



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

MARIA CLARA ALVES SCHROEDER

**EFEITOS DA OBESIDADE PATERNA INDUZIDA POR
SUPERNUTRIÇÃO LACTACIONAL NA EXPRESSÃO DE
NEUROPEPTÍDEOS HIPOTALÂMICOS ENVOLVIDOS NO
CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR EM SUAS PROLES**

MARIA CLARA ALVES SCHROEDER

**EFEITOS DA OBESIDADE PATERNA INDUZIDA POR
SUPERNUTRIÇÃO LACTACIONAL NA EXPRESSÃO DE
NEUROPEPTÍDEOS HIPOTALÂMICOS ENVOLVIDOS NO
CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR EM SUAS PROLES**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ernane Torres Uchôa

Londrina

2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Schroeder, Maria Clara Alves .

Efeitos da obesidade paterna induzida por supernutrição lactacional na expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos envolvidos no controle da ingestão alimentar em suas proles / Maria Clara Alves Schroeder. - Londrina, 2026.
44 f.

Orientador: Ernane Torres Uchôa.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2026.

Inclui bibliografia.

1. supernutrição lactacional - Tese. 2. programação metabólica - Tese. 3. obesidade paterna - Tese. 4. ingestão alimentar - Tese. I. Uchôa, Ernane Torres. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

CDU 612

MARIA CLARA ALVES SCHROEDER

**EFEITOS DA OBESIDADE PATERNA INDUZIDA POR
SUPERNUTRIÇÃO LACTACIONAL NA EXPRESSÃO DE
NEUROPEPTÍDEOS HIPOTALÂMICOS ENVOLVIDOS NO
CONTROLE DA INGESTÃO ALIMENTAR EM SUAS PROLES**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Ernane Torres Uchôa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Ana Carolina Inhasz Kiss
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Profa. Dra. Priscila Cassolla
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 27 de agosto de 2026

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que permitiu que tudo isso fosse possível, que abriu todas as portas quando eu não sabia qual era o caminho certo, que me deu força e direcionamento, e que colocou pessoas especiais durante o trajeto. À minha família, por me apoiar mesmo sem entender minhas escolhas, por me dar suporte sem medir esforços, e por me proporcionar condições de sonhar. Ao José, meu companheiro e incentivador, por acreditar em mim e segurar as pontas quando as coisas ficaram complicadas. Obrigada por entender quando eu não podia estar presente nem física nem mentalmente, e por ser a minha base.

Ao professor Dr. Ernane Torres Uchôa, meu orientador, que me apresentou a fisiologia durante a graduação de uma forma tão fascinante que não tive como olhar para outro caminho, e que há mais de quatro anos abriu as portas do seu laboratório para mim, me acolheu, me ensinou, me incentivou e muitas vezes confiou mais em mim do que eu mesma. Obrigada pelo exemplo, pela compreensão e por ter me dado a oportunidade de fazer ciência.

Aos meus colegas de laboratório, pelas conversas diárias, pelo esforço para ajudar em experimentos, pelos ensinamentos e paciência com cada dúvida, e pela mão amiga sempre que precisei. O ambiente gentil que temos faz o processo ser mais leve e a jornada mais rica. Particularmente, agradeço a Polyana K. Shishido, peça fundamental para que esse projeto fosse possível e a primeira pessoa que me acolheu no laboratório e me apresentou a pesquisa, sempre a postos para me ensinar e me aconselhar.

E ao Fabiano T. Tsutsui, me faltam palavras para expressar tamanha gratidão. Obrigada por ser um parceiro de laboratório tão leal e genuinamente disposto a ajudar, pelas incontáveis escutas e discussões sobre minhas hipóteses, por ler meus materiais, pela paciência em sempre me dar sua opinião sobre tudo – não importa quantas vezes eu perguntasse –, por prontamente se disponibilizar todas as vezes que eu precisei de ajuda para fazer algum experimento, e por me ajudar a entender o que é ser um pesquisador. Mas além de muita coisa que nem cabe aqui, obrigada por ser amigo!

Agradeço ao programa de pós-graduação e aos professores e técnicos que fizeram parte da construção desse caminho durante esses dois anos de mestrado. Agradeço à CAPES, pelo apoio financeiro que tornou esta pesquisa possível.

RESUMO

SCHROEDER, Maria Clara Alves. **Efeitos da obesidade paterna induzida por supernutrição lactacional na expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos envolvidos no controle da ingestão alimentar em suas proles.** Trabalho de Dissertação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

A prevalência da obesidade infantil está em constante crescimento. O conceito DOHaD (*Developmental Origins of Health and Disease*) aponta que insultos nutricionais durante o período crítico do desenvolvimento podem levar a adaptações fisiológicas através de mecanismos epigenéticos e contribuir para a programação metabólica. Estudos em roedores reforçam que as modificações metabólicas podem ser transmitidas às gerações seguintes através de mecanismos transgeracionais. A supernutrição lactacional, induzida pela redução do tamanho da ninhada, é um modelo experimental para indução de obesidade precoce, com efeitos persistentes até à idade adulta. Estudos anteriores demonstraram que a obesidade paterna induzida por supernutrição lactacional pode causar uma redução da ingestão alimentar na prole masculina. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da obesidade paterna induzida pela supernutrição lactacional nas vias envolvidas na regulação da ingestão alimentar da prole adulta. No dia pós-natal (DPN) 0, ratos Wistar machos foram divididos em ninhada normal (NN - 10 filhotes/mãe) e ninhada reduzida (NR - 3 filhotes/mãe). No DPN 90, os machos de ambos os grupos foram acasalados para gerar a segunda geração. A expressão de mRNA dos neuropeptídeos hipotalâmicos no núcleo arqueado, a concentração plasmática de leptina e a ingestão alimentar foram avaliadas na prole. Na idade adulta, a prole masculina de pai com supernutrição lactacional (NR) apresentou expressão reduzida de mRNA dos neuropeptídeos NPY, AgRP, POMC e CART quando comparada com a prole masculina de pai sem obesidade (NN). A prole masculina de pai NR também apresentou redução na ingestão alimentar e na concentração plasmática de leptina em comparação com a prole masculina de pai NN. A prole feminina não apresentou diferenças em nenhum parâmetro avaliado. Os resultados demonstram que a obesidade paterna precoce induzida por supernutrição lactacional pode interferir na via de controle da ingestão alimentar, reduzindo a expressão de mRNA de neuropeptídeos hipotalâmicos envolvidos na regulação da homeostase energética na prole masculina, indicando uma transmissão transgeracional manifestada de maneira dependente do sexo.

Palavras-chave: Redução do tamanho da ninhada; transmissão transgeracional; programação metabólica.

ABSTRACT

SCHROEDER, Maria Clara Alves. **Effects of paternal obesity induced by lactational overnutrition on the expression of hypothalamic neuropeptides involved in the control of food intake in their offspring.** Trabalho de Dissertação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

The prevalence of childhood obesity is constantly increasing. The DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) concept states that nutritional insults during this critical developmental period can lead to physiological adaptations through epigenetic mechanisms and contribute to metabolic programming. Studies in rodents reinforce that metabolic modifications can be transmitted to subsequent generations through transgenerational mechanisms. Lactation overnutrition induced by litter size reduction is an experimental model to induce early obesity, which persists until adulthood. Paternal obesity by lactation overnutrition has been shown to cause reduced food intake in the male offspring. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of paternal obesity induced by lactational overnutrition on the pathway involved in the regulation of food intake of their adult offspring. On postnatal day (PND) 0, male Wistar rats were divided into normal litter (NL - 10 pups/dam) and small litter (SL - 3 pups/dam). At PND 90, males from both groups were mated to generate the second generation. Expression of mRNA of hypothalamic neuropeptides in the arcuate nucleus, plasma leptin levels and food intake were evaluated in the offspring. In adulthood, male offspring of SL fathers showed decreased mRNA expression of the neuropeptides NPY, AgRP, POMC, and CART when compared to male offspring of NL fathers. Male offspring of SL fathers also showed reduced food intake and leptin plasma levels compared to male offspring of NL fathers. Female offspring did not show differences in any parameter. The results demonstrate that paternal obesity by lactational overnutrition reduces mRNA expression of hypothalamic neuropeptides involved in the regulation of energy homeostasis in male offspring, indicating sex-dependent transgenerational transmission.

Keywords: Litter size reduction; transgenerational transmission; metabolic programming.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Formação dos grupos de ninhada reduzida (NR) e ninhada normal (NN) da linhagem paterna e geração da prole masculina e feminina oriundas de pais NR e NN.....21
- Figura 2** – Desenho experimental do protocolo experimental. NN: ninhada normal; NR: ninhada reduzida; DPN: dia pós-natal.....22
- Figura 3** – Área sob a curva (AUC) da ingestão alimentar do DPN 25 ao 90 da prole masculina e feminina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e de ninhada reduzida (NR). Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e expressos como mediana e intervalo interquartil (1º a 3º). *p < 0,05 25
- Figura 4** – Concentração plasmática de leptina (ng/ml) na prole masculina e feminina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e ninhada reduzida (NR). Os dados foram analisados utilizando o teste t de Student e expressos como média ± erro padrão da média (EPM). *p < 0,05.....26
- Figura 5** – Expressão relativa de mRNA de AgRP (a), NPY (b), CART (c) e POMC (d) no núcleo arqueado da prole masculina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e ninhada reduzida (NR). Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e expressos como mediana e intervalo interquartil (1º a 3º). *p < 0,05.....27
- Figura 6** – Expressão relativa de mRNA de AgRP (a), NPY (b), CART (c) e POMC (d) no núcleo arqueado da prole feminina oriunda de pais de ninhada normal (NN) e ninhada reduzida (NR). Os dados foram analisados pelo teste t de Student (a) e pelo teste de Mann-Whitney (b, c, d) e expressos como média ± erro padrão da média (EPM) ou mediana, intervalo interquartil (1º a 3º). *p < 0,05.....28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α -MSH	Hormônio estimulador de melanócito α
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AgRP	Proteína relacionada ao Agouti
ARC	Núcleo arqueado
CART	Transcrito regulado por cocaína e anfetamina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
DMN	Hipotálamo Dorsomedial
DOHaD	<i>Developmental Origins of Health and Disease</i>
DPN	Dia pós-natal
IMC	Índice de Massa Corporal
LHA	Área Hipotalâmica Lateral
MCH	Hormônio concentrador de melanina
MPOA	Área Pré-óptica Medial
NN	Ninhada normal
NPY	Neuropeptídeo Y
NR	Ninhada reduzida
NTS	Núcleo do trato solitário
POHaD	<i>Paternal Origins of Health and Disease</i>
POMC	Proopiomelanocortina
PVN	Núcleo paraventricular
PYY	Peptídeo YY
RNA _m	RNA mensageiro
SISVAN	Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
TSH	Hormônio estimulador da tireoide
VMN	Hipotálamo Ventromedial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE.....	18
3	OBJETIVOS.....	19
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4	MÉTODOS.....	20
4.1	ANIMAIS.....	20
4.2	PROTOCOLO EXPERIMENTAL – SUPERNUTRIÇÃO LACTACIONAL.....	20
4.3	EUTANÁSIA.....	22
4.4	INGESTÃO ALIMENTAR CUMULATIVA.....	22
4.5	AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE LEPTINA.....	23
4.6	MICRODISSECÇÃO, EXTRAÇÃO DE RNA E PCR QUANTITATIVA EM TEMPO REAL NO ARC.....	23
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
5	RESULTADOS.....	25
5.1	INGESTÃO ALIMENTAR CUMULATIVA DO DPN 25 AO 90.....	25
5.2	CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE LEPTINA NA PROLE ADULTA.....	25
5.3	EXPRESSÃO DE mRNA DE NEUROPEPTÍDEOS OREXÍGENOS E ANOREXÍGENOS NA PROLE ADULTA.....	26
6	DISCUSSÃO.....	29
7	CONCLUSÃO.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	ANEXOS.....	44
	ANEXO A.....	44

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica não transmissível que se tornou um desafio de saúde pública. De causa multifatorial e bastante influenciada pelo ambiente obesogênico e sedentário, a obesidade é considerada uma epidemia global em crescimento contínuo (Houfflyn; Matthys; Soubry, 2017). De acordo com o SISVAN, Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional, em 2025, 71% da população brasileira adulta foi classificada com excesso de peso corporal (Brasil, 2025a). A estimativa é de que esse número continue crescendo e, em 2030, 50% da população adulta mundial - aproximadamente 3 bilhões de pessoas - apresente excesso de peso (World Obesity Federation, 2025). Esses dados não se restringem apenas à população adulta, uma vez que a prevalência do excesso de peso também apresenta índices preocupantes para população infantil e juvenil. O SISVAN indica que em 2025 a prevalência de excesso de peso foi de 31,27% para a população infantil (Brasil, 2025c) e de 33,52% para a juvenil (Brasil, 2025b). A tendência global é de aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade nessa faixa etária também, sendo estimado que em 2035 atinja o percentual de 35% (World Obesity Federation, 2024). O aumento contínuo dos casos de sobrepeso e obesidade é motivo de preocupação devido aos desfechos clínicos e sociais associados a essa condição.

A obesidade está diretamente associada ao desenvolvimento de outras comorbidades e desfechos negativos. A Organização Mundial da Saúde define a obesidade como o excesso de tecido adiposo branco, com consequente prejuízo à saúde e qualidade de vida, além do aumento do risco para desenvolvimento de doenças crônicas (WHO, 1999). Um dos indicadores diagnóstico da obesidade é o Índice de Massa Corporal (IMC) maior ou igual a 30 kg/m^2 (ABESO, 2016), porém indivíduos com sobrepeso (IMC entre 25 e $29,9 \text{ kg/m}^2$) também podem ter prejuízos à saúde devido ao excesso de gordura corporal (WHO, 1999). Mais da metade dos óbitos causados por doenças crônicas não transmissíveis são devidas ao câncer, doenças cardíacas, acidente vascular cerebral ou Diabetes Mellitus, condições que são associadas ao excesso de peso e podem ter seus desfechos acelerados por ele (World Obesity Federation, 2024). Além disso, a obesidade possui impacto econômico, social, familiar e emocional (Barbosa *et al.*, 2022). Embora amplamente discutido em relação à vida adulta, o impacto da obesidade também atinge a população infantil e juvenil. Hiperglicemia, pressão arterial elevada e alterações de

perfil lipídico relacionados ao excesso de peso também são observados nessa faixa etária (World Obesity Federation, 2024). Para além dos desfechos clínicos observados no indivíduo acometido pela obesidade, quando atinge a linhagem parental, parece haver efeitos da doença também na geração seguinte.

A obesidade parental pode aumentar o risco do desenvolvimento de alterações metabólicas em sua descendência. É bem estabelecido que a obesidade materna durante a gestação pode comprometer a saúde da mãe e trazer prejuízo ao desenvolvimento do feto (Lane *et al.*, 2015). Não se restringindo ao comprometimento na fase da gestação, evidências apontam que a obesidade parental na pré-concepção pode impactar a saúde da descendência ao longo de sua vida, atingindo até mesmo mais de uma geração seguinte (Lane *et al.*, 2015). São observadas alterações no perfil glicêmico, perfil lipídico e também no sistema reprodutivo da descendência de progenitores com obesidade, principalmente em estudos com roedores (Ornellas *et al.*, 2017). A obesidade parental aumenta o risco do desenvolvimento de obesidade no início da vida na descendência, e esse risco é maior se ambos os pais são acometidos pela condição (Landry; Parker, 2026), indicando que a obesidade não é apenas reflexo de escolhas individuais, mas resultado de uma interação entre mecanismos e sistemas complexos com origem já nas fases iniciais da vida. A obesidade nessa etapa inicial do desenvolvimento ganha destaque, pois esse é um período de alta plasticidade, em que respostas adaptativas podem impactar a vida adulta e gerações futuras (Bear, 2017).

O início do desenvolvimento embrionário e pós-natal é chamado de período crítico de desenvolvimento. O conceito DOHaD (*Developmental Origins of Health and Disease*) propõe que desde a concepção até os primeiros anos de vida existe uma janela de oportunidade, onde insultos ambientais podem aumentar o risco de desenvolvimento de doenças ao longo da vida (Lisboa *et al.*, 2021). Nesse contexto, a exposição a estímulos ambientais promove adaptações fisiológicas como resposta, as quais podem ter efeitos persistentes no funcionamento do organismo, levando ao que é chamado de programação (Silveira *et al.*, 2007). A programação é uma maneira do organismo buscar a sobrevivência, e com base nas experiências vividas, o encéfalo pode se adaptar na tentativa de antecipar um estímulo ambiental, e assim, aumentar a eficiência de resposta quando esse estímulo for vivenciado novamente (Laubach *et al.*, 2018; Lent, 2023). Entretanto, pode haver um contraste entre o ambiente real vivido na maturidade e o ambiente previsto com base nas

experiências anteriores. Com esse descompasso, há aumento do risco de desenvolvimento de doenças ou alterações metabólicas (Laubach *et al.*, 2018; Silveira *et al.*, 2007). Sendo assim, fatores ambientais podem interferir no padrão saúde-doença na vida adulta (Silveira *et al.*, 2007). A interação entre estímulo ambiental e desenvolvimento de alterações metabólicas pode ter relação com modificações da expressão gênica.

Os fatores ambientais induzem adaptações fisiológicas possivelmente através de processos epigenéticos. Mecanismos epigenéticos são processos que regulam a expressão gênica sem modificar a sequência de bases de nucleotídeos, incluindo modificações de histonas, expressão de RNA não codificante e metilação de DNA (Lent, 2023; Silveira *et al.*, 2007). Os estímulos ambientais podem causar tais modificações no indivíduo exposto, podendo provocar alterações metabólicas (Houfflyn; Matthys; Soubry, 2017). Dessa forma, as respostas adaptativas preditivas são possivelmente mediadas pelos processos epigenéticos e potencialmente transmitidas para gerações futuras através dos gametas (Silveira *et al.*, 2007). A exposição de gametas paternos ou maternos a fatores ambientais pode alterar a arquitetura epigenética celular, e através de um mecanismo de herança epigenética, aumentar a suscetibilidade à obesidade nas gerações futuras (Panera *et al.*, 2022). Com isso, aspectos nutricionais dos pais podem afetar a programação epigenética da geração seguinte e favorecer o aparecimento de doenças metabólicas, mesmo na ausência da exposição aos mesmos estímulos (Panera *et al.*, 2022). Embora a literatura esteja mais consolidada em relação às consequências da obesidade e nutrição materna, os estudos sobre os efeitos da obesidade paterna têm acumulado bastante evidência.

A influência paterna nos processos epigenéticos da descendência é pontual, e embora ocorra apenas no momento da concepção, pode impactar o metabolismo da prole. A relação entre alterações metabólicas do pai e efeitos na saúde da próxima geração é um conceito abordado por POHaD (*Paternal Origins of Health and Disease*) (Houfflyn; Matthys; Soubry, 2017). O paradigma do POHaD originou-se do conceito DOHaD, a fim de investigar a programação metabólica influenciada pela exposição a alterações metabólicas e estilo de vida, a partir da linhagem paterna (Capobianco; Pirrone, 2026). A influência paterna na saúde metabólica da sua descendência pode ocorrer por mecanismos sociais, comportamentais e, principalmente, por mecanismos biológicos, nos quais a obesidade paterna pode

gerar uma reprogramação transmitida à prole (Landry; Parker, 2026). Ao avaliar a herança epigenética pela linhagem paterna, o esperma é identificado como um provável veículo de transmissão da informação (Pentinat *et al.*, 2010; Ribó *et al.*, 2025). Estudos apontam associação entre obesidade paterna e metilação de DNA ou condensação de cromatina de espermatozoide (Batra *et al.*, 2022). Roedores machos com obesidade induzida através da alimentação hiperlipídica apresentaram alterações no espermatozoide, com mudanças no microRNA e redução de metilação em células germinativas (Houfflyn; Matthys; Soubry, 2017). Através dessa alteração no espermatozoide, a programação epigenética do pai pode ser transmitida à prole. Já foi identificada metilação de DNA em regiões regulatórias em crianças descendentes de pais com obesidade, fortalecendo o argumento de que a exposição paterna aos estímulos ambientais pode afetar a programação epigenética e que esta pode ser transmitida de forma intergeracional (Panera *et al.*, 2022). Sendo assim, o espermatozoide não transmite apenas informação genética, mas também pode transferir um registro metabólico e ambiental vivenciado pelo pai (Skerrett-Byrne *et al.*, 2025).

Nesse contexto, a manifestação da transmissão transgeracional da programação metabólica na descendência oriunda de progenitor com obesidade é observada na literatura. A avaliação da transmissão das adaptações induzidas pela supernutrição lactacional em roedores mostrou que alguns fenótipos paternos são herdados pela geração seguinte, como hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina e intolerância à glicose (Pentinat *et al.*, 2010). Da mesma maneira, ao avaliar a exposição paterna à dieta hiperlipídica observou-se que a prole feminina apresentava disfunção em células β pancreáticas e alteração na secreção de insulina, quando comparada à prole de pais com dieta normal (Ng *et al.*, 2010). Em humanos, também foi observada uma associação entre IMC paterno e parâmetros de crescimento fetal na descendência (Chen *et al.*, 2012), bem como entre quantidade de tecido adiposo paterno e quantidade de gordura corporal da descendência no período da infância (Figuerola-Colon *et al.*, 2000). Ainda, foi observado que a exposição a insulto alimentar na infância do pai parece influenciar a longevidade da descendência masculina (Kaati *et al.*, 2007). Sendo assim, alterações metabólicas paternas induzidas por estímulos ambientais parecem ser transmitidas para a próxima geração, podendo aumentar o risco de desenvolvimento

de desordens metabólicas, incluindo alterações no controle neuroendócrino do balanço energético da prole.

O organismo apresenta um controle neuroendócrino que regula o comportamento alimentar e a homeostase energética. O controle neuroendócrino envolve uma interação complexa entre mecanismos centrais e periféricos, envolvendo produção de hormônios, peptídeos e conexões neurais. Um dos hormônios que sinaliza ao hipotálamo sobre o estado fisiológico do organismo é a leptina. Secretada principalmente pelos adipócitos presentes no tecido adiposo branco, a leptina reflete o estoque de tecido adiposo e o balanço energético (Kandel *et al.*, 2023). Dentre suas principais funções está a ação como inibidor da ingestão alimentar, tendo sua secreção aumentada quando o indivíduo está alimentado e reduzida em períodos de privação alimentar (Aires, 2018). Como consequência, a liberação de leptina estimula o catabolismo, o aumento do gasto energético, e diminui o apetite (Landeiro; Quarantini, 2011). A forma longa do receptor de leptina (Ob-Rb) é bastante expressa no hipotálamo, mas é encontrada principalmente no núcleo arqueado (ARC), hipotálamo ventromedial e dorsomedial (VMN e DMN), área hipotalâmica lateral (LHA) e área pré-óptica medial (MPOA) (Stanley *et al.*, 2005). No ARC, o receptor de leptina é expresso por dois grandes grupos de neurônios: neurônios que produzem neuropeptídeos orexígenos (NPY - neuropeptídeo Y, e AgRP - proteína relacionada ao Agouti); neurônios que expressam neuropeptídeos anorexígenos (POMC - proopiomelanocortina, e CART - transcrito regulado por cocaína e anfetamina) (Stanley *et al.*, 2005). A leptina, ao agir no ARC, inibe a atividade de neurônios NPY/AgRP, reduzindo a expressão de NPY e AgRP, enquanto aumenta a ativação de neurônios POMC/CART, aumentando a expressão de POMC e CART (Stanley *et al.*, 2005; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008). Com isso, o aumento da concentração de leptina no ARC resulta em redução da ingestão alimentar (Stanley *et al.*, 2005). O papel dos neurônios NPY/AgRP e POMC/CART no controle da ingestão alimentar é regulado por interações complexas no hipotálamo.

Os neurônios NPY/AgRP estimulam a ingestão alimentar. A leptina inibe a ativação desse grupo de neurônios, assim como o peptídeo YY (PYY) e a insulina (Aires, 2018). Por outro lado, a grelina, hormônio relacionado à ingestão alimentar, os estimula (Morton *et al.*, 2006; Molina, 2021). A concentração de NPY reflete o estado nutricional, sendo sua concentração elevada em momentos de jejum e

reduzida após uma refeição (Stanley *et al.*, 2005). O AgRP, cuja concentração também é maior no jejum, está relacionado com aumento da ingestão alimentar e com a redução do gasto energético (Stanley *et al.*, 2005). O estímulo à ingestão alimentar se dá pela projeção dos neurônios orexígenos com outras regiões hipotalâmicas: núcleo paraventricular (PVN), LHA e com o próprio ARC. No ARC, há liberação de NPY e GABA para inibição de neurônios POMC (Stanley *et al.*, 2005; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008). O AgRP inibe a ação do neuropeptídeo anorexígeno POMC, pois além de aumentar a liberação de NPY e GABA – transmissores inibitórios – o AgRP é um agonista inverso do MC4R (receptor do α -MSH) (Kandel *et al.*, 2023). O α -MSH se ligaria ao receptor MC4R, ativando-o para inibição da ingestão alimentar; porém o AgRP, ao se ligar, inibe o receptor e estimula a ingestão alimentar (Bear, 2017). A conexão no PVN inibe a liberação de CRH (hormônio liberador de corticotrofina), já a conexão na LHA, estimula a liberação de orexina e do hormônio concentrador de melanina (MCH) (Velloso, 2006). O MCH e a orexina são neuropeptídeos orexígenos e estimulam a ingestão alimentar (Bear, 2017). Os neurônios que liberam MCH possuem conexões com outras regiões encefálicas, como córtex, o qual identifica a concentração de leptina e auxilia na motivação pela busca do alimento (Bear, 2017). Os neurônios que liberam orexina também apresentam conexões corticais e recebem projeções do núcleo arqueado, sendo regulados pela glicose, leptina, e pelos neurônios que expressam NPY e POMC (Molina, 2021). Por fim, NPY e AgRP reduzem a liberação do hormônio estimulador da tireoide (TSH) e adrenocorticotrófico (ACTH) e ativam o sistema nervoso parassimpático (Bear, 2017). A ativação dos neurônios orexígenos culmina no estímulo da ingestão alimentar, enquanto a ativação dos neurônios anorexígenos, por sua vez, induz a redução da ingestão alimentar.

A ativação dos neurônios POMC/CART está associada à diminuição da ingestão alimentar e estímulo do processo catabólico. POMC e CART são neuropeptídeos anorexígenos relacionados ao estado nutricional, sendo menos expressos em períodos de jejum e aumentados após a refeição (Stanley *et al.*, 2005). A POMC é um polipeptídeo precursor do hormônio estimulador de melanócito α (α -MSH), o qual participa da regulação do balanço energético ao se ligar em seu receptor no PVN e reduzir a ingestão alimentar (Morton *et al.*, 2006; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008). No PVN, o α -MSH e CART estimulam a liberação de TRH (Hormônio liberador de tireotrofina) e CRH, que regulam a secreção de TSH e

do ACTH na adeno-hipófise, os quais agem na tireoide e nas glândulas suprarrenais, respectivamente, para aumentar a taxa metabólica basal (Bear, 2017). Além disso, α -MSH e CART também aumentam o gasto energético ao se ligarem em seus receptores em neurônios pré-ganglionares simpáticos na medula espinal (Kandel *et al.*, 2023). O PVN também realiza projeções ao tronco encefálico e à medula espinal, regulando a atividade simpática (Bear, 2017). Os neurônios POMC/CART fazem projeção com outros núcleos hipotalâmicos como DMN, LHA e área perifornical (Stanley *et al.*, 2005).

Durante o processo de desenvolvimento ocorre a maturação dos circuitos neuroendócrinos, como o da homeostase energética, e alterações na alimentação nesse período podem provocar desfechos negativos na vida adulta (Barella *et al.*, 2012). Sendo assim, a infância é um período crítico de desenvolvimento, em que alterações na programação metabólica podem provocar consequências persistentes ao longo da vida. Esse contexto ressalta a importância de estudar o impacto da obesidade paterna desenvolvida antes da concepção na saúde metabólica da prole.

Nesse sentido, um modelo muito utilizado para estudo dos mecanismos e desfechos da obesidade é o modelo de supernutrição pós-natal por redução do tamanho da ninhada. Na manipulação da ninhada, com redução do tamanho da ninhada, ocorre a formação de dois grupos: grupos de ninhada normal (grupo controle) com 8 a 12 filhotes, sendo metade machos e metade fêmeas; e grupos de ninhada reduzida (grupo com obesidade), com ninhadas menores do que o habitual, com 3 a 4 filhotes, sendo 2 machos e 1 a 2 fêmeas (Souza; Moura; Lisboa, 2022). A redução de filhotes por fêmea reduz a competição por alimento (leite materno), o que por sua vez, aumenta a disponibilidade de nutrientes e calorias para o filhote, além de aumentar a concentração de triglicerídeos do leite (Lisboa *et al.*, 2021; Rodríguez-González *et al.*, 2020). Com maior ingestão calórica, a obesidade é induzida, sendo possível investigar os seus mecanismos e efeitos.

Com o modelo de supernutrição lactacional é possível estudar o ganho de peso no período pós-natal imediato, mimetizando a superalimentação precoce, e com ele observar desfechos fisiopatológicos a longo prazo (Souza; Moura; Lisboa, 2022; Wunderlich *et al.*, 2023). Além de alterações de peso corporal, também são observadas alterações bioquímicas e metabólicas (Rodríguez-González *et al.*, 2020). A obesidade induzida por supernutrição lactacional pode ainda causar a programação neuroendócrina de maneira permanente no sistema imune e em vias

regulatórias do hipotálamo (Lisboa *et al.*, 2021). Isso pode acontecer porque diferentemente de modelos de obesidade induzida através da alimentação, que só podem iniciar a partir do desmame, o modelo de redução do tamanho da ninhada induz a supernutrição no momento inicial da vida, durante a janela de oportunidade da lactação. O período de lactação é um momento de alta sensibilidade nos circuitos hipotalâmicos que controlam a homeostase energética, e com isso, podem ser geradas respostas adaptativas que envolvem o sistema endócrino e o controle do metabolismo energético, contribuindo para o desenvolvimento de desordens metabólicas e obesidade (Souza; Moura; Lisboa, 2022). Dessa forma, esse é um modelo relevante para o estudo de efeitos transgeracionais da obesidade desenvolvida no período inicial da vida.

Além dos desfechos percebidos nos animais desenvolvidos em ninhada reduzida, alguns desfechos metabólicos, como resistência insulínica e obesidade, parecem ser potencialmente transmitidos à prole (Lisboa *et al.*, 2021). Dados recentes do nosso grupo evidenciaram que a obesidade paterna induzida pelo modelo de supernutrição lactacional induz alterações metabólicas na prole, como redução da ingestão alimentar na vida adulta na prole masculina, mas não na prole feminina (Shishido *et al.*, 2026). No entanto, os mecanismos que explicam a hipofagia observada apenas na prole masculina ainda não foram esclarecidos. De fato, foi observado que a prole feminina de pai de ninhada reduzida apresentou alterações reprodutivas, enquanto a prole masculina desse modelo apresentou alterações metabólicas (Shishido *et al.*, 2026). Nesse sentido, muitos estudos relatam respostas metabólicas e hormonais diferentes em machos e fêmeas provenientes desse modelo (Lisboa *et al.*, 2021). Esses resultados evidenciam que a nutrição no momento pós-natal é importante para o desenvolvimento e para a programação metabólica do organismo. Como dito, durante o processo de desenvolvimento ocorre a maturação dos circuitos neuroendócrinos, como o da homeostase energética, e alterações na alimentação nesse momento podem ter efeitos prejudiciais na vida adulta (Barella *et al.*, 2012). Sendo assim, a infância é um período crítico de desenvolvimento, em que alterações na programação neuroendócrina podem provocar desfechos clínicos até mesmo na vida adulta, com potencial para serem transmitidos de forma transgeracional às gerações seguintes. Dessa forma, torna-se relevante o estudo das vias neuroendócrinas envolvidas no

controle da ingestão alimentar na prole de pai com obesidade por supernutrição lactacional.

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Considerando: o aumento da prevalência mundial de obesidade no início da vida; que insultos, durante este período crítico de desenvolvimento, podem gerar adaptações através da plasticidade e determinar um padrão saúde-doença que pode se prolongar até a vida adulta; que estudos com roedores mostram que tal padrão tem potencial para ser transmitido à prole; que a transmissão transgeracional pode ocorrer por mecanismos epigenéticos que influenciam a expressão gênica; e que dados prévios do laboratório mostraram redução da ingestão alimentar na prole masculina de pai com obesidade lactacional, torna-se relevante investigar o efeito da obesidade lactacional paterna na expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos envolvidos na regulação da ingestão alimentar da prole. Ainda que a influência materna na programação metabólica seja bastante estudada, na literatura ainda há escassez de estudos relacionando a obesidade paterna precoce e os efeitos em sua descendência. Assim, destaca-se a necessidade do estudo do impacto da obesidade paterna no controle da ingestão alimentar na prole.

Baseado nos resultados prévios do grupo utilizando a mesma coorte experimental de animais que observou redução da ingestão alimentar na prole masculina oriunda de pai com obesidade, a hipótese inicial era que a prole masculina apresentaria redução da expressão de mRNA dos neuropeptídeos orexígenos NPY e AgRP, considerando seu papel no estímulo da ingestão alimentar. Em relação à expressão de mRNA dos neuropeptídeos anorexígenos POMC e CART, dado seu papel na redução da ingestão alimentar, a hipótese era encontrar aumento de sua expressão. Além disso, devido à importância da leptina no controle da ingestão alimentar e na ativação e inibição de neurônios anorexígenos e orexígenos no núcleo arqueado, respectivamente, era esperado concomitante aumento de leptina na prole masculina adulta. Uma vez que não foi observada diferença na ingestão alimentar na prole feminina, também esperava-se não encontrar diferenças significativas na expressão de mRNA de neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos ou na concentração plasmática de leptina entre os grupos de prole feminina.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da obesidade paterna induzida por supernutrição lactacional no controle neuroendócrino da ingestão alimentar de sua prole adulta.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a via central da regulação da ingestão alimentar, quantificando a expressão de RNAm dos neuropeptídeos orexígenos (NPY/AgRP) e anorexígenos (POMC/CART) no núcleo arqueado da prole masculina e feminina, com intuito de identificar alterações devido à supernutrição lactacional paterna;
- Avaliar a concentração plasmática de leptina na prole masculina e feminina, a fim de observar se a obesidade paterna pode alterar a concentração na prole;
- Correlacionar os níveis periféricos de leptina e a expressão do RNAm de neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos na prole masculina e feminina, para analisar a integração entre sinais periféricos e hipotalâmicos, e possíveis alterações causadas pela obesidade paterna.

4 MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Ratos Wistar machos e fêmeas foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina e mantidos no biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas, sob condições controladas de luz (ciclo claro/escuro de 12 horas, com a fase clara a iniciar às 06:00 h) e temperatura (22 ± 2 °C), com livre acesso a água e ração (ração padrão para roedores - Nuvilab CR1, Nuvital®), exceto durante os procedimentos experimentais com privação alimentar. Os procedimentos experimentais foram conduzidos no Departamento de Ciências Fisiológicas. A Comissão de Ética no Uso de Animais aprovou a realização deste protocolo (CEUA nº 18310.2019.03, Circular CEUA nº 164/2019) (ANEXO A).

4.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL – SUPERNUTRIÇÃO LACTACIONAL

Na primeira fase do estudo, foram realizados esfregaços vaginais diariamente às 10h nas fêmeas controle para monitorização do ciclo estral e, quando em proestro, a fêmea era alocada para acasalamento com um macho controle. No dia seguinte, se os espermatozoides estivessem presentes no esfregaço, era considerado o dia gestacional 0 e a fêmea era colocada em uma caixa individual. No dia do nascimento (dia pós-natal - DPN 0) foi realizada a manipulação da ninhada para formar os grupos experimentais da linhagem paterna. Para ajustar o tamanho da ninhada, os animais foram separados em dois grupos: ninhada reduzida (NR; grupo com obesidade por supernutrição lactacional), com 3 filhotes (1 fêmea e 2 machos); e ninhada normal (NN; grupo controle), com 10 filhotes (5 fêmeas e 5 machos). Foi obtido um total de 40 ninhadas na linhagem paterna, sendo 20 NR e 20 NN. Os animais dos grupos das proles masculinas e femininas foram provenientes dessas ninhadas, e o tamanho amostral final variou de acordo com o desfecho específico analisado. Os ratos machos desenvolvidos no grupo NR apresentaram aumento do peso corporal do DPN 21 ao DPN 90, quando comparados com os machos do grupo NN, confirmando o fenótipo de obesidade no grupo com supernutrição lactacional (Shishido *et al.*, 2026). No DPN 90 da primeira geração, um macho por ninhada, dos grupos NR e NN, foi alocado para acasalamento com

fêmeas normais de mesma idade e peso normal, oriundas do Biotério Central da UEL para formar a segunda geração, a qual foi avaliada neste estudo (Figura 1).

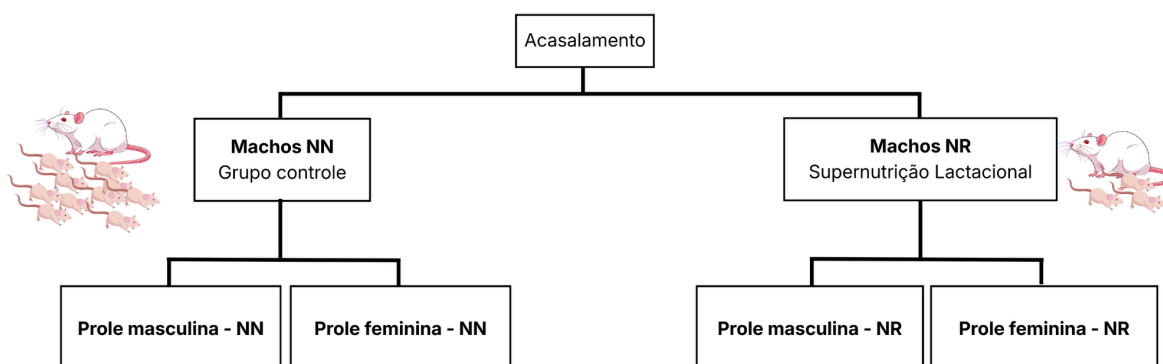


Figura 1 – Formação dos grupos de ninhada reduzida (NR) e ninhada normal (NN) da linhagem paterna e geração da prole masculina e feminina oriundas de pais NR e NN.

No 4º dia pós-natal (DPN 4) da prole oriunda de pai NR e pai NN, foi realizado o ajuste de ninhada para normalizar o tamanho da ninhada para 8 filhotes (4 machos e 4 fêmeas). No 21º dia pós-natal, no momento do desmame, as ninhadas foram separadas por sexo para formar quatro grupos: prole feminina oriunda de pai sem obesidade (NN); prole feminina oriunda de pai com obesidade (NR); prole masculina oriunda de pai sem obesidade (NN); e prole masculina de pai com obesidade (NR) (Figura 2) (Wunderlich *et al.*, 2023). Apenas um animal de cada sexo da prole, por ninhada, foi incluído em cada análise experimental e os animais não incluídos nos grupos foram eutanasiados por decapitação, de acordo com as orientações éticas.

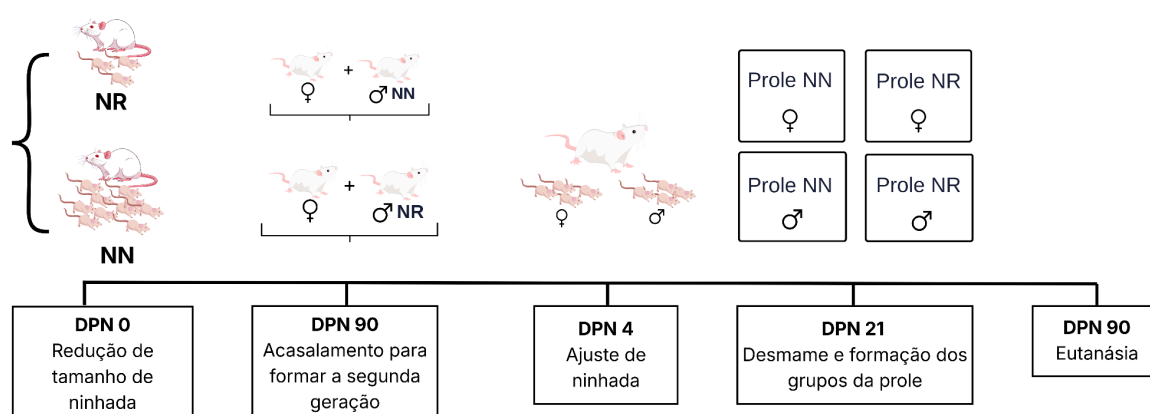


Figura 2 – Desenho experimental do protocolo experimental. NN: ninhada normal; NR: ninhada reduzida; DPN: dia pós-natal.

4.3 EUTANÁSIA

Para evitar alterações nos parâmetros metabólicos, uma vez que os tecidos coletados dos mesmos animais foram utilizados em outros protocolos experimentais, antes da eutanásia os animais de todos os grupos foram sujeitos a um jejum de seis horas e a eutanásia foi realizada por decapitação, sem anestesia (Windeløv; Pedersen; Holst, 2016), às 14h, no DPN 90 para a prole masculina e no primeiro proestro após o DPN 90 para a prole feminina. Imediatamente após a eutanásia, o sangue foi coletado em tubos contendo heparina e centrifugado a 2.500 rpm durante 20 minutos a 4°C para obtenção do plasma, o qual foi armazenado a -20°C até à análise da concentração plasmática de leptina. Imediatamente após a decapitação, o encéfalo foi removido e armazenado a -80°C para posterior análise molecular por PCR em tempo real.

4.4 INGESTÃO ALIMENTAR CUMULATIVA

As proles masculinas e femininas foram mantidas com dieta padrão, *ad libitum*. No estudo de Shishido *et al.* (2026), utilizando os mesmos animais, observou-se uma redução da ingestão alimentar na prole masculina de pai com obesidade. Esses dados foram reanalisados por meio do cálculo da área sob a curva (AUC) da ingestão alimentar ($n = 12-14$ animais/grupo). Os valores de ingestão diária durante o período do DPN 25 ao DPN 90 foram integrados para fornecer uma medida integrada da ingestão alimentar cumulativa.

4.5 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE LEPTINA

Para a análise da concentração plasmática de leptina foram utilizados 10 animais/grupo. A concentração de leptina foi medida através de um ensaio imunoenzimático, utilizando kit ELISA comercial para leptina de roedores (RayBio® ELISA Kit). O procedimento foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

4.6 MICRODISSECÇÃO, EXTRAÇÃO DE RNA E PCR QUANTITATIVA EM TEMPO REAL NO ARC

Para a análise da expressão relativa de mRNA de neuropeptídeos no ARC, foram utilizados 16-20 animais/grupo. No criostato, foram obtidas secções coronais de 1200 µm, seguindo as coordenadas do Atlas de Paxinos e Watson (ARC: -2.12 a -3.32 mm do Bregma) (Paxinos; Watson, 2007). Na secção, foi realizado o “punch” (microdissecção) com uma agulha de aço inoxidável de 1500 µm para obter a amostra do ARC. O tecido coletado foi armazenado em um microtubo contendo solução RNA later® (Ambion, Life Technologies Corporation, Carlsbad, EUA) e armazenado a -80 °C até o dia da extração de RNA.

A extração de RNA total de cada amostra foi realizada com o reagente TRIzol® (Invitrogen®, Life Technologies Corporation, Carlsbad, EUA). A concentração de RNA em cada amostra foi determinada utilizando o espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Para a síntese de cDNA, foi utilizado o *high-capacity cDNA reverse transcription kit* (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Foster City, EUA), utilizando 2,5 µL de RNA normalizado, a uma concentração de 100 ng/µL por amostra. O cDNA foi utilizado para as reações de PCR.

Para a PCR em tempo real foram utilizados reagentes TaqMan® (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Branchburg, EUA) e, seguindo as instruções do fabricante, as reações foram realizadas em volumes de 12 µL, com 4 µL de cDNA, em duplicata. As sondas utilizadas nas reações de PCR foram: β-actina (4352340E), NPY (Rn01410145_m1), AgRP (Rn01431703_g1), POMC (Rn00595020_m1) e CART (Rn00567382_m1). A água foi utilizada como controle negativo e a β-actina como gene de referência para o controle endógeno da reação. O ciclo limite (Ct) foi utilizado para calcular a expressão relativa de cada gene alvo. O Ct da β-actina (gene de referência) foi subtraído do Ct do gene alvo,

determinando-se o ΔCt de cada amostra ($\Delta Ct = Ct$ do gene de interesse – Ct do gene de referência). Para a análise dos resultados, utilizou-se o método $\Delta\Delta Ct$, que considera o ΔCt do calibrador (grupo controle) subtraído do ΔCt de cada amostra para determinar o $\Delta\Delta Ct$ ($\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ amostra – ΔCt calibrador). O valor obtido foi introduzido na equação $2^{-\Delta\Delta Ct}$, a qual representa a expressão relativa do mRNA do gene de interesse.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Primeiramente, a distribuição normal e a homogeneidade de variância entre os grupos foram avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk e de Levene, respectivamente. Os dados que apresentaram distribuição normal e homogeneidade da variância foram submetidos ao teste t de Student, e os dados expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Na ausência de distribuição normal, foi aplicado o teste de Mann-Whitney e os dados foram expressos como mediana (intervalo interquartil de 1º a 3º). O resultado foi apresentado como valor U, valor t e valor p. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

O teste t de Student foi utilizado para avaliar a concentração plasmática de leptina na prole masculina e feminina, e para analisar a expressão do mRNA de AgRP na prole feminina. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para analisar a expressão do mRNA do AgRP na prole masculina, a expressão de mRNA dos neuropeptídeos NPY, POMC e CART na prole masculina e feminina, e a área sob a curva da ingestão alimentar de ambas as proles.

5 RESULTADOS

5.1 INGESTÃO ALIMENTAR CUMULATIVA DO DPN 25 AO 90

O cálculo da área sob a curva (AUC) apresentou diferença na ingestão alimentar da prole masculina, com uma ingestão reduzida na prole masculina oriunda de pai NR [$U = 53$, $p = 0,0395$] quando comparada com a prole masculina oriunda de pai NN (Figura 3). Não houve diferença na AUC da ingestão alimentar entre os grupos de prole feminina [$U = 77$, $p = 0,7424$] (Figura 3).

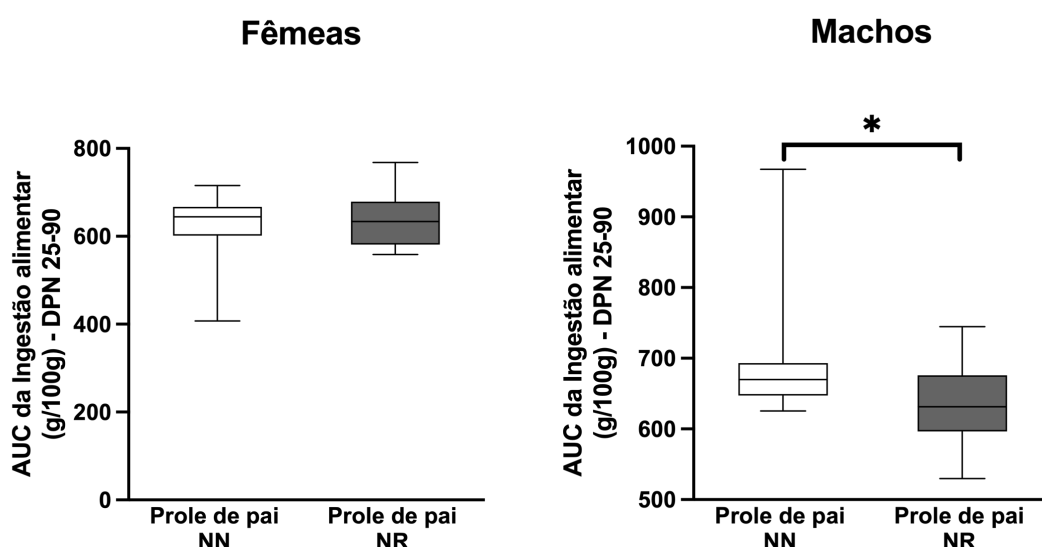


Figura 3 – Área sob a curva (AUC) da ingestão alimentar do DPN 25 ao 90 da prole masculina e feminina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e de ninhada reduzida (NR) ($n=12-14$ animais/grupo). Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e expressos como mediana e intervalo interquartil (1º a 3º). * $p < 0,05$.

5.2 CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE LEPTINA NA PROLE ADULTA

Na avaliação da concentração plasmática de leptina na prole adulta, foi observada diferença entre a prole masculina oriunda de pai com obesidade (NR) e oriunda de pai sem obesidade (NN) [$t(17) = 2,241$, $p = 0,0387$]. A concentração de leptina foi reduzida na prole masculina adulta oriunda de pai NR (Figura 4). Não foi observada diferença na concentração plasmática de leptina entre a prole feminina de pai NR e a prole de pai NN [$t(18) = 0,9108$, $p = 0,5744$] (Figura 4).

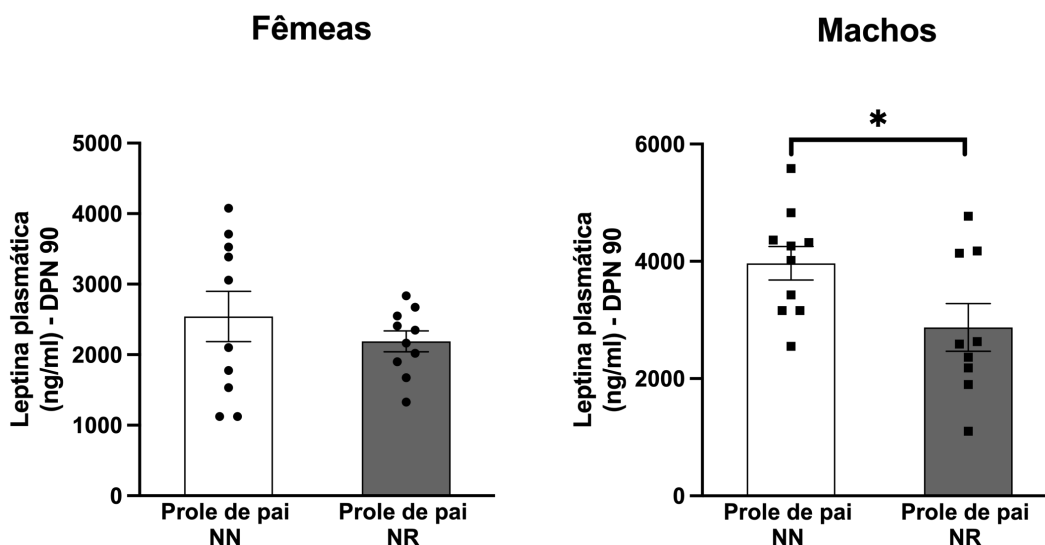


Figura 4 – Concentração plasmática de leptina (ng/ml) na prole masculina e feminina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e ninhada reduzida (NR) (n=10 animais/grupo). Os dados foram analisados utilizando o teste t de Student e expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). *p < 0,05.

5.3 EXPRESSÃO DE mRNA DE NEUROPEPTÍDEOS OREXÍGENOS E ANOREXÍGENOS NA PROLE ADULTA

Foi observada diferença na expressão relativa de mRNA de neuropeptídeos hipotalâmicos entre a prole masculina de pai com obesidade (NR) e pai sem obesidade (NN). A expressão relativa de mRNA de AgRP [U = 43, p = 0,0214], NPY [U = 64, p = 0,0009], CART [U = 69, p = 0,0028] e POMC [U = 87, p = 0,0107] apresentou redução na prole masculina de pai NR quando comparada a prole masculina de pai NN (Figura 5). Por outro lado, na prole feminina, a expressão relativa de mRNA dos neuropeptídeos hipotalâmicos AgRP [t(30) = 0,6088, p = 0,5472], NPY [U = 123, p = 0,8672], CART [U = 113, p = 0,4228] e POMC [U = 109, p = 0,3445] não apresentou diferença entre os grupos (Figura 6).

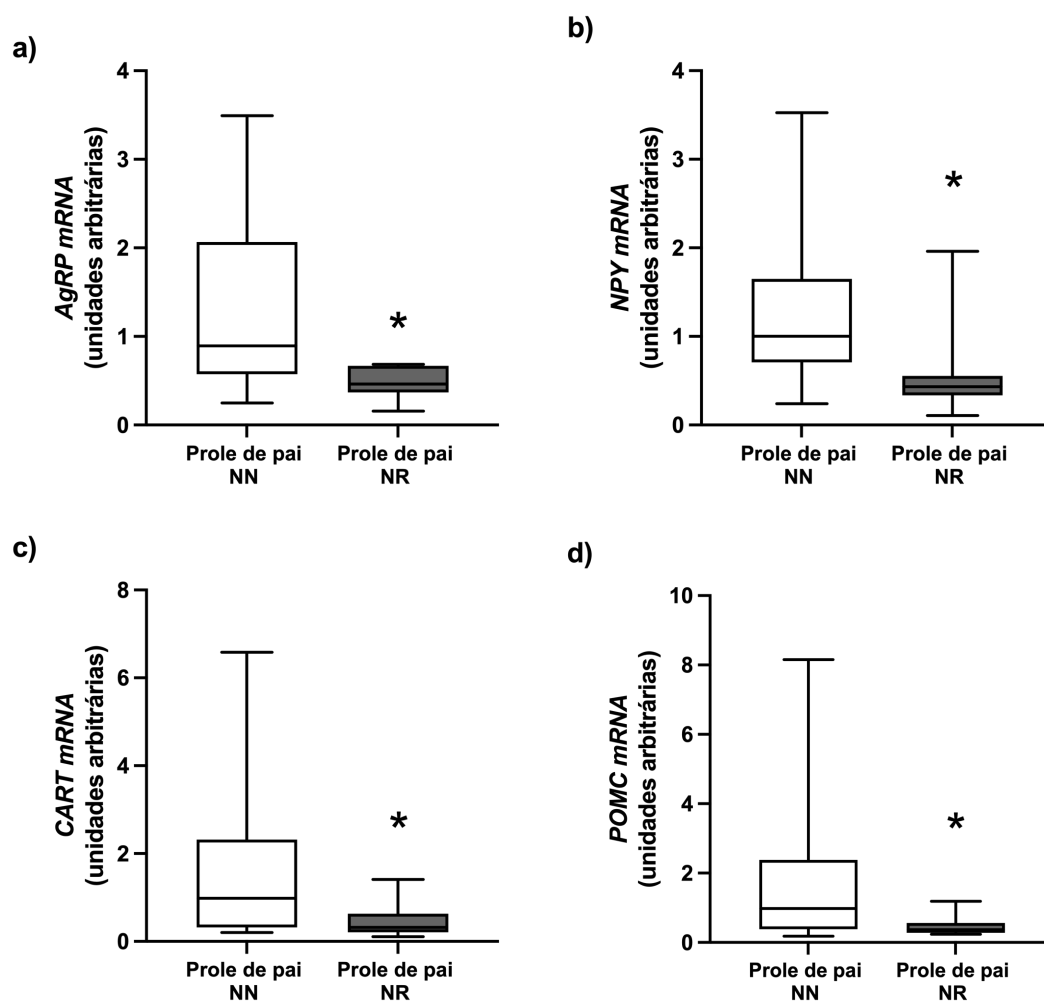


Figura 5 – Expressão relativa de mRNA de AgRP (a), NPY (b), CART (c) e POMC (d) no núcleo arqueado da prole masculina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e ninhada reduzida (NR) (n=16-20 animais/grupo). Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e expressos como mediana e intervalo interquartil (1º a 3º). *p < 0,05.

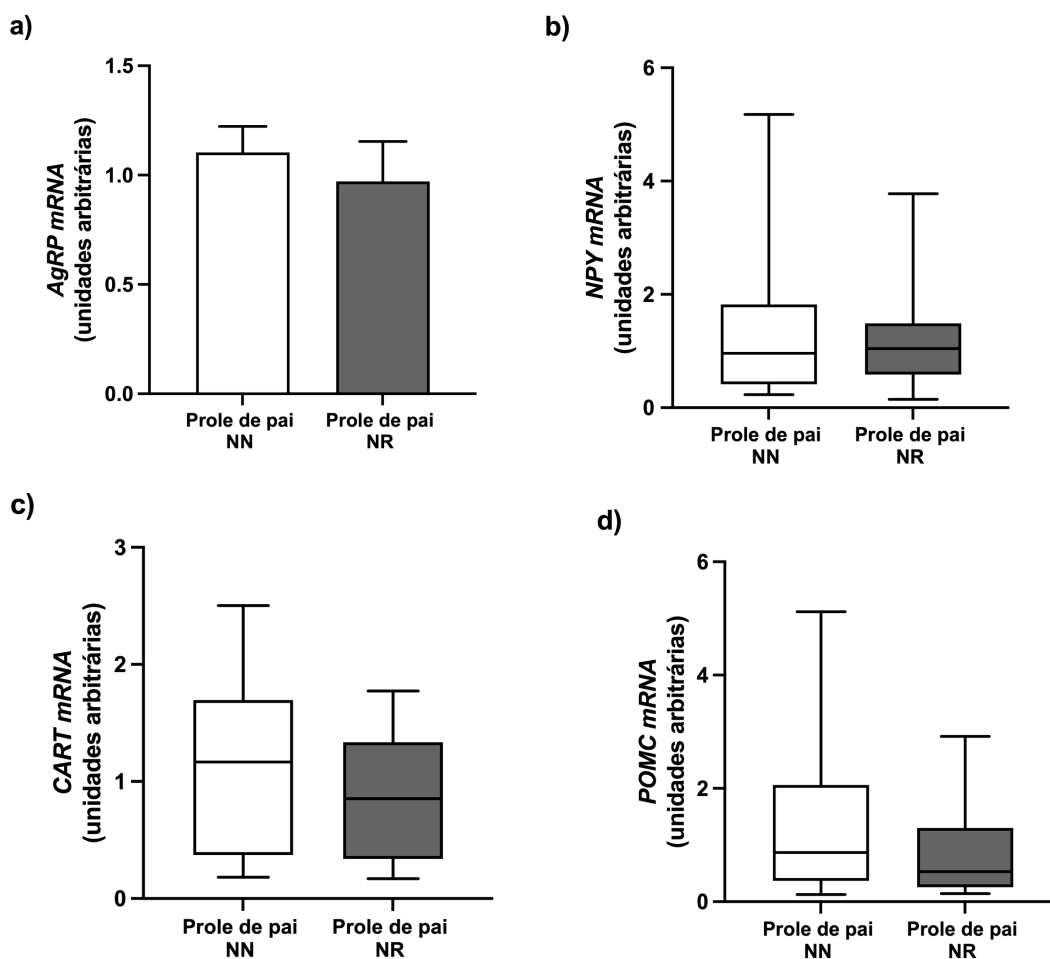


Figura 6 – Expressão relativa de mRNA de AgRP (a), NPY (b), CART (c) e POMC (d) no núcleo arqueado da prole feminina oriunda de pai de ninhada normal (NN) e de ninhada reduzida (NR) (n=16-20 animais/grupo). Os dados foram analisados pelo teste t de Student (a) e pelo teste de Mann-Whitney (b, c, d) e expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) ou mediana, intervalo interquartil (1º a 3º). *p < 0,05.

6 DISCUSSÃO

Este estudo focou na avaliação do efeito transgeracional da obesidade paterna por supernutrição lactacional nas vias de controle da ingestão alimentar na prole adulta. O principal achado foi a redução coordenada da expressão dos neuropeptídeos hipotalâmicos orexígenos e anorexígenos, acompanhada da redução da concentração plasmática de leptina e da ingestão alimentar, apenas na prole masculina. Em um protocolo experimental utilizando os mesmos animais do presente estudo, a linhagem paterna submetida a redução de ninhada desenvolveu obesidade, porém a sua descendência não apresentou diferenças no peso corporal (Shishido *et al.*, 2026). Contudo, a prole masculina de pai com obesidade precoce apresentou redução na ingestão alimentar (Shishido *et al.*, 2026), dado reforçado pela menor AUC desse parâmetro observada no presente estudo. Assim como em Shishido *et al.* (2026), não foram observadas alterações nos parâmetros relacionados com a ingestão alimentar na prole feminina. Diante dos resultados observados, a obesidade paterna desenvolvida no período crítico de desenvolvimento parece influenciar a programação neuroendócrina da prole, afetando o controle da homeostase energética e reforçando o paradigma POHaD.

Um dos achados centrais deste estudo foi a redução da expressão hipotalâmica dos neuropeptídeos orexígenos NPY e AgRP. Os neurônios NPY/AgRP localizados no ARC constituem uma das principais vias de regulação da ingestão alimentar e são essenciais para o estímulo do consumo alimentar. A redução da expressão de mRNA de NPY e AgRP na prole masculina de pai com obesidade precoce é condizente com a redução da expressão de NPY observada na prole de mãe com obesidade induzida por dieta rica em lipídeos (Morris; Chen, 2009). De fato, a redução de NPY também foi observada em ratos machos alimentados com dieta hiperlipídica (Hansen *et al.*, 2004; Morris *et al.*, 2008). Além disso, ratos machos com obesidade induzida por redução do tamanho da ninhada, equivalente à linhagem paterna, também apresentaram redução na expressão de NPY na idade adulta (Ferretti *et al.*, 2011). Por outro lado, observou-se que, ao desmame, ratos machos expostos à supernutrição lactacional, apresentaram aumento da expressão de NPY; no entanto, a expressão foi restaurada na idade adulta (Schumacher *et al.*, 2021). A expressão de mRNA do neuropeptídeo AgRP também foi reduzida na prole masculina de pai com obesidade lactacional. A dieta materna rica em lipídeos

também reduziu a expressão de mRNA de AgRP de forma dependente do sexo, levando a uma redução apenas na prole masculina (Schellong *et al.*, 2020). A diminuição da expressão do mRNA dos neuropeptídeos orexígenos constitui um mecanismo plausível para a hipofagia observada na prole masculina de pai com obesidade precoce. Em conjunto, estes resultados sugerem que a supernutrição lactacional, vivenciada pela linhagem paterna no período crítico de desenvolvimento, pode ter gerado uma resposta adaptativa de programação neuroendócrina na via orexígena que regula a homeostase energética. Além disso, esta alteração fenotípica parece ser manifestada na prole de uma forma sexo-dependente, em que mesmo na ausência de exposição direta ao desafio nutricional, a prole masculina apresenta alterações.

Neste estudo, foram também observadas diferenças na expressão de mRNA dos neuropeptídeos anorexígenos. A expressão reduzida de mRNA de POMC na prole masculina oriunda de progenitores de ninhada reduzida está de acordo com trabalhos descritos na literatura sobre a influência materna, os quais mostram que as dietas maternas hiperlipídicas também parecem reduzir a expressão deste neuropeptídeo na prole, tanto no dia seguinte ao nascimento como na idade adulta, efeito observado particularmente na prole masculina (Desai; Han; Ross, 2016; Morris; Chen, 2009). O neuropeptídeo CART também apresentou uma expressão reduzida de mRNA na prole masculina de pai com obesidade precoce. A regulação epigenética do CART não está totalmente esclarecida, mas a ligação entre a hipermetilação do gene CART e a sua expressão reduzida já foi associada; além disso, os efeitos fisiológicos do CART estão relacionados com os da POMC (Oladun; Mall; Kim, 2025). Por outro lado, em um estudo com modelo de supernutrição lactacional por redução do tamanho da ninhada, observou-se um aumento da expressão de mRNA de POMC e CART nos machos ao desmame, mas os valores foram restaurados ao DPN 90 (Schumacher *et al.*, 2021).

Considerando a redução da ingestão alimentar, era esperado que a expressão de mRNA dos neuropeptídeos anorexígenos estivesse elevada, sendo um dos estímulos para a saciedade e redução da ingestão alimentar. No entanto, os neurônios POMC/CART estão integrados em um sistema regulatório complexo, e a redução coordenada dos neuropeptídeos hipotalâmicos pode indicar a remodelação da circuitaria hipotalâmica por meio da programação metabólica herdada do pai. Estudos com ablação apenas de neuropeptídeos orexígenos mostram uma redução

significativa da ingestão alimentar, indicando o papel crítico desses neuropeptídeos no impulso alimentar (Gropp *et al.*, 2005; Luquet *et al.*, 2005). Em condições de alimentação padrão, a ablação dos neurônios NPY/AgRP no período neonatal parece levar a uma adaptação compensatória para prevenir a inanição, indicando que, neste período, a plasticidade neural é maior e pode responder com mecanismos compensatórios para manter a homeostase energética (Luquet *et al.*, 2005). Dessa forma, a hipótese é que a linhagem paterna, exposta a um ambiente com maior disponibilidade calórica durante o período neonatal, pode ter gerado uma programação neuroendócrina caracterizada por uma supressão dos neurônios NPY/AgRP como adaptação para compensar os efeitos da supernutrição. A programação gerada no pai, poderia então ser transmitida à prole masculina, resultando em menor expressão de neuropeptídeos orexígenos. Com isso, a redução da expressão de POMC/CART poderia atuar como resposta compensatória secundária para buscar a homeostase energética. Contudo, esta resposta não foi suficiente, considerando a relevância dos neuropeptídeos NPY/AgRP para o estímulo da ingestão alimentar.

A alteração coordenada na expressão dos neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos pode estar relacionada à transmissão de alterações epigenéticas persistentes originadas na linhagem paterna. Apesar de o presente estudo não ter investigado alterações em mecanismos epigenéticos, já foi observada uma relação entre supernutrição no pós-natal imediato e alterações epigenéticas em genes relacionados à ingestão alimentar, como a hipometilação no promotor de POMC (Schumacher *et al.*, 2021). Ainda, a obesidade neonatal induzida por redução do tamanho da ninhada parece alterar o perfil global de metilação do DNA do espermatozoide desses animais, e que parte dessas alterações epigenéticas persistem no espermatozoide da prole (Ribó *et al.*, 2025). Entretanto, a hipótese epigenética é especulativa e mais estudos investigando os mecanismos epigenéticos e a ativação neuronal são necessários.

O presente estudo focou nos componentes hipotalâmicos que participam da regulação homeostática da ingestão alimentar, mais especificamente no ARC, porém não se pode desconsiderar que o comportamento alimentar é regulado por outras regiões encefálicas. Embora os neurônios NPY/AgRP e POMC/CART estejam localizados no ARC, núcleo com importante papel na integração dos sinais que regulam o apetite, eles realizam projeções para outras regiões e, com isso, integram

uma rede de comunicação complexa (Stanley *et al.*, 2005). O PVN integra informações provenientes de outras regiões encefálicas, como o próprio ARC, enquanto o LHA, quando ativado, libera outros neuropeptídeos orexígenos próprios (Stanley *et al.*, 2005; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008). O tronco encefálico, mais especificamente o núcleo do trato solitário (NTS), também tem um papel importante nessa comunicação, mantendo conexão com o hipotálamo e integrando sinais viscerais e metabólicos (Stanley *et al.*, 2005; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008). Além do sistema homeostático, componentes do sistema não homeostático também regulam a ingestão alimentar. Os sistemas dopaminérgico, opioide e canabinoide participam do sistema de recompensa mesolímbico, que também participa da regulação da saciedade e da motivação pela busca do alimento (Stanley *et al.*, 2005). Devido à complexidade da integração das informações que regulam a ingestão alimentar, a hipofagia observada no presente estudo pode também ter sido influenciada por outras regiões encefálicas ou mecanismos não homeostáticos, além dos neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos. Entretanto, essas interpretações são especulativas, sendo necessários mais estudos investigando a resposta de outras regiões hipotalâmicas e não hipotalâmicas no contexto da obesidade paterna. A avaliação neuronal e molecular dos circuitos homeostático e hedônico, somada à análise comportamental e metabólica, poderá ajudar a compreender se o efeito da obesidade paterna na ingestão alimentar da prole decorre da alteração nos neuropeptídeos orexígenos e anorexígenos e/ou envolve alterações de outros sistemas.

A leptina também é um componente chave na regulação do balanço energético, participando da sinalização periférica no hipotálamo. Assim como foi observada a redução da expressão dos neuropeptídeos hipotalâmicos e da ingestão alimentar cumulativa na prole masculina de pai com obesidade, esse grupo também apresentou redução da concentração plasmática de leptina. A hipótese inicial do estudo considerava sua função de estimular a via anorexígena e, por isso, era esperado que sua concentração estivesse aumentada. Considerando que ao agir no ARC, a leptina inibe os neurônios NPY/AgRP e estimula os neurônios POMC/CART (Stanley *et al.*, 2005; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008), era esperado que a redução da ingestão fosse influenciada por essa sinalização. Entretanto, a própria ingestão alimentar é um dos estímulos à sua secreção (Stanley *et al.*, 2005; Valassi; Scacchi; Cavagnini, 2008). Vários fatores podem influenciar a secreção da leptina,

entre eles se destacam a insulina e a glicose (Cammisotto *et al.*, 2005). Outro fator fundamental para a secreção de leptina é o estoque de tecido adiposo. Todavia, é importante destacar que o estudo prévio do grupo utilizando a mesma coorte experimental de animais não encontrou diferenças tanto no peso corporal quanto no peso do tecido adiposo retroperitoneal e perigonadal nas proles de ambos os sexos (Shishido *et al.*, 2026). Dessa forma, a redução da concentração de leptina observada neste estudo pode estar relacionada com a baixa ingestão nesses animais. Diante disso, a redução da ingestão alimentar na prole masculina de pai com obesidade parece estar associada ao remodelamento da via hipotalâmica da homeostase energética, especialmente na redução dos neuropeptídeos NPY/AgRP, e não apenas à concentração de leptina. Porém, como no presente estudo não foi avaliada a sinalização da leptina ou a expressão de seu receptor, não se pode descartar uma possível alteração na sensibilidade à leptina contribuindo para esse efeito.

Ainda que as alterações observadas na prole não sejam influenciadas apenas pela ação da leptina, a regulação desse hormônio parece ser afetada pela transmissão da programação metabólica. De fato, dietas maternas ricas em gordura parecem reduzir as concentrações plasmáticas de leptina na prole no dia seguinte ao nascimento (Morris; Chen, 2009). Um único dia de vida seria insuficiente para provocar alterações hormonais, sugerindo que a alteração poderia ter sido transmitida via programação metabólica materna. Em contraste, ratos machos com modelos de indução de obesidade, como dietas hiperlipídicas ou administração de glutamato monossódico, parecem transmitir o efeito de aumento da concentração de leptina à prole (Machado *et al.*, 2021; Masuyama *et al.*, 2016). A diferença encontrada nos resultados pode ter relação com os diferentes modelos de indução de obesidade e com o momento do insulto nutricional. Contudo, estes achados reforçam que os insultos nutricionais podem impactar vias importantes de regulação da ingestão alimentar, podendo esta alteração ser transmitida à descendência.

Neste contexto, a redução dos neuropeptídeos orexígenos observada na prole pode representar uma resposta adaptativa desencadeada na linhagem paterna quando exposta a um ambiente com maior disponibilidade calórica no início da vida. No contexto de subnutrição materna, a hipótese do fenótipo econômico indica que a exposição ao insulto alimentar de subnutrição no início da vida da mãe, pode programar o organismo da descendência para otimizar a ingestão de energia

armazenada e a eficiência energética (Hales; Barker, 2001). Com essa programação herdada e no caso de descompasso entre o ambiente previsto e o ambiente real vivido pela prole, há aumento do risco de desenvolvimento de alterações metabólicas, como a obesidade ou a diabetes (Hales; Barker, 2001). Este conceito refere-se à adaptação preditiva, na qual o organismo se adapta, através de alterações epigenéticas, para antecipar o ambiente futuro, e pode transmitir as adaptações fisiológicas geradas pelas respostas adaptativas às gerações seguintes (Gluckman; Hanson; Spencer, 2005).

Embora inicialmente descritas em ambiente de subnutrição, as adaptações antecipatórias podem também ocorrer num ambiente obesogênico. Neste contexto, quando o ambiente parental apresenta maior disponibilidade calórica, a programação metabólica pode favorecer uma resposta adaptativa protetora na descendência. As evidências sugerem que o descompasso entre um ambiente materno com dieta hiperlipídica e um ambiente da descendência com alimentação normal na vida adulta está associado à melhora de parâmetros metabólicos na prole (Kisla *et al.*, 2021). Assim, os achados do presente estudo de hipofagia, combinados com a redução da expressão de neuropeptídeos orexígenos, sugerem a hipótese de um mecanismo potencialmente adaptativo, priorizando o consumo reduzido de energia como uma resposta antecipatória, prevista pela linhagem paterna e transmitida à prole. Sendo assim, a prole exibiu um fenótipo de ingestão alimentar reduzida, uma vez que se encontrava em um ambiente alimentar equilibrado e controlado. Como resultado, com a redução do estímulo para a liberação de leptina induzida pela diminuição da ingestão alimentar, o estímulo para a expressão de neuropeptídeos anorexígenos pode ter sido reduzido.

Notavelmente, no presente estudo, a prole oriunda de pai com supernutrição lactacional pode ter apresentado uma resposta adaptativa, mas desenvolveu-se sob uma dieta padrão e sem insulto alimentar direto. Em casos de um segundo desafio alimentar na geração da prole, a obesidade paterna parece aumentar o impacto metabólico, sendo ainda mais proeminente na prole masculina. A prole masculina de pai com obesidade precoce induzida pela supernutrição durante a lactação apresentou maior e mais persistente peso corporal ao consumir uma dieta hiperlipídica, bem como concentração de leptina mais elevada (Sanchez-Garrido *et al.*, 2018). Da mesma forma, a prole masculina de pai com obesidade precoce apresentou alterações metabólicas nos parâmetros glicêmicos e lipídicos apenas

após a exposição ao insulto alimentar (Cropley *et al.*, 2016). Além das alterações metabólicas serem mais pronunciadas quando a prole enfrenta diretamente o desafio alimentar, a prole masculina parece ter uma maior suscetibilidade a tais alterações.

Embora os efeitos paternos sejam menos explorados na literatura, evidências apontam de forma predominante que a prole masculina é mais vulnerável aos impactos metabólicos paternos. Sanchez-Garrido *et al.* (2018), ao avaliarem a descendência de pai com obesidade, observaram um aumento de peso e de concentração de leptina na prole masculina, mas não na feminina. Além disso, ao avaliar o impacto materno, identificou-se que a melhora na resposta metabólica na prole de mães submetidas a uma dieta hiperlipídica foi mais acentuada nos machos do que nas fêmeas (Kislal *et al.*, 2021). Em humanos, o dimorfismo sexual também foi observado ao identificar a associação entre IMC paterno e desenvolvimento fetal e concentração de cortisol apenas na prole masculina (Chen *et al.*, 2012). Estes achados corroboram o dimorfismo sexual na programação metabólica observado no presente estudo, em que apenas a prole masculina apresentou resultados significativamente diferentes em resposta à influência paterna.

A manifestação da transmissão da programação metabólica na prole masculina não indica que a prole feminina não foi afetada pela obesidade paterna. De fato, o estudo do grupo com os mesmos animais demonstrou que na prole feminina não foram observadas alterações de parâmetros metabólicos avaliados, mas sim de parâmetros reprodutivos (Shishido *et al.*, 2026), indicando que a prole feminina também é impactada pela programação transmitida pelo pai. Uma possível explicação para o dimorfismo sexual seria o efeito protetor do estradiol na regulação metabólica, oferecendo às fêmeas maior resistência metabólica (Mauvais-Jarvis; Clegg; Hevener, 2013). Nesse sentido, a prole feminina pode apresentar adaptações fisiológicas que mantêm a homeostase energética, preservando as vias de controle da ingestão alimentar avaliadas neste estudo, ou que existam mecanismos compensatórios que não foram avaliados. Sendo assim, estudos investigando a sinalização da leptina e da insulina, os mecanismos da termogênese e gasto energético, assim como outras vias de regulação da ingestão alimentar são necessários para melhor compreensão do dimorfismo sexual na manifestação da transmissão paterna da programação neuroendócrina. Além desses mecanismos, compreender a atividade locomotora, a via serotoninérgica e o sistema de

recompensa e motivação pela busca de alimentos, podem trazer maior esclarecimento dos efeitos da obesidade paterna no balanço energético nas proles masculina e feminina.

Apesar dos achados que apontam para o efeito da obesidade paterna na programação neuroendócrina da prole masculina, com remodelamento da circuitaria hipotalâmica especialmente na via orexígena, o presente estudo tem algumas limitações. A alteração dos neuropeptídeos hipotalâmicos foi avaliada apenas em nível de expressão de mRNA, não sendo realizada a avaliação da proteína, da ativação neuronal dessa região ou da conectividade funcional. Em relação à leptina, a cascata de sinalização do hormônio não foi explorada. Além disso, não foram investigadas alterações epigenéticas dos mecanismos mencionados. Ademais, a avaliação da via de controle da ingestão alimentar foi restrita à regulação homeostática, explorando a via hipotalâmica orexígena e anorexígena e a concentração de leptina. Não foi abordada a regulação hedônica, aspectos comportamentais ou outros parâmetros metabólicos e circuitos neurais que poderiam estar envolvidos no controle da ingestão alimentar. Sendo assim, estudos futuros que avaliem esses mecanismos são importantes para esclarecer os efeitos da obesidade paterna induzida no período inicial da vida no controle da homeostase energética da prole e como essa transmissão transgeracional se manifesta de maneira sexo-dependente.

Nesse contexto, compreender o impacto dos insultos ambientais na programação metabólica, bem como a influência da saúde paterna no desenvolvimento de doenças e alterações metabólicas nas gerações futuras, destaca a relevância do estudo deste tema. Para além da compreensão mecanicista, as evidências mostram que o conhecimento sobre a DOHaD está associado à qualidade da dieta no período pré-concepcional em homens e mulheres jovens (Salvesen *et al.*, 2023). Diante disso, é importante não só compreender os mecanismos fisiológicos e moleculares do desenvolvimento de doenças metabólicas, mas também divulgar este conhecimento, contribuindo para estratégias de redução da prevalência da obesidade e das comorbidades associadas.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados sugerem que a obesidade paterna precoce, induzida pela supernutrição lactacional, pode alterar a programação neuroendócrina na prole de maneira persistente, levando a uma redução coordenada dos neuropeptídeos hipotalâmicos NPY, AgRP, POMC e CART. Tendo em vista a redução da concentração plasmática de leptina e da ingestão alimentar na prole masculina oriunda de pai com obesidade, somada à ausência de diferença no peso corporal e no tecido adiposo entre os grupos, a alteração nos neuropeptídeos hipotalâmicos parece ter mais relação com o fenótipo de hipofagia programada nessa prole, do que com o estoque de tecido adiposo. Nesse sentido, a obesidade paterna induzida no início da vida pode interferir nos circuitos envolvidos no controle da ingestão alimentar, afetando a homeostase energética da prole e sendo manifestada de forma sexo-dependente.

Ressalta-se que o manuscrito referente a este trabalho foi publicado na revista *Neuropeptides*.

REFERÊNCIAS

- ABESO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes brasileiras de obesidade**. 4. ed. São Paulo: ABESO, 2016.
- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. E-book. 401 p. ISBN 9788527734028. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788527734028/>. Acesso em: 10 mai. 2026.
- BARBOSA, F. E. *et al.* Regulação do Comportamento Alimentar. *In*: BARBOSA, F. E. *et al.* **Psicobiologia** [recurso eletrônico]. Porto Alegre: SAGAH, 2022. p. 171-184.
- BARELLA, L. F. *et al.* Early exposure to a high-fat diet has more drastic consequences on metabolism compared with exposure during adulthood in rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 44, n. 6, p. 458-464, jun. 2012.
- BATRA, A. *et al.* Parental programming of offspring health: the intricate interplay between diet, environment, reproduction and development. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1289, set. 2022.
- BEAR, M. F. **Neurociências**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. E-book. 889 p. ISBN 9788582714331. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788582714331/>. Acesso em: 5 jan. 2026.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Relatórios do estado nutricional dos indivíduos acompanhados por período, fase do ciclo da vida e índice: ano 2025, mês: todos, fase da vida: adulto, sexo: todos. **Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN**: estado nutricional. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2025a. Disponível em: <https://sisaps.saude.gov.br/sisvan/relatoriopublico/estadonutricional>. Acesso em: 12 dez. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Relatórios do estado nutricional dos indivíduos acompanhados por período, fase do ciclo da vida e índice: ano 2025, mês: todos, fase da vida: adolescente, sexo: todos. **Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN**: estado nutricional. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2025b. Disponível em: <https://sisaps.saude.gov.br/sisvan/relatoriopublico/estadonutricional>. Acesso em: 12 dez. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Relatórios do estado nutricional dos indivíduos acompanhados por período, fase do ciclo da vida e índice: ano 2025, mês: todos, fase da vida: criança (5 a 10 anos), sexo: todos. **Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN**: estado nutricional. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2025c. Disponível em: <https://sisaps.saude.gov.br/sisvan/relatoriopublico/estadonutricional>. Acesso em: 12 dez. 2025.
- CAMMISOTTO, P. G. *et al.* Regulation of leptin secretion from white adipocytes by insulin, glycolytic substrates, and amino acids. **American Journal of**

Physiology-Endocrinology and Metabolism, v. 289, n. 1, p. E166-E171, jul. 2005. DOI: 10.1152/ajpendo.00602.2004.

CAPOBIANCO, E.; PIRRONE, I. The POHaD paradigm: role of the placenta in paternal programming. **Placenta**, v. 173, p. 160-165, 2026. DOI: 10.1016/j.placenta.2025.04.027.

CHEN, Y.-P. et al. Paternal body mass index (BMI) is associated with offspring intrauterine growth in a gender dependent manner. *PLoS ONE*, v. 7, n. 5, p. e36329, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0036329.

CROPLEY, J. E. et al. Male-lineage transmission of an acquired metabolic phenotype induced by grand-paternal obesity. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 9, p. 699-708, set. 2016.

DESAI, M.; HAN, G.; ROSS, M. G. Programmed hyperphagia in offspring of obese dams: altered expression of hypothalamic nutrient sensors, neurogenic factors and epigenetic modulators. **Appetite**, v. 99, p. 193-199, abr. 2016.

FERRETTI, S. et al. Developmental overfeeding alters hypothalamic neuropeptide mRNA levels and response to a high-fat diet in adult mice. **Peptides**, v. 32, n. 7, p. 1371-1383, jul. 2011.

FIGUEROA-COLON, R. et al. Paternal body fat is a longitudinal predictor of changes in body fat in premenarcheal girls. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 3, p. 829-834, 2000. DOI: 10.1093/ajcn/71.3.829.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; SPENCER, H. G. Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 20, n. 10, p. 527-533, out. 2005. DOI: 10.1016/j.tree.2005.08.001.

GROPP, E. et al. Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. **Nature Neuroscience**, v. 8, n. 10, p. 1289-1291, out. 2005.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical Bulletin**, v. 60, p. 5-20, 2001.

HANSEN, M. J. et al. Adaptive responses in hypothalamic neuropeptide Y in the face of prolonged high-fat feeding in the rat. **Journal of Neurochemistry**, v. 88, n. 4, p. 909-916, fev. 2004.

HOUFFLYN, S.; MATTHYS, C.; SOUBRY, A. Male obesity: epigenetic origin and effects in sperm and offspring. **Current Molecular Biology Reports**, v. 3, n. 4, p. 288-296, nov. 2017. DOI: 10.1007/s40610-017-0083-5.

KAATI, G. et al. Transgenerational response to nutrition, early life circumstances and longevity. **European Journal of Human Genetics**, v. 15, n. 7, p. 784-790, 2007. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201832.

KANDEL, E. R. et al. **Princípios de neurociências**. 6. ed. Porto Alegre: AMGH, 2023. E-book. 895 p. ISBN 9786558040255. Disponível em:

<https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786558040255/>. Acesso em: 23 mai. 2026.

KISLAL, S. et al. Mismatch between obesogenic intrauterine environment and low-fat postnatal diet may confer offspring metabolic advantage. **Obesity Science & Practice**, v. 7, n. 4, p. 450-461, ago. 2021.

LANDEIRO, F. M.; QUARANTINI, L. C. Obesidade: controle neural e hormonal do comportamento alimentar. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 10, n. 3, p. 236-245, dez. 2011.

LANDRY, M. J.; PARKER, J. J. The role of fathers in the intergenerational transmission of obesity. *Current Obesity Reports*, v. 15, n. 1, p. 42, 2026. DOI: 10.1007/s13679-026-00720-9.

LANE, M.; ZANDER-FOX, D. L.; ROBKER, R. L.; MCPHERSON, N. O. Peri-conception parental obesity, reproductive health, and transgenerational impacts. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 26, n. 3, p. 84-90, 2015. DOI: 10.1016/j.tem.2014.11.005.

LAUBACH, Z. M. et al. Epigenetics and the maintenance of developmental plasticity: extending the signalling theory framework. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 93, n. 3, p. 1323-1338, ago. 2018.

LENT, R. **Neurociência da mente e do comportamento**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. E-book. 106 p. ISBN 9788527739528. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788527739528/>. Acesso em: 13 jun. 2026.

LISBOA, P. C. et al. Can breastfeeding affect the rest of our life? **Neuropharmacology**, v. 200, p. 108821, dez. 2021. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2021.108821.

LUQUET, S. et al. NPY/AgRP neurons are essential for feeding in adult mice but can be ablated in neonates. **Science**, v. 310, n. 5748, p. 683-685, out. 2005.

MACHADO, M. et al. Paternal obesity and its transgenerational effects on gastrointestinal function in male rat offspring. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 54, n. 6, p. e11116, 2021.

MASUYAMA, H. et al. The effects of paternal high-fat diet exposure on offspring metabolism with epigenetic changes in the mouse adiponectin and leptin gene promoters. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 311, n. 1, p. E236-E245, jul. 2016.

MAUVAIS-JARVIS, F.; CLEGG, D. J.; HEVENER, A. L. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. **Endocrine Reviews**, v. 34, n. 3, p. 309-338, jun. 2013. DOI: 10.1210/er.2012-1055.

MOLINA, P. E. **Fisiologia endócrina**. 5. ed. Porto Alegre: AMGH, 2021. E-book. 265 p. ISBN 9786558040071. Disponível em:

<https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786558040071/>. Acesso em: 17 jul. 2026.

MORRIS, M. J.; CHEN, H. Established maternal obesity in the rat reprograms hypothalamic appetite regulators and leptin signaling at birth. **International Journal of Obesity**, v. 33, n. 1, p. 115-122, jan. 2009.

MORRIS, M. J. et al. Brain neuropeptide Y and CCK and peripheral adipokine receptors: temporal response in obesity induced by palatable diet. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 2, p. 249-258, fev. 2008.

MORTON, G. J. et al. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, v. 443, n. 7109, p. 289-295, set. 2006.

NG, S. F. et al. Chronic high-fat diet in fathers programs β -cell dysfunction in female rat offspring. **Nature**, v. 467, n. 7318, p. 963-966, 2010. DOI: 10.1038/nature09491.

OLADUN, V.; MALL, K.; KIM, J. Epigenetic modification of hypothalamic neuropeptides and metabolic hormone receptors in metabolic health. **Frontiers in Endocrinology**, v. 16, p. 1645474, 2025.

ORNELLAS, F. et al. Obese fathers lead to an altered metabolism and obesity in their children in adulthood: review of experimental and human studies. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 6, p. 551-559, nov./dez. 2017. DOI: 10.1016/j.jped.2017.02.004

PANERA, N. et al. Genetics, epigenetics and transgenerational transmission of obesity in children. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 1006008, nov. 2022.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2007.

PENTINAT, T. et al. Transgenerational inheritance of glucose intolerance in a mouse model of neonatal overnutrition. **Endocrinology**, v. 151, n. 12, p. 5617-5623, dez. 2010.

RIBÓ, S. et al. Transgenerational inheritance of hepatic steatosis in mice: sperm methylome is largely reprogrammed and inherited but does not globally influence liver transcriptome. **Environmental Epigenetics**, v. 11, p. dvaf003, 2025.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L. et al. Importance of the lactation period in developmental programming in rodents. **Nutrition Reviews**, v. 78, supl. 2, p. 32-47, dez. 2020.

SALVESEN, L. et al. Developmental origins of health and disease knowledge is associated with diet quality in preconception young adult men and women. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 14, n. 5, p. 631-638, 2023.

SANCHEZ-GARRIDO, M. A. et al. Intergenerational influence of paternal obesity on metabolic and reproductive health parameters of the offspring: male-preferential impact and involvement of Kiss1-mediated pathways. **Endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 1005-1018, fev. 2018.

SCHELLONG, K. et al. Sex-specific epigenetic alterations of the hypothalamic AgRP-Pomc system do not explain diabetes in the offspring of high-fat diet overfed maternal rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 75, p. 108257, jan. 2020.

SCHUMACHER, R. et al. Temporary effects of neonatal overfeeding on homeostatic control of food intake involve alterations in POMC promoter methylation in male rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 522, p. 111123, fev. 2021.

SHISHIDO, P. K. et al. Paternal obesity by lactation overnutrition induces sex-related metabolic and reproductive changes in their offspring. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 17, p. e10, fev. 2026. DOI: 10.1017/S2040174426100440.

SILVEIRA, P. P. et al. Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 6, p. 494-504, nov. 2007.

SKERRETT-BYRNE, D. A. et al. Dad's diet shapes the future: how paternal nutrition impacts placental development and childhood metabolic health. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 69, n. 22, p. e70261, 2025. DOI: 10.1002/mnfr.70261.

SOUZA, A. S.; MOURA, E. G.; LISBOA, P. C. Litter size reduction as a model of overfeeding during lactation and its consequences for the development of metabolic diseases in the offspring. **Nutrients**, v. 14, n. 10, p. 2045, mai. 2022.

STANLEY, S. et al. Hormonal regulation of food intake. **Physiological Reviews**, v. 85, n. 4, p. 1131-1158, out. 2005.

VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 2, p. 158-168, fev. 2008. DOI: 10.1016/j.numecd.2007.06.004.

VELLOSO, L. A. O controle hipotalâmico da fome e da termogênese: implicações no desenvolvimento da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Campinas, v. 50, n. 2, p. 165-176, abr. 2006.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a World Health Organization consultation**. Geneva: World Health Organization, 1999. 240 p. (WHO Technical Report Series, n. 894). ISSN 0512-3054.

WINDELØV, J. A.; PEDERSEN, J.; HOLST, J. J. Use of anesthesia dramatically alters the oral glucose tolerance and insulin secretion in C57Bl/6 mice. **Physiological Reports**, v. 4, n. 11, p. e12824, 2016. DOI: 10.14814/phy2.12824.

WORLD OBESITY FEDERATION. **Obesity atlas 2024**. [S. l.]: World Obesity Federation, 2024. Disponível em: <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=22>. Acesso em: 10 jan. 2026.

WORLD OBESITY FEDERATION. **Obesity atlas 2025**. [S. l.]: World Obesity Federation, 2025. Disponível em: <https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-atlas-2025>. Acesso em: 10 jan. 2026.

WUNDERLICH, A. L. M. et al. Neonatal overnutrition, but not neonatal undernutrition, disrupts CCK-induced hypophagia and neuron activation of the nucleus of the solitary tract and paraventricular nucleus of hypothalamus of male Wistar rats. **Brain Research Bulletin**, v. 195, p. 109-119, abr. 2023.

ANEXOS

ANEXO A



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 164/2019

Londrina, 25 de novembro de 2019.

Prezado (a) professor (a),

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado: "Alterações nutricionais pós-natais por manipulação do tamanho da ninhada em ratos: efeitos da colecistocinina e do lipopolissacarídeo na homeostase energética em machos e avaliação de parâmetros metabólicos e reprodutivos em fêmeas e suas proles." protocolo CEUA nº 18310.2019.03 sob a responsabilidade de Ernane Torres Uchôa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL) no dia 25/11/2019.

Este projeto tem por objetivo investigar o papel da colecistocinina e do lipopolissacarídeo na homeostase energética de ratos machos Wistar submetidos a alterações nutricionais no período pós-natal por redução ou por expansão da ninhada, bem como avaliar os efeitos da expansão da ninhada no desenvolvimento sexual, metabólico e reprodutivo de fêmeas. **Grau de invasividade: 3.**

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa científica
Vigência da autorização	01/01/2020 a 31/12/2022
Espécie/ linhagem/ raça	Rato heterogênico
Nº de animais	1732, sendo 876 Machos e 856 Fêmeas
Peso/ Idade	Matrizes: 146 Machos e 126 Fêmeas (Biotério Central) Prole estimada: 730 Machos e 730 Fêmeas
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério Central da UEL
Amostras a serem coletadas	Sangue, cérebro, testículos, ovários, glândulas adrenais e tecido adiposo

Cumpra-se orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Em cumprimento às exigências do CONCEA, em até 30 dias da finalização do projeto de pesquisa ou extensão, conforme vigência expressa neste ofício, encaminhar relatório da descrição de uso de animais para ceua@uel.br, conforme modelo disponível no site da CEUA/UEL (<http://www.uel.br/comites/ceua/pages/relatorio-de-projetos.php>).

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo-me, cordialmente,

Profª Drª Maria Fernanda Rodrigues Graciano
Coordenadora da CEUA/UEL

Profª Drª Maria Fernanda
Rodrigues Graciano
Coordenadora da Comissão de
Ética no Uso de Animais
Universidade Estadual de Londrina
ceua@uel.br / (41) 3371-5454

Ilmo.(a) Sr.(a)

Prof. (a) Dr. (a). Ernane Torres Uchôa

Responsável pelo projeto

C/C para a Chefia Departamento Ciências Fisiológicas/CCB

C/C para a Direção do Centro de Ciências Biológicas/CCB

C/C para o Biotério Central do CCB