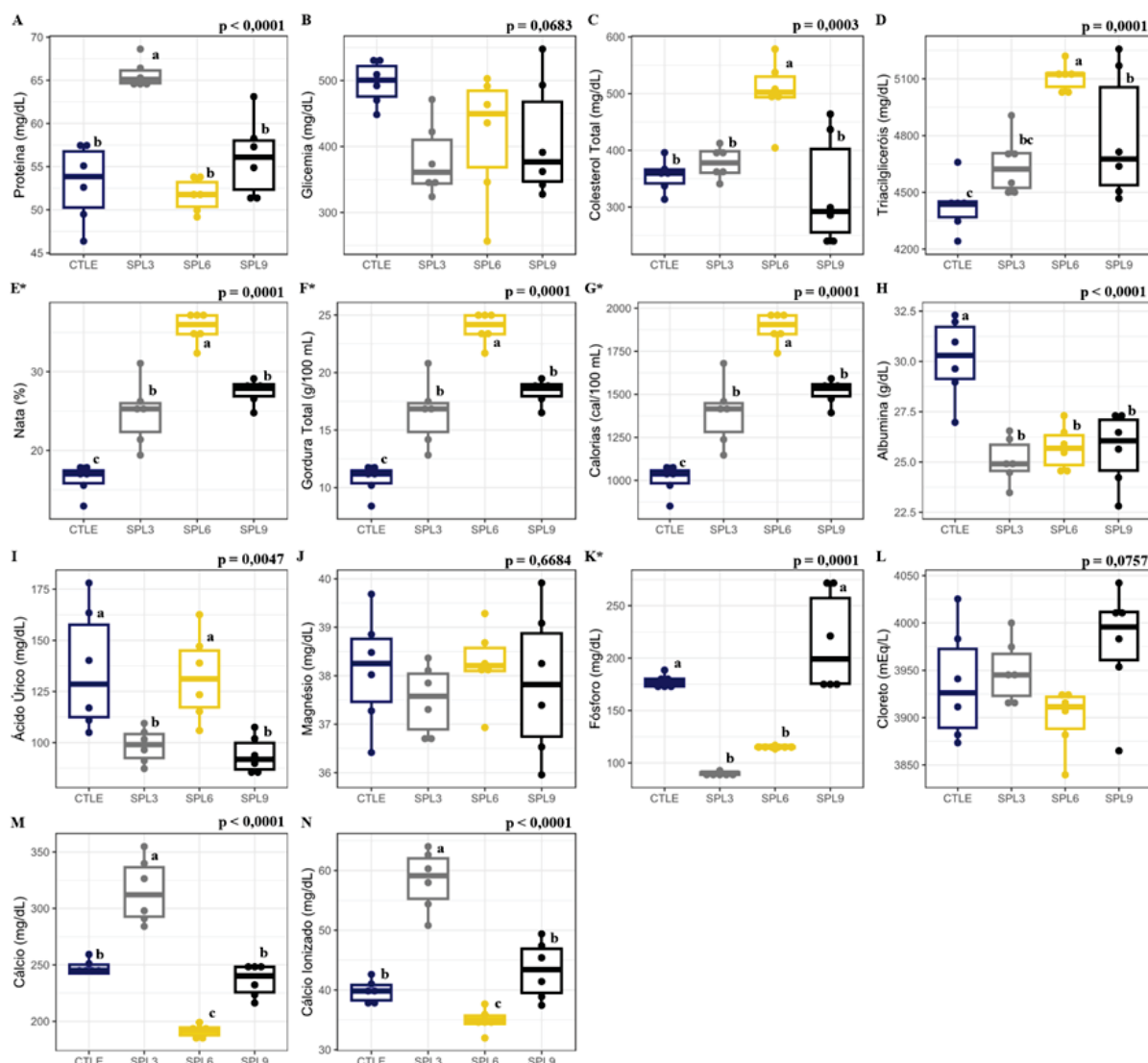
**Figura 60** – Representação Gráfica do Perfil Plasmático das Progenitoras no DPN03.



**Legenda:** A: Proteína (mg/dL); B: Glicemia (mg/dL); C: Colesterol Total (mg/dL); D: Triacilgliceróis (mg/dL); E: Albumina (g/dL); F: Ácido Úrico (mg/dL); G: Magnésio (mg/dL); H: Fósforo (mg/dL); I: Cloreto (mEq/L); J: Cálcio (mg/dL); K: Cálcio Ionizado (mEq/dL). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança. \*Kruskal-Wallis.

Ainda no DPN 03 foram realizadas análises quanto ao perfil nutricional do leite (Figura 60). Não foram identificadas diferenças na glicemia ( $p = 0,0683$ ; Figura 60B), no conteúdo de magnésio ( $p = 0,6684$ ; Figura 60J) e de cloreto ( $p = 0,0757$ ; Figura 60L). No entanto, as ratas suplementadas, independentemente do grupo, apresentaram aumento da concentração de triacilgliceróis totais ( $p = 0,0001$ ; Figura 60D), do percentual de nata ( $p = 0,0001$ ; Figura 60E), da proporção de gordura ( $p = 0,0001$ ; Figura 60F) e do total de calorias ( $p = 0,0001$ ; Figura 60G), quando comparadas às CTLE. Também, foi identificada redução na concentração de albumina nas ratas suplementadas, quando comparadas às CTLE, independentemente do grupo ( $p < 0,0001$ ; Figura 60H).

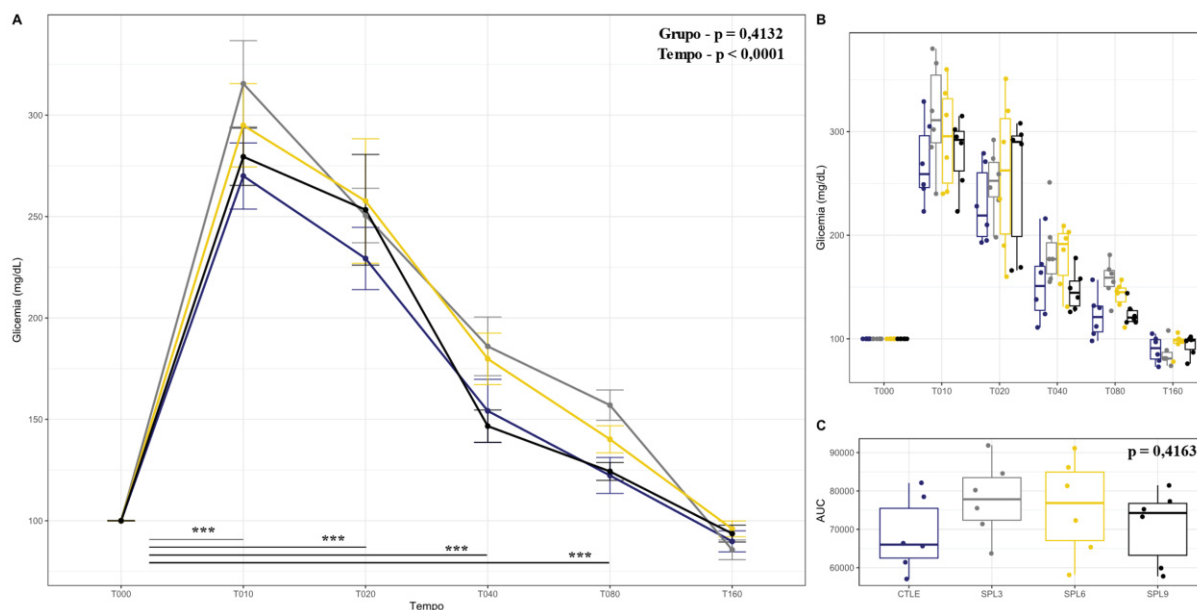
De forma particularizada, também foram encontradas alterações específicas para cada suplementação. No leite das ratas SPL3 houve redução de fósforo ( $p = 0,0001$ ; Figura 60K), acompanhada de aumento da concentração de proteínas solúveis ( $p < 0,0001$ ; Figura 60A), de cálcio ( $p < 0,0001$ ; Figura 60M) e de cálcio ionizado ( $p < 0,0001$ ; Figura 60N) quando comparadas às CTLE e SPL9. Com relação ao leite das ratas SPL6 houve redução na concentração de fósforo ( $p = 0,0001$ ; Figura 60K) em comparação ao leite das ratas CTLE e SPL9, acompanhado da redução de proteínas solúveis ( $p < 0,0001$ ; Figura 60A), de cálcio ( $p < 0,0001$ ; Figura 60M) e de cálcio ionizado ( $p < 0,0001$ ; Figura 60N), além de aumento na concentração de colesterol total ( $p = 0,0003$ ; Figura 60C), quando comparadas aos demais grupos. Por fim, nas ratas SPL3 e SPL9, apresentaram redução na concentração de ácido úrico ( $p = 0,0047$ ; Figura 60I), quando comparadas às CTLE e SPL6.

**Figura 61** - Representação Gráfica do Perfil Nutricional do Leite das Progenitoras no DPN03

**Legenda:** A: Proteína (mg/dL); B: Glicemia (mg/dL); C: Colesterol Total (mg/dL); D: Triacilgliceróis (mg/dL); E: Nata (%); F: Gordura Total (g/100 mL); G: Calorias (cal/100 mL); H: Albumina (g/dL); I: Ácido Úrico (mg/dL); J: Magnésio (mg/dL); K: Fósforo (mg/dL); L: Cloreto (mEq/L); M: Cálcio (mg/dL); N: Cálcio Ionizado (mEq/dL). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança. \*Kruskal-Wallis.

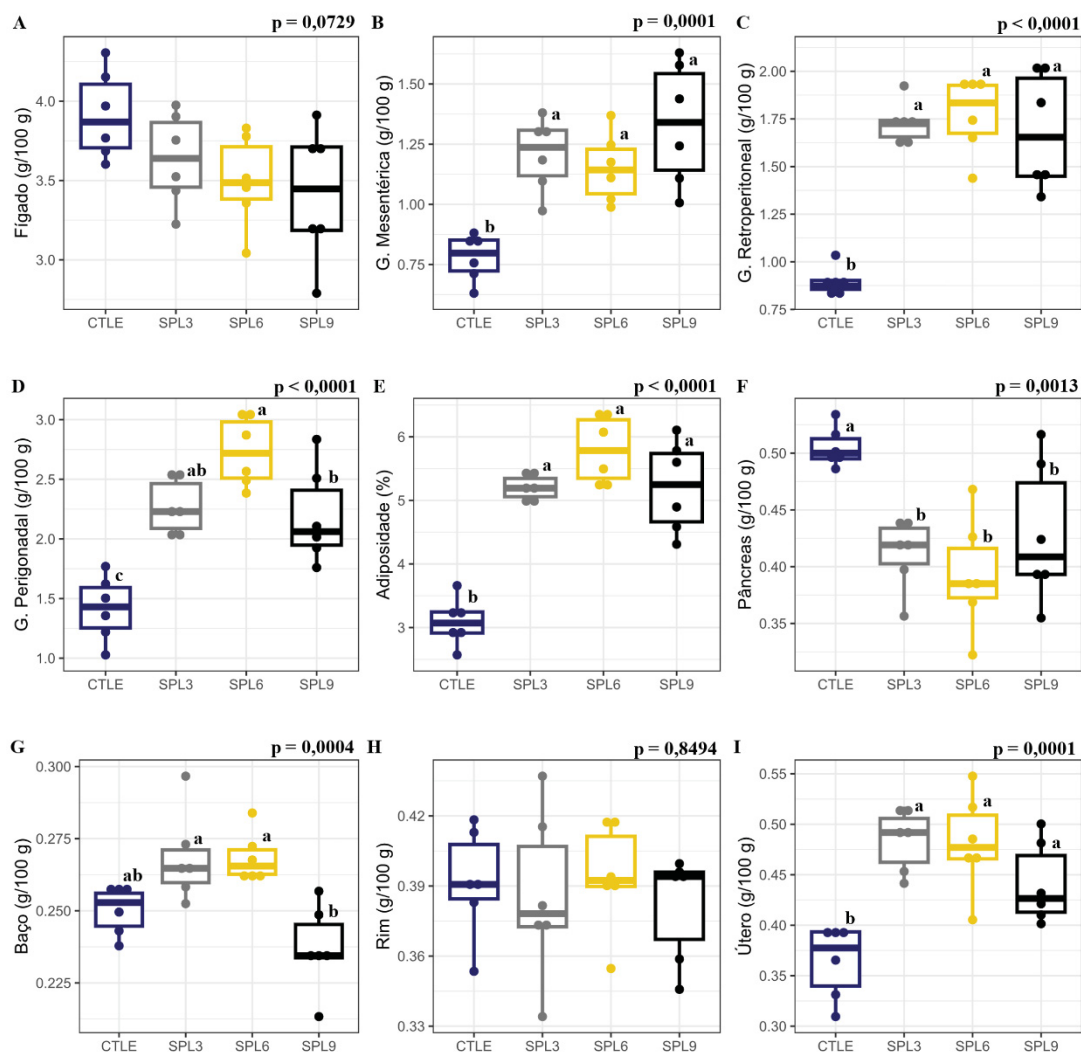
Com relação às análises do DPN23, foi possível observar (Figura 61) que não há diferença entre os grupos ( $p = 0,4132$ ; Figura 61B) no pico da glicemia após 10 min da injeção intraperitoneal da solução hipertônica de glicose, sendo que todos os grupos apresentam o mesmo padrão de decaimento de glicemia ao longo do tempo ( $p < 0,0001$ ; Figura 61A), de forma que não há diferença entre os grupos na variação total da glicemia ao longo do período experimental ( $p = 0,4163$ ; Figura 61C).

**Figura 62** – Representação Gráfica da variação da glicemia durante o teste de tolerância à glicose no Final da Lactação (DPN23).



**Legenda:** A e B: Avaliação da variação glicêmica durante 160 minutos de avaliação; C: Área sob a curva da variação glicêmica durante todo o teste. Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6; Preto: ratas SPL9. Letras diferentes significam níveis de intervalos de confiança estatisticamente diferentes.

A avaliação de parâmetros maternos no DPN23 está representada na Figura 62. Foi observado aumento significativo do peso dos tecidos adiposos mesentérico ( $p = 0,0001$ ; Figura 62B), retroperitoneal ( $p < 0,0001$ ; Figura 62C), perigonadal ( $p < 0,0001$ ; Figura 62D) nas ratas suplementadas, independentemente do grupo, em comparação às CTLE, o que contribuiu para o aumento da adiposidade corporal total ( $p < 0,0001$ ; Figura 62E). Por outro lado, o peso do pâncreas ( $p = 0,0013$ ; Figura 62F) foi reduzido nas ratas suplementadas em relação às CTLE. Quanto ao baço ( $p = 0,0004$ ; Figura 62G), observou-se aumento do peso nas ratas SPL3 e SPL6 em comparação às CTLE, enquanto nas SPL9 houve redução. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para o peso do fígado ( $p = 0,0729$ ; Figura 62A) e do rim ( $p = 0,8494$ ; Figura 62H). Por fim, o peso do útero foi maior em todas as ratas suplementadas, independentemente do grupo, comparadas às CTLE ( $p = 0,0001$ ; Figura 62I).

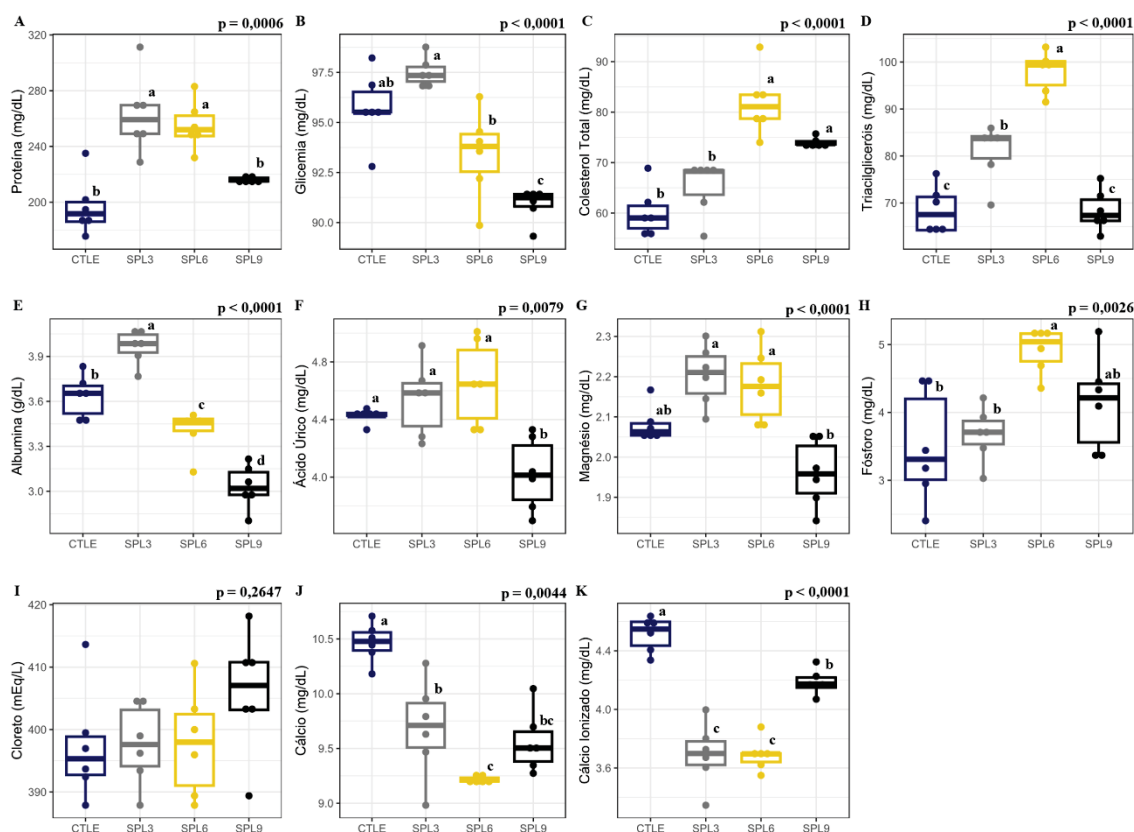
**Figura 63** – Representação Gráfica das Características Corporais das Progenitoras no DPN23.

**Legenda:** A: Peso do Fígado (g / 100 g PC); Tecidos Adiposos Mesentérico (B), Retroperitoneal (C) e Perigonadal (D); E: Adiposidade Abdominal (%); F: Pâncreas (g / 100 g PC); G: Baço (g / 100 g PC); H: Rim (g / 100 g PC); I: Útero (g / 100 g PC). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança. \*Kruskal-Wallis.

A avaliação de parâmetros plasmáticos no DPN23 (Figura 63), demonstrou que não foram identificadas diferenças entre os grupos nos níveis de cloreto ( $p = 0,2647$ ; Figura 63I). Em contrapartida, os níveis de proteínas solúveis ( $p = 0,0006$ ; Figura 63A) e de triacilgliceróis totais ( $p < 0,0001$ ; Figura 63D) foram mais elevados nas ratas SPL3 e SPL6 em comparação às CTLE e SPL9. Já a glicemia ( $p < 0,0001$ ; Figura 63B) e a concentração de albumina ( $p < 0,0001$ ; Figura 63E) estavam aumentadas nas ratas SPL3 em comparação às SPL6 e SPL9, apesar de não diferirem do CTLE. Por outro lado, as ratas SPL6 e SPL9 apresentaram elevação do colesterol total ( $p < 0,0001$ ; Figura 63C) e de fósforo ( $p = 0,0026$ ; Figura 63H) em comparação às CTLE e SPL3. Os níveis de ácido úrico ( $p = 0,0079$ ; Figura 63F) e de magnésio

( $p < 0,0001$ ; Figura 63G) foram reduzidos nas ratas SPL9 em relação aos demais grupos. Por fim, os níveis de cálcio total ( $p < 0,0001$ ; Figura 63J) e de cálcio ionizado ( $p < 0,0001$ ; Figura 63K) foram mais baixos nas ratas suplementadas, independentemente do grupo, quando comparadas às CTLE.

**Figura 64** – Representação Gráfica do Perfil Plasmático das Progenitoras no DPN23.

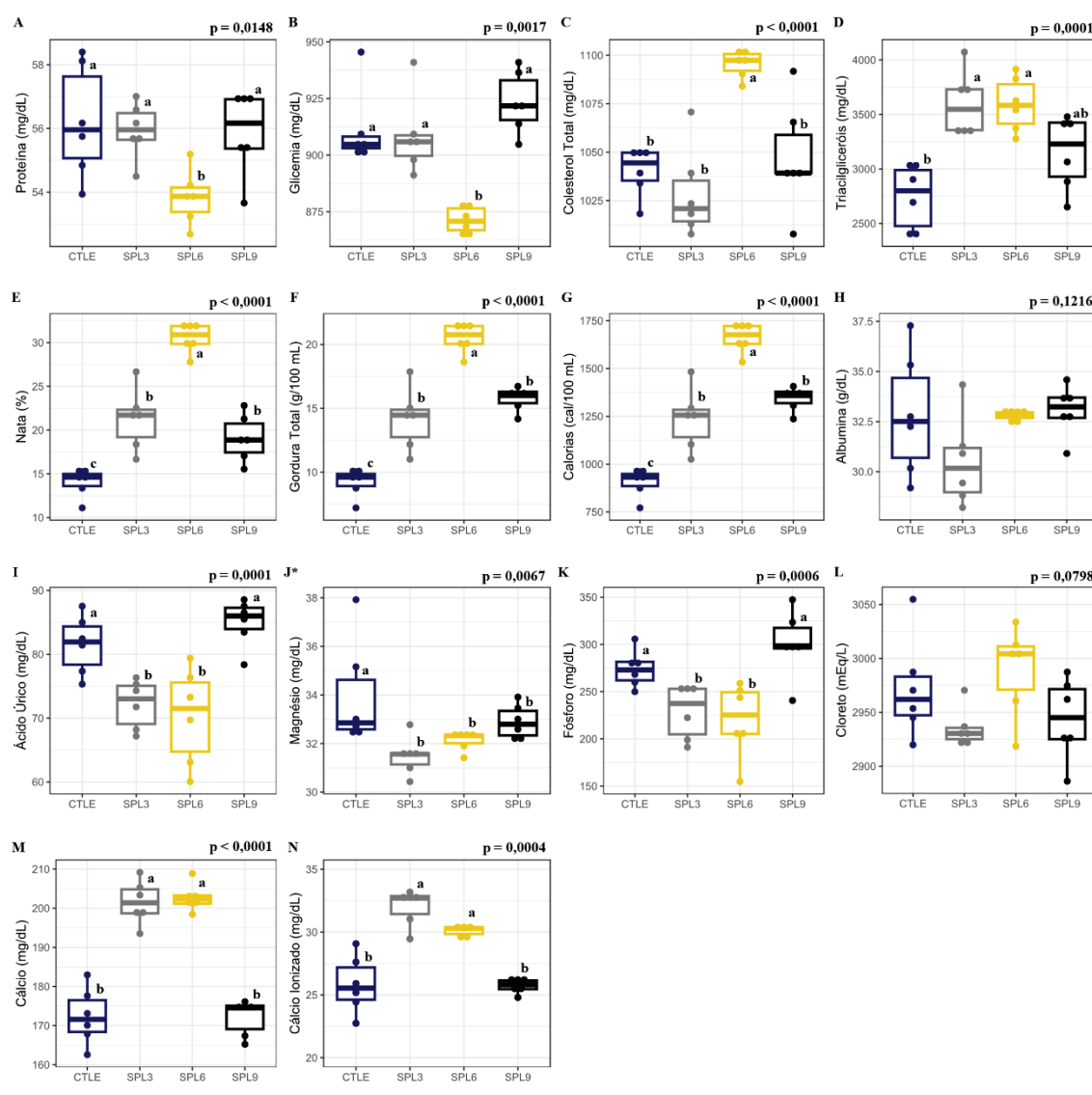


**Legenda:** A: Proteína (mg/dL); B: Glicemia (mg/dL); C: Colesterol Total (mg/dL); D: Triacilgliceróis (mg/dL); E: Albumina (g/dL); F: Ácido Úrico (mg/dL); G: Magnésio (mg/dL); H: Fósforo (mg/dL); I: Cloreto (mEq/L); J: Cálcio (mg/dL); K: Cálcio Ionizado (mEq/dL). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança. \*Kruskal-Wallis.

O perfil nutricional do leite foi analisado aos DPN23 (Figura 64) e não foi possível observar diferença nas concentrações de albumina ( $p = 0,1216$ ; Figura 64H) e de cloreto ( $p = 0,0798$ ; Figura 64L). No entanto, as ratas suplementadas, independentemente do grupo, apresentaram aumento de triacilgliceróis totais ( $p = 0,0001$ ; Figura 64D), do percentual de nata ( $p < 0,0001$ ; Figura 64E), da proporção de gordura ( $p < 0,0001$ ; Figura 64F) e no total de calorias ( $p < 0,0001$ ; Figura 64G), quando comparadas às CTLE. Contudo, as ratas suplementadas, independentemente do grupo, apresentaram redução na concentração de magnésio ( $p = 0,0067$ ; Figura 64J), quando comparadas às CTLE. Também foi observada

redução na concentração de ácido úrico ( $p = 0,0001$ ; Figura 64I) e de fósforo ( $p = 0,0006$ ; Figura 64K) no leite das ratas SPL3 e SPL6, quando comparadas às CTLE e SPL9. Também, foi identificado que a concentração de cálcio ( $p < 0,0001$ ; Figura 64M) e de cálcio ionizado ( $p < 0,0001$ ; Figura 64N) sofreu aumento nas ratas SPL3 e SPL6 quando comparadas às CTLE e SPL9. Apenas no leite das ratas SPL6 foi identificado aumento no colesterol total ( $p < 0,0001$ ; Figura 64C), acompanhado da redução na concentração de proteínas solúveis ( $p = 0,0148$ ; Figura 64A) e na glicemia ( $p = 0,0017$ ; Figura 64B), quando em comparação aos demais grupos.

**Figura 64** - Representação Gráfica do Perfil Nutricional do Leite das Progenitoras no DPN23.



**Legenda:** A: Proteína (mg/dL); B: Glicemia (mg/dL); C: Colesterol Total (mg/dL); D: Triacilgliceróis (mg/dL); E: Nata (%); F: Gordura Total (g/100 mL); G: Calorias (cal/100 mL); H: Albumina (g/dL); I: Ácido Úrico (mg/dL); J: Magnésio (mg/dL); K: Fósforo (mg/dL); L: Cloreto (mEq/L); M: Cálcio (mg/dL); N: Cálcio Ionizado (mEq/dL). Azul: ratas CTLE; cinza: ratas SPL3; Amarelo: ratas SPL6. Letras diferentes indicam diferença entre os intervalos de confiança. \*Kruskal-Wallis.

## 9. DISCUSSÃO

### 9.1 IDENTIFICAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NO MODELO DE ESTUDO DOSE-RESPOSTA

Os dados obtidos a partir da suplementação em diferentes doses e as flutuações dos parâmetros estudados permitiram estabelecer uma curva dose-resposta, que sugere que a suplementação crônica com ácidos graxos poli-insaturados n-3 (SPL3) e n-6 (SPL6) provoca modificações significativas no equilíbrio lipídico de maneira dose-dependente. Observou-se que com o aumento gradual das doses de suplementação, foi possível se identificar efeitos adversos, cujas intensidades e tipos de resposta variam conforme o ácido graxo administrado. Mesmo na suplementação com AGPIs n-3, que têm sido postulados como terapêuticos, em doses mais altas os efeitos passam a ser deletérios. No caso das ratas suplementadas com SPL3, as doses de 1 g/kg e 2 g/kg ainda preservaram efeitos benéficos, com melhora na homeostase lipídica e uma leve elevação na capacidade de defesa imunológica, corroborando os achados da literatura com relação aos benefícios do uso de AGPI n-3.

Contudo, nas doses de 3 e 4 g/kg, a suplementação com n-3 começou a gerar alterações obesogênicas e dislipidêmicas, acompanhadas por uma ativação aumentada da atividade dos macrófagos. Com relação aos efeitos da suplementação com AGPIs n-6, todas as doses de SPL6 exibiram um efeito dose-dependente na promoção de alterações obesogênicas e dislipidêmicas, além de exercer hiperativação dos macrófagos, destacando o impacto prejudicial desse ácido graxo desde a menor dose estudada. Ainda que no modelo proposto tais suplementações tenham induzido desequilíbrios lipídicos e respostas imunológicas aumentadas, é importante notar que não houve impacto significativo no peso corporal das ratas, o que é uma preocupação genuína sobre o uso de suplementos lipídicos. Esse achado sugere uma relativa segurança do uso no que se refere ao controle do peso corporal, o que pode ser visto como um indicador relevante de estabilidade metabólica. Assim, as respostas observadas indicam que, embora doses baixas de SPL3 possam oferecer benefícios, doses mais altas devem ser avaliadas com cautela devido ao potencial de efeitos metabólicos adversos, assim como o uso de SPL6 (Barbour; Hernandez, 2018a; Bhatt *et al.*, 2019; Chen, Ge *et al.*, 2024; Gepstein; Weiss, 2019; Nicholls *et al.*, 2020b; Sullivan; Grove, 2010).

Apesar de não se identificar efeito das suplementações sobre o ganho de peso global dos animais, uma característica notada com o incremento das doses de suplementação foi o aumento

do peso dos panículos adiposos, da circunferência abdominal e por consequência, da adiposidade corporal. Esse cenário foi correlacionado ao aumento do colesterol total, bem como com as modificações na secreção e sensibilidade da insulina, destacando-se especialmente as doses de 3 e 4 g/kg. Esses indicativos revelam que a administração dessas doses de ácidos graxos poli-insaturados, especificamente, pode responder pelo aparecimento de alterações metabólicas importantes (Barbour; Hernandez, 2018a; Easton, Zachary J.W.; Regnault, 2020; Meex; Blaak; van Loon, 2019a; Yang *et al.*, 2023b). O aumento do peso dos panículos adiposos sugere acúmulo de gordura, que pode ser decorrente de mudanças no equilíbrio lipídico causadas pela elevação das doses de suplementação. Paralelamente, a elevação do colesterol total aponta para uma influência direta da dose de suplementação sobre os níveis lipídicos no organismo. Além disso, as alterações na secreção e sensibilidade da insulina, especialmente nas doses mais elevadas, sinalizam perturbações no metabolismo da glicose, indicando um impacto abrangente desses AGPIs sobre as funções metabólicas e risco de di obesidade (Galmés-Pascual *et al.*, 2020; Meex; Blaak; van Loon, 2019a). Esses efeitos são compatíveis com resultados encontrados em estudos recentes que investigaram os impactos do excesso de exposição a ácidos graxos n-3 e n-6, apontando para riscos metabólicos relacionados ao consumo em excesso, particularmente em contextos de dietas ricas em gorduras ou em doses elevadas (Chen, Ge *et al.*, 2024; Nicholls *et al.*, 2020b; Yang *et al.*, 2023b).

Uma característica interessante observada na suplementação com ácidos graxos n-3 e n-6 foi a modificação dos marcadores plasmáticos preditivos de aterogênese, com destaque para a redução do risco de doenças cardiovasculares em animais suplementados com n-3. Isso é consistente com o que a literatura descreve, onde o consumo de ácidos graxos poli-insaturados n-3 tem sido associado à redução dos níveis de triacilgliceróis, diminuição de marcadores de inflamação e modulação de lipoproteínas de baixa densidade, fatores que são essenciais para o controle da aterogênese e, consequentemente, para saúde cardiovascular (Bayram; Kızıltan, 2024b; Chen *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2023b). Por outro lado, em todas as doses de n-6, nota-se um aumento nos marcadores de predisposição a essas doenças, um fato que é consistentemente respaldado pela literatura (Roccisano *et al.*, 2019; Simopoulos, A. P.; DiNicolantonio, 2016; Yang *et al.*, 2023b). Contudo, é importante ressaltar que, embora determinadas doses de ácidos graxos n-3 apresentem efeitos benéficos sobre os marcadores de aterogênese e risco cardiovascular, a dose de 4 g/kg pode ter um impacto adverso. Este achado sugere uma relação complexa entre a quantidade de suplemento, o tipo de ácido graxo e os efeitos cardiovasculares. Esses dados são corroborados pela literatura, que relata que as doses moderadas de n-3 são

amplamente associadas à redução do risco de doenças cardiovasculares, enquanto doses mais altas podem aumentar os níveis de marcadores de disfunção cardiovascular, sugerindo efeitos prejudiciais para a saúde cardiovascular (Chen, Ge *et al.*, 2024; Nicholls *et al.*, 2020b; Zhang *et al.*, 2022a).

De maneira geral, a obesidade e o diabetes estão relacionados à instauração de um microambiente pró-inflamatório (Calder, 2022b; Heiston *et al.*, 2021; Jiang; Liu; Li, 2021b; Saucedo *et al.*, 2023). Nos cenários de suplementação investigados, é possível observar que o aumento gradativo na contagem de leucócitos sanguíneos acompanha o aumento da dose de suplementação. Em um momento inicial, como descrito na literatura, o aumento na contagem dessas células especialmente nos animais n-3 pode estar relacionado com uma capacidade mais refinada de resposta imunitária (Miles; Childs; Calder, 2021a; Renaud *et al.*, 2014). Contudo, nas doses de 3 e 4 g/kg de ambos os ácidos graxos esse perfil de resposta, associado às disfunções plasmáticas e ao acúmulo de tecido adiposo, o aumento da série leucocitária pode sugerir a facilitação da instauração de um quadro inflamatório de baixo grau, característico de quadros obesogênicos (Biobaku *et al.*, 2019b; Simopoulos, A. P., 2020; Zazula *et al.*, 2023). De forma complementar, é possível notar nas ratas suplementadas maior resposta dos macrófagos peritoneais com o aumento da suplementação. O aumento da atividade de macrófagos pró-inflamatórios está associado ao aumento da adiposidade visceral, instauração de resistência à insulina e a possíveis complicações gestacionais (Guria *et al.*, 2023; Heerwagen *et al.*, 2010a; Hogan *et al.*, 2018; Khanna *et al.*, 2022; Payolla *et al.*, 2016).

Ao investigar o impacto específico dos ácidos graxos utilizados, foi notado que ao administrar uma dose de 4 g/kg de n-3, há uma diminuição nos efeitos benéficos, aproximando os efeitos obtidos das características associadas à presença de n-6. Essa observação sublinha a intrincada complexidade das interações entre os distintos tipos de ácidos graxos poli-insaturados e seus efeitos sobre o equilíbrio lipídico. Além disso, os resultados indicam a necessidade premente de uma abordagem mais personalizada ao considerar consumo de suplementos ricos em ácidos graxos, ponderando não apenas as doses, mas também a composição específica desses nutrientes. No contexto das alterações abrangentes observadas nos animais, é digno de nota que, mesmo não atingindo os mesmos índices observados nas doses de 3 e 4 g/kg de n-6, a elevação da pontuação na dose de 4 g/kg de n-3 pode sinalizar a necessidade de maior atenção para a ingestão não regulamentada desses ácidos graxos. Este achado ressalta a importância de investigações minuciosas sobre a administração dessas

substâncias, uma vez que o equilíbrio delicado do perfil lipídico pode ser afetado por variações específicas na composição e quantidade dos ácidos graxos. Portanto, os resultados desse modelo de estudo sugerem que as respostas do organismo aos diferentes ácidos graxos são complexas e diversas, destacando a necessidade de uma abordagem cuidadosa e personalizada ao considerar a suplementação, visando preservar o equilíbrio lipídico e minimizar possíveis efeitos adversos.

## 9.2 ESTABELECIMENTO DE SÍNDROME METABÓLICA GESTACIONAL

A partir da identificação de uma dose não segurança de n-3, os dados obtidos no presente estudo, é possível destacar diferenças importantes sobre o efeito da suplementação com ácidos graxos insaturados se considerarmos a ocorrência de um cenário gestacional das ratas. No período pré-gestacional, embora não tenham ocorrido variações no teste de tolerância à glicose, o perfil plasmático indicou elevações em glicemia, colesterolemia e insulinemia, com variações específicas na sensibilidade à insulina em resposta à suplementação. Modificações que foram acompanhadas de alterações marcantes nas características corporais, como aumento da adiposidade e redução do peso pancreático. No perfil hematológico, apenas o grupo SPL6 apresentou mudanças significativas, incluindo aumento na hemoglobina corpuscular. Durante o período perinatal, as ratas suplementadas (SPL6 e SPL9) exibiram elevações na glicose plasmática em comparação com os grupos CTLE e SPL3, acompanhadas da redução na velocidade de captação de glicose. Entretanto, todas as suplementações promoveram mudanças nas características corporais, perfil plasmático, hematológico e atividade dos fagócitos, que foram observadas, indicando impactos significantes da suplementação no metabolismo e na resposta imunológica perinatal. Essas alterações resultaram em sinais de distresse oxidativo, como maior produção de espécies reativas, menor capacidade defensiva e maior incidência de danos oxidativos no útero e na placenta durante a gestação. A incorporação de [ $^{14}\text{C}$ ]-2-DG e [ $^3\text{H}$ ]-16:0 variou entre os grupos SPL, sugerindo a complexa interação entre os diferentes ácidos graxos, estados maternos e respostas metabólicas. As características metabólicas maternas influenciaram moderadamente aspectos uterinos e placentários, enquanto a associação destas potencializou os efeitos, destacando a complexidade dessas interações.

A partir dos dados obtidos no presente estudo, é possível sugerir que a suplementação crônica com ácidos graxos insaturados n-3, n-6 e n-9, com o objetivo de avaliar os efeitos da exposição à doses não seguras, como as encontradas na dieta tida como ideal (Roccisano *et al.*, 2019), dietas ocidentais (Silva; Moraes; Gonçalves-De-albuquerque, 2020) e na dieta

mediterrânea (Simopoulos, 2022), pode produzir alterações no equilíbrio lipídico, que estão relacionada a efeitos deletérios maternos e nas proles (Shrestha *et al.*, 2020a; Xavier *et al.*, 2021). Também, como observado no primeiro conjunto de resultados, a dose de 4 g/kg de óleo de peixe rico em ácidos graxos n-3 apresentou potencial efeito deletério, assim como está bem estabelecido na literatura sobre os ácidos graxos n-6.

Desta forma, independentemente das suplementações não apresentarem efeitos sobre o metabolismo da glicose durante o período pré-gestacional, o aumento dos panículos adiposos associados às alterações na colesterolemia e na insulinemia pode sugerir o início da instalação de um comprometimento metabólico nas ratas suplementadas (Campodonico-Burnett *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2023). A presença de um estado de síndrome metabólica, ainda que inicial, no período pré-gestacional é preocupante, uma vez que na presença de um cenário gestacional houve evolução dessas características, culminando na instauração fisiológica de um quadro de resistência à insulina (Bogdanet *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2021). Ainda, a potencialização desse quadro ao final da gestação, nas ratas suplementadas, torna os achados bastante importantes, uma vez que representa um fator determinante para efeitos de programação fetal ou para o desenvolvimento de complicações gestacionais (Awamleh *et al.*, 2021; Damante *et al.*, 2022; Gomes *et al.*, 2018a; Hu, Mingyu *et al.*, 2022; Scheidl *et al.*, 2023).

Associada ao quadro de síndrome metabólica, a instalação de um processo inflamatório crônico de baixo grau pode estar associada com a retroalimentação da síndrome metabólica e o desenvolvimento de disfunções gestacionais (Barbour; Hernandez, 2017; Jiang; Liu; Li, 2021b; Zambon *et al.*, 2018). O aumento da resposta dos macrófagos peritoneais nas ratas suplementadas durante o período pré-gestacional pode estar relacionado com o aumento da adiposidade visceral e a resistência à insulina (Ban *et al.*, 2017; Payolla *et al.*, 2016). Contudo, durante o período perinatal, a presença de macrófagos pró-inflamatórios no microambiente abdominal sugere o papel dessas células em participar de maneira determinante no desencadeamento de complicações obstétricas, além de produzir interferências no moleculares no ambiente do desenvolvimento, facilitando a ocorrência de pré-eclâmpsia, restrição do crescimento fetal e parto prematuro, destacando a complexidade das interações entre a adiposidade, a inflamação, e as condições gestacionais adversas (Barbour; Hernandez, 2017; Chaparro *et al.*, 2013; Myatt; Maloyan, 2016a).

As alterações metabólicas sistêmicas, em especial a dislipidemia, o diabetes gestacional e a condição inflamatória crônica de baixo grau, estão diretamente associadas com o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (Dludla *et al.*, 2019; Kopp, 2019). Perturbações na homeostase metabólica materna são condições que podem desencadear o processo de distresse oxidativo e, conseqüentemente, acometer os tecidos uterino e placentário (Guerby *et al.*, 2021; Phoswa; Khaliq, 2021; Tarry-adkins *et al.*, 2016). De maneira geral, a placenta apresenta uma alta demanda metabólica, sendo uma fonte fisiológica importante de geração de espécies reativas durante a gestação (Santos-Rosendo *et al.*, 2020). Em condições fisiológicas, ou de eustress oxidativo, a geração de espécies reativas é fundamental para a manutenção do processo de sinalização redox, desempenhando papéis importantes no crescimento e diferenciação celular e tecidual do embrião (Hansen; Jones; Harris, 2020; Hardy; Day; Morris, 2021; Lennicke; Cochemé, 2021; Niki, 2016).

Contudo, a perda do controle do processo de regulação redox acarreta o estabelecimento de um ambiente adverso, podendo conduzir à alterações na função placentária e, posteriormente, complicações no desenvolvimento fetal (Domínguez-Perles *et al.*, 2019; Myatt; Maloyan, 2016a; Phoswa; Khaliq, 2021). Na gravidez, estas vias podem responder a uma variedade de estímulos ou insultos relacionados com perturbações no fornecimento de sangue materno à placenta e inflamação (Hu, Mingyu *et al.*, 2022). Em especial, o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio na placenta é um grande indicativo para processos de disfunção endotelial e indução de resposta inflamatória que podem prejudicar o desenvolvimento embrionário atuando como potenciais programadores fetais, com efeitos similares a disruptores endócrinos (Guerby *et al.*, 2021; Morley *et al.*, 2021; Mukosera *et al.*, 2020).

O estabelecimento das disfunções metabólicas e inflamatórias em associação com o distresse oxidativo uterino e placentário, estão relacionados com o processo de reprogramação metabólica da placenta (Joo *et al.*, 2021). A presença de alteração no equilíbrio plasmático na síndrome metabólica materna, promove alteração na síntese e translocação de transportadores de glicose e de ácidos graxos em toda a superfície placentária (Easton, Zachary J.W.; Regnault, 2020; Illsley; Baumann, 2020; Valent *et al.*, 2021; Wang, Shuxian *et al.*, 2022). De forma similar, o aumento do distresse oxidativo placentário está associado com a alteração da proporção de transportadores de glicose e de ácidos graxos na placenta, facilitando o transporte destes nutrientes para o feto, especialmente durante a segunda metade do desenvolvimento (Domínguez-Perles *et al.*, 2019; Joo *et al.*, 2021; Tian *et al.*, 2020; Wilson *et al.*, 2021).

Nesse sentido, a reprogramação metabólica da placenta, associada a alterações no equilíbrio glicêmico e lipêmico, destaca a importância desses eventos na modulação do transporte de nutrientes para o feto, indicando potenciais efeitos a longo prazo. O desenvolvimento em um ambiente gestacional caracterizado por distúrbios metabólicos, inflamatórios e estresse oxidativo pode acarretar sérias consequências para o desenvolvimento fetal. A síndrome metabólica materna gestacional e as alterações inflamatórias associadas podem resultar em restrição do crescimento fetal, comprometendo o peso ao nascer e aumentando o risco de doenças metabólicas na vida adulta, como diabetes e obesidade (Álvarez *et al.*, 2021; Desai; Jellyman; Ross, 2015; Kopp, 2019; Pervanidou; Chrousos, 2012). Além disso, o desenvolvimento neurológico e cognitivo pode ser prejudicado, e o feto pode apresentar maior vulnerabilidade a doenças cardiovasculares e problemas respiratórios (Herrera; Desoye, 2016a; Kopp, 2019; Ramamoorthy *et al.*, 2015a; Scheidl *et al.*, 2023). A exposição a um ambiente inflamatório também pode comprometer o sistema imunológico fetal, aumentando o risco de infecções (Jia *et al.*, 2022; Miles; Calder, 2017).

Os resultados obtidos nesse estudo proporcionam contribuições relevantes à literatura, contudo, diversas limitações necessitam de consideração para uma interpretação precisa dos resultados. Primeiramente, a realização do experimento em ratas impõe restrições à generalização direta dos achados para a fisiologia humana, apesar da grande similaridade que existe no processo de implantação entre ratos e humanos. A intrincada interação entre os diferentes ácidos graxos, estados maternos e respostas metabólicas indica um cenário complexo de investigação, com múltiplos fatores contribuindo para os achados. Assim é fundamental ressaltar a necessidade de investigações mais pormenorizadas e aprofundadas para melhor compreensão dos mecanismos envolvidos no estabelecimento das alterações observadas. O registro de alterações metabólicas precursoras, apesar da ausência de efeitos no metabolismo pré-gestacional da glicose, destaca a complexidade dos desdobramentos a longo prazo. Ainda, embora o estudo revele indicativos de distresse oxidativo, a relevância clínica plena dessas alterações sobre a saúde materna, e principalmente se as condições observadas exercem efeito sobre o desenvolvimento fetal, precisa ser melhor investigada. Em síntese, apesar das valiosas percepções oferecidas, a aplicabilidade do estudo requer abordagem criteriosa, instigando investigações subsequentes para elucidação abrangente dos impactos da suplementação com ácidos graxos insaturados durante a gestação em humanos.

### 9.3 REPERCUSSÕES DA SUPLEMENTAÇÃO MATERNA SOBRE A PROLE

Os achados do presente estudo indicam que a suplementação materna induz síndrome metabólica, refletida por alterações na homeostase glicêmica, resistência à insulina e modificações na composição corporal. Embora a suplementação não tenha modificado parâmetros gerais das proles (número de filhotes por ninhada ou peso ao nascer), verificou-se um aumento na taxa de mortalidade neonatal nos grupos suplementados, sugerindo um impacto negativo do ambiente de desenvolvimento nas taxas de sobrevivência. Além disso, a composição nutricional do leite materno foi alterada, apresentando maior valor energético devido ao aumento na fração lipídica, acompanhado da redução das concentrações de albumina e fósforo. Essas modificações influenciaram diretamente o desenvolvimento da prole, resultando em menor ganho de peso e prejuízo no crescimento. Aos 21 dias de vida, os filhotes das mães suplementadas apresentavam menor índice de Lee, alterações de parâmetros murinométricos e comprometimento no desenvolvimento visceral e muscular. Aos 60 dias, diferenças na composição corporal e na estrutura musculoesquelética ainda eram evidentes, sugerindo que a suplementação materna promove efeitos prolongados sobre o crescimento e a saúde metabólica da descendência.

Uma das características observadas nas ratas suplementadas durante todo o período experimental, foi o aumento do peso dos panículos adiposos. Associados a esse quadro, o aumento de colesterol total e de triacilgliceróis pré-gestação e a manutenção da dislipidemia durante a gestação e lactação são indicativos importantes de alterações metabólicas (Barbour; Hernandez, 2018c, 2018b; Easton, Zachary J. W.; Regnault, 2020). A alteração do equilíbrio lipídico durante a gestação tem sido determinante para o desenvolvimento de outras comorbidades maternas (Hariharan; Vellanki; Kramer, 2015b; Zahan *et al.*, 2019). Além disso, o quadro de dislipidemia materna está associado a alterações placentárias (Herrera; Desoye, 2016b), que podem regular negativamente o desenvolvimento das proles (Barbour; Hernandez, 2018c, 2018b; Heerwagen *et al.*, 2010b; Prats-Puig *et al.*, 2020b).

Como consequência das alterações metabólicas e do processo inflamatório, as ratas suplementadas apresentaram aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e de danos oxidativos nos ovários e no útero. Essa condição de distresse oxidativo tem sido reportada como causa de alteração da viabilidade folicular, dificuldade de implantação e placentação, bem como indução de distúrbios funcionais, má-formações e aumento da incidência de mortalidade fetal

(Álvarez *et al.*, 2020; Myatt; Maloyan, 2016b; Wesolowski *et al.*, 2018b). No presente estudo, a avaliação de parâmetros reprodutivos não foi objetivada, mas foi possível observar aumento na prevalência de natimortos nas proles de ratas suplementadas, bem como atraso em marcadores do desenvolvimento corporal e motor desses animais, além da elevação de marcadores de distresse oxidativo durante o desenvolvimento, os achados corroboram os dados da literatura.

Além das alterações gestacionais, observou-se que o leite das ratas suplementadas apresentou maior teor lipídico e, por consequência, maior aporte calórico. O aumento do aporte energético para os fetos em desenvolvimento, pode estar relacionado com a consolidação do quadro de programação fetal (Gomes *et al.*, 2018b; Hue-Beauvais *et al.*, 2017). As proles de ratas suplementadas, de maneira geral, apresentaram aumento do ganho de peso e do índice de Lee, enquanto apresentaram redução no comprimento nasoanal e na circunferência abdominal. A associação dos distúrbios placentários ao aporte calórico do leite materno é fundamental para que haja prejuízos no desenvolvimento muscular (Du *et al.*, 2010; Meex; Blaak; van Loon, 2019b), estabelecimento das relações metabólicas (Desai; Ross, 2011; Heerwagen *et al.*, 2010b; Ramamoorthy *et al.*, 2015b) e no desenvolvimento sexual das proles (de Paula *et al.*, 2021; Schiaffino; Reggiani, 2011a). Por fim, as consequências musculares decorrentes desse quadro estão associadas com o aumento do número, do tamanho e modificações da atividade metabólica de fibras glicolíticas, em detrimento das fibras oxidativas (Du *et al.*, 2010; Schiaffino; Reggiani, 2011a), sendo evidenciado pelo aumento do peso dos músculos com predominância de fibras tipo II, como o extensor longo dos dedos e tibial anterior, nas proles de ratas suplementadas.

Durante o desenvolvimento, a diferenciação de células mesenquimais se vale da mesma via de sinalização intracelular para originar adipócitos ou células musculares. Devido à característica competitiva da adipogênese e da miogênese (Percie du Sert *et al.*, 2020; Tong, Jun F *et al.*, 2009), o aumento dos depósitos adiposos pode estar diretamente relacionado com a redução do tamanho muscular encontrado nas proles SPL. Outra possibilidade para justificar o aumento identificado no peso dos músculos dos animais SPL pode residir no fato de que determinados genes relacionados à diferenciação de adipócitos também se relacionam ao aumento de síntese de matriz extracelular muscular e ao aumento da deposição lipídica intramuscular (Cornachione *et al.*, 2013; Tang; Lane, 2012; Yan *et al.*, 2013a). Os genes relacionados com a adipogênese também influenciam na diferenciação de fibras glicolíticas, o

que também pode estar relacionado com o aumento do peso muscular identificado nos animais SPL (Kitamura *et al.*, 2007; Schiaffino *et al.*, 2013; Shahjahan, 2015; von Maltzahn *et al.*, 2012).

Além das alterações de tamanho, peso e composição das fibras musculares, os animais SPL apresentaram alteração no padrão de distribuição nuclear e capilarização. De forma contrária ao que tem sido descrito em quadros de obesidade e de aumento de fibras glicolíticas, nesse estudo os animais apresentaram aumento do número de capilares e aumento do número e tamanho dos núcleos (Brun *et al.*, 2017; Kaneguchi *et al.*, 2014; Rattigan *et al.*, 2007; Ross *et al.*, 2018). No entanto, o aumento do número de núcleos periféricos e centrais e, por consequência, a redução do domínio mionuclear, é uma das principais características morfológicas associadas ao dano muscular (Cutler *et al.*, 2018; Schiaffino *et al.*, 2013; Schiaffino; Reggiani, 2011b; Wosczyzna; Rando, 2018). Da mesma forma, o aumento da capilarização está associado ao processo inicial de regeneração muscular, sendo fundamental para a ativação das células satélites e recrutamento de células inflamatórias (Brun *et al.*, 2017; Havixbeck *et al.*, 2016; Joanisse *et al.*, 2016; Rigamonti *et al.*, 2014). Sendo assim, pode-se associar o acúmulo de lipídios intramusculares a essas características dos animais SPL (Park; Seo, 2020; Tumova; Andel; Trnka, 2016).

Os resultados deste estudo demonstram que a suplementação materna com ácidos graxos poli-insaturados induziu alterações metabólicas significativas, impactando a saúde materna e o desenvolvimento da prole de maneira prolongada. No entanto, análises complementares envolvendo expressão gênica e vias metabólicas musculares poderiam elucidar os processos subjacentes às alterações musculoesqueléticas observadas. Como perspectiva futura, estudos adicionais devem investigar os efeitos da suplementação em diferentes períodos gestacionais e pós-natais, bem como explorar estratégias para mitigar os impactos adversos sobre o crescimento e a saúde metabólica da descendência. A compreensão aprofundada desses mecanismos poderá contribuir para o desenvolvimento de abordagens nutricionais mais seguras e eficazes durante a gestação e lactação.

A suplementação crônica com ácidos graxos insaturados (n-3, n-6 e n-9) durante períodos gestacionais em ratas, pode induzir alterações importantes no equilíbrio lipídico, metabólico e imunológico. No período pré-gestacional, observaram-se mudanças marcantes nas características corporais, como aumento da adiposidade e redução do peso pancreático, ainda

que sem variações no teste de tolerância à glicose. O perfil plasmático indicou elevações em glicemia, colesterolemia e insulinemia, sugerindo um comprometimento metabólico inicial. Durante o período perinatal, ratas suplementadas exibiram elevações na glicose plasmática, destacando a redução na velocidade de captação de glicose. Alterações significativas foram observadas no perfil hematológico e na atividade dos fagócitos, indicando impactos metabólicos e imunológicos perinatais. O distresse oxidativo foi identificado por maior produção de espécies reativas, menor capacidade defensiva e maior incidência de danos oxidativos no útero e placenta. A complexa interação entre suplementações, estados maternos e respostas metabólicas destaca a complexidade desses efeitos, sendo necessários maiores estudos para elucidarem as doses de segurança e as possíveis consequências do excesso lipídico durante os períodos críticos de desenvolvimento.

## 10. CONCLUSÃO

Em conclusão, os achados sobre a suplementação crônica com ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6, em diferentes doses, revelaram importantes modificações no equilíbrio lipídico, onde doses mais altas representam determinado risco ao desenvolvimento de dislipidemias, resistência à insulina e diabetes, o que demonstra que mesmo PUFA n-3 reconhecidos por seu poder terapêutico podem induzir e agravar síndromes metabólicas. Embora o peso corporal não tenha sido afetado, a significativa elevação nos panículos adiposos, circunferência abdominal e adiposidade corporal, especialmente nas doses de 3 e 4 g/kg, associada ao aumento do colesterol total e às alterações na secreção e sensibilidade da insulina, aponta para distúrbios metabólicos. Além disso, a identificação de sinais indicativos de um quadro inflamatório de baixo grau sublinha a importância do monitoramento cuidadoso dessas intervenções. Em suma, o presente estudo destaca a complexidade das respostas fisiológicas à suplementação com ácidos graxos poli-insaturados, enfatiza a necessidade de estratégias individualizadas para preservar o equilíbrio lipídico e minimizar potenciais efeitos adversos associados a alterações metabólicas e inflamatórias, além de contrapor o pensamento comum, que admite que o uso de n-3 é sempre benéfico.

## REFERÊNCIAS

AĞAGÜNDÜZ, Duygu *et al.* Oxylipins Derived from PUFAs in Cardiometabolic Diseases: Mechanism of Actions and Possible Nutritional Interactions. *Nutrients*, [s. l.], vol. 16, no 22, p. 3812, 2024.

AGARWAL, Prasoon *et al.* Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. [S. l.]: [s. d.], 2018.

AGARWAL, Ashok *et al.* The effects of oxidative stress on female reproduction: A review. [S. l.]: [s. d.], 2012.

AGARWAL, Ashok; GUPTA, Sajal; SHARMA, Rakesh K. Role of oxidative stress in female reproduction. [S. l.]: [s. d.], 2005.

AGREGÁN, Rubén *et al.* Fatty acids. *In: FOOD LIPIDS*. [S. l.]: Elsevier, 2022. p. 257–286.

AHMADI, Amirhossein Ramezani *et al.* Impact of omega-3 fatty acids supplementation on the gene expression of peroxisome proliferator activated receptors- $\gamma$ ,  $\alpha$  and fibroblast growth factor-21 serum levels in patients with various presentation of metabolic conditions: a GRADE assessed systematic review and dose–response meta-analysis of clinical trials. [S. l.]: Frontiers Media SA, 2023.

AIELLO, Leslie C.; WHEELER, Peter. The Expensive-Tissue Hypothesis: The Brain and the Digestive System in Human and Primate Evolution. *Current Anthropology*, [s. l.], vol. 36, no 2, 1995.

AKHTAR, Feroz *et al.* Acute maternal oxidant exposure causes susceptibility of the fetal brain to inflammation and oxidative stress. *Journal of Neuroinflammation*, [s. l.], vol. 14, no 1, 2017.

ALBA, Mario M. *et al.* Eicosanoids and other oxylipins in liver injury, inflammation and liver cancer development. [S. l.]: [s. d.], 2023.

ALI, Sawan *et al.* Age-associated changes in circulatory fatty acids: new insights on adults and long-lived individuals. *GeroScience*, [s. l.], vol. 45, no 2, 2023.

ALI, M. Abbas *et al.* Effect of rice bran oil addition on the oxidative degradation and fatty acid composition of soybean oil during heating. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, [s. l.], vol. 18, no 4, 2019.

ALOTAIBI, Andres. Oxylipins in Health and Disease: Overcoming Analytical, Temporal, and Functional Obstacles. *Journal of Clinical Research & Bioethics*, [s. l.], vol. 15, no 6, 2024.

ÁLVAREZ, Daniela *et al.* Impact of Maternal Obesity on the Metabolism and Bioavailability of Polyunsaturated Fatty Acids during Pregnancy and Breastfeeding. *Nutrients*, [s. l.], vol. 13, no 1, p. 19, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/1/19>.

ALVES, Iuna Arruda *et al.* Energy-Dense and Low-Fiber Dietary Pattern May Be a Key Contributor to the Rising Obesity Rates in Brazil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, [s. l.], vol. 21, no 8, p. 1038, 2024.

ANDERSEN, Henriette S. *et al.* Maternal iron deficiency identifies critical windows for growth and cardiovascular development in the rat postimplantation embryo. *Journal of Nutrition*, [s. l.], vol. 136, no 5, 2006.

ANDREWS, P.; JOHNSON, R. J. Evolutionary basis for the human diet: consequences for human health. *Journal of Internal Medicine*, [s. l.], vol. 287, no 3, p. 226–237, 2020a.

ANTHONY, Ryan *et al.* A review and evaluation of study design considerations for omega-3 fatty acid supplementation trials in physically trained participants. [S. l.]: [s. d.], 2024.

ARMISTEAD, Brooke *et al.* Placental Regulation of Energy Homeostasis during Human Pregnancy. [S. l.]: [s. d.], 2020.

ARTRU, Florent *et al.* Lipids in Liver Failure Syndromes: A Focus on Eicosanoids, Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators and Lysophospholipids. [S. l.]: [s. d.], 2022.

AWAMLEH, Zain *et al.* Exposure to Gestational Diabetes Mellitus (GDM) alters DNA methylation in placenta and fetal cord blood. *Diabetes Research and Clinical Practice*, [s. l.], vol. 174, p. 108690, 2021.

AZIS, Andi Sri Fifi Wahyuni *et al.* Analysis of Policy Implementation of The First 1000 Days of Life Program in Overcoming Stunting in Maros District. *Pharmacognosy Journal*, [s. l.], vol. 15, no 3, 2023.

AZZOLINO, Domenico *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids and physical performance across the lifespan: a narrative review. [S. l.]: Frontiers Media SA, 2024.

BAJŽELJ, Bojana; LAGUZZI, Federica; RÖÖS, Elin. The role of fats in the transition to sustainable diets. [S. l.]: [s. d.], 2021.

BAN, Zsofia *et al.* High-Fat Diet Induces Unexpected Fatal Uterine Infections in Mice with aP2-Cre-mediated Deletion of Estrogen Receptor Alpha. *Scientific Reports*, [s. l.], vol. 7, no February, p. 1–13, 2017.

BANDET, Cécile L. *et al.* Sphingolipid metabolism: New insight into ceramide-induced lipotoxicity in muscle cells. [S. l.]: [s. d.], 2019.

BARBATO, Olimpia *et al.* Maternal Undernutrition Effect on Pregnancy-Associated Glycoprotein (PAG) Concentration in Sheep Carrying Single and Multiple Fetuses. *Animals*, [s. l.], vol. 14, no 23, p. 3427, 2024.

BARBOUR, Linda A.; HERNANDEZ, Teri L. Maternal Lipids and Fetal Overgrowth: Making Fat from Fat. *Clinical Therapeutics*, [s. l.], vol. 40, no 10, p. 1638–1647, 2018b. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149291818303709>.

BARBOUR, Linda A.; HERNANDEZ, Teri L. Maternal Non-glycemic Contributors to Fetal Growth in Obesity and Gestational Diabetes: Spotlight on Lipids. *Current Diabetes Reports*, [s. l.], vol. 18, no 6, p. 37, 2018c. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11892-018-1008-2>.

BARKER, David *et al.* Developmental biology: Support mothers to secure future public health. *Nature*, [s. l.], vol. 504, no 7479, 2013.

BASAK, Sanjay; DUTTARROY, Asim K. Maternal PUFAs, Placental Epigenetics, and Their Relevance to Fetal Growth and Brain Development. [S. l.]: [s. d.], 2023.

BASAK, Sanjay; MALLICK, Rahul; DUTTARROY, Asim K. Maternal docosahexaenoic acid status during pregnancy and its impact on infant neurodevelopment. [S. l.]: [s. d.], 2020.

BAUM, Jamie *et al.* Leucine and Omega-3 Fatty Acids Regulate Cell Bioenergetics via mTOR. *The FASEB Journal*, [s. l.], vol. 29, no S1, 2015.

BAYRAM, Sümeyra Şahin; KIZILTAN, Gül. The Role of Omega- 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Diabetes Mellitus Management: A Narrative Review. *Current Nutrition Reports*, [s. l.], vol. 13, no 3, p. 527–551, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13668-024-00561-9>.

BELKACEMI, Louiza *et al.* Altered placental development in undernourished rats: Role of maternal glucocorticoids. *Reproductive Biology and Endocrinology*, [s. l.], vol. 9, 2011.

BELTRAME, Gabriele *et al.* Lipid Structure Influences the Digestion and Oxidation Behavior of Docosahexaenoic and Eicosapentaenoic Acids in the Simulated Digestion System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, [s. l.], vol. 71, no 26, 2023.

BELUSKA-TURKAN, Katrina *et al.* Nutritional gaps and supplementation in the first 1000 days. [S. l.]: [s. d.], 2019.

BERGER, M. E. *et al.* Omega-6 to omega-3 polyunsaturated fatty acid ratio and subsequent mood disorders in young people with at-risk mental states: A 7-year longitudinal study. *Translational Psychiatry*, [s. l.], vol. 7, 2017.

BHATT, Deepak L. *et al.* Cardiovascular Risk Reduction with Icosapent Ethyl for Hypertriglyceridemia. *New England Journal of Medicine*, [s. l.], vol. 380, no 1, p. 11–22, 2019.

BIANCONI, Santiago *et al.* Effects of dietary omega-3 PUFAs on growth and development: Somatic, neurobiological and reproductive functions in a murine model. *Journal of Nutritional Biochemistry*, [s. l.], vol. 61, p. 82–90, 2018b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.07.007>.

BIDIGARE, R.R.; FREDERIC, D.; KING, F.D. The measurement of glutamate dehydrogenase activity in *praeunus flexuosus* and its role in the regulation of ammonium excretion. *Comparative Biochemistry and Physiology*, [s. l.], vol. 70, no B, p. 409–413, 1981.

BIERNACKI, Michał; SKRZYDLEWSKA, Elżbieta. Metabolic pathways of eicosanoids—derivatives of arachidonic acid and their significance in skin. *Cellular & Molecular Biology Letters*, [s. l.], vol. 30, no 1, p. 7, 2025.

BIOBAKU, Fatimo *et al.* Macronutrient-Mediated Inflammation and Oxidative Stress: Relevance to Insulin Resistance, Obesity, and Atherogenesis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, [s. l.], vol. 104, no 12, p. 6118–6128, 2019b.

BLASCO, R. *et al.* Bone marrow storage and delayed consumption at Middle Pleistocene Qesem Cave, Israel (420 to 200 ka). *Science Advances*, [s. l.], vol. 5, no 10, 2019.

BOGDANET, Delia *et al.* The oral glucose tolerance test—is it time for a change?—a literature review with an emphasis on pregnancy. [S. l.]: MDPI, 2020.

BONATTO, Sandro J.R. *et al.* Lifelong exposure to dietary fish oil alters macrophage responses in Walker 256 tumor-bearing rats. *Cellular Immunology*, [s. l.], vol. 231, no 1–2, 2004.

BOOPATHY, Archana V. *et al.* Oxidative stress-induced Notch1 signaling promotes cardiogenic gene expression in mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research and Therapy*, [s. l.], vol. 4, no 2, 2013.

BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, [s. l.], vol. 72, p. 248–254, 1976.

BRASAEMLE, D L. Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. *Journal of Lipid Research*, [s. l.], vol. 48, no 0022-2275 (Print), 2007.

BRUN, Caroline E *et al.* *The Satellite Cell Niche in Skeletal Muscle*. [S. l.]: Elsevier Inc., 2017.

BURATTI, Pâmela *et al.* Morphofunctional characteristics of skeletal muscle in rats with cerebral palsy. *International Journal of Experimental Pathology*, [s. l.], vol. 100, no 1, p. 49–59, 2019.

BURINI, Roberto Carlos; LEONARD, William R. The evolutionary roles of nutrition selection and dietary quality in the human brain size and encephalization. [S. l.]: [s. d.], 2018.

CAI, Shuang *et al.* Nutritional Status Impacts Epigenetic Regulation in Early Embryo Development: A Scoping Review. [S. l.]: [s. d.], 2021.

CALDER, Philip C. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity revisited. *British Journal of Nutrition*, [s. l.], vol. 127, no 10, p. 1455–1457, 2022a.

CALDER, Philip C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, [s. l.], vol. 1851, no 4, p. 469–484, 2015b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.08.010>.

CALDER, Philip C. n-3 Polyunsaturated fatty acids , inflammation , and inflammatory. *Am J Clin Nutr*, [s. l.], vol. 83, no 1, p. 1505–1519, 2006.

CAMPODONICO-BURNETT, William *et al.* Maternal obesity and western-style diet impair fetal and juvenile offspring skeletal muscle insulin-stimulated glucose transport in nonhuman primates. *Diabetes*, [s. l.], vol. 69, no 7, p. 1389–1400, 2020.

CARMODY, Rachel N.; WRANGHAM, Richard W. The energetic significance of cooking. *Journal of Human Evolution*, [s. l.], vol. 57, no 4, 2009.

CASATI, Sara *et al.* Bioactive lipids in mscs biology: State of the art and role in inflammation. [S. l.]: [s. d.], 2021.

CASTRO, L. Filipe C.; TOCHER, Douglas R.; MONROIG, Oscar. Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in chordates: Insights into the evolution of Fads and Elovl gene repertoire. *Progress in Lipid Research*, [s. l.], vol. 62, p. 25–40, 2016.

CERNIGLIARO, Federica *et al.* Prenatal Nutritional Factors and Neurodevelopmental Disorders: A Narrative Review. *Life*, [s. l.], vol. 14, no 9, p. 1084, 2024.

CERONE, Michela; SMITH, Terry K. Desaturases: Structural and mechanistic insights into the biosynthesis of unsaturated fatty acids. [S. l.]: [s. d.], 2022.

CETIN, I.; ALVINO, G. Intrauterine Growth Restriction: Implications for Placental Metabolism and Transport. A Review. [S. l.]: [s. d.], 2009.

CHANDRASEKHARAN, Jayashree A.; SHARMA-WALI, Neelam. Lipoxins: Nature's way to resolve inflammation. [S. l.]: [s. d.], 2015.

CHAPARRO, A. *et al.* Increased inflammatory biomarkers in early pregnancy is associated with the development of pre-eclampsia in patients with periodontitis: A case control study. *Journal of Periodontal Research*, [s. l.], vol. 48, no 3, 2013.

CHASSEN, Stephanie Skuby *et al.* Alterations in placental long chain polyunsaturated fatty acid metabolism in human intrauterine growth restriction. *Clinical Science*, [s. l.], vol. 132, no 5, 2018.

CHAUDHARY, Priya *et al.* Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, [s. l.], vol. 11, no May, p. 1–24, 2023.

CHEN, Hao *et al.* Association between dietary intake of omega-3 polyunsaturated fatty acids and all-cause and cardiovascular mortality among hypertensive adults: results from NHANES 1999-2018. *Clinical Nutrition*, [s. l.], vol. 1446, no 89, p. 2669, 2023.

CHEN, Jiaxin *et al.* Effects of different pH conditions on interfacial composition and protein-lipid co-oxidation of whey protein isolate-stabilised O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, [s. l.], vol. 131, 2022.

CHEN, Ge *et al.* Regular use of fish oil supplements and course of cardiovascular diseases: prospective cohort study. *BMJ Medicine*, [s. l.], vol. 3, no 1, p. e000451, 2024.

CHEN, Yuhua *et al.* Relationship between fatty acid intake and aging: a Mendelian randomization study. *Aging*, [s. l.], vol. 16, no 6, p. 5711–5739, 2024.

CHEN, Gao *et al.* Transgenic expression of delta-6 and delta-15 fatty acid desaturases enhances omega-3 polyunsaturated fatty acid accumulation in *Synechocystis* sp. PCC6803. *Biotechnology for Biofuels*, [s. l.], vol. 7, no 1, 2014.

CHIURCHIÙ, Valerio; LEUTI, Alessandro; MACCARRONE, Mauro. Bioactive lipids and chronic inflammation: Managing the fire within. [S. l.]: [s. d.], 2018.

CHRISTI, William W.; HARWOO, John L. Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays in Biochemistry*, [s. l.], vol. 64, no 3, p. 401–421, 2020.

CHUNG, Min-Yu; KIM, Byung Hee. Fatty acids and epigenetics in health and diseases. *Food Science and Biotechnology*, [s. l.], vol. 33, no 14, p. 3153–3166, 2024.

CHURCH, M W *et al.* Neurotoxicology and Teratology Excess omega-3 fatty acid consumption by mothers during pregnancy and lactation caused shorter life span and abnormal ABRs in old adult offspring. *Neurotoxicology and Teratology*, [s. l.], vol. 32, no 2, p. 171–181, 2010b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2009.09.006>.

CIARDIELLO, M.A. *et al.* L-Glutamate dehydrogenase from the Antarctic fish *Chaenocephalus aceratus* Primary structure, function and thermodynamic characterisation: relationship with cold adaptation. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, [s. l.], p. 11–23, 2000.

CIFARELLI, Vincenza; ABUMRAD, Nada A. Intestinal CD36 and other key proteins of lipid utilization: Role in absorption and gut homeostasis. *Comprehensive Physiology*, [s. l.], vol. 8, no 2, 2018.

COLES, Jackie A; FARLEY, Sophia R; PIPE, Richard K. Alteration of the immune response of the common marine mussel *Mytilus edulis* resulting from exposure to cadmium. *Diseases of Aquatic Organisms*, [s. l.], vol. 22, p. 59–65, 1995.

CONFORTIM, Heloisa Deola *et al.* MATERNAL PROTEIN RESTRICTION DURING PREGNANCY AND LACTATION AFFECTS THE DEVELOPMENT OF MUSCLE FIBERS AND NEUROMUSCULAR JUNCTIONS IN RATS. *Muscle & Nerve*, [s. l.], no January, 2017.

CORDAIN, Loren *et al.* Origins and evolution of the Western diet: Health implications for the 21st century. [S. l.]: [s. d.], 2005.

CORNACHIONE, Anabelle S *et al.* Effects of 40 min of maintained stretch on the soleus and plantaris muscles of rats applied for different periods of time after hindlimb immobilization. *Acta Histochemica*, [s. l.], vol. 115, p. 505–511, 2013.

CORRY, Gareth N. *et al.* Epigenetic regulatory mechanisms during preimplantation development. [S. l.]: [s. d.], 2009.

COTAS, João *et al.* A comprehensive review of the nutraceutical and therapeutic applications of red seaweeds (Rhodophyta). [S. l.]: [s. d.], 2020.

CÔTÉ, Sandra *et al.* PPARGC1 $\alpha$  gene DNA methylation variations in human placenta mediate the link between maternal hyperglycemia and leptin levels in newborns. *Clinical Epigenetics*, [s. l.], vol. 8, no 1, 2016.

CRITTENDEN, Alyssa N.; SCHNORR, Stephanie L. Current views on hunter-gatherer nutrition and the evolution of the human diet. *American Journal of Physical Anthropology*, [s. l.], vol. 162, no November 2016, p. 84–109, 2017a.

CRIVELLI, Simone M. *et al.* Sphingolipids in Alzheimer's disease, how can we target them? [S. l.]: [s. d.], 2020.

CUTLER, Alicia A. *et al.* Non-equivalence of nuclear import among nuclei in multinucleated skeletal muscle cells. *Journal of Cell Science*, [s. l.], vol. 131, no 3, p. 1–14, 2018.

CZECH, Michael P. PIP2 and PIP3. *Cell*, [s. l.], vol. 100, no 6, 2000.

DAHLEN, Carl R. *et al.* Programming of embryonic development. [S. l.]: [s. d.], 2021.

DALY, Kevin; O'SULLIVAN, Killian; O'SULLIVAN, Timothy P. Major structure-activity relationships of resolvins, protectins, maresins and their analogues. [S. l.]: [s. d.], 2022.

DAMANTE, Carla Andreotti *et al.* Association among gestational diabetes mellitus, periodontitis and prematurity: a cross-sectional study. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, [s. l.], vol. 66, no 1, p. 58–67, 2022.

DANIEL, Zoe *et al.* The effect of maternal undernutrition on the rat placental transcriptome: Protein restriction up-regulates cholesterol transport. *Genes and Nutrition*, [s. l.], vol. 11, no 1, 2016.

DAR, Aejaz A. *et al.* The FAD2 gene in plants: Occurrence, regulation, and role. *Frontiers in Plant Science*, [s. l.], vol. 8, 2017.

DAVIES, Sean S. *et al.* Oxidized Alkyl Phospholipids are Specific, High Affinity Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Ligands and Agonists. *Journal of Biological Chemistry*, [s. l.], vol. 276, no 19, 2001.

DE CASTRO, Michelle Alessandra *et al.* Trans fatty acid intake among the population of the city of São Paulo, Southeastern Brazil. *Revista de Saude Publica*, [s. l.], vol. 43, no 6, 2009.

DE CATERINA, Raffaele; MADONNA, Rosalinda. Marine n-3 Fatty Acids and Vascular Disease: Solid Evidence in a Sea of Uncertainties \*. [S. l.]: [s. d.], 2018.

DE GUSMO CORREIA, M. L. *et al.* Developmental origins of health and disease: Experimental and human evidence of fetal programming for metabolic syndrome. [S. l.]: [s. d.], 2012.

DE LIMA, Maria Carolina *et al.* A better quality of maternal dietary fat reduces the chance of large-for-gestational-age infants: A prospective cohort study. *Nutrition*, [s. l.], vol. 91–92, 2021.

DE MARCO CASTRO, E. *et al.* Oxylipin status, before and after LC n-3 PUFA supplementation, has little relationship with skeletal muscle biology in older adults at risk of sarcopenia. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, [s. l.], vol. 189, p. 102531, 2023.

DE PAULA, Daniella G. *et al.* Distinct effects of growth hormone deficiency and disruption of hypothalamic kisspeptin system on reproduction of male mice. *Life sciences*, [s. l.], vol. 285, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320521009577>.

DE SOUSA, Janice Ramos *et al.* Nutritional quality of breakfast consumed by the low-income population in Brazil: A nationwide cross-sectional survey. *Nutrients*, [s. l.], vol. 11, no 6, 2019.

DEBBARH, H. *et al.* Antioxidant activities and lipid peroxidation status in human follicular fluid: age-dependent change. *Zygote*, [s. l.], vol. 29, no 6, 2021.

DELERIVE, Philippe *et al.* Oxidized phospholipids activate PPAR $\alpha$  in a phospholipase A2-dependent manner. *FEBS Letters*, [s. l.], vol. 471, no 1, p. 34–38, 2000.

DELLAROSA, Nicolò *et al.* Enrichment of convenience seafood with omega-3 and seaweed extracts: Effect on lipid oxidation. *LWT*, [s. l.], vol. 62, no 1, 2015.

DEMETS, Robbe *et al.* Oxidative stability differences of aqueous model systems of photoautotrophic n-3 LC-PUFA rich microalgae: The antioxidative role of endogenous carotenoids. *Food Research International*, [s. l.], vol. 172, 2023.

DENNERY, Phyllis A. Effects of oxidative stress on embryonic development. *Birth Defects Research*, [s. l.], vol. 81, no 3, p. 155–162, 2007.

DENNIS, Edward A. Introduction to thematic review series: Phospholipases: Central role in lipid signaling and disease. *Journal of Lipid Research*, [s. l.], vol. 56, no 7, 2015.

DERNINI, Sandro; BERRY, Elliot M. Mediterranean Diet: From a Healthy Diet to a Sustainable Dietary Pattern. *Frontiers in Nutrition*, [s. l.], vol. 2, no 15, p. 1–7, 2015.

DESAI, M.; JELLYMAN, J. K.; ROSS, M. G. Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. *International Journal of Obesity*, [s. l.], vol. 39, no 4, p. 633–641, 2015.

DESAI, Mina; ROSS, Michael G. Fetal programming of adipose tissue: Effects of intrauterine growth restriction and maternal obesity/high-fat diet. *Seminars in Reproductive Medicine*, [s. l.], vol. 29, no 3, 2011.

DHAT, Rohini *et al.* Epigenetic modifier alpha-ketoglutarate modulates aberrant gene body methylation and hydroxymethylation marks in diabetic heart. *Epigenetics and Chromatin*, [s. l.], vol. 16, no 1, 2023.

DI MICELI, Mathieu; BOSCH-BOUJU, Clémentine; LAYÉ, Sophie. PUFA and their derivatives in neurotransmission and synapses: A new hallmark of synaptopathies. 2020. *Proceedings of the Nutrition Society*. [S. l.]: [s. d.], 2020.

DÍAZ, Paula *et al.* Increased placental fatty acid transporter 6 and binding protein 3 expression and fetal liver lipid accumulation in a mouse model of obesity in pregnancy. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, [s. l.], vol. 309, no 12, 2015.

DINIZ, Wellison J.S. *et al.* Periconceptual Maternal Nutrition Affects Fetal Liver Programming of Energy- and Lipid-Related Genes. *Animals*, [s. l.], vol. 13, no 4, 2023.

DLUDLA, Phiwayinkosi V. *et al.* Inflammation and oxidative stress in an obese state and the protective effects of gallic acid. *Nutrients*, [s. l.], vol. 11, no 1, 2019.

DOGUI, Darine *et al.* Ultra-Processed Foods Are the Major Sources of Total Fat, Saturated and Trans-Fatty Acids among Tunisian Preschool and School Children: A Cross-Sectional Study. *Children*, [s. l.], vol. 9, no 2, 2022.

DOMÍNGUEZ-PERLES, R. *et al.* Update on oxidative stress and inflammation in pregnant women, unborn children (nasciturus), and newborns – Nutritional and dietary effects. *Free Radical Biology and Medicine*, [s. l.], vol. 142, no March, p. 38–51, 2019.

DU, M. *et al.* Fetal muscle development, mesenchymal multipotent cell differentiation, and associated signaling pathways. [S. l.]: [s. d.], 2011.

DU, Min *et al.* Maternal obesity, inflammation, and fetal skeletal muscle development. [S. l.]: [s. d.], 2010.

DU, Youjia *et al.* Role of oxylipins generated from dietary PUFAs in the modulation of endothelial cell function. [S. l.]: [s. d.], 2020.

DUAN, Jinjie *et al.* Effect of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids-Derived Bioactive Lipids on Metabolic Disorders. [S. l.]: [s. d.], 2021.

DUBÉ, Evemie *et al.* Modulation of fatty acid transport and metabolism by maternal obesity in the: Human full-term placenta. *Biology of Reproduction*, [s. l.], vol. 87, no 1, 2012.

DUBOWITZ, V; BROOKE, M. *Muscle biopsy: a modern approach*. 1. ed. London: Saunders College Publishing, 1973.

DUNLAP, Steven; HEINRICHS, Stephen C. Neuronal depletion of omega-3 fatty acids induces flax seed dietary self-selection in the rat. *Brain Research*, [s. l.], vol. 1250, p. 113–119, 2009.

DUNLOP, Kristyn *et al.* Altered fetal skeletal muscle nutrient metabolism following an adverse in utero environment and the modulation of later life insulin sensitivity. [S. l.]: [s. d.], 2015.

DUVALL, Melody G.; LEVY, Bruce D. DHA- and EPA-derived resolvins, protectins, and maresins in airway inflammation. *European Journal of Pharmacology*, [s. l.], vol. 785, 2016.

DYALL, Simon C. *et al.* Polyunsaturated fatty acids and fatty acid-derived lipid mediators: Recent advances in the understanding of their biosynthesis, structures, and functions. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2022.

EASTON, Zachary J.W.; REGNAULT, Timothy R.H. The impact of maternal body composition and dietary fat consumption upon placental lipid processing and offspring metabolic health. *Nutrients*, [*s. l.*], vol. 12, no 10, p. 1–19, 2020.

EASTON, Zachary J. W.; REGNAULT, Timothy R. H. The Impact of Maternal Body Composition and Dietary Fat Consumption upon Placental Lipid Processing and Offspring Metabolic Health. *Nutrients*, [*s. l.*], vol. 12, no 10, p. 3031, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/10/3031>.

ELLMANN, G.L. *et al.* New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, [*s. l.*], vol. 7, p. 88–95, 1961.

ENKLER, Ludovic *et al.* Arf1 coordinates fatty acid metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature Cell Biology*, [*s. l.*], vol. 25, no 8, 2023.

ERIKSSON, Johan G. Developmental Origins of Health and Disease – from a small body size at birth to epigenetics. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2016.

ESTERMAN, A. *et al.* The effect of hypoxia on human trophoblast in culture: Morphology, glucose transport and metabolism. *Placenta*, [*s. l.*], vol. 18, no 2–3, 1997.

FALL, Caroline H.D. Fetal programming and the risk of noncommunicable disease. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2013.

FAN, Rong *et al.* Maternal n-3 PUFA supplementation promotes fetal brown adipose tissue development through epigenetic modifications in C57BL/6 mice. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, [*s. l.*], vol. 1863, no 12, 2018.

FEATHER-SCHUSSLER, Danielle N.; FERGUSON, Tanya S. A battery of motor tests in a neonatal mouse model of cerebral palsy. *Journal of Visualized Experiments*, [s. l.], vol. 2016, no 117, 2016.

FEDULLO, Anna Lucia *et al.* Mediterranean diet for the prevention of gestational diabetes in the covid-19 era: Implications of Il-6 in diabetes. [S. l.]: [s. d.], 2021.

FEINGOLD, Kenneth R. *Introduction to Lipids and Lipoproteins*. Endotext, [s. l.], 2024.

FENG, Jiaxin *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorated inflammatory response of mammary epithelial cells and mammary gland induced by lipopolysaccharide. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, [s. l.], vol. 53, no 9, 2021.

FERREIRA, Inês *et al.* Resolvins, Protectins, and Maresins: DHA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators, Biosynthetic Pathways, Synthetic Approaches, and Their Role in Inflammation. [S. l.]: [s. d.], 2022.

FINDEISEN, Hannes M. *et al.* LXR $\alpha$  Regulates oxLDL-Induced Trained Immunity in Macrophages. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 23, no 11, 2022.

FLACHS, Pavel *et al.* Stimulation of mitochondrial oxidative capacity in white fat independent of UCP1: A key to lean phenotype. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, [s. l.], vol. 1831, no 5, p. 986–1003, 2013.

FLEMING, Ingrid. Cytochrome P450-dependent eicosanoid production and crosstalk. [S. l.]: [s. d.], 2011.

FLEMING, T. P.; VELAZQUEZ, M. A.; ECKERT, J. J. Embryos, DOHaD and David Barker. [S. l.]: [s. d.], 2015.

FOWDEN, A. L. *et al.* Placental efficiency and adaptation: Endocrine regulation. 2009. *Journal of Physiology*. [S. l.]: [s. d.], 2009.

FRADIN, Delphine; BOUGNÈRES, Pierre.  $\beta$  cells keep bad epigenetic memories of palmitate. [S. l.]: [s. d.], 2014.

FRÜHBECK, Gema *et al.* Regulation of adipocyte lipolysis. *Nutrition Research Reviews*, [s. l.], vol. 27, no 1, 2014.

FUJISAWA, Yasuko *et al.* Intrauterine Hyponutrition Reduces Fetal Testosterone Production and Postnatal Sperm Count in the Mouse. *Journal of the Endocrine Society*, [s. l.], vol. 6, no 4, 2022.

GALMÉS-PASCUAL, Bel M. *et al.* 17 $\beta$ -Estradiol Ameliorates Lipotoxicity-Induced Hepatic Mitochondrial Oxidative Stress and Insulin Resistance. *Free Radical Biology and Medicine*, [s. l.], vol. 150, no November 2019, p. 148–160, 2020.

GARNÅS, Eirik. Saturated fat in an evolutionary context. *Lipids in Health and Disease*, [s. l.], vol. 24, no 1, p. 28, 2025.

GENESTE, Thibault; FAURE, Jean Denis. Plant polyunsaturated fatty acids: Biological roles, regulation and biotechnological applications. *In: ADVANCES IN BOTANICAL RESEARCH*. [S. l.]: [s. d.], 2022. vol. 101.

GEPSTEIN, Vardit; WEISS, Ram. Obesity as the Main Risk Factor for Metabolic Syndrome in Children. *Frontiers in Endocrinology*, [s. l.], vol. 10, no August, p. 1–7, 2019.

GIFFORD-GONZALEZ, Diane. Culinary Processing and Preservation Effects on Bone. *In: AN INTRODUCTION TO ZOOARCHAEOLOGY*. [S. l.]: [s. d.], 2018.

GIUDETTI, Anna M. *et al.* Nutritional and hormonal regulation of citrate and carnitine/acylcarnitine transporters: Two mitochondrial carriers involved in fatty acid metabolism. [S. l.]: [s. d.], 2016.

GLUCKMAN, Peter D.; BUKLIJAS, Tatjana; HANSON, Mark A. The Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) Concept: Past, Present, and Future. *In: THE EPIGENOME AND DEVELOPMENTAL ORIGINS OF HEALTH AND DISEASE*. [S. l.]: [s. d.], 2015.

GOLANSKI, Jacek; SZYMANSKA, Patrycja; ROZALSKI, Marcin. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids and their metabolites on haemostasis—current perspectives in cardiovascular disease. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2021.

GOMES, Rodrigo Mello *et al.* Maternal diet-induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, [*s. l.*], vol. 61, p. 24–32, 2018b. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286317311075>.

GONZALEZ, Andrea *et al.* Role of Oxidative Stress in Hepatic and Extrahepatic Dysfunctions during Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [*s. l.*], vol. 2020, 2020.

GONZÁLEZ-BECERRA, K. *et al.* Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: A systematic review. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2019.

GOSTINČAR, Cene; TURK, Martina; GUNDE-CIMERMAN, Nina. The evolution of fatty acid desaturases and cytochrome b5 in eukaryotes. *Journal of Membrane Biology*, [*s. l.*], vol. 233, no 1–3, 2010.

GRABACKA, Maja *et al.* The role of PPAR alpha in the modulation of innate immunity. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2021.

GRABOWSKI, Mark *et al.* Both Diet and Sociality Affect Primate Brain-Size Evolution. *Systematic Biology*, [*s. l.*], vol. 72, no 2, 2023.

GRAJCHEN, Elieen *et al.* Fatty acid desaturation by stearoyl-CoA desaturase-1 controls regulatory T cell differentiation and autoimmunity. *Cellular and Molecular Immunology*, [*s. l.*], vol. 20, no 6, 2023.

GREEN, Christopher D. *et al.* Role of fatty acid elongases in determination of de novo synthesized monounsaturated fatty acid species. *Journal of Lipid Research*, [*s. l.*], vol. 51, no 7, 2010.

GRILO, Luís F. *et al.* Metabolic Disease Programming: From Mitochondria to Epigenetics, Glucocorticoid Signalling and Beyond. [S. l.]: [s. d.], 2021.

GRISSETI, Elena *et al.* Molecular mechanisms of perilipin protein function in lipid droplet metabolism. [S. l.]: [s. d.], 2024.

GROSS, Brian W. *et al.* Omega-3 fatty acid supplementation and warfarin: A lethal combination in traumatic brain injury. *Journal of Trauma Nursing*, [s. l.], vol. 24, no 1, 2017.

GRUJIĆ-MILANOVIĆ, Jelica D. *et al.* Excessive consumption of unsaturated fatty acids leads to oxidative and inflammatory instability in Wistar rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, [s. l.], vol. 139, no April, 2021.

GU, Yang *et al.* Oxidative stress contributes to hypermethylation of Histone H3 lysine 9 in placental trophoblasts from preeclamptic pregnancies. *Frontiers in Endocrinology*, [s. l.], vol. 15, 2024.

GUADIX, Pilar *et al.* Expression of nutrient transporters in placentas affected by gestational diabetes: role of leptin. [S. l.]: [s. d.], 2023.

GUAN, Ling Liang *et al.* [Phylogeny and functional divergence of  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 fatty acid desaturase families]. *Yi chuan = Hereditas / Zhongguo yi chuan xue hui bian ji*, [s. l.], vol. 35, no 5, 2013.

GUERBY, Paul *et al.* Role of oxidative stress in the dysfunction of the placental endothelial nitric oxide synthase in preeclampsia. *Redox Biology*, [s. l.], vol. 40, 2021.

GUGLIUCCI, Alejandro. Angiopoietin-like Proteins and Lipoprotein Lipase: The Waltz Partners That Govern Triglyceride-Rich Lipoprotein Metabolism? Impact on Atherogenesis, Dietary Interventions, and Emerging Therapies. *Journal of Clinical Medicine*, [s. l.], vol. 13, no 17, p. 5229, 2024.

GURIA, Suktara *et al.* Adipose tissue macrophages and their role in obesity-associated insulin resistance: an overview of the complex dynamics at play. *Bioscience Reports*, [s. l.], vol. 43, no 3, p. 1–19, 2023.

HAILE, Belay; NEME, Kumera; BELACHEW, Tefera. Evolution of human diet and effect of globalization on regional diet with emphasis to the Mediterranean diet. *Nutrition & Food Science*, [s. l.], vol. 47, no 6, p. 869–883, 2017a.

HAILE, Belay; NEME, Kumera; BELACHEW, Tefera. Evolution of human diet and effect of globalization on regional diet with emphasis to the Mediterranean diet. *Nutrition & Food Science*, [s. l.], vol. 47, no 6, p. 869–883, 2017b. Disponível em: <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/NFS-02-2017-0017/full/html>.

HAJEYAH, Ali A. *et al.* The Biosynthesis of Enzymatically Oxidized Lipids. [S. l.]: [s. d.], 2020.

HAJRI, Tahar. Effects of oxidized lipids and lipoproteins on cardiac function. [S. l.]: [s. d.], 2018.

HAJRI, Tahar *et al.* Epigenetic regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma mediates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Cells*, [s. l.], vol. 10, no 6, 2021.

HALL, Kevin D. *et al.* Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake. *Cell Metabolism*, [s. l.], vol. 30, no 1, p. 67-77.e3, 2019.

HAMMAD, Samar M.; LOPES-VIRELLA, Maria F. Circulating Sphingolipids in Insulin Resistance, Diabetes and Associated Complications. [S. l.]: [s. d.], 2023.

HAMMAD, Shatha; PU, Shuaihua; JONES, Peter J. Current Evidence Supporting the Link Between Dietary Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *Lipids*, [s. l.], vol. 51, no 5, p. 507–517, 2016.

HAMMOND, Gerald R.V.; BURKE, John E. Novel roles of phosphoinositides in signaling, lipid transport, and disease. [S. l.]: [s. d.], 2020.

HAN, Yae Jin *et al.* Oleic acid formation from Stearoyl-CoA and NADH in vitro with a  $\Delta$ -9-desaturase KRICT Rt9 recombinant protein. Bioresource Technology Reports, [s. l.], vol. 11, 2020.

HANDS, Jacob; FRAME, Leigh. Omega-3 Fatty Acid Therapy: A Review of Study Design Flaws, Quality, and Composition. Medical Research Archives, [s. l.], vol. 12, no 4, 2024. Disponível em: <https://esmed.org/MRA/mra/article/view/5273>.

HANDSCHIN, Christoph; MEYER, Urs A. Regulatory network of lipid-sensing nuclear receptors: Roles for CAR, PXR, LXR, and FXR. 2005. Archives of Biochemistry and Biophysics. [S. l.]: [s. d.], 2005.

HANSEN, Jason M.; JONES, Dean P.; HARRIS, Craig. The Redox Theory of Development. Antioxidants and Redox Signaling, [s. l.], vol. 32, no 10, p. 715–740, 2020.

HANSON, M. A.; GLUCKMAN, P. D. Developmental origins of health and disease - Global public health implications. Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology, [s. l.], vol. 29, no 1, 2015.

HARAYAMA, Takeshi; SHIMIZU, Takao. Roles of polyunsaturated fatty acids, from mediators to membranes. Journal of Lipid Research, [s. l.], vol. 61, no 8, 2020.

HARBANS LAL; ASHUMA SACHDEVA. Lipids: Digestion and Absorption. In: LAL, Harbans; SACHDEVA, Ashuma (orgs.). Textbook of Biochemistry. 5. ed. [S. l.]: [s. d.], 2025. p. 207–210.

HARDY, Karen *et al.* The importance of dietary carbohydrate in human evolution. Quarterly Review of Biology, [s. l.], vol. 90, no 3, 2015.

HARDY, Madeleine L.M.; DAY, Margot L.; MORRIS, Michael B. Redox regulation and oxidative stress in mammalian oocytes and embryos developed in vivo and in vitro. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, [s. l.], vol. 18, no 21, 2021.

HARIHARAN, Divya; VELLANKI, Kavitha; KRAMER, Holly. The Western Diet and Chronic Kidney Disease. *Current Hypertension Reports*, [s. l.], vol. 17, no 16, p. 1–9, 2015a.

HARRAZ, Osama F.; HILL-EUBANKS, David; NELSON, Mark T. PIP2: A critical regulator of vascular ion channels hiding in plain sight. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [s. l.], vol. 117, no 34, 2020.

HARWOOD, John L. Polyunsaturated Fatty Acids: Conversion to Lipid Mediators, Roles in Inflammatory Diseases and Dietary Sources. [S. l.]: [s. d.], 2023.

HASHIDATE-YOSHIDA, Tomomi *et al.* Fatty acid remodeling by LPCAT3 enriches arachidonate in phospholipid membranes and regulates triglyceride transport. *eLife*, [s. l.], vol. 4, 2015.

HAVIXBECK, J. J. *et al.* Neutrophil contributions to the induction and regulation of the acute inflammatory response in teleost fish. *Journal of Leukocyte Biology*, [s. l.], vol. 99, no 2, p. 241–252, 2016.

HE, Sen *et al.* Maternal oxidative stress throughout pregnancy and early childhood neurodevelopment at different stages: insights from a prospective cohort study. *BMC Medicine*, [s. l.], vol. 23, no 1, p. 463, 2025.

HEERWAGEN, Margaret J.R. *et al.* Maternal obesity and fetal metabolic programming: A fertile epigenetic soil. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, [s. l.], vol. 299, no 3, 2010a.

HEISTON, Emily M. *et al.* A single bout of exercise improves vascular insulin sensitivity in adults with obesity. *Obesity*, [s. l.], vol. 29, no 9, 2021.

HERRERA, Emilio; DESOYE, Gernot. Maternal and fetal lipid metabolism under normal and gestational diabetic conditions. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, [s. l.], vol. 26, no 2, p. 109–127, 2016b. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/hmbci-2015-0025/html>.

HILTUNEN, J. Kalervo *et al.* Mitochondrial fatty acid synthesis and respiration. [S. l.]: [s. d.], 2010.

HO, Lena; CRABTREE, Gerald R. Chromatin remodelling during development. [S. l.]: [s. d.], 2010.

HOCKETT, Bryan; HAWS, Jonathan. Nutritional ecology and diachronic trends in Paleolithic diet and health. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, [s. l.], vol. 12, no 5, p. 211–216, 2003.

HODSON, Leanne; FIELDING, Barbara A. Stearoyl-CoA desaturase: Rogue or innocent bystander?. [S. l.]: [s. d.], 2013.

HOFFMAN, Daniel J.; REYNOLDS, Rebecca M.; HARDY, Daniel B. Developmental origins of health and disease: Current knowledge and potential mechanisms. *Nutrition Reviews*, [s. l.], vol. 75, no 12, 2017.

HOGAN, Kelly A. *et al.* Tumor-derived cytokines impair myogenesis and alter the skeletal muscle immune microenvironment. *Cytokine*, [s. l.], vol. 107, no August, p. 9–17, 2018.

HOLLAND, William L.; SUMMERS, Scott A. Sphingolipids, insulin resistance, and metabolic disease: New insights from in vivo manipulation of sphingolipid metabolism. [S. l.]: [s. d.], 2008.

HONG, Cynthia; TONTONOZ, Peter. Coordination of inflammation and metabolism by PPAR and LXR nuclear receptors. [S. l.]: [s. d.], 2008.

HOOVER, Lee *et al.* Creation of a database to assess effects of omega-3, omega-6 and total polyunsaturated fats on health: Methodology for a set of systematic reviews. [S. l.]: BMJ Publishing Group, 2019.

HORA, Martin *et al.* Comparing walking and running in persistence hunting. *Journal of Human Evolution*, [s. l.], vol. 172, 2022.

HU, Chengjun *et al.* A maternal high-fat/low-fiber diet impairs glucose tolerance and induces the formation of glycolytic muscle fibers in neonatal offspring. *European Journal of Nutrition*, [s. l.], vol. 60, p. 2709–2718, 2021.

HU, Mingyuan *et al.* Polyunsaturated fatty acid intake and incidence of type 2 diabetes in adults: a dose response meta-analysis of cohort studies. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, [s. l.], vol. 14, no 1, p. 1–23, 2022.

HU, Mingyu *et al.* Revisiting preeclampsia: a metabolic disorder of the placenta. *FEBS Journal*, [s. l.], vol. 289, no 2, p. 336–354, 2022.

HUANG, Xiao *et al.* Hes5.9 coordinate fgf and notch signaling to modulate gastrulation via regulating cell fate specification and cell migration in *xenopus tropicalis*. *Genes*, [s. l.], vol. 11, no 11, 2020.

HUANG, Jun *et al.* Proline-driven metabolic reprogramming promotes skeletal muscle hypertrophy and oxidative myofiber specification in porcine offspring: a stage-optimized maternal nutritional intervention. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, [s. l.], vol. 16, no 1, p. 99, 2025.

HUANG, Chun Hua; YU, Xin; LIAO, Wen Bo. The expensive-tissue hypothesis in vertebrates: Gut microbiota effect, a review. [S. l.]: [s. d.], 2018.

HUE-BEAUVAIS, C. *et al.* Diet-induced modifications to milk composition have long-term effects on offspring growth in rabbits. *Journal of Animal Science*, [s. l.], vol. 95, no 2, p. 761–770, 2017.

IBARGUREN, Maitane; LÓPEZ, David J.; ESCRIBÁ, Pablo V. The effect of natural and synthetic fatty acids on membrane structure, microdomain organization, cellular functions and human health. [S. l.]: [s. d.], 2014.

ILLSLEY, Nicholas P.; BAUMANN, Marc U. Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, [s. l.], vol. 1866, no 2, p. 165359, 2020.

INDRIO, Flavia *et al.* Epigenetic matters: The link between early nutrition, microbiome, and long-term health development. [S. l.]: [s. d.], 2017.

IQBAL, Jahangir; HUSSAIN, M. Mahmood. Intestinal lipid absorption. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, [s. l.], vol. 296, no 6, p. E1183–E1194, 2009.

ISESELE, Peter O.; MAZURAK, Vera C. Regulation of Skeletal Muscle Satellite Cell Differentiation by Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: A Critical Review. *Frontiers in Physiology*, [s. l.], vol. 12, no June, p. 1–10, 2021.

IUCHI, Katsuya; TAKAI, Tomoka; HISATOMI, Hisashi. Cell death via lipid peroxidation and protein aggregation diseases. [S. l.]: [s. d.], 2021.

JADHAV, Harsh B.; ANNAPURE, Uday S. Triglycerides of medium-chain fatty acids: a concise review. [S. l.]: [s. d.], 2023.

JANSSON, T.; AYE, I. L.M.H.; GOBERDHAN, D. C.I. The emerging role of mTORC1 signaling in placental nutrient-sensing. *Placenta*, [s. l.], vol. 33, no SUPPL. 2, 2012.

JAVOID, Mustafa *et al.* Bleeding Risk in Patients Receiving Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Journal of the American Heart Association*, [s. l.], vol. 13, no 10, 2024.

JIA, Yin *et al.* A dose-response meta-analysis of the association between the maternal omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplement and risk of asthma/wheeze in offspring. *BMC Pediatrics*, [s. l.], vol. 22, no 1, p. 1–14, 2022.

JIANG, Ying *et al.* Brain size evolution in small mammals: Test of the expensive tissue hypothesis. *Mammalia*, [s. l.], vol. 85, no 5, 2021.

JIANG, Hui *et al.* Mechanisms of Oxidized LDL-Mediated Endothelial Dysfunction and Its Consequences for the Development of Atherosclerosis. [S. l.]: [s. d.], 2022.

JIANG, Shaoning *et al.* Role of metformin in epigenetic regulation of placental mitochondrial biogenesis in maternal diabetes. *Scientific Reports*, [s. l.], vol. 10, no 1, 2020.

JIANG, Shuai; LIU, Hui; LI, Chunbao. Dietary Regulation of Oxidative Stress in Chronic Metabolic Diseases. *Foods*, [s. l.], vol. 10, no 8, p. 1854, 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10081854>.

JIANG, Z-Y.; WOOLLARD, A.C.S.; WOLFF, S.P. Lipid hydroperoxides measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids*, [s. l.], vol. 26, p. 853–856, 1991.

JIMENEZ-CHILLARON, Josep C. *et al.* Transgenerational epigenetic inheritance of diabetes risk as a consequence of early nutritional imbalances. 2016. *Proceedings of the Nutrition Society*. [S. l.]: [s. d.], 2016.

JOANISSE, Sophie *et al.* Skeletal Muscle Regeneration, Repair and Remodelling in Aging: The Importance of Muscle Stem Cells and Vascularization. *Gerontology*, [s. l.], vol. 63, no 1, p. 91–100, 2016.

JOO, Eun Hui *et al.* Effect of endogenic and exogenic oxidative stress triggers on adverse pregnancy outcomes: Preeclampsia, fetal growth restriction, gestational diabetes mellitus and preterm birth. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 22, no 18, 2021.

JOVANDARIC, Miljana Z. *et al.* The Importance of Metabolic and Environmental Factors in the Occurrence of Oxidative Stress during Pregnancy. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 24, no 15, 2023.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos; COSSERMELLI, W; BRENTANI, R. Differential staining of Collagens Type I, II and II by Sirius Red and Polarization Microscopy. *Arch Histol Jap*, [s. l.], vol. 41, no 3, p. 267–274, 1978.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos; JUNQUEIRA, Luiza Maria. *Técnicas Básicas de Histologia e Citologia*. 1. ed. São Paulo: Editora Santos, 1983.

KABEYA, Naoki *et al.* Genes for de novo biosynthesis of omega-3 polyunsaturated fatty acids are widespread in animals. *Science Advances*, [s. l.], vol. 4, no 5, p. 1–9, 2018.

KAFFE, Eleanna *et al.* Bioactive signalling lipids as drivers of chronic liver diseases. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2024.

KALUPAHANA, Nishan Sudheera; GOONAPIENUWALA, Bimba Lakmini; MOUSTAID-MOUSSA, Naima. Omega-3 Fatty Acids and Adipose Tissue: Inflammation and Browning. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2020.

KAMEI, Yoshimasa *et al.* Maternal epidermal growth factor deficiency causes fetal hypoglycemia and intrauterine growth retardation in mice: Possible involvement of placental glucose transporter GLUT3 expression. *Endocrinology*, [s. l.], vol. 140, no 9, 1999.

KANEGUCHI, Akinori *et al.* Intermittent whole-body vibration attenuates a reduction in the number of the capillaries in unloaded rat skeletal muscle. *BMC Musculoskeletal Disorders*, [s. l.], vol. 15, p. 1–9, 2014.

KERNER, Janos *et al.* Fatty acid chain elongation in palmitate-perfused working rat heart: Mitochondrial acetyl-coa is the source of two-carbon units for chain elongation. *Journal of Biological Chemistry*, [s. l.], vol. 289, no 14, 2014.

KHAN, Imad *et al.* Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids: Metabolism and health implications. *Progress in Lipid Research*, [s. l.], vol. 92, no June, p. 101255, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2023.101255>.

KHAN, Shibbir Ahmed; ILIES, Marc A. The Phospholipase A2 Superfamily: Structure, Isozymes, Catalysis, Physiologic and Pathologic Roles. [S. l.]: [s. d.], 2023.

KHANNA, Deepesh *et al.* Obesity: A Chronic Low-Grade Inflammation and Its Markers. Cureus, [s. l.], vol. 14, no 2, 2022.

KIDANI, Yoko; BENSINGER, Steven J. LXR and PPAR as integrators of lipid homeostasis and immunity. Immunological reviews, [s. l.], vol. 249, no 1, 2012.

KIKUKAWA, Hiroshi *et al.* Arachidonic acid production by the oleaginous fungus *Mortierella alpina* 1S-4: A review. [S. l.]: [s. d.], 2018.

KIM, Soon Ok; ALBRECHT, Eugene D.; PEPE, Gerald J. Estrogen promotes fetal skeletal muscle mitochondrial distribution and ATP synthase activity important for insulin sensitivity in offspring. Endocrine, [s. l.], vol. 85, no 1, 2024.

KIMMEL, Alan R.; SZTALRYD, Carole. The Perilipins: Major Cytosolic Lipid Droplet-Associated Proteins and Their Roles in Cellular Lipid Storage, Mobilization, and Systemic Homeostasis. [S. l.]: [s. d.], 2016.

KINDLER, Lutz *et al.* Large-scale processing of within-bone nutrients by Neanderthals, 125,000 years ago. Science Advances, [s. l.], vol. 11, no 27, 2025.

KITAMURA, Tadahiro *et al.* A Foxo/Notch pathway controls myogenic differentiation and fiber type specification. Journal of Clinical Investigation, [s. l.], vol. 117, no 9, 2007.

KLOOSTER, Sten ten; SCHROËN, Karin; BERTON-CARABIN, Claire. Lipid oxidation products in model food emulsions: do they stay in or leave droplets, that's the question. Food Chemistry, [s. l.], vol. 405, 2023.

KNÖFLER, Martin *et al.* Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems. [S. l.]: [s. d.], 2019.

KOLETZKO, Berthold *et al.* FADS1 and FADS2 Polymorphisms Modulate Fatty Acid Metabolism and Dietary Impact on Health. [S. l.]: [s. d.], 2019.

KOPP, Wolfgang. How western diet and lifestyle drive the pandemic of obesity and civilization diseases. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, [s. l.], vol. 12, p. 2221–2236, 2019.

KORBECKI, Jan *et al.* Synthesis and Significance of Arachidonic Acid, a Substrate for Cyclooxygenases, Lipoxygenases, and Cytochrome P450 Pathways in the Tumorigenesis of Glioblastoma Multiforme, Including a Pan-Cancer Comparative Analysis. [S. l.]: [s. d.], 2023.

KORPAK, Kéziah *et al.* Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and their bioactive lipids: A strategy to improve resistance to respiratory tract infectious diseases in the elderly?. *Nutrition and Healthy Aging*, [s. l.], vol. 9, no 1, 2024.

KOSA, Gergely *et al.* High-throughput screening of Mucoromycota fungi for production of low- and high-value lipids. *Biotechnology for Biofuels*, [s. l.], vol. 11, no 1, 2018.

KRIS-ETHERTON, Penny M.; GRIEGER, Jessica A.; ETHERTON, Terry D. Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, [s. l.], vol. 81, no 2–3, p. 99–104, 2009.

KUIPERS, Remko S.; JOORDENS, Josephine C. A.; MUSKIET, Frits A. J. A multidisciplinary reconstruction of Palaeolithic nutrition that holds promise for the prevention and treatment of diseases of civilisation. *Nutrition Research Reviews*, [s. l.], vol. 25, no 1, p. 96–129, 2012.

KUROTANI, Kayo *et al.* High levels of stearic acid, palmitoleic acid, and dihomo- $\gamma$ -linolenic acid and low levels of linoleic acid in serum cholesterol ester are associated with high insulin resistance. *Nutrition Research*, [s. l.], vol. 32, no 9, 2012.

KWON, Youngjoo. Immuno-Resolving Ability of Resolvins, Protectins, and Maresins Derived from Omega-3 Fatty Acids in Metabolic Syndrome. [S. l.]: [s. d.], 2020.

LA MERRILL, Michele A. *et al.* Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nature Reviews Endocrinology*, [s. l.], vol. 16, no 1, 2020.

LAGER, Susanne *et al.* Protein expression of fatty acid transporter 2 is polarized to the trophoblast basal plasma membrane and increased in placentas from overweight/obese women. *Placenta*, [s. l.], vol. 40, 2016.

LAKSHMIPRIYA, Nagarajan *et al.* Dietary Fatty-acid Profile of South Indian Adults and Its Association with Type 2 Diabetes—CURES 151. *Journal of Diabetology*, [s. l.], vol. 11, no 1, 2020.

LAL, Milan Kumar *et al.* Nutrient-Mediated Perception and Signalling in Human Metabolism: A Perspective of Nutrigenomics. [S. l.]: [s. d.], 2022.

LANGLEY-EVANS, Simon C.; CARRINGTON, L. J. Diet and the developing immune system. *Lupus*, [s. l.], vol. 15, no 11, 2006.

LAZO-DE-LA-VEGA-MONROY, Maria Luisa *et al.* Association of placental nutrient sensing pathways with birth weight. *Reproduction*, [s. l.], vol. 160, no 3, 2020.

LEE, Bum Kyu; KIM, Jonghwan. Integrating High-Throughput Approaches and in vitro Human Trophoblast Models to Decipher Mechanisms Underlying Early Human Placenta Development. [S. l.]: [s. d.], 2021.

LEGOFF, Louis *et al.* Transgenerational inheritance of environmentally induced epigenetic alterations during mammalian development. [S. l.]: [s. d.], 2019.

LEMONS, J. A.; SCHREINER, R. L.; GRESHAM, E. L. Simple method for determining the caloric and fat content of human milk. *Pediatrics*, [s. l.], vol. 66, no 4, 1980.

LENNICKE, Claudia; COCHEMÉ, Helena M. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Molecular Cell*, [s. l.], vol. 81, no 18, p. 3691–3707, 2021.

LEONARD, William R. *et al.* Metabolic correlates of hominid brain evolution. [S. l.]: [s. d.], 2003.

LEONARD, William R.; SNODGRASS, J. Josh; ROBERTSON, Marcia L. Effects of brain evolution on human nutrition and metabolism. *Annual Review of Nutrition*, [s. l.], vol. 27, p. 311–327, 2007a.

LEONE, Alessandro *et al.* Moringa oleifera seeds and oil: Characteristics and uses for human health. [S. l.]: [s. d.], 2016.

LEVINE, Rodney L. *et al.* Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, [s. l.], vol. 233, no C, 1994.

LI, Lili *et al.* Oxidative stress biomarkers in fetal growth restriction: a systematic review and meta-analysis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, [s. l.], vol. 312, no 4, p. 1063–1084, 2025.

LI, Qingfei *et al.* Polyunsaturated Fatty Acids Influence LPS-Induced Inflammation of Fish Macrophages Through Differential Modulation of Pathogen Recognition and p38 MAPK/NF- $\kappa$ B Signaling. *Frontiers in Immunology*, [s. l.], vol. 11, 2020.

LI, Yan *et al.* Sfrp5 coordinates foregut specification and morphogenesis by antagonizing both canonical and noncanonical Wnt11 signaling. *Genes and Development*, [s. l.], vol. 22, no 21, 2008.

LIAN, Di *et al.* The Role of Oxidative Stress in Skeletal Muscle Myogenesis and Muscle Disease. [S. l.]: [s. d.], 2022.

LIEN, Yu-Chin; SIMMONS, Rebecca A. Deciphering the Molecular Dialogue: Mitochondria, Epigenetics, and Extracellular Vesicles in Placental Function and Pregnancy Complications. *Comprehensive Physiology*, [s. l.], vol. 15, no 4, 2025.

LILLYCROP, Karen A.; BURDGE, Graham C. The effect of nutrition during early life on the epigenetic regulation of transcription and implications for human diseases. [S. l.]: [s. d.], 2011.

LIN, Xinyi *et al.* Developmental pathways to adiposity begin before birth and are influenced by genotype, prenatal environment and epigenome. *BMC Medicine*, [s. l.], vol. 15, no 1, 2017.

LIPUT, Kamila P. *et al.* Effects of dietary n–3 and n–6 polyunsaturated fatty acids in inflammation and cancerogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 22, no 13, 2021.

LIU, Yue *et al.* Complex Interactions Between Circulating Fatty Acid Levels, Desaturase Activities, and the Risk of Gestational Diabetes Mellitus: A Prospective Cohort Study. *Frontiers in Nutrition*, [s. l.], vol. 9, 2022.

LOCHE, Elena; OZANNE, Susan E. Early nutrition, epigenetics, and cardiovascular Disease. [S. l.]: [s. d.], 2016.

LOS, Dmitry A.; MIRONOV, Kirill S. Modes of fatty acid desaturation in cyanobacteria: An update. *Life*, [s. l.], vol. 5, no 1, 2015.

LU, Minhui; SFERRUZZI-PERRI, Amanda Nancy. Placental mitochondrial function in response to gestational exposures. *Placenta*, [s. l.], vol. 104, 2021.

LUND, Jenny; RUSTAN, Arild C. Fatty Acids: Structures and Properties. *In: ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES*. [S. l.]: [s. d.], 2020.

LUONG, Jasper Hoi Chun *et al.* Structure and Roles of Phospholipase C (PLC), Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2), and Inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) in Metabolism and Disease: A Systematic Review. *Innovations in Digital Health, Diagnostics, and Biomarkers*, [s. l.], vol. 5, no 2025, p. 1–13, 2025.

LUTZ, E. Peer *et al.* Heparin-binding defective lipoprotein lipase is unstable and causes abnormalities in lipid delivery to tissues. *Journal of Clinical Investigation*, [s. l.], vol. 107, no 9, 2001.

MA, Yufang *et al.* Arachidonic acid metabolism in metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease and liver fibrosis. *Hepatology Communications*, [s. l.], vol. 9, no 9, 2025.

MACIEJCZYK, Mateusz *et al.* Redox balance, antioxidant defense, and oxidative damage in the hypothalamus and cerebral cortex of rats with high fat diet-induced insulin resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [s. l.], vol. 2018, 2018.

MADDURI, Krishna M. *et al.* Preliminary safety assessment of a membrane-bound delta 9 desaturase candidate protein for transgenic oilseed crops. *Food and Chemical Toxicology*, [s. l.], vol. 50, no 10, 2012.

MADORE, C. *et al.* Essential omega-3 fatty acids tune microglial phagocytosis of synaptic elements in the mouse developing brain. *Nature Communications*, [s. l.], vol. 11, no 1, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-19861-z>.

MALTSEV, Yevhen *et al.* Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition. [S. l.]: [s. d.], 2021.

MANDAL, Kalpana. Review of PIP2 in cellular signaling, functions and diseases. [S. l.]: [s. d.], 2020.

MANI, Indu; KURPAD, Anura V. Fats & fatty acids in Indian diets: Time for serious introspection. [S. l.]: [s. d.], 2016.

MANOLAGAS, Stavros C.; ALMEIDA, Maria. Gone with the Wnts:  $\beta$ -catenin, T-cell factor, forkhead box O, and oxidative stress in age-dependent diseases of bone, lipid, and glucose metabolism. [S. l.]: [s. d.], 2007.

MARCINIAK, Aleksandra *et al.* Fetal programming of the metabolic syndrome. [S. l.]: [s. d.], 2017.

MARINO, Frank E.; SIBSON, Benjamin E.; LIEBERMAN, Daniel E. The evolution of human fatigue resistance. [S. l.]: [s. d.], 2022.

MARION-LETELLIER, Rachel; SAVOYE, Guillaume; GHOSH, Subrata. Fatty acids, eicosanoids and PPAR gamma. *European Journal of Pharmacology*, [s. l.], vol. 785, p. 44–49, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299915303423>.

MATTIOLI, Simona *et al.* A Dynamic Model for Estimating the Interaction of ROS–PUFA–Antioxidants in Rabbit. *Antioxidants*, [s. l.], vol. 11, no 3, 2022.

MCCURDY, Carrie E. *et al.* Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *Journal of Clinical Investigation*, [s. l.], vol. 119, no 2, p. 323–335, 2009.

MCGROSKY, Amanda *et al.* Gross intestinal morphometry and allometry in primates. *American Journal of Primatology*, [s. l.], vol. 81, no 8, 2019.

MEEK, Claire L. An unwelcome inheritance: childhood obesity after diabetes in pregnancy. [*S. l.*]: [s. d.], 2023.

MEESAPYODSUK, Dauenpen; QIU, Xiao. The front-end desaturase: Structure, function, evolution and biotechnological use. [*S. l.*]: [s. d.], 2012.

MEEEX, Ruth C.R.; BLAAK, Ellen E.; VAN LOON, Luc J.C. Lipotoxicity plays a key role in the development of both insulin resistance and muscle atrophy in patients with type 2 diabetes. *Obesity Reviews*, [s. l.], vol. 20, no 9, p. 1205–1217, 2019b. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/obr.12862>.

MENZEL, Ralph *et al.* Presence or absence? Primary structure, regioselectivity and evolution of  $\Delta^{12}/\omega^3$  fatty acid desaturases in nematodes. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, [s. l.], vol. 1864, no 9, p. 1194–1205, 2019.

MIGLIACCIO, Vincenzo *et al.* High-fish oil and high-lard diets differently affect testicular antioxidant defense and mitochondrial fusion/fission balance in male wistar rats: Potential protective effect of  $\omega^3$  polyunsaturated fatty acids targeting mitochondria dynamics. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 20, no 12, 2019.

MILES, Elizabeth A.; CALDER, Philip C. Can early omega-3 fatty acid exposure reduce risk of childhood allergic disease?. [*S. l.*]: MDPI AG, 2017.

MILES, Elizabeth A.; CHILDS, Caroline E.; CALDER, Philip C. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs) and the developing immune system: A narrative review. *Nutrients*, [s. l.], vol. 13, no 1, p. 1–21, 2021a.

MILES, Elizabeth A.; CHILDS, Caroline E.; CALDER, Philip C. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids (LCPUFAs) and the Developing Immune System: A Narrative Review. *Nutrients*, [s. l.], vol. 13, no 1, p. 247, 2021b. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/1/247>.

MOHASSEB, Magda *et al.* Testicular oxidative damage and role of combined antioxidant supplementation in experimental diabetic rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, [s. l.], vol. 67, no 2, 2011.

MOLLICA, Maria P. *et al.* Milk fatty acid profiles in different animal species: Focus on the potential effect of selected pufas on metabolism and brain functions. [S. l.]: [s. d.], 2021.

MONROIG, Óscar; TOCHER, Douglas R.; NAVARRO, Juan C. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: Recent advances in molecular mechanisms. [S. l.]: [s. d.], 2013.

MORALES, Pablo Esteban; BUCAREY, Jose Luis; ESPINOSA, Alejandra. Muscle lipid metabolism: Role of lipid droplets and perilipins. [S. l.]: [s. d.], 2017.

MORENO-MENDEZ, Ericka *et al.* Early-life programming of adipose tissue. *Nutrition Research Reviews*, [s. l.], vol. 33, no 2, 2020.

MORLEY, L. C. *et al.* Placental blood flow sensing and regulation in fetal growth restriction. *Placenta*, [s. l.], vol. 113, no December 2020, p. 23–28, 2021.

MOSTAFAVI ABDOLMALEKY, Hamid; ZHOU, Jin-Rong. Gut Microbiota Dysbiosis, Oxidative Stress, Inflammation, and Epigenetic Alterations in Metabolic Diseases. *Antioxidants*, [s. l.], vol. 13, no 8, p. 985, 2024.

MUKHERJEE, Indrani *et al.* Oxidative stress-induced impairment of trophoblast function causes preeclampsia through the unfolded protein response pathway. *Scientific Reports*, [s. l.], vol. 11, no 1, 2021.

MUKOSERA, George T. *et al.* Nitric oxide metabolism in the human placenta during aberrant maternal inflammation. *Journal of Physiology*, [s. l.], vol. 598, no 11, p. 2223–2241, 2020.

MUROYA, Susumu *et al.* Maternal undernutrition during pregnancy alters amino acid metabolism and gene expression associated with energy metabolism and angiogenesis in fetal calf muscle. *Metabolites*, [s. l.], vol. 11, no 9, 2021.

MUSCELLA, Antonella *et al.* The regulation of fat metabolism during aerobic exercise. [S. l.]: [s. d.], 2020.

MYATT, Leslie; MALOYAN, Alina. Obesity and Placental Function. *Seminars in Reproductive Medicine*, [s. l.], vol. 34, no 1, p. 42–49, 2016a.

NADAL, Angel *et al.* Endocrine-disrupting chemicals and the regulation of energy balance. [S. l.]: [s. d.], 2017.

NAKAMURA, M. T.; NARA, T. Y. Essential fatty acid synthesis and its regulation in mammals. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, [s. l.], vol. 68, no 2, 2003.

NAKAMURA, Manabu T.; NARA, Takayuki Y. Structure, function, and dietary regulation of  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$ , and  $\Delta 9$  desaturases. [S. l.]: [s. d.], 2004.

NEGRE-SALVAYRE, Anne *et al.* Oxidative stress, lipid peroxidation and premature placental senescence in preeclampsia. [S. l.]: [s. d.], 2022.

NEUENSCHWANDER, Manuela *et al.* Intake of dietary fats and fatty acids and the incidence of type 2 diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *PLoS Medicine*, [s. l.], vol. 17, no 12, p. 1–17, 2020a.

NEUENSCHWANDER, Manuela *et al.* Intake of dietary fats and fatty acids and the incidence of type 2 diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *PLoS Medicine*, [s. l.], vol. 17, no 12, p. 1–17, 2020b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1003347>.

NEWBERN, Dorothee; FREEMARK, Michael. Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth. [S. l.]: [s. d.], 2011.

NI, Kai Di; LIU, Jun Yan. The Functions of Cytochrome P450  $\omega$ -hydroxylases and the Associated Eicosanoids in Inflammation-Related Diseases. [S. l.]: [s. d.], 2021.

NICHOLLS, Stephen J. *et al.* Effect of High-Dose Omega-3 Fatty Acids vs Corn Oil on Major Adverse Cardiovascular Events in Patients at High Cardiovascular Risk: The STRENGTH Randomized Clinical Trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, [s. l.], vol. 324, no 22, p. 2268–2280, 2020a.

NICHOLLS, Stephen J. *et al.* Effect of High-Dose Omega-3 Fatty Acids vs Corn Oil on Major Adverse Cardiovascular Events in Patients at High Cardiovascular Risk: The STRENGTH Randomized Clinical Trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, [s. l.], vol. 324, no 22, p. 2268–2280, 2020b.

NICULESCU, Mihai D.; LUPU, Daniel S.; CRACIUNESCU, Corneliu N. Perinatal manipulation of  $\alpha$ -linolenic acid intake induces epigenetic changes in maternal and offspring livers. *FASEB Journal*, [s. l.], vol. 27, no 1, 2013.

NIE, Laiyin *et al.* The structural basis of fatty acid elongation by the ELOVL elongases. *Nature Structural and Molecular Biology*, [s. l.], vol. 28, no 6, 2021.

NIKI, Etsuo. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, [s. l.], vol. 595, p. 19–24, 2016.

NOGUEIRA, Marina S. *et al.* Oxidation products from omega-3 and omega-6 fatty acids during a simulated shelf life of edible oils. *LWT*, [s. l.], vol. 101, 2019.

NOWINSKI, Sara M. *et al.* Mitochondrial fatty acid synthesis coordinates oxidative metabolism in mammalian mitochondria. *eLife*, [s. l.], vol. 9, 2020.

NUGENT, Bridget M.; BALE, Tracy L. The omniscient placenta: Metabolic and epigenetic regulation of fetal programming. [S. l.]: [s. d.], 2015.

NUNN, Alistair V.W.; BELL, Jimmy; BARTER, Philip. The integration of lipid-sensing and anti-inflammatory effects: How the PPARs play a role in metabolic balance. [S. l.]: [s. d.], 2007.

OLANIYI, Kehinde S. *et al.* Acetate supplementation restores testicular function by modulating Nrf2/PPAR- $\gamma$  in high fat diet-induced obesity in Wistar rats. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, [s. l.], vol. 20, no 2, 2021.

PAJIC, Petar *et al.* Independent amylase gene copy number bursts correlate with dietary preferences in mammals. *eLife*, [s. l.], vol. 8, 2019.

PALINI, Simone *et al.* Epigenetic regulatory mechanisms during preimplantation embryo development. *Annals of the New York Academy of Sciences*, [s. l.], vol. 1221, no 1, 2011.

PANDURANGAN, Subash Babu *et al.* Beneficial fatty acid ratio of *Salvia hispanica* L. (Chia Seed) potentially inhibits adipocyte hypertrophy, and decreases adipokines expression and inflammation in macrophage. *Foods*, [s. l.], vol. 9, no 3, 2020.

PANIGRAHY, Dipak *et al.* Cytochrome P450-derived eicosanoids: the neglected pathway in cancer. [S. l.]: [s. d.], 2010.

PARK, Sung Sup; SEO, Young Kyo. Excess accumulation of lipid impairs insulin sensitivity in skeletal muscle. [S. l.]: [s. d.], 2020.

PAULS, Samantha D. *et al.* Anti-inflammatory effects of  $\alpha$ -linolenic acid in M1-like macrophages are associated with enhanced production of oxylipins from  $\alpha$ -linolenic and linoleic acid. *Journal of Nutritional Biochemistry*, [s. l.], vol. 57, 2018.

PAYOLLA, Tanyara Baliani *et al.* High-fat diet during pregnancy and lactation impairs the cholinergic anti-inflammatory pathway in the liver and white adipose tissue of mouse offspring. *Molecular and Cellular Endocrinology*, [s. l.], vol. 422, p. 192–202, 2016.

PELTOLA, Ville *et al.* Induction of lipid peroxidation during steroidogenesis in the rat testis. *Endocrinology*, [s. l.], vol. 137, no 1, 1996.

PEPINO, Marta Yanina *et al.* Structure-function of CD36 and importance of fatty acid signal transduction in fat metabolism. [S. l.]: [s. d.], 2014.

PERAL-SANCHEZ, Irene *et al.* Epigenetics in the uterine environment: How maternal diet and ART may influence the epigenome in the offspring with long-term health consequences. [S. l.]: [s. d.], 2022.

PERCIE DU SERT, Nathalie *et al.* The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLOS Biology*, [s. l.], vol. 18, no 7, p. e3000410, 2020.

PEREIRA, Robyn D. *et al.* Angiogenesis in the placenta: The role of reactive oxygen species signaling. [S. l.]: [s. d.], 2015.

PEREIRA, Hugo *et al.* Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*, [s. l.], vol. 10, no 9, 2012.

PERNA, Monica; HEWLINGS, Susan. Saturated Fatty Acid Chain Length and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review. [S. l.]: [s. d.], 2023.

PERRY, George H. *et al.* Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nature Genetics*, [s. l.], vol. 39, no 10, 2007.

PERVANIDOU, Panagiota; CHROUSOS, George P. Metabolic consequences of stress during childhood and adolescence. *Metabolism*, [s. l.], vol. 61, no 5, p. 611–619, 2012.

PETERSEN, Max C.; SHULMAN, Gerald I. Roles of Diacylglycerols and Ceramides in Hepatic Insulin Resistance. [S. l.]: [s. d.], 2017.

PETROVIC, Snjezana *et al.* Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in neurodegenerative diseases: A review of human studies. [S. l.]: [s. d.], 2020.

PHOSWA, Wendy N.; KHALIQ, Olive P. The Role of Oxidative Stress in Hypertensive Disorders of Pregnancy (Preeclampsia, Gestational Hypertension) and Metabolic Disorder of Pregnancy (Gestational Diabetes Mellitus). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [s. l.], vol. 2021, 2021.

PICK, Edgar; MIZEL, Diane. Rapid microassays for the measurement of superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culture using an automatic enzyme immunoassay reader. *Journal of Immunological Methods*, [s. l.], vol. 46, no 2, 1981.

PIRAHANCHI, Yasaman; ANORUO, McDamian; SHARMA, Sandeep. *Biochemistry, Lipoprotein Lipase*. StatPearls, [s. l.], 2023.

POZNYAK, Anastasia V. *et al.* Overview of OxLDL and Its Impact on Cardiovascular Health: Focus on Atherosclerosis. [S. l.]: [s. d.], 2021.

PRATS-PUIG, Anna *et al.* DNA Methylation Reorganization of Skeletal Muscle-Specific Genes in Response to Gestational Obesity. *Frontiers in Physiology*, [s. l.], vol. 11, no July, p. 1–12, 2020a.

PRATS-PUIG, Anna *et al.* DNA Methylation Reorganization of Skeletal Muscle-Specific Genes in Response to Gestational Obesity. *Frontiers in Physiology*, [s. l.], vol. 11, no July, p. 1–12, 2020b. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2020.00938/full>.

QIU, Yuxiang *et al.* ACSL4-Mediated Membrane Phospholipid Remodeling Induces Integrin b1 Activation to Facilitate Triple-Negative Breast Cancer Metastasis. *Cancer Research*, [s. l.], vol. 84, no 11, 2024.

QIU, Huan *et al.* Evidence of ancient genome reduction in red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, [s. l.], vol. 51, no 4, 2015.

QIU, Baiyu *et al.* Phospholipids with two polyunsaturated fatty acyl tails promote ferroptosis. *Cell*, [s. l.], vol. 187, no 5, 2024.

QIU, Xiaorou *et al.* The Biomarkers in Extreme Longevity: Insights Gained from Metabolomics and Proteomics. [S. l.]: Ivyspring International Publisher, 2024.

QUAGLIARIELLO, Andrea *et al.* Ancient oral microbiomes support gradual Neolithic dietary shifts towards agriculture. *Nature Communications*, [s. l.], vol. 13, no 1, 2022.

RABAIL, Roshina *et al.* An intricate review on nutritional and analytical profiling of coconut, flaxseed, olive, and sunflower oil blends. *Molecules*, [s. l.], vol. 26, no 23, 2021.

RADCLIFFE, J. E. *et al.* Controversies in omega-3 efficacy and novel concepts for application. [S. l.]: [s. d.], 2016.

RAHIMI, Vida *et al.* Omega-3 fatty acids and health of auditory and vestibular systems: a comprehensive review. *European Journal of Nutrition*, [s. l.], vol. 63, no 5, p. 1453–1469, 2024.

RAKATELI, Leonida; HUCHZERMEIER, Rosanna; VAN DER VORST, Emiel P.C. AhR, PXR and CAR: From Xenobiotic Receptors to Metabolic Sensors. [S. l.]: [s. d.], 2023.

RAMAMOORTHY, Thanuja Gali *et al.* Developmental programming of hypothalamic neuronal circuits: Impact on energy balance control. *Frontiers in Neuroscience*, [s. l.], vol. 9, no MAR, 2015a.

RATTIGAN, Stephen *et al.* Obesity, insulin resistance, and capillary recruitment. [S. l.]: [s. d.], 2007.

REED, Sarah A. *et al.* Poor maternal nutrition inhibits muscle development in ovine offspring. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, [s. l.], vol. 5, no 1, 2014.

REMIZE, Marine *et al.* Microalgae n-3 PUFAs Production and Use in Food and Feed Industries. [S. l.]: [s. d.], 2021.

RENAUD, Helen J. *et al.* Effect of diet on expression of genes involved in lipid metabolism, oxidative stress, and inflammation in mouse liver-insights into mechanisms of hepatic steatosis. *PLoS ONE*, [s. l.], vol. 9, no 2, 2014.

RIGAMONTI, Elena *et al.* Macrophage plasticity in skeletal muscle repair. *BioMed Research International*, [s. l.], vol. 2014, p. 9, 2014.

RIZOS, Evangelos C. *et al.* Association Between Omega-3 Fatty Acid. *Jama*, [s. l.], vol. 308, p. 1024–33, 2012.

ROCCISANO, Dante *et al.* Dietary Fats and Oils: Some Evolutionary and Historical Perspectives Concerning Edible Lipids for Human Consumption. *Food and Nutrition Sciences*, [s. l.], vol. 10, no 9, p. 689–702, 2019.

ROCHA, Carolina P. *et al.* Seaweeds as valuable sources of essential fatty acids for human nutrition. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, [s. l.], vol. 18, no 9, 2021.

RODRÍGUEZ-CANO, Ameyalli M. *et al.* Nutrients, mitochondrial function and perinatal health. [S. l.]: [s. d.], 2020.

ROMACHO, Tania *et al.* Nutritional ingredients modulate adipokine secretion and inflammation in human primary adipocytes. *Nutrients*, [s. l.], vol. 7, no 2, 2015.

ROSEN, Hugh; GORDON, Siamon. Monoclonal antibody to the murine type 3 complement receptor inhibits adhesion of myelomonocytic cells in vitro and inflammatory cell recruitment in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, [s. l.], vol. 166, no 6, 1987.

ROSS, Jacob A. *et al.* SIRT1 regulates nuclear number and domain size in skeletal muscle fibers. *Journal of Cellular Physiology*, [s. l.], vol. 233, no 9, p. 7157–7163, 2018.

ROZANCE, Paul J. *et al.* Anemic hypoxemia reduces myoblast proliferation and muscle growth in late gestation fetal sheep. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, [s. l.], vol. 321, no 3, 2021.

RUBIO, Karla *et al.* Nutriepigenomics in Environmental-Associated Oxidative Stress. [S. l.]: [s. d.], 2023.

RUIZ, Mario *et al.* AdipoR2 recruits protein interactors to promote fatty acid elongation and membrane fluidity. *Journal of Biological Chemistry*, [s. l.], vol. 299, no 6, 2023.

RUNEBERG, Patrik *et al.* Transformations and antioxidative activities of lignans and stilbenes at high temperatures. *Food Chemistry*, [s. l.], vol. 404, 2023.

RUSTAN, Arild C; DREVON, Christian A. Fatty Acids: Structures and Properties. *In: ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES*. [S. l.]: [s. d.], 2005.

SABLE, P. S. *et al.* Maternal omega 3 fatty acid supplementation during pregnancy to a micronutrient-imbalanced diet protects postnatal reduction of brain neutrophins in the rat offspring. *Neuroscience*, [s. l.], vol. 217, p. 46–55, 2012.

SALAZAR-PETRES, Esteban *et al.* Placental structure, function, and mitochondrial phenotype relate to fetal size in each fetal sex in mice. *Biology of Reproduction*, [s. l.], vol. 106, no 6, 2022.

SANCHEZ, Wilfried; BURGEOT, Thierry; PORCHER, Jean Marc. A novel “Integrated Biomarker Response” calculation based on reference deviation concept. *Environmental Science and Pollution Research*, [s. l.], 2013.

SANIOTIS, Arthur; HENNEBERG, Maciej. Evolutionary Medicine and Future of Humanity: Will Evolution Have the Final Word?. *Humanities*, [s. l.], vol. 2, no 2, p. 278–291, 2013.

SANTORO, Marta *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression along the male genital system and its role in male fertility. *Human Reproduction*, [s. l.], vol. 35, no 9, 2020.

SANTOS-ROSENDO, Celeste *et al.* Placental Adaptive Changes to Protect Function and Decrease Oxidative Damage in Metabolically Healthy Maternal Obesity. *Antioxidants*, [s. l.], vol. 9, no 9, p. 794, 2020.

SARRUF, David A. *et al.* Expression of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  in key neuronal subsets regulating glucose metabolism and energy homeostasis. *Endocrinology*, [s. l.], vol. 150, no 2, 2009.

SAUCEDO, Renata *et al.* Role of Oxidative Stress and Inflammation in Gestational Diabetes Mellitus. *Antioxidants*, [s. l.], vol. 12, no 10, p. 1–14, 2023.

SCANFERLATO, Roberta *et al.* Hexadecenoic fatty acid positional isomers and De Novo PUFA synthesis in colon cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 20, no 4, 2019.

SCHEIDL, Taylor B. *et al.* Maternal obesity and programming of metabolic syndrome in the offspring: searching for mechanisms in the adipocyte progenitor pool. *BMC Medicine*, [s. l.], vol. 21, no 1, p. 1–13, 2023.

SCHIAFFINO, Stefano *et al.* Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS Journal*, [s. l.], vol. 280, no 17, p. 4294–4314, 2013.

SCHIAFFINO, Stefano; REGGIANI, Carlo. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiological reviews*, [s. l.], vol. 91, no 4, p. 1447–531, 2011a. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22013216>.

SCHÖNFELD, Peter; WOJTCZAK, Lech. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: The cellular perspective. [S. l.]: [s. d.], 2016.

SCHREURS, M.; KUIPERS, F.; VAN DER LEIJ, F. R. Regulatory enzymes of mitochondrial  $\beta$ -oxidation as targets for treatment of the metabolic syndrome. [S. l.]: [s. d.], 2010.

SCHWENK, Robert W. *et al.* Fatty acid transport across the cell membrane: Regulation by fatty acid transporters. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, [s. l.], vol. 82, no 4–6, 2010.

SEDLAK, Jozef; LINDSAY, Raymond H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, [s. l.], vol. 25, no C, p. 192–205, 1968.

SÉGUREL, Laure; BON, Céline. On the Evolution of Lactase Persistence in Humans. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, [s. l.], vol. 18, 2017.

SERHAN, By Charles N *et al.* Novel Functional Sets of Lipid-derived Mediators with Antiinflammatory Actions Generated from Omega-3 Fatty Acids via Cyclooxygenase 2 – Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and Transcellular Processing. *J Exp Med*, [s. l.], vol. 192, no 8, p. 1197–1204, 2000.

SERHAN, Charles N.; LEVY, Bruce D. Resolvins in inflammation: Emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. [S. l.]: [s. d.], 2018.

SFERRUZZI-PERRI, Amanda N. *et al.* Placental mitochondria adapt developmentally and in response to hypoxia to support fetal growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [s. l.], vol. 116, no 5, 2019.

SFERRUZZI-PERRI, Amanda N. *et al.* Placental phenotype and the insulin-like growth factors: resource allocation to fetal growth. [S. l.]: [s. d.], 2017.

SHAFI BHAT, Ramesa *et al.* Omega 3 Fatty Acid as A Health Supplement: an Overview of its Manufacture and Regulatory Aspects. *Current Research in Nutrition and Food Science*, [s. l.], vol. 12, no 1, p. 70–90, 2024.

SHAHJAHAN, Md. Skeletal muscle development in vertebrate animals. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, [s. l.], vol. 1, no 2, p. 139–148, 2015.

SHANAB, Sanaa M.M.; HAFEZ, Rehab M.; FOUAD, Ahmed S. A review on algae and plants as potential source of arachidonic acid. [S. l.]: [s. d.], 2018.

SHARMA, Bhawana; DABUR, Rajesh. Role of Pro-inflammatory Cytokines in Regulation of Skeletal Muscle Metabolism: A Systematic Review. *Current Medicinal Chemistry*, [s. l.], vol. 27, no 13, 2018.

SHERRATT, Samuel C.R. *et al.* EPA and DHA containing phospholipids have contrasting effects on membrane structure. *Journal of Lipid Research*, [s. l.], vol. 62, 2021.

SHRESTHA, Nirajan *et al.* Maternal diet high in linoleic acid alters offspring fatty acids and cardiovascular function in a rat model. *British Journal of Nutrition*, [s. l.], vol. 127, no 4, p. 540–553, 2021.

SHRESTHA, Nirajan *et al.* Role of omega-6 and omega-3 fatty acids in fetal programming. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, [s. l.], vol. 47, no 5, p. 907–915, 2020b. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1440-1681.13244>.

SILVA, Adriana R.; MORAES, Bianca P.T.; GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, Cassiano F. Mediterranean diet: Lipids, inflammation, and malaria infection. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 21, no 12, p. 1–22, 2020.

SIMOPOULOS, Artemis. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*, [s. l.], vol. 8, no 3, p. 128, 2016a. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/8/3/128>.

SIMOPOULOS, A P. Dietary Changes and Their Influence in the Development of Kidney Disease. *Kidney and Dialysis*, [s. l.], vol. 2, no 2, p. 131–137, 2022.

SIMOPOULOS, A P. Human Requirement for N-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Poultry Science*, [s. l.], vol. 79, p. 961–970, 2000.

SIMOPOULOS, A P. Importance of the omega-6/omega-3 balance in health and disease: Evolutionary aspects of diet. *World Review of Nutrition and Dietetics*, [s. l.], vol. 102, p. 10–21, 2011a.

SIMOPOULOS, Artemis P. Omega-6 and omega-3 fatty acids: Endocannabinoids, genetics and obesity. *OCL*, [s. l.], vol. 27, p. 7, 2020. Disponível em: <https://www.ocl-journal.org/10.1051/ocl/2019046>.

SIMOPOULOS, Artemis. The FTO Gene, Browning of Adipose Tissue and Omega-3 Fatty Acids. *Lifestyle Genomics*, [s. l.], vol. 9, no 2–4, p. 123–126, 2016b. Disponível em: <https://karger.com/article/doi/10.1159/000448617>.

SIMOPOULOS, Artemis P; DINICOLANTONIO, James J. The importance of a balanced  $\omega$ -6 to  $\omega$ -3 ratio in the prevention and management of obesity. *Open Heart*, [s. l.], vol. 3, no 2, p. e000385, 2016. Disponível em: <https://openheart.bmj.com/lookup/doi/10.1136/openhrt-2015-000385>.

SIOEN, Isabelle *et al.* Systematic Review on N-3 and N-6 Polyunsaturated Fatty Acid Intake in European Countries in Light of the Current Recommendations - Focus on Specific Population Groups. [S. l.]: [s. d.], 2017a.

SMOLIŃSKA, Katarzyna *et al.* Nutritional Quality Implications: Exploring the Impact of a Fatty Acid-Rich Diet on Central Nervous System Development. *Nutrients*, [s. l.], vol. 16, no 7, p. 1093, 2024.

SOMER, Rebecca A.; THUMMEL, Carl S. Epigenetic inheritance of metabolic state. [S. l.]: [s. d.], 2014.

SONG, Wenxin *et al.* Electrostatic sheathing of lipoprotein lipase is essential for its movement across capillary endothelial cells. *Journal of Clinical Investigation*, [s. l.], vol. 132, no 5, 2022.

SPAULDING, Shinjini C.; BOLLAG, Wendy B. The role of lipid second messengers in aldosterone synthesis and secretion. [S. l.]: [s. d.], 2022.

SRINIVAS, Vilasagaram *et al.* Maternal omega-3 fatty acid deficiency affects fetal thermogenic development and postnatal musculoskeletal growth in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, [s. l.], vol. 112, p. 109218, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109218>.

STABLES, Melanie J; GILROY, Derek W. Progress in Lipid Research Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. *Progress in Lipid Research*, [s. l.], vol. 50, no 1, p. 35–51, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2010.07.005>.

STANIROWSKI, Paweł Jan. Expression of placental lipid transporters in pregnancies complicated by gestational and type 1 diabetes mellitus. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, [s. l.], vol. 293, 2024.

STERN, Christina *et al.* Placental endocrine activity: Adaptation and disruption of maternal glucose metabolism in pregnancy and the influence of fetal sex. [S. l.]: [s. d.], 2021.

STEUR, Marinka *et al.* Dietary fatty acids, macronutrient substitutions, food sources and incidence of coronary heart disease: Findings from the EPIC-CVD case-cohort study across nine european countries. *Journal of the American Heart Association*, [s. l.], vol. 10, no 23, 2021.

STOFFEL, Wilhelm *et al.* Dietary  $\omega$ 3-and  $\omega$ 6-Polyunsaturated fatty acids reconstitute fertility of Juvenile and adult Fads2-Deficient mice. *Molecular Metabolism*, [s. l.], vol. 36, no March, p. 1–12, 2020.

STORCH, Judith; CORSICO, Betina. The Multifunctional Family of Mammalian Fatty Acid-Binding Proteins. [S. l.]: [s. d.], 2023.

SULLIVAN, El; GROVE, Kl. Metabolic Imprinting of Obesity. *Forum Nutr*, [s. l.], vol. 63, no 503, 2010.

SUN, Kaiwen; MEESAPYODSUK, Dauenpen; QIU, Xiao. Biosynthetic mechanisms of omega-3 polyunsaturated fatty acids in microalgae. *Journal of Biological Chemistry*, [s. l.], vol. 300, no 9, p. 107699, 2024.

SUYUTI, Abdulloh; HENDRADI, Esti; PURWANTI, Tutiek. Physicochemical Characteristics, Entrapment Efficiency, and Stability of Nanostructured Lipid Carriers Loaded Coenzyme Q10 with Different Lipid Ratios. *Journal of Research in Pharmacy*, [s. l.], vol. 27, no 3, 2023.

SVEGLIATI-BARONI, Gianluca *et al.* Lipidomic biomarkers and mechanisms of lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*, [s. l.], vol. 144, no February, p. 293–309, 2019.

TACHTSIS, Bill *et al.* Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Mitigate Palmitate-Induced Impairments in Skeletal Muscle Cell Viability and Differentiation. *Frontiers in Physiology*, [s. l.], vol. 11, no June, p. 1–13, 2020.

TANG, Shou Bin *et al.* Inheritance of perturbed methylation and metabolism caused by uterine malnutrition via oocytes. *BMC Biology*, [s. l.], vol. 21, no 1, 2023.

TANG, Qi Qun; LANE, M. Daniel. Adipogenesis: From stem cell to adipocyte. *Annual Review of Biochemistry*, [s. l.], vol. 81, 2012.

TARIQ, Kamran; LUIKART, Bryan W. Striking a balance: PIP2 and PIP3 signaling in neuronal health and disease. [S. l.]: [s. d.], 2021.

TARRY-ADKINS, Jane L *et al.* Poor maternal nutrition and accelerated postnatal growth induces an accelerated aging phenotype and oxidative stress in skeletal muscle of male rats. *Disease Models & Mechanisms*, [s. l.], vol. 9, p. 1221–1229, 2016.

THOMAS, C. R.; OON, B. B.; LOWY, C. Placental transfer of lactate, glucose and 2-deoxyglucose in control and diabetic wistar rats. *International Journal of Experimental Diabetes Research*, [s. l.], vol. 2, no 2, 2001.

THOMPSON, Loren P.; AL-HASAN, Yazan. Impact of oxidative stress in fetal programming. [S. l.]: [s. d.], 2012.

THUESEN, E.V.; MCCULLOUGH, K.D.; CHILDRESS, J.J. Metabolic enzyme activities in swimming muscle of medusae: is the scaling of glycolytic activity related to oxygen availability?. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, [s. l.], vol. 85, no 3, p. 603–611, 2005.

TIAN, Liang *et al.* Impaired mitochondrial function results from oxidative stress in the full-term placenta of sows with excessive back-fat. *Animals*, [s. l.], vol. 10, no 2, 2020.

TIFFON, Céline. The impact of nutrition and environmental epigenetics on human health and disease. [S. l.]: [s. d.], 2018.

TIGERHOLM, Jenny *et al.* Dampening of Hyperexcitability in CA1 Pyramidal Neurons by Polyunsaturated Fatty Acids Acting on Voltage-Gated Ion Channels. *PLoS ONE*, [s. l.], vol. 7, no 9, 2012.

TOMČALA, Aleš *et al.* Fatty acid biosynthesis in chromerids. *Biomolecules*, [s. l.], vol. 10, no 8, 2020.

TONG, Jun F. *et al.* Maternal obesity downregulates myogenesis and  $\beta$ -catenin signaling in fetal skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, [s. l.], vol. 296, no 4, p. E917–E924, 2009. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.90924.2008>.

TSENG, Ping Tao *et al.* The Optimal Dosage and Duration of  $\omega$ -3 PUFA Supplementation in Heart Failure Management: Evidence from a Network Meta-Analysis. [S. l.]: Elsevier B.V., 2025.

TUMOVA, J; ANDEL, M; TRNKA, J. Excess of Free Fatty Acids as a Cause of Metabolic Dysfunction in Skeletal Muscle Skeletal. *Physiological Research*, [s. l.], vol. 65, p. 193–207, 2016.

TVRZICKA, Eva *et al.* Fatty acids as biocompounds: Their role in human metabolism, health and disease - a review. part 1: Classification, dietary sources and biological functions. [S. l.]: [s. d.], 2011.

TWINING, Cornelia *et al.* The evolutionary ecology of fatty-acid variation: implications for consumer adaptation and diversification. *Authorea Preprints*, [s. l.], p. 1–31, 2020.

UCAR, Arzu *et al.* The effect of N-acetylcysteine supplementation on the oxidative stress levels, apoptosis, DNA damage, and hematopoietic effect in pesticide-exposed fish blood. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, [s. l.], vol. 33, no 6, 2019.

UDIPI, S. A. *et al.* Variations in fat and fatty acid intakes of adult males from three regions of India. *Indian journal of public health*, [s. l.], vol. 50, no 3, 2006.

URBONAITE, Gintare *et al.* The impact of maternal high-fat diet on offspring neurodevelopment. [S. l.]: [s. d.], 2022.

URIHO, Angelo *et al.* Benefits of blended oil consumption over other sources of lipids on the cardiovascular system in obese rats. *Food & Function*, [s. l.], vol. 10, no 9, p. 5290–5301, 2019b. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=C9FO01353A>.

VALENT, Amy M. *et al.* Hyperglycemia and gestational diabetes suppress placental glycolysis and mitochondrial function and alter lipid processing. *FASEB Journal*, [s. l.], vol. 35, no 3, p. 1–14, 2021.

VAN CASTEREN, Adam *et al.* The cost of chewing: The energetics and evolutionary significance of mastication in humans. *Science Advances*, [s. l.], vol. 8, no 33, 2022.

VAN DER ZWAARD, Stephan; BROCHERIE, Franck; JASPERS, Richard T. Under the Hood: Skeletal Muscle Determinants of Endurance Performance. [S. l.]: [s. d.], 2021.

VÁSQUEZ, Valeria *et al.* Phospholipids that contain polyunsaturated fatty acids enhance neuronal cell mechanics and touch sensation. *Cell Reports*, [s. l.], vol. 6, no 1, 2014.

VIARENGO, Aldo *et al.* A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: An application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research*, [s. l.], vol. 44, no 1, 1997.

VICKERS, Mark H. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. *Nutrients*, [s. l.], vol. 6, no 6, 2014.

VIGNESHWAR, R. *et al.* Sex-specific reference intervals for Wistar albino rats: hematology and clinical biochemistry. *Indian Journal of Animal Health*, [s. l.], vol. 60, no 1, p. 58–65, 2021.

VON MALTZAHN, Julia *et al.* Wnt signaling in myogenesis. *Trends in Cell Biology*, [s. l.], vol. 22, no 11, p. 602–609, 2012.

VORNIC, Ioana *et al.* Oxidative Stress and Placental Pathogenesis: A Contemporary Overview of Potential Biomarkers and Emerging Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 25, no 22, p. 12195, 2024a.

VOROS, Charalampos *et al.* The Role of Placental Mitochondrial Dysfunction in Adverse Perinatal Outcomes: A Systematic Review. *Journal of Clinical Medicine*, [s. l.], vol. 14, no 11, p. 3838, 2025.

WACHIRA, John K.; LARSON, Mark K.; HARRIS, William S. N-3 Fatty acids affect haemostasis but do not increase the risk of bleeding: Clinical observations and mechanistic insights. *British Journal of Nutrition*, [s. l.], vol. 111, no 9, p. 1652–1662, 2014.

WADHWA, Pathik D. *et al.* Developmental origins of health and disease: Brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms. [S. l.]: [s. d.], 2009.

WANG, Yu *et al.* Acetyl-CoA Carboxylases and Diseases. [S. l.]: [s. d.], 2022.

WANG, Teng *et al.* Changes in bioactive lipid mediators in response to short-term exposure to ambient air particulate matter: A targeted lipidomic analysis of oxylipin signaling pathways. *Environment International*, [s. l.], vol. 147, 2021.

WANG, Shuxian *et al.* Hyperglycemia in Pregnancy-Associated Oxidative Stress Augments Altered Placental Glucose Transporter 1 Trafficking via AMPK $\alpha$ /p38MAPK Signaling Cascade. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 23, no 15, 2022.

WANG, Hao *et al.*  $\omega$ -3 Polyunsaturated fatty acids affect lipopolysaccharide-induced maturation of dendritic cells through mitogen-activated protein kinases p38. *Nutrition*, [s. l.], vol. 23, no 6, 2007.

WASSERMAN, Aaron H.; VENKATESAN, Manigandan; AGUIRRE, Aitor. Bioactive Lipid Signaling in Cardiovascular Disease, Development, and Regeneration. [S. l.]: [s. d.], 2020.

WATERLAND, Robert A.; MICHELS, Karin B. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. [S. l.]: [s. d.], 2007.

WEDAN, Riley J.; LONGENECKER, Jacob Z.; NOWINSKI, Sara M. Mitochondrial fatty acid synthesis is an emergent central regulator of mammalian oxidative metabolism. [S. l.]: [s. d.], 2024.

WELLER, M. M.D.C.A. *et al.* Effect of maternal nutrition and days of gestation on pituitary gland and gonadal gene expression in cattle. *Journal of Dairy Science*, [s. l.], vol. 99, no 4, 2016.

WENNING, Leonie *et al.* Increasing jojoba-like wax ester production in *Saccharomyces cerevisiae* by enhancing very long-chain, monounsaturated fatty acid synthesis. *Microbial Cell Factories*, [s. l.], vol. 18, no 1, 2019.

WESOŁOWSKI, Stephanie R. *et al.* Switching obese mothers to a healthy diet improves fetal hypoxemia, hepatic metabolites, and lipotoxicity in non-human primates. *Molecular Metabolism*, [s. l.], vol. 18, p. 25–41, 2018b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.09.008>.

WIKTOROWSKA-OWCZAREK, Anna; BEREZINSKA, Malgorzata; NOWAK, Jerzy Z. PUFAs: Structures, metabolism and functions. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, [s. l.], vol. 24, no 6, p. 931–941, 2015.

WILSON, Rebecca L. *et al.* Insulin-like growth factor 1 signaling in the placenta requires endothelial nitric oxide synthase to support trophoblast function and normal fetal growth. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, [s. l.], vol. 320, no 5, p. R653–R662, 2021.

WOSCZYNA, Michael N.; RANDO, Thomas A. A Muscle Stem Cell Support Group: Coordinated Cellular Responses in Muscle Regeneration. *Developmental Cell*, [s. l.], vol. 46, no 2, p. 135–143, 2018.

WOUDSTRA, Trudy; THOMSON, Alan B.R. Nutrient absorption and intestinal adaptation with ageing. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, [s. l.], vol. 16, no 1, 2002.

WU, Zhimin *et al.* IGF2 May Enhance Placental Fatty Acid Metabolism by Regulating Expression of Fatty Acid Carriers in the Growth of Fetus and Placenta during Late Pregnancy in Pigs. *Genes*, [s. l.], vol. 14, no 4, 2023.

WU, Fan *et al.* *Oxidative Stress: Placenta Function and Dysfunction*. [S. l.]: [s. d.], 2016.

WU, Shuangcheng Alivia; KERSTEN, Sander; QI, Ling. *Lipoprotein Lipase and Its Regulators: An Unfolding Story*. [S. l.]: [s. d.], 2021.

WU, Fan; TIAN, Fu Ju; LIN, Yi. *Oxidative stress in placenta: Health and diseases*. *BioMed Research International*, [s. l.], vol. 2015, 2015.

WYMANN, Matthias P.; SCHNEITER, Roger. *Lipid signalling in disease*. [S. l.]: [s. d.], 2008.

XAVIER, Soniya *et al.* High maternal omega-3 supplementation dysregulates body weight and leptin in newborn male and female rats: Implications for hypothalamic developmental programming. *Nutrients*, [s. l.], vol. 13, no 1, p. 1–19, 2021.

XU, Peng *et al.* Maternal and Placental DNA Methylation Changes Associated with the Pathogenesis of Gestational Diabetes Mellitus. *Nutrients*, [s. l.], vol. 15, no 1, 2023.

YAMASHITA, Atsushi *et al.* *Glycerophosphate/Acylglycerophosphate acyltransferases*. [S. l.]: [s. d.], 2014.

YAN, Xu *et al.* Developmental Programming of Fetal Skeletal Muscle and Adipose Tissue Development. *Journal of Genomics*, [s. l.], vol. 1, p. 29–38, 2013b. Disponível em: <http://www.jgenomics.com/v01p0029.htm>.

YANG, Yiwei *et al.* Effects of different n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids ratios on lipid metabolism in patients with hyperlipidemia: a randomized controlled clinical trial. *Frontiers in Nutrition*, [s. l.], vol. 10, no June, p. 1–10, 2023a.

YANG, Leilei *et al.* Neuronal lipolysis participates in PUFA-mediated neural function and neurodegeneration. *EMBO reports*, [s. l.], vol. 21, no 11, 2020.

YANG, Yike *et al.* Reactive Oxygen Species are Essential for Placental Angiogenesis during Early Gestation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [s. l.], vol. 2022, 2022.

YANG, Bo *et al.* Yin-yang mechanisms regulating lipid peroxidation of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the central nervous system. [S. l.]: [s. d.], 2019.

YEN, Chi Liang Eric *et al.* DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis. [S. l.]: [s. d.], 2008.

YOO, Andrew S.; CRABTREE, Gerald R. ATP-dependent chromatin remodeling in neural development. [S. l.]: [s. d.], 2009.

YOSHIKAWA, Tomohiro *et al.* Cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. *Molecular Endocrinology*, [s. l.], vol. 17, no 7, 2003.

YU, Jing *et al.* Update on glycerol-3-phosphate acyltransferases: The roles in the development of insulin resistance. *Nutrition and Diabetes*, [s. l.], vol. 8, no 1, 2018.

ZAHAN, Oana Maria *et al.* The evaluation of oxidative stress levels in obesity. *Medicine and Pharmacy Reports*, [s. l.], vol. 70, no 6, p. 2241–2244, 2019.

ZALOGA, Gary P. Narrative review of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation upon immune functions, resolution molecules and lipid peroxidation. [S. l.]: MDPI AG, 2021.

ZAMBON, Marta *et al.* Inflammatory and Oxidative Responses in Pregnancies With Obesity and Periodontal Disease. *Reproductive Sciences*, [s. l.], vol. 25, no 10, p. 1474–1484, 2018.

ZAZULA, Matheus Felipe *et al.* Advances in Oral Drug Delivery Systems for Natural Polyunsaturated Fatty Acids: Enhancing Bioavailability and Therapeutic Potential. *Pharmaceutics*, [s. l.], vol. 17, no 11, p. 1377, 2025.

ZAZULA, Matheus Felipe *et al.* An Early and Sustained Inflammatory State Induces Muscle Changes and Establishes Obesogenic Characteristics in Wistar Rats Exposed to the MSG-Induced Obesity Model. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], vol. 24, no 5, 2023.

ZEYDA, Maximilian *et al.* Polyunsaturated Fatty Acids Block Dendritic Cell Activation and Function Independently of NF- $\kappa$ B Activation. *Journal of Biological Chemistry*, [s. l.], vol. 280, no 14, p. 14293–14301, 2005.

ZHANG, Lei *et al.* A multiplexed cell assay in Hepg2 cells for the identification of delta-5, delta-6, and delta-9 desaturase and elongase inhibitors. *Journal of Biomolecular Screening*, [s. l.], vol. 15, no 2, 2010.

ZHANG, Xin *et al.* Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Intake and Blood Pressure: A Dose-Response Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of the American Heart Association*, [s. l.], vol. 11, no 11, 2022a.

ZHANG, Ronghua *et al.* The difference in nutrient intakes between Chinese and mediterranean, Japanese and american diets. *Nutrients*, [s. l.], vol. 7, no 6, p. 4661–4688, 2015.

ZHAO, Lei *et al.* CD36 Senses Dietary Lipids and Regulates Lipids Homeostasis in the Intestine. [S. l.]: [s. d.], 2021.

ZHOU, Xiaoling *et al.* Evidence for liver energy metabolism programming in offspring subjected to intrauterine undernutrition during midgestation. *Nutrition and Metabolism*, [s. l.], vol. 16, no 1, 2019.

ZHU, Yongjian; BO, Yacong; LIU, Yanhua. Dietary total fat, fatty acids intake, and risk of cardiovascular disease: A dose-response meta-analysis of cohort studies. *Lipids in Health and Disease*, [s. l.], vol. 18, no 1, p. 1–14, 2019a.

## ANEXOS



Nº 1459 a

## CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.

## STATEMENT

The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22<sup>nd</sup> 2011, **CERTIFIES** that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.

**PROCESSO/PROCESS:** 23075.014759/2022-15

**APROVADO/APPROVAL:** 12/08/2024 – R.O. 07/2024

**TÍTULO:** Avaliação do efeito da suplementação crônica com ácidos graxos polinsaturados sobre o desenvolvimento embrionário e programação metabólica muscular

**TITLE:** Evaluation of the effect of chronic supplementation with polysaturated fatty acids on embryo development and muscular metabolic programming of Wistar r

**AUTORES/AUTHORS:** Katya Naliwaiko, Matheus Felipe Zazula, Edneia Amancio de Souza Ramos Cavalieri, Elielton Horlem da Luz, Shersey Gonçalves de O Fernandes.

**DEPARTAMENTO/DEPARTMENT:** Biologia Celular.

**Coordenador(a) da CEUA**



Documento assinado eletronicamente por **NICASSIA DE SOUSA OLIVEIRA, INSTITUCIONAL**, em 29/08/2024, às 15:01, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **MARIA CRISTINA LEME GODOY DOS SANTOS, VICE / SUPLENTE CHEFE DO DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR - BL**, em 29/08/2024, às 19:37, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **6980826** e o código CRC **54E4DD56**.