

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 29/08/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Verônyca Gonçalves Paula

**Avaliação da função reprodutiva ovariana de ratas
adultas expostas à hiperglicemia materna intraútero e
submetidas à dieta hiperlipídica após o desmame**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutora em
Tocoginecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno
Coorientadores: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato
Profa. Dra. Yuri Karen Sinzato

**Botucatu
2022**

Verônyca Gonçalves Paula

Avaliação da função reprodutiva ovariana de ratas adultas expostas à hiperglicemia materna intraútero e submetidas à dieta hiperlipídica após o desmame

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutora em
Tocoginecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno

Coorientadores: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato
Profa. Dra. Yuri Karen Sinzato

**Botucatu
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Paula, Verônyca Gonçalves.

Avaliação da função reprodutiva ovariana de ratas adultas expostas à hiperglicemia materna intraútero e submetidas à dieta hiperlipídica após o desmame / Verônyca Gonçalves Paula. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Débora Cristina Damasceno

Coorientador: Yuri Karen Sinzato

Coorientador: Gustavo Tadeu Volpato

Capes: 20603002

1. Diabetes. 2. Mitocôndrias. 3. Estresse oxidativo.
4. Ovários. 5. Ratos

Palavras-chave: Diabete; Estresse oxidativo; Mitochondrias; Ovário; Ratas.

Todos esses que aí estão
Atravancando meu caminho,
Eles passarão...
Eu passarinho!

Mário Quintana

Dedicatória

*Aos meus pais, Sélío e Cristiane, por
todo incentivo, apoio e,
principalmente, por todo amor que
sempre me deram.*

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela minha vida e por me permitir chegar até aqui.

Aos meus pais, minhas irmãs e meu sobrinho, por todo carinho, amor. Por serem porto seguro em minha vida.

Ao meu esposo e amigo, Danilo, por me apoiar e incentivar durante toda essa caminhada científica.

À minha orientadora, Débora Cristina Damasceno, por ter me aberto as portas de seu laboratório, por ser exemplo de pesquisadora dedicada a ciência, ter o dom e paciência em ensinar e pelos valiosos conselhos que foram importantes para meu amadurecimento intelectual e pessoal. Agradeço também pelo carinho e por ser acima de tudo, uma amiga com quem posso contar!

Ao meu coorientador, Gustavo Tadeu Volpato, por ter me conduzido ao caminho científico, pelos ensinamentos, oportunidades e pela amizade ao longo desses tantos anos.

À minha coorientadora, Yuri Karen Sinzato, por toda ajuda durante a realização dos experimentos, pelos seus importantes ensinamentos e pela sua amizade. Sou muito grata por ter aprendido tanto com você!

Aos meus amigos e também companheiros do LAPGO, Yuri, Franciane, Giovana, Larissa, Maysa, Vinicius, Carolina Abreu, Carolina Saullo, Eduardo e Danilo Chaguri, agradeço pela amizade sincera, pela ajuda nos experimentos, por tantos momentos que compartilhamos juntos. Vocês foram muito importantes durante toda essa caminhada. Em especial, agradeço à Giovana por toda ajuda durante a realização da revisão sistemática e meta-análise. À Franciane, pela ajuda nas análises de imunoistoquímica e, à Larissa, pela ajuda nas análises de Western blotting. Agradeço também à Ariana Musa, do LabDECA, pela ajuda com as análises histológicas dos ovários e também pelo auxílio nas análises de *Western blotting*.

Às minhas queridas amigas, Mariana, pelo exemplo de dedicação, pelos conselhos, por ter sido minha companhia durante alguns meses em Botucatu e termos passado tantas coisas boas juntas! À Rafaianne, pelo exemplo de bondade, por estar sempre disposta a ajudar e por todas as coisas que aprendi com você! À Larissa, pela amizade que construímos e por todos os momentos que compartilhamos ao longo desses anos de doutorado. Sou muito grata pela sua companhia durante o tempo que fomos vizinhas! À Beatriz, pela amizade de tantos anos, por

compreender minhas ausências e por compartilhar comigo tantos momentos bons. À Maysa, por ser uma amiga sempre presente, por ouvir minhas reclamações e por sempre estar disposta a ajudar, gostaria de ter compartilhado mais momentos com você! À Franciane, por todas as vezes que me ajudou, me incentivou e por ser uma amiga de tão bom coração. À Ariana, pela surpresa de ter sua amizade e no curto período que passamos juntas compartilhar tantos momentos e boas risadas.

Aos senhores Danilo Chaguri, Carlos R. G. Lima, José Márcio de Jesus Cândido (Ari) e Jurandir Antônio, pelo cuidado com os animais. Agradeço especialmente ao Danilo pela dedicação e ajuda laboratorial durante o experimento.

À secretaria do Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu.

Ao Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, em especial ao Prof. Dr. José Eduardo Corrente, pelo delineamento experimental e análises estatísticas realizadas no trabalho.

Aos membros da banca de qualificação, Profa. Dra. Graziela Scialanti Ceravolo e Prof. Dr. Sérgio Alexandre Alcantara dos Santos, pelas valiosas contribuições. Agradeço também aos membros da banca de defesa pela disponibilidade e aceitarem compartilhar seus conhecimentos.

A todos que me auxiliaram, direta ou indiretamente, pois todos os frutos que pude colher durante esse percurso foi porque tive com quem contar.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro (Processo Número: 2016/25207-5) concedido para desenvolvimento do estudo sobre a associação entre diabetes materno e exposição à dieta hiperlipídica após o desmame.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos animais utilizados no experimento pois, sem eles, esse trabalho não seria possível.

Biografia da aluna

Graduada em Biomedicina pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Campus universitário do Araguaia no ano de 2016, foi bolsista voluntária de Iniciação Científica durante os 4 anos do curso, onde desenvolveu o projeto intitulado “*Efeitos abortivos e teratogênicos do tratamento com Phyllanthus niruri (quebra pedra) na prenhez de ratas*” sob a orientação do Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato, que foi publicado na revista *Journal of Ethnopharmacology* (fator de impacto = 4,36) no ano de 2020. Durante sua Graduação, participou ativamente do movimento estudantil, como membro do Diretório Central dos Estudantes e do Centro Acadêmico de Biomedicina, onde fez parte da comissão organizadora do I Congresso de Biomedicina do Araguaia no ano de 2014. É mestra em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas pelo programa de mestrado PPGIP - UFMT em 2018, tendo desenvolvido fisicamente parte do projeto de pesquisa intitulado “*Avaliação do perfil glicêmico e imunológico de ratas expostas ao diabetes moderado intraútero e submetidas à dieta hiperlipídica no período pós-natal*” na Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)/UNESP, sob orientação do Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato e coorientação da Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno. Este estudo foi publicado na revista *Biology of Reproduction* (fator de impacto = 4,28) no ano de 2022. No ano de 2018, ingressou no Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia (Nível: Doutorado) pela FMB/UNESP para desenvolver o projeto intitulado “*Avaliação da função reprodutiva ovariana de ratas adultas expostas à hiperglicemia materna intraútero e submetidas à dieta hiperlipídica após o desmame*” sob a orientação da Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno. Este projeto resultou em 6 manuscritos, sendo 3 de autoria da autora e 3 como coautoria. Como coautora, participou assiduamente da realização prática dos experimentos e discussão dos resultados, no entanto, outras alunas integrantes do grupo de pesquisa foram autoras principais, visto que o projeto também se inseria em suas teses. Faz parte como membro do Grupo de Pesquisa do CNPq “Estresse oxidativo e Anomalias congênitas” liderado pela Profa. Débora C. Damasceno. Durante o desenvolvimento de seu Doutorado, realizou projetos de pesquisa voltados para o entendimento dos mecanismos envolvidos na disfunção diabética e mal nutrição em fêmeas com idade reprodutiva, com o objetivo de promover e prevenir doenças relacionadas ao binômio diabetes e gestação. Nesta etapa, auxiliou outros alunos de Mestrado e de Iniciação Científica na redação de seus projetos de pesquisa e no desenvolvimento técnico também e redigiu diversos artigos para publicação, sendo que publicou nove que estão indexados no PUBMED (2 deles relacionados à sua tese de Doutorado). Estes artigos foram publicados em importantes revistas internacionais de grande relevância para a área.

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
-----------------------------------	-----------

CAPÍTULO 1 - Intergenerational high-fat diet impairs ovarian follicular development in rodents: a systematic review and meta-analysis

Abstract.....	25
Introduction.....	25
Methods.....	26
Results.....	28
Discussion.....	33
Conclusion	37
References.....	38

CAPÍTULO 2 - Avaliação da função mitocondrial, estresse oxidativo e apoptose nos ovários de ratas adultas expostas à hiperglicemia materna e submetidas à dieta hiperlipídica após o desmame

Resumo.....	42
Introdução.....	43
Materiais e Métodos.....	45
Resultados.....	51
Discussão.....	67
Conclusão.....	75
Referências.....	76

CAPÍTULO 3 - Nonpregnant and pregnant adult female rats affected by maternal diabetes environment

Abstract.....	84
Introduction.....	84
Results.....	85
Discussion.....	87
Methods.....	90
References.....	93

CONCLUSÃO FINAL.....	97
APÊNDICE.....	99
ANEXOS.....	101

Considerações Gerais

A maioria dos animais vivíparos, incluindo humanos, tem placenta e útero que protegem o feto do ambiente externo, fornecendo condição ideal para o desenvolvimento fetal (Arima e Fukuoka, 2020). Entretanto, mudanças ambientais ocorridas durante as janelas críticas do desenvolvimento (período intrauterino e neonatal) podem alterar permanentemente as estruturas e funções de órgãos específicos (Langley-Evans & McMullen 2010), aumentando a suscetibilidade de desenvolvimento de doenças na vida adulta. A teoria das doenças do adulto de origem fetal (FOAD - *fetal origin adult diseases*), proposta por Barker, baseia-se na premissa da plasticidade do desenvolvimento, durante o qual eventos intrauterinos específicos podem produzir diferentes fenótipos levando à programação fetal (Barker, 2007; Calkins e Devaskar, 2011).

Posteriormente, o conceito do FOAD avançou para o conceito das Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença (DOHaD – *Developmental origins of health and diseases*), ampliando os períodos críticos e se mostrando um modelo adequado para observações epidemiológicas que ligam o ambiente intrauterino e fases iniciais da vida, à saúde na vida adulta (Michels, 2018). Esse conceito delineia a capacidade do feto de se adaptar ao ambiente intrauterino ao custo de modificar as perspectivas de saúde a longo prazo, podendo causar comprometimentos futuros e risco de doenças na vida adulta (Gillman *et al.*, 2007). Esses períodos abrangem desde a pré-concepção (maturação dos oócitos e desenvolvimento dos espermatozoides), período embriofetal e neonatal se estendendo aos primeiros anos de vida. Estas fases estão relacionadas ao conceito, mundialmente, disseminado pela campanha “Primeiros 1000 dias” (“*First 1000 Days*” - <https://thousanddays.org>), a qual está inserida na temática do DOHaD e tem como objetivo uma conscientização sobre a importância da nutrição nos primeiros 1000 dias de vida (Suzuki *et al.*, 2018).

Estudos epidemiológicos e experimentais demonstram que a obesidade e o diabetes materno podem favorecer o desenvolvimento de doenças nos descendentes (Tsoulis *et al.*, 2016; Marciniak *et al.*, 2017) e, se somada a fatores ambientais, como a disponibilidade de dietas ricas em lipídios e diminuição da atividade física, contribuem significativamente para o aumento da prevalência de sobrepeso, obesidade, *Diabetes mellitus* do tipo 2 (DM2), *Diabetes mellitus* gestacional (DMG), doenças cardiovasculares, renais e problemas reprodutivos na vida adulta dos descendentes (Clement *et al.*, 1998; Hattersley, 1998; Shepherd, 1999; Rinaudo & Wang, 2012, Tsoulis *et al.*, 2016). Alterações epigenéticas estão entre os mecanismos moleculares que explicam como o ambiente intrauterino inadequado pode ser prejudicial anos após a exposição, levando ao aparecimento de doenças na idade adulta (Bouchard *et al.*, 2012).

Diabete e obesidade são importantes problemas de saúde pública. O diabete atinge cerca de 451 milhões de pessoas no mundo e a previsão para 2045 é que 628 milhões de pessoas entre 20-79 anos sejam diabéticas, além de 587 milhões de pessoas com intolerância à glicose (Cho *et al.*, 2018). Por sua vez, a prevalência de obesidade aumentou tanto que, atualmente, mais de um terço da população mundial é classificada com sobrepeso ou obesidade (Chooi *et al.*, 2019).

Mulheres portadoras do DM2 e/ou sobrepeso/obesidade apresentam problemas reprodutivos, menor reserva ovariana em relação a mulheres saudáveis, fertilidade reduzida e maiores taxas de perdas embrionárias após a implantação embrionária (Platt *et al.*, 2002; Ramalho-Santos *et al.*, 2008; Talmor *et al.*, 2014). Entretanto, os mecanismos pelos quais isso ocorre ainda precisam ser melhor elucidados e é de grande interesse para os pesquisadores (Nayki *et al.*, 2016). A infertilidade, particularmente relacionada a distúrbios de ovulação e bloqueio tubário, está significativamente associada a DM2 e obesidade. Mesmo controlando os fatores de risco relacionados ao estilo de vida e à saúde, não foi possível descartar a possibilidade de uma disfunção metabólica entre infertilidade e diabete, ou seja, existe um "solo comum". Como exemplo desta relação, podemos citar a Síndrome do Ovário Policístico (SOP), que é um distúrbio metabólico caracterizado por disfunção ovulatória, resistência à insulina e hiperinsulinemia. Mulheres com SOP têm risco elevado de diabete e obesidade (Huang, 2012; Celik *et al.*, 2014). No entanto, a causalidade ou a relação entre ovulação irregular ou anovulação e resistência à insulina na SOP não é clara (Tobias *et al.*, 2015).

Para entender a influência do diabete no processo reprodutivo, modelos animais são amplamente utilizados (Kleinert *et al.*, 2018). A estreptozotocina (STZ) é um produto químico utilizado em animais de laboratório para induzir e estudar modelos de diabete e suas complicações (Sinzato *et al.*, 2021). É uma droga citotóxica que causa destruição das células beta (β)-pancreáticas e, consequentemente, síntese deficiente de insulina, levando à hiperglicemia (Shafirir, 2010). Pode ser utilizada em diferentes doses e vias de administração, linhagem e idade dos animais para atingir diferentes níveis de glicose no sangue, reproduzindo a glicemia encontrada no DM2 e DMG. A indução do diabete pode ser realizada no período neonatal (Taqui *et al.*, 2020; Soares *et al.*, 2021), durante a gravidez (Merzouk *et al.*, 2002; Caluwaerts *et al.*, 2003; Lopez-Soldado & Herrera, 2003; Soulimane *et al.*, 2005) ou em ambos os períodos (Saito *et al.*, 2010). Nesses modelos, os animais apresentam intolerância à glicose e estado de estresse oxidativo na idade adulta (Bueno *et al.*, 2020; Macedo *et al.*, 2021).

A obesidade induzida por dietas ricas em lipídeos, chamadas *High-fat diets* (Dieta Hiperlipídica - DHL) tem considerável valor translacional com a obesidade humana (Nilsson

et al., 2012) e, conseqüentemente, são amplamente utilizadas para estudar os efeitos da programação fetal da obesidade em modelos animais (Kleinert *et al.*, 2018). Animais alimentados com DHL apresentam intolerância à glicose, hiperglicemia, dislipidemia, resistência à insulina e são mais suscetíveis a desenvolver distúrbios metabólicos (Glavas *et al.*, 2010; Sanchez-Garrido *et al.*, 2015; Kayser *et al.*, 2015). Além disso, as fêmeas apresentam comprometimento no desenvolvimento ovariano e distúrbios reprodutivos (Akamine *et al.*, 2010; Skaznik-Wikiel *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2019).

Ratas que foram alimentadas com dieta hiperlipídica por 120 dias após o desmame apresentaram morfologia ovariana anormal (Akamine *et al.*, 2010). Houve diminuição nos níveis dos hormônios ovarianos (estrógeno e progesterona), aumento de apoptose (Hussain *et al.*, 2016; Patel e Shah, 2018) e prejuízos na via de sinalização da insulina, com diminuição da expressão de receptores de insulina nas células ovarianas (Nteeba *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2017). Além disso, essas alterações foram encontradas na geração seguinte, indicando que o prejuízo para a função reprodutiva pode se perpetuar entre os descendentes (Tsoulis *et al.*, 2016).

Frente a estes estudos, compreender como diabetes e obesidade impacta a função reprodutiva é importante, pois as gerações futuras serão afetadas. Nosso grupo de pesquisa tem se dedicado a investigar os efeitos do diabetes e suas repercussões no organismo materno e fetal. Nós estudamos as repercussões do diabetes sobre a prole feminina adulta a fim de entender se o fenótipo diabetogênico é transmitido e como o organismo é afetado. Para isso, foram avaliadas filhas de ratas diabéticas aos 120 dias de vida. Foi possível observar hiperglicemia, intolerância à glicose, hiperlipidemia e disfunção das células β -pancreáticas (Paula *et al.*, 2022) nestas fêmeas. Além disso, associamos o diabetes intrauterino ao consumo pós-desmame de DHL para mimetizar uma condição muito frequente na população com o consumo de dietas ricas em gordura, o que tem sido cada vez mais elevado, principalmente entre as mulheres. As ratas expostas ao ambiente intrauterino diabético e que consumiram DHL desde o desmame até os 120 dias de vida tiveram comprometimento da função reprodutiva com diminuição do número de implantações, fetos vivos, peso da ninhada e aumento do percentual de perdas antes da implantação embrionária em relação ao grupo diabético que não consumiu a dieta (Sinzato *et al.*, 2022).

A partir destes estudos, visando compreender melhor as repercussões do diabetes e da dieta hiperlipídica na função reprodutiva das fêmeas e investigar os mecanismos pelos quais isso ocorre, os objetivos dessa tese de Doutorado foram:

- *Entender como a pesquisa envolvendo ovário e DHL vêm sendo conduzida e o que seus resultados nos mostram, bem como quais as lacunas de conhecimento que ainda precisam ser preenchidas por meio da realização de revisão sistemática e meta-análise (Capítulo 1).*
- *Investigar como a associação entre diabetes e DHL podem prejudicar os ovários visando apontar os possíveis mecanismos pelos quais isso ocorre (Capítulo 2).*
- *Investigar as repercussões das alterações metabólicas reprodutivas sobre a prenhez de filhas de ratas diabéticas em comparação com ratas não prenhes (Capítulo 3).*

Referências Bibliográficas

- Akamine EH, Marçal AC, Camporez JP, Hoshida MS, Caperuto LC, Bevilacqua E, Carvalho CR. Obesity induced by high-fat diet promotes insulin resistance in the ovary. *J Endocrinol* 2010; p.206:65-74. doi: 10.1677/JOE-09-0461
- Arima Y, Fukuoka H. Developmental origins of health and disease theory in cardiology. *Journal of Cardiology* 2020; 76(1), 14-17. doi: 10.1016/j.jjcc.2020.02.003
- Barker DJP. The origins of the developmental origins theory. *Journal of Internal Medicine*. 2007; v. 261, n.5, p. 412-417. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x
- Bouchard L, Hivert MF, Guay SP, St-Pierre J, Perron P, Brisson D. Placental adiponectin gene DNA methylation levels are associated with mothers' blood glucose concentration. *Diabetes* 2012; v. 61, n. 5, p. 1272-1280. doi: 10.2337/db11-1160
- Bueno A, Sinzato YK, Volpato GT, Gallego FQ, Perecin F, Rodrigues T, Damasceno DC. Severity of prepregnancy diabetes on the fetal malformations and viability associated with early embryos in rats. *Biol. Reprod* 2020; v.103, n. 5, p. 938–950. doi: 10.1093/biolre/ioaa151
- Bueno A, Sinzato YK, Sudano MJ, Alvarenga FCL, Calderon IMP, Rudge MVC, Damasceno DC. Short and long-term repercussions of the experimental diabetes in embryofetal development. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 2014; v. 30, p. 575-581, 2014.doi: 10.1002/dmrr.2521
- Calkins K, Devaskar SU. Fetal Origins of Adult Disease. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. 2011; v. 41, n. 6, p. 158-176. doi: 10.1016/j.cppeds.2011.01.001
- Caluwaerts S, Holemans K, van Bree R, Verhaeghe J, Van Assche A. Is low-dose streptozotocin in rats an adequate model for gestational diabetes mellitus? *J Obstet Gynaecol Res* 2003; v.4, p. 216-21. doi: 10.1016/s1071-5576(03)00044-3
- Celik C, TaDPemir N, Abali R, Bastu E, Yilmaz M. Progression to impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus in polycystic ovary syndrome: a controlled follow-up study. *Fertility and Sterility*. 2014; v. 101, n. 4, p. 1123-1128. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.12.050
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, Malanda B. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 2018; v. 138, p. 271-281. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023
- Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism* 2019, v. 92, p.6-10. doi: 10.1016/j.metabol.2018.09.005
- Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gormelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, BaDPevant A, Bougnères P, Lebouc Y, Froguel P, BaDPevant A. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; v. 392, p. 398–401. doi: 10.1038/32911.
- Damasceno DC, Netto AO, Iessi IL, Gallego FQ, Corvino SB, Dallaqua B, Sinzato YK, Bueno A, Calderon IMP, Rudge MVC. Streptozotocin-induced diabetes models:

- pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. *BioMed research international* 2014; p.1-11. doi: 10.1155/2014/819065
- Damasceno DC, Kiss ACI, Sinzato YK, de Campos KE, Rudge MVC, Calderon IMP, Volpato GT. Maternal-fetal outcome, lipid profile and oxidative stress of diabetic rats neonatally exposed to streptozotocin. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2011; v.119, p.408-413. doi: 10.1055/s-0030-1269886
- Damasceno DC, Silva HP, Vaz JF, Vasques-Silva FA, Calderon IMP, Rudge MVC, Campos KE, Volpato GT. Diabetic rats exercised prior to and during pregnancy maternal reproductive outcome, biochemical profile, and frequency of fetal anomalies. *Reproductive Sciences* 2013; v. 20, n. 7, p. 730-738. doi: 10.1177/1933719112461186
- Gallego FQ, Sinzato YK, Miranda CA, Iessi IL, Dallaqua B, Volpato GT, Scarano WR, SanMatín S, Damasceno DC. Pancreatic islet response to diabetes during pregnancy in rats. *Life sciences* 2018; v. 214, p. 1-10. doi: 10.1016/j.lfs.2018.10.046
- Gillman MW, Barker D, Bier D, Cagampang F, Challis J, Fall C, Godfrey K, Gluckman P, Hanson M, Kuh D, Nathanielsz P, Nestel P, Thornburg KL. Meeting report on the 3rd International Congress on Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). *Pediatric Research*. 2007; v. 61, n. 5, Part 1, p. 625. doi: 10.1203/pdr.0b013e3180459fcd
- Glavas MM, Kirigiti MA, Xiao XQ, Enriori PJ, Fisher SK, Evans AE, Grayson BE, Cowley MA, Smith MS, Grove KL. Early overnutrition results in early-onset arcuate leptin resistance and increased sensitivity to high-fat diet. *Endocrinology* 2010; v.151, p. 1598-1610. doi: 10.1210/en.2009-1295
- Hattersley AT. Maturity-onset diabetes of the young: clinical heterogeneity explained by genetic heterogeneity. *Diabetic Medicine*. 1998; v. 15, p. 15–24. doi: 10.1002/(SICI)1096-9136(199801)15:1<15::AID-DIA562>3.0.CO;2-M
- Huang G, Coviello A. Clinical update on screening, diagnosis and management of metabolic disorders and cardiovascular risk factors associated with polycystic ovary syndrome. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2012; v. 19, p. 512–519. doi: 10.1097/MED.0b013e32835a000e
- Hussain MA, Abogresha NM, Hassan R, Tamany DA, Lotfy M. Effect of feeding a high-fat diet independently of caloric intake on reproductive function in diet-induced obese female rats. *Archives of Medical Science: AMS*, 2016; v. 12, p. 906. doi: 10.5114/aoms.2016.59790
- Iessi IL, Sinzato YK, Gallego FQ, Nielsen JH, Damasceno DC. Effect of Diabetes on Circulating Pancreatic Hormones in Pregnant Rats and Their Offspring. *Horm Metab Res* 2016; v. 48, n. 10, p. 682-6. doi: 10.1055/s-0042-114039
- Kayser BD, Goran MI, Bouret SG. Perinatal overnutrition exacerbates adipose tissue inflammation caused by high-fat feeding in C57BL/6J mice. *PloS One* 2015; v.10, p. 1-15, doi: 10.1371/journal.pone.0121954
- Langley-Evans, SC, McMullen, S. Developmental origins of adult disease. *Medical principles and practice* 2010; v. 19, n. 2, p. 87-98. doi: 10.1159/000273066
- Lopez-Soldado I, Herrera E. Different diabetogenic response to moderate doses of streptozotocin in pregnant rats, and its long-term consequences in the offspring. *Int. J Exp Diabetes Res* 2003; v. 4, p. 107-118. doi: 10.1155/EDR.2003.107

- Macedo NCD, Iessi IL, Gallego FQ, Netto AO, Sinzato YK, Volpato GT, Zambrano E, Damasceno DC. Swimming program on mildly diabetic rats in pregnancy. *Reprod Sci* 2021; v. 1, p. 1-13. doi: 10.1007/s43032-021-00462-0
- Marciniak A, Patro-Małyśza J, Kimber-Trojnar Ż, Marciniak B, Oleszczuk J, Leszczyńska-Gorzela B. Fetal programming of the metabolic syndrome. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* 2017; v. 56, n. 2, p. 133-138. doi: 10.1016/j.tjog.2017.01.001
- Merzouk H, Madani S, Hichami A, Prost J, Moutairou K, Belleville J, Khan NA. Impaired lipoprotein metabolism in obese offspring of streptozotocin-induced diabetic rats. *Lipids* 2002; v. 37, n. 8, p. 773-781. doi: 10.1007/s11745-002-0960-9.
- Michels KB. Developmental plasticity: Friend or foe?. *Evolution, Medicine, and Public Health* 2017; v.1, p.183-184. doi: 10.1093/emph/eox022
- Nayki U, Onk D, Balci G, Nayki C, Onk A, Gunay M. The effects of diabetes mellitus on ovarian injury and reserve: an experimental study. *Gynecologic and obstetric investigation*. 2016; v. 81, p. 424-429. doi: 10.1159/000442287
- Nteeba J, Ross JW, Perfield JW, Keating, AF. High fat diet induced obesity alters ovarian phosphatidylinositol-3 kinase signaling gene expression. *Reproductive Toxicology*. 2013; v. 42, p. 68-77. doi: 10.1016/j.reprotox.2013.07.026
- Patel RS, Shah GB. High-fat diet exposure from pre-pubertal age induces PCOS in rats. *Reproduction*. 2018; v.155, p.139-149. doi: 10.1530/REP-17-0584
- Paula VG, Sinzato YK, de Moraes-Souza RQ, Soares TS, Souza FQG, Karki B, de Andrade Paes AM, Corrente JE, Damasceno DC, Volpato, G. T. Metabolic changes in female rats exposed to intrauterine hyperglycemia and postweaning consumption of high-fat diet. *Biology of reproduction* 2022; v.106, n.1, p. 200-212. doi: 10.1093/biolre/ioab195
- Platt MJ, Stanistreet M, Casson IF, Howard CV, Walkinshaw S, Pennycook S, Mckendrick O. St Vincent's Declaration 10 years on: outcomes of diabetic pregnancies. *Diabetic Medicine*. 2002; v.19, p. 216-220.
- Ramalho-Santos J, Amaral S, Oliveira PJ. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Current Diabetes Reviews*. 2008; v.4, p. 46-54. doi: 10.2174/157339908783502398
- Saito FH, Damasceno DC, Kempinas WG, Morceli G, Sinzato YK, Taylor KN, Rudge MVC. Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development. *Diabetol. Metab. Syndr* 2010; v. 2, n. 26, p. 1-8. doi: 10.1186/1758-5996-2-26
- Sanchez-Garrido MA, Ruiz-Pino F, Manfredi-Lozano M, Leon S, Heras V, Castellano JM, Castaño JP, Luque RM, Vázquez MJ, Roa J, Romero-Ruiz A, Diéguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. Metabolic and gonadotropic impact of sequential obesogenic insults in the female: influence of the loss of ovarian secretion. *Endocrinology* 2015; v. 156, n. 8, p.2984-2998.
- Shafir E. Contribution of animal models to the research of the causes of diabetes. *World J Diabetes* 2010; v. 1, n. 5, p.137-140. doi: 10.1210/en.2014-1951
- Shepherd PR. Glucose transporters and insulin action – implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*.1999; v. 341, p. 248–57. doi: 10.1056/NEJM199907223410406

- Sinzato YK, Klöppel E, Miranda CA, Paula VG, Alves LF, Nascimento LL, Campos AP, Karki B, Hampl V, Volpato GT, Damasceno DC. Comparison of streptozotocin-induced diabetes at different moments of the life of female rats for translational studies. *Lab Anim* 2021; v. 55, n. 4, p. 329-40. doi: 10.1177/00236772211001895
- Sinzato YK, Volpato GT, Iessi IL, Bueno A, Calderon IMP, Rudge MVC, Damasceno DC. Neonatally induced mild diabetes in rats and its effect on maternal, placental, and fetal parameters. *Exper Diab Res* 2012; v. 2, p.1-7. doi: 10.1155/2012/108163
- Skaznik-Wikiel ME, Swindle DC, Allshouse AA, Polotsky AJ, McManaman JL. High-fat diet causes subfertility and compromised ovarian function independent of obesity in mice. *Biology of reproduction* 2016; v. 94, n. 5, p. 108-1. doi: 10.1095/biolreprod.115.137414
- Soares TS, Moraes-Souza RQ, Carneiro TB, Araujo-Silva VC, Schavinski AZ, Gratão TB, Damasceno DC, Volpato GT. Maternal-fetal outcomes of exercise applied in rats with mild hyperglycemia after embryonic implantation. *Birth Defects Res* 2021; v. 113, n. 3, p. 287–298. doi: 10.1002/bdr2.1818
- Soulimane-Mokhtari NA, Guermouche B, Yessoufou A, Saker M, Moutairou K, Hichami A, Merzouk H, Khan AN. Modulation of lipid metabolism by n-3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring. *Clinical Science* 2005; v. 109, p. 287-295. doi: 10.1042/CS20050028
- Spada APM, Damasceno DC, Sinzato YK, Campos KE, Faria PA, Dallaqua B, Calderon IMP, Rudge MVC, Rodrigues T. Oxidative stress in maternal blood and placenta from mild diabetic rats. *Reproductive Sciences* 2014, v. 21, n. 8, p. 973-977. doi: 10.1177/1933719113519175
- Suzuki K. The developing world of DOHaD. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 2018; v. 9, n. 3, p. 266-269. doi: 10.1017/S2040174417000691
- Talmor A, Dunphy B. Female obesity and infertility. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology* 2015; v. 29, n. 4, p. 498-506. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2014.10.014
- Taqi B, Asadi F, Capobianco E, Hardy DB, Jawerbaum A, Arany EJ. Addition of olive oil to diet of rats with mild pre-gestational diabetes impacts offspring β -cell development. *J. Endocrinol* 2020; v. 246, n. 2, p.175–187. doi: 10.1530/JOE-20-0047.
- Tobias DK, Gaskins AJ, Missmer SA, Hu FB, Manson JE, Buck Louis GM, Zhang C, Chavarro JE. History of infertility and risk of type 2 diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Diabetologia*. 2015; v. 58, n. 4, p. 707-715. doi: 10.1007/s00125-015-3493-z
- Tsoulis MW, Chang PE, Moore CJ, Chan KA, Gohir W, Petrik JJ, Vickers MH, Connor KL, Sloboda DM. Maternal high-fat diet-induced loss of fetal oocytes is associated with compromised follicle growth in adult rat offspring. *Biology of Reproduction* 2016; v. 94, n. 4, p. 94, 1-11. doi: 10.1095/biolreprod.115.135004
- Wang F, Wang S, Zhang Z, Lin Q, Liu Y, Xiao Y, Xiao K, Wang Z. Defective insulin signaling and the protective effects of dimethyldiguanide during follicular development in the ovaries of polycystic ovary syndrome. *Molecular Medicine Reports*.2017; v. 16, p. 8164-8170. doi: 10.3892/mmr.2017.7678

Wu S, Xue P, Grayson N, Bland JS, Wolfe A. Bitter taste receptor ligand improves metabolic and reproductive functions in a murine model of PCOS. *Endocrinology* 2019; v. 160, p. 143-155. doi: 10.1210/en.2018-00711