

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 24/02/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITOS DO EXERCÍCIO AERÓBICO NO MÚSCULO
ESQUELÉTICO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À
RESTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL

Jéssica Silvino Valente

Discente

Prof^a. Dr^a. Maeli Dal Pai

Orientadora

BOTUCATU – SP
Ano 2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITOS DO EXERCÍCIO AERÓBICO NO MÚSCULO
ESQUELÉTICO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À
RESTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL

Jéssica Silvino Valente

Discente

Prof^a. Dr^a. Maeli Dal Pai

Orientadora

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular, Estrutural e Funcional.

Prof^a. Dr^a. Maeli Dal Pai

**BOTUCATU – SP
Ano 2023**

V154e Valente, Jéssica Silvino
Efeitos do exercício aeróbico no músculo esquelético de ratos adultos submetidos à restrição proteica perinatal / Jéssica Silvino Valente. -- Botucatu, 2023
129 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientadora: Maeli Dal Pai

1. Tecido muscular. 2. Restrição proteica materna. 3. Exercício físico aeróbico. 4. Glicose. 5. Análise proteômica. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEDICATÓRIA

“Dedico este trabalho a minha fé e aos meus sonhos, que insistem em permanecerem firmes até conquistarmos tudo que desejamos.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e persistência nesses 4 anos, certamente Ele tem planos que desconhecemos, e nos possibilita coisas que jamais imaginamos. Obrigada por sempre me carregar no colo, me ajudando a passar por todos os momentos que me tornaram a mulher que sou hoje.

Agradeço à minha família, ao meu pai Edson, que mesmo em outro plano continua a caminhar comigo, minha mãe Teresa, irmãos Rafaela, Marcela e Lucas, e tios Vera e Craveiro, por absolutamente tudo que não cabe nessas linhas, por não existirem palavras que descrevam o que vocês são e fazem por mim, quero que saibam que eu estarei aqui por vocês para sempre!

Dentre todas as amizades que fiz, agradeço especialmente minhas amigas Ariana e Ketlin por cada momento compartilhado, as conversas científicas e momentos de distração, vocês tornaram mais leve os dias mais escuros que tive, obrigada por ficarem comigo. Ao meu amigo Alexandre pela paciência em me ensinar mil vezes a diferença entre os tipos de exercício físico, e sempre ser presente para mim, valeu “parça”! Ao “Meu Time”, Andy, Conceição, Luiza, Thais e Thayná, que me acompanham na minha paixão pela corrida, me mostrando que o esporte é muito mais que competição, espero continuar cruzando o pórtico de chegada com todos vocês!

Aos membros do grupo LBME, e minha Orientadora Dr^a Maeli Dal Pai, a todos vocês meu imenso obrigada!

Aos funcionários do setor de Morfologia, do departamento de Biologia Estrutural e Funcional, do IBB, por serem prestativos e estarem sempre presentes nos auxiliando sempre que preciso, e a UNESP, muito obrigada.

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

RESUMO

O tecido muscular possui uma capacidade de modulação fenotípica frente a diferentes estímulos (positivos ou negativos), alterando suas características metabólicas, funcionais e morfológicas. Sendo o maior órgão metabólico de armazenamento energético do corpo e de grande importância para locomoção e sustentação corporal, o entendimento da influência de estímulos diretos para essas características é de alta relevância. A restrição proteica materna (RPM) durante os estágios iniciais da vida (gestação e/ou lactação) leva a alterações no desenvolvimento fetal e adaptações fisiológicas da prole durante toda a vida, as quais envolvem distúrbios metabólicos sistêmicos, como obesidade e diabetes, além de alterações em diversos sistemas, como o músculo estriado esquelético. Por outro lado, sabe-se que a prática regular de exercício físico é benéfica para o organismo em resposta a diferentes doenças, sendo possível sua utilização como estratégia terapêutica para as alterações musculares derivadas da RPM. O objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos do exercício físico aeróbico (EFA) nos músculos Sóleo (SOL), com metabolismo oxidativo/contração lenta, e Plantar (PL), com metabolismo glicolítico/contração rápida, em ratos adultos submetidos à RPM nos períodos de gestação e lactação. Foram utilizados ratos machos *Sprague Dawley*, provenientes de genitoras submetidas às dietas normocalóricas proteicas padrão (17%-controle) ou hipoproteica (6%-restrito) durante toda gestação e lactação. No dia pós-natal (DPN) 90, os animais foram divididos nos grupos experimentais: Controle Sedentário (CS); Controle Treinado (CT); Restrito Sedentário (RS) e Restrito Treinado (RT). Os animais dos grupos treinados foram submetidos ao protocolo de EFA de natação (oito semanas) com tempo/carga progressivos semanalmente, até completar as primeiras três semanas, com tempo/carga máxima nas últimas cinco semanas. No DPN 150, os animais foram anestesiados e sacrificados (morte humanitária), amostras dos músculos SOL e PL foram coletadas e processadas para as análises morfométrica (n=8), molecular (n=8), bioquímica (n=8) e proteômica (n=3). Os animais foram pesados durante todo o protocolo experimental (DPN 0, 21, 90, 120 e 150), e o teste oral de tolerância a glicose oral (TOTG) foi realizado no DPN 150. Os animais do grupo RS apresentaram um ganho de peso maior que os animais dos grupos controles (CS e CT), o qual foi menos acentuado nos animais RT. Os animais do grupo RS (vs CS) mantiveram as concentrações de glicose sanguínea elevada durante todo o TOTG, e aos 60min, os níveis glicêmicos foram reduzidos nos animais do grupo RT (vs RS). Os músculos SOL e PL apresentaram aumento na área de secção transversal das fibras musculares nos grupos RS (vs CS) e uma diminuição nos animais RT (vs RS). O músculo

SOL apresentou uma diminuição na expressão gênica dos marcadores catabólicos *Mafbx* e *Murf1* nos grupos RS (vs CS), e o grupo RT (vs RS) apresentou aumento no mRNA *Mafbx* e diminuição na expressão do marcador catabólico *Igf1*; a expressão gênica dos marcadores de metabolismo oxidativo *Cs* e glicolítico *Ldha* diminuiu nos animais dos grupos CT e RS (vs CS). Não foram observadas diferenças estatísticas nos genes analisados, no músculo PL. A análise de glicogênio muscular mostrou aumento nos níveis, nos animais do grupo RS, seguido de diminuição nos animais do grupo RT no músculo SOL, sem alterações no músculo PL. A análise do Proteoma apontou 57 e 33 proteínas diferencialmente expressas, no músculo SOL e PL, respectivamente, comuns entre as comparações CTxCS, RSxCS e RTxRS, as quais enriqueceram majoritariamente, o metabolismo energético muscular, com destaque para a via da glicólise e glicogênio. Concluimos que a RPM causou o efeito de crescimento acelerado corporal e muscular, levou à diminuição da oxidação da glicose com acúmulo de glicogênio no músculo SOL, e exacerbou a oxidação da glicose e o catabolismo do glicogênio no músculo PL. O EFA atenuou o efeito de crescimento acelerado e as alterações metabólicas glicolíticas no músculo SOL, intensificando esta via, no músculo PL.

Palavras-chave: Tecido muscular; Restrição proteica materna; Exercício físico aeróbico; Glicose; Análise proteômica.

ABSTRACT

Muscle tissue has a capacity for phenotypic modulation due to different stimuli (positive or negative), changing its metabolic, functional, and morphological characteristics. The skeletal muscle is the most significant metabolic organ for amino acid storage and, it has significant importance for locomotion and body support. Thus, understanding the influence of direct stimuli on muscle characteristics is highly relevant. Maternal protein restriction (MPR) during the early stages of life (pregnancy and/or lactation) leads to changes in fetal development and physiological adaptations in offspring throughout life, which involve systemic metabolic disorders such as obesity and diabetes, in addition to changes in several systems, such as skeletal muscle. On the other hand, it is known that regular physical exercise is beneficial for the body in response to different pathologies, making it possible to use as a therapeutic strategy for muscle alterations derived from MPR. The aim of this study was to analyze the effects of aerobic exercise (AE) on the Soleus (SOL) muscle which possesses oxidative metabolism/slow contraction, and Plantar (PL) muscle which has glycolytic metabolism/fast contraction, in adult rats submitted to MPR during pregnancy and lactation. Male Sprague Dawley rats from mothers submitted to norm caloric protein (17%-control) or low-protein (6%-restricted) diets throughout pregnancy and lactation were used. On a postnatal day (PD) 90, the animals were divided into experimental groups: Sedentary Control (SC); Trained Control (TC); Sedentary Restricted (SR) and Trained Restricted (TR). The animals of the trained groups were submitted to the AE protocol of swimming (8 weeks) with progressive time/load weekly, until completing the first 3 weeks, with maximum time/load in the last 5 weeks. At PD 150, the animals were anesthetized and sacrificed (humane death), and samples of the SOL and PL muscles were collected and processed for morphometric (n=8), molecular (n=8), biochemical (n=8) and proteomic (n=3) analyzes. The animals were weighed throughout the experimental protocol (PD 0, 21, 90, 120, and 150), and the oral glucose tolerance test (OGTT) was performed at PD 150. The animals in the SR group showed a superior weight gain compared to the animals of the control groups (SC and TC), and this parameter was less pronounced in the TR animals. The animals in the SR group (vs SC) maintained high blood glucose concentrations throughout the OGTT, and at 60 min the glycemic levels were reduced in the animals of the TR group (vs SR). The cross-sectional area of muscle fibers in SOL and PL muscles increased in the SR groups (vs SC) and decreased in the TR animals (vs SR). The SOL muscle showed a decrease in the gene expression of the catabolic markers Mafbx and Murf1 in the SR groups (vs SC), and the TR group (vs SR)

showed an increase in Mafbx mRNA and a decrease in the expression of the anabolic marker Igf1; gene expression of oxidative metabolism markers Cs and glycolytic Ldha decreased in animals from TC and SR groups (vs SC). No statistical differences were observed in the genes analyzed in the PL muscle. The muscle glycogen increased in the animals of the SR group, followed by a decrease in the animals of the TR group in the SOL muscle, without changes in the PL muscle. The Proteome analysis showed 57 and 33 differentially expressed proteins, in the SOL and PL muscle, respectively, common between the TCxSC, SRxSC, and TRxSR comparisons, which mostly enriched muscle energy metabolism, with emphasis on the glycolysis and glycogen pathway. We conclude that MPR caused the catch-up effect of body and muscle growth, led to decreased glucose oxidation with glycogen accumulation in the SOL muscle and intensified glucose oxidation and glycogen catabolism in the PL muscle. AE attenuated the catch-up growth effect and the glycolytic metabolic changes in the SOL muscle, intensifying the effects related to this pathway in the PL muscle.

Keywords: Muscle tissue; Maternal protein restriction; Aerobic exercise; Glucose; Proteomic analysis.

LISTA DE ABREVIACÕES

- 1
- 2
- 3 ACADS – Acil-CoA desidrogenase específica de cadeia curta
- 4 ACOX₂ – Peroxissomal acil-CoA oxidase 2
- 5 ALDOA – Frutose-bifosfato aldolase A
- 6 ALDOC – Frutose-bifosfato aldolase C
- 7 AST – Área de secção transversal
- 8 ADP – Adenosina difosfato
- 9 ATP – Adenosina trifosfato
- 10 ATP5F1A – Subunidade α da ATP sintase
- 11 ATP5F1B – Subunidade β da ATP sintase
- 12 AUC – Área sobre a curva
- 13 CEUA – Comissão de ética no uso de animais
- 14 CO₂ – Dióxido de carbono
- 15 COBEA – Colégio brasileiro de experimentação animal
- 16 CS – Controle sedentário
- 17 CS ou Cs – Citrato sintase
- 18 CT – Controle treinado
- 19 DAG – Distância ano-genital
- 20 DOHaD – Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença
- 21 DPN – Dia pós-natal
- 22 ECHS – Enoil-CoA hidratase
- 23 EDL – Extensor longo dos dedos
- 24 EFA – Exercício físico aeróbico
- 25 ENO – Enolase
- 26 FADH₂ – Flavina adenina nucleotídeo
- 27 GAPDH – Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
- 28 GLUT4 – Transportador de glicose tipo 4
- 29 GP ou PYGM – Glicogênio fosforilase
- 30 GPI – Glicose-6-fosfato isomerase
- 31 GS ou GYS1 – Glicogênio sintase
- 32 HAD – Hidroxiacil-CoA desidrogenase
- 33 HK – Hexoquinase
- 34 Igf1 – Fator de crescimento semelhante à insulina 1

- 35 LDHA ou Ldha – Lactato desidrogenase A
- 36 Mafbx – Atrogina 1
- 37 MTC – Transportador de monocarboxilato
- 38 MTCO2 – subunidade 2 da citocromo c oxidase
- 39 Murf1 –Proteína ubiquitina ligase E3
- 40 MyHC – Cadeia pesada de miosina
- 41 Myog – Miogenina
- 42 MS – Espectrômetro de massas
- 43 NADH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo
- 44 PAS – Ácido Periódico-Schiff
- 45 PDE – Proteína diferencialmente expressa
- 46 PDHC – Complexo piruvato desidrogenase
- 47 PDK – Piruvato desidrogenase quinase
- 48 PFK – Fosfofrutoquinase
- 49 PGAM –Fosfoglicerato mutase
- 50 Pgc1 α – Coativador gama do receptor ativado por proliferador de peroxissoma 1 α
- 51 PGK – Fosfoglicerato quinase
- 52 PGM1 – Fosfoglicomutase-1
- 53 PK – Piruvato quinase
- 54 PL – Plantar
- 55 Ppia – Peptidil-prolil cis-trans isomerase A
- 56 Ppib – Peptidil-prolil cis-trans isomerase B
- 57 RPM – Restrição proteica materna
- 58 RS – Restrito sedentário
- 59 RT – Restrito treinado
- 60 RT-qPCR – Reação em cadeia da polimerase em tempo real após transcrição reversa
- 61 SOL – Sóleo
- 62 TCA – Ciclo do ácido cítrico
- 63 THIO – Tiolase
- 64 TPI1 – Triosefosfato isomerase
- 65 TOTG – Teste oral de tolerância a glicose
- 66 UDP – Uridina 5'-difosfato
- 67 UQCRC1 – Subunidade 1 do complexo citocromo b-c1

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Cortes de lâminas histológicas do tecido muscular estriado esquelético coradas com Hematoxilina e Eosina. **A.** Corte longitudinal do tecido muscular; fonte: Histology Guide. **B.** Corte transversal do tecido muscular; autoria própria. Fibra muscular (asterisco), núcleo (círculo), estriações musculares (seta) e matriz extracelular (cabeça da seta). 19

Figura 2. Esquema representativo geral da via metabólica glicolítica no tecido muscular estriado esquelético. Setas vermelhas indicam reações de regulação da via glicolítica. MCT: transportador de monocarboxilato; GLUT4: transportador de glicose tipo 4, ATP: adenosina trifosfato; NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo. Enzimas da via da glicose em rosa claro - HK: hexoquinase, GPI: fosfoglicose isomerase, PFK: fosfofrutoquinase, ALDOA: frutose-1,6-bifosfato aldolase, TPI: triose-fosfato-isomerase, GAPDH: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, PGK: fosfoglicerato quinase, PGAM: fosfoglicerato mutase, ENO: enolase, PK: piruvato quinase. Enzima da via do lactato em rosa escuro: LDH: lactato desidrogenase. Enzimas da via do glicogênio em lilás: PGM: fosfoglicomutase, GS: glicogênio sintase e GP: glicogênio fosforilase. 23

Figura 3. Esquema representativo geral da via metabólica oxidativa no tecido muscular estriado esquelético. Seta vermelha indica reação de regulação da via oxidativa. ATP: adenosina trifosfato; NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo; FADH₂: flavina adenina dinucleotídeo; PDHC: complexo piruvato desidrogenase; PDK: piruvato desidrogenase quinase. 29

Figura 4. Resumo da linha do tempo das hipóteses propostas. 33

Figura 5. Esquema representativo do delineamento experimental utilizado. DPN: Dia pós-natal; CS: Controle sedentário; CT: Controle treinado; RS: Restrito sedentário e RT: Restrito treinado 41

Figura 6. A. Tanque de treinamento dos animais. **B.** Adaptação dos animais. 42

Figura 7. A. Esquema representativo do protocolo de treinamento dos animais. **B.** Pesos adicionados aos animais para a determinação da intensidade do exercício físico aeróbico. 43

Figura 8. Gráficos representativos dos testes de Limiar de Lactato sanguíneo dos grupos treinados. **A.** Testes I, II e III de um animal do grupo controle. **B.** Testes I, II e III de um animal do grupo restrito. Setas indicam o ponto de inflexão da curva do lactato sanguíneo de cada grupo. 45

Figura 9. Imagem representativa dos grupos controle e restrito. À esquerda de cada foto, animal do grupo restrito e à direita, animal do grupo controle. **A.** Animais ao nascimento (DPN 0). **B.** Animais no DPN 21. DPN: dia pós-natal. 54

Figura 10. Teste de tolerância à glicose oral (TTGO) dos animais dos grupos experimentais no dia pós-natal (DPN) 150. **A.** Glicemia (mg/dL). **B.** Área sob a curva (AUC). Valores em média±SEM, Anova Two-Way com Tukey. CS: controle sedentário; CT: controle treinado; RS:

restrito sedentário; RT: restrito treinado. Letras do alfabeto grego indicam diferença estatística entre os grupos experimentais, μ vs CT $p < 0,05$ e α vs RS $p < 0,05$ 56

Figura 11. Corte transversal do músculo Sóleo (SOL) dos animais dos grupos experimentais no dia pós-natal (DPN) 150. Coloração Hematoxilina e Eosina (HE). Fibras musculares (asterisco), núcleos periféricos circulares, endomísio (seta), perimísio (cabeça de seta). Escala: 100 μ m. 57

Figura 12. Corte transversal do músculo Plantar (PL) dos animais dos grupos experimentais no dia pós-natal (DPN) 150. Hematoxilina e Eosina (HE). Fibras musculares (asterisco), núcleos periféricos circulares, endomísio (seta), perimísio (cabeça de seta). Escala: 100 μ m. 58

Figura 13. Área de Secção Transversal (AST) (μ m²) das fibras musculares dos animais dos grupos experimentais no DPN 150. **A.** Músculo SOL. **B.** Músculo PL. Valores em média $\pm$ SEM, Anova Two-Way com Tukey. CS: controle sedentário; CT: controle treinado; RS: restrito sedentário; RT: restrito treinado; SOL: Sóleo; PL: plantar; DPN: dia pós-natal. Letras do alfabeto grego indicam diferença estatística entre os grupos experimentais, β vs CS $p < 0,05$ e α vs RS $p < 0,05$ 58

Figura 14. Corte transversal do músculo Sóleo (SOL) dos animais dos grupos experimentais no dia pós-natal (DPN) 150. Ácido Periódico Schiff (PAS). Algarismos arábicos indicam a intensidade da deposição de glicogênio das fibras musculares, 3>2>1. Escala: 200 μ m. 59

Figura 15. Corte transversal do músculo Plantar (PL) dos animais dos grupos experimentais no dia pós-natal (DPN) 150. Ácido Periódico Schiff (PAS). Algarismos arábicos indicam a intensidade da deposição de glicogênio das fibras musculares, 3>2>1. Escala: 200 μ m. 60

Figura 16. Níveis de glicogênio muscular (mg%) dos animais dos grupos experimentais no DPN 150. **A.** Músculo SOL. **B.** Músculo PL. Valores em média $\pm$ SEM, Anova Two-Way com Tukey. CS: controle sedentário; CT: controle treinado; RS: restrito sedentário; RT: restrito treinado; SOL: Sóleo; PL: plantar; DPN: dia pós-natal. Letras do alfabeto grego indicam diferença estatística entre os grupos experimentais, β vs CS $p < 0,05$ e α vs RS $p < 0,05$ 60

Figura 17. Níveis de Expressão gênica do músculo SOL dos grupos experimentais no DPN 150. **A.** Marcadores de catabolismo (Mafbx e Murf1), anabolismo (Igf1) muscular. **B.** Marcadores de metabolismo oxidativo (Cs e Pgc1 α) e glicolítico (Ldha). Valores em média $\pm$ SEM, Anova Two-Way com Tukey ou de Dunn. CS: controle sedentário; CT: controle treinado; RS: restrito sedentário; RT: restrito treinado; SOL: Sóleo; DPN: dia pós-natal. Letras do alfabeto grego indicam diferença estatística entre os grupos experimentais, β vs CS $p < 0,05$; μ vs CT $p < 0,05$; α vs RS $p < 0,05$ 61

Figura 18. Níveis de Expressão gênica do músculo PL dos grupos experimentais aos DPN 150. **A.** Marcadores de catabolismo (Mafbx e Murf1) e anabolismo (Igf1) muscular. **B.** Marcadores de metabolismo oxidativo (Cs e Pgc1 α) e glicolítico (Ldha). Valores em média $\pm$ SEM, Anova Two-Way com Tukey ou de Dunn. CS: controle sedentário; CT: controle treinado; RS: restrito sedentário; RT: restrito treinado; PL: plantar; DPN: dia pós-natal. 62

Figura 19. Linha do tempo contendo o passo a passo realizado com os dados proteômicos dos músculos Sóleo (SOL) e Plantar (PL). 63

Figura 20. Diagrama de Venn das proteínas diferencialmente expressas (PDEs) nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, no músculo SOL. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, SOL: Sóleo. 63

Figura 21. Termos ontológicos e vias moleculares enriquecidas pelas 57 PDEs comuns nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, do músculo SOL. **A.** Gráfico de barras demonstrando os processos musculares com os números de proteínas. **B.** Gráfico de pizza demonstrando a porcentagem dos termos ontológicos e vias moleculares em cada processo muscular. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, SOL: Sóleo. Significativo quando valor de p corrigido $< 0,05$ e $-\log_{10}(p \text{ corrigido}) \geq 2.5$ 66

Figura 22. Redes de interação proteína-proteína das PDEs nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, no músculo SOL. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, SOL: Sóleo. Linhas na cor azul claro: banco de dados, lilás: experimentos, amarelo: mineração de texto, azul escuro: co-ocorrência, cinza: proteínas homólogas..... 67

Figura 23. Termos ontológicos e vias moleculares do processo de metabolismo das 19 PDEs comuns nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, do músculo SOL. **A.** Gráfico de barras dos termos ontológicos/vias moleculares com os números de proteínas. **B.** Heatmap acoplado ao diagrama de alúvio das 19 PDEs comuns entre as comparações e seus respectivos termos ontológicos/vias moleculares. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, SOL: Sóleo. 69

Figura 24. Rede de interação proteína-proteína das PDEs comuns nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS envolvidas com o processo metabólico, no músculo SOL. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, SOL: Soléo. Linhas na cor azul claro: banco de dados, lilás: experimentos, amarelo: mineração de texto, azul escuro: co-ocorrência, cinza: proteínas homólogas..... 70

Figura 25. Diagrama de Venn com as proteínas diferencialmente expressas (PDEs) nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, no músculo PL. CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, PL: Plantar..... 71

Figura 26. Termos ontológicos e vias moleculares das 33 PDEs comuns nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, do músculo PL. **A.** Gráfico de barras dos processos musculares com os números de proteínas. **B.** Gráfico de pizza demonstrando a porcentagem dos termos ontológicos e vias moleculares em cada processo muscular. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, PL: Plantar. Significativo quando valor de p corrigido $< 0,05$ e $-\log_{10}(p \text{ corrigido}) \geq 2.5$ 73

Figura 27. Redes de interação proteína-proteína das PDEs nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, no músculo PL. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, PL: Plantar. Linhas na cor azul claro: banco de dados, lilás: experimentos, amarelo: mineração de texto, azul escuro: co-ocorrência, cinza: proteínas homólogas..... 74

Figura 28. Termos ontológicos e vias moleculares do processo de metabolismo das 14 PDEs comuns nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS, do músculo PL. **A.** Gráfico de barras dos termos ontológicos/vias moleculares com os números de proteínas. **B.** Heatmap acoplado ao diagrama de alúvio das 14 PDEs comuns entre as comparações e seus respectivos termos ontológicos/vias moleculares. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, PL: Plantar. 75

Figura 29. Rede de interação proteína-proteína das PDEs comuns nas comparações CTxCS, RxCS e RTxRS envolvidas com o processo de metabólico, no músculo PL. PDE: proteínas diferencialmente expressas, CS: controle sedentário, CT: controle treinado, RS: restrito sedentário, RT: restrito treinado, PL: Plantar. Linhas na cor azul claro: banco de dados, lilás: experimentos, amarelo: mineração de texto, azul escuro: co-ocorrência, cinza: proteínas homólogas..... 76

Figura 30. Resumo gráfico das vias energéticas alteradas pela restrição proteica materna e pelo exercício físico aeróbico. Setas vermelhas: músculo SOL. Setas rosas: músculo PL. Setas contínuas: vias induzidas. Setas tracejadas: vias diminuídas. Setas grossas: vias exacerbadas. 86

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Componentes da ração hipoproteica obtida da empresa PragSoluções	40
Tabela 2. Genes com primers desenhados a partir de sequências publicadas no GenBank	48
Tabela 3. Dados avaliados para as genitoras durante a gestação e lactação.....	53
Tabela 4. Peso (g) e DAG (cm) dos animais controle e restrito, ao nascimento (DPN0) e no DPN 21.....	54
Tabela 5. Peso corporal dos grupos experimentais durante o protocolo de treinamento.....	55
Tabela 6. Dados anatômicos dos animais dos grupos experimentais no DPN 150	55
Tabela 7. Lista das 57 Proteínas diferencialmente expressas (PDEs) comuns entra as comparações CTxCS, RSxCS e RTxRS no músculo Sóleo (SOL)	64
Tabela 8. Lista das 33 proteínas diferencialmente expressas (PDEs) comuns entre as comparações CTxCS, RSxCS e RTxRS no músculo Plantar (PL).....	71

SUMÁRIO

1			
2			
3	1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
4	1.1	Tecido Muscular Estriado Esquelético	18
5	1.1.1	Características Gerais do Tecido Muscular Estriado Esquelético	18
6	1.1.2	Vias Metabólicas Energéticas	21
7	1.1.2.1	<i>Via da Glicose</i>	24
8	1.1.2.2	<i>Via do Lactato</i>	25
9	1.1.2.3	<i>Via do Glicogênio</i>	26
10	1.1.2.4	<i>Regulação e Alterações na Homeostase da Via Glicolítica</i>	27
11	1.1.2.5	<i>Outras Vias Energéticas: Metabolismo Oxidativo</i>	28
12	1.2	Estímulos ao Tecido Muscular Estriado Esquelético	31
13	1.2.1	Restrição Proteica Materna	32
14	1.2.2	Exercício Físico	34
15	1.3	Análise Proteômica	35
16	2	JUSTIFICATIVA	37
17	3	OBJETIVOS	38
18	3.1	Objetivo Geral	38
19	3.2	Objetivos Específicos	38
20	4	METODOLOGIA	39
21	4.1	Animais experimentais	39
22	4.2	Restrição Proteica Materna (RPM)	39
23	4.3	Exercício Físico Aeróbico (EFA)	41
24	4.4	Teste de Limiar de Lactato Sanguíneo	43
25	4.5	Parâmetros Biométricos	45
26	4.6	Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG)	46
27	4.7	Análises Morfológicas	46
28	4.9.1	Extração de RNA com TRIzol (<i>Life Technologies Coporation, Carlsbad, CA, EUA</i>)	47
29	4.9.2	Reação de Transcrição Reversa	47
30	4.9.3	Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (RT-qPCR)	48
31	4.10	Análise do Proteoma	48
32	4.10.1	Preparação das amostras para o Espectrômetro de Massas	49
33	4.10.2	Protocolo Colunas Pierce C18 Spin	49
34	4.10.3	Espectrômetro de Massas	49

35	4.10.4	Obtenção das proteínas diferencialmente expressas (PDEs) analisadas.....	50
36	4.10.5	Obtenção dos termos ontológicos, vias moleculares enriquecidas e redes de interação	
37		das PDE comuns entre as três comparações	51
38	4.11	Análise Estatística	51
39	5	RESULTADOS	53
40	5.1	Dados das genitoras	53
41	5.2	Dados da prole.....	53
42	5.2.1	Parâmetros Biométricos.....	53
43	5.2.2	Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)	55
44	5.2.3	Análises Morfológicas e Bioquímica.....	56
45	5.2.3.1	Área de Secção Transversal (AST)	56
46	5.2.3.2	Deposição de Glicogênio muscular	58
47	5.2.4	Dados Moleculares: Expressão gênica	60
48	5.2.4.1	Músculo Sóleo (SOL)	61
49	5.2.4.2	Músculo Plantar (PL).....	61
50	5.2.5	Dados moleculares – Proteômica.....	62
51	5.2.5.1	Análise do Proteoma no Músculo SOL	63
52	5.2.5.2	Análise do Proteoma no Músculo PL	70
53	6	DISCUSSÃO	77
54	6.1	Resumo Gráfico	86
55	7	CONCLUSÃO	87
56		REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
57		ANEXOS.....	99

7 CONCLUSÃO

A restrição proteica materna alterou o peso corporal, com efeito de crescimento acelerado corporal e muscular, diminuiu a via energética da glicose e respiração celular, com acúmulo de glicogênio no músculo SOL, e exacerbou a via energética da glicose e o catabolismo do glicogênio no músculo PL, sem mostrar indícios de doenças metabólicas, como obesidade, resistência à insulina ou diabetes.

O exercício físico aeróbico atenuou o efeito de crescimento acelerado e as alterações metabólicas glicolíticas no músculo SOL, intensificando esta via, no músculo PL. Nossos resultados apontam o exercício físico aeróbico como benéfico para a atenuação das alterações morfológicas e metabólicas do músculo esquelético, principalmente no músculo SOL, em ratos adultos submetidos à restrição proteica materna perinatal. O trabalho contribuiu também para uma melhor compreensão das redes moleculares envolvidas com as adaptações morfofisiológicas musculares decorrentes da restrição proteica materna perinatal, em ratos adultos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, R. S. A. *et al.* Global signatures of protein and mRNA expression levels. **Mol. Biosyst.**, v. 5, n. 12, p. 1512-1526, 2009.
- ADEVA-ANDANY, M. M. *et al.* Glycogen metabolism in humans. **BBA Clin.**, v. 5, p. 85-100, 2016.
- ALMEIDA, A. M. *et al.* Proteomic investigation of the effects of weight loss in the gastrocnemius muscle of wild and NZW rabbits via 2D-electrophoresis and MALDI-TOF MS. **Anim. Genet.**, v. 41, n. 3, p. 260-272, 2010.
- ANDRADE, F. O. *et al.* Lipidomic fatty acid profile and global gene expression pattern in mammary gland of rats that were exposed to lard-based high fat diet during fetal and lactation periods associated to breast cancer risk in adulthood. **Chem. Biol. Interact.**, v.239, p. 118-128, 2015.
- ARAGÃO, R. S. *et al.* Differential developmental programming by early protein restriction of rat skeletal muscle according to its fibre-type composition. **Acta. Physiol. (Oxf)**, v. 210, n. 1, p. 70-83, 2014.
- ARGILÉS, J. M. *et al.* Skeletal muscle regulates metabolism via interorgan crosstalk: roles in health and disease. **J. Am. Med. Dir. Assoc.**, v. 17, n. 9, p. 789-796, 2016.
- ASLAM, B. *et al.* Proteomics: technologies and their applications. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 55, n. 2, p.182-196, 2017.
- BAAR, K. Epigenetic control of skeletal muscle fibre type. **Acta. Physiol. (Oxf)**, 2010 Aug;v. 199, n. 4, p. 477-487, 2010.
- BAKER, J. S.; MCCORMICK, M. C. and ROBERGS, R. A. Interaction among skeletal muscle metabolic energy systems during intense exercise. **J. Nutr. Metab.**, 2010.
- BARKER, D. J. P. *et al.* Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. **BMJ**, v. 298, n. 6673, p. 564–567, 1989a.
- BARKER, D. J. P. *et al.* Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **Lancet**, v. 334, n. 8663, p. 577–580, 1989b.
- BARKER, D. J. The fetal and infant origins of adult disease. **BMJ**, v. 301, n. 6761, p. 1111, 1990.
- BARKER, D. J.; OSMOND, C. and LAW, C. M. The intrauterine and early postnatal origins of cardiovascular disease and chronic bronchitis. **J. Epidemiol. Community Health**, 1989 Sep;v. 43, n. 3, n 237-240, 1989.
- BEAUCHAMP, B. and HARPER, M. E. In utero undernutrition programs skeletal and cardiac muscle metabolism. **Front. Physiol.**, v. 6, n. 401, p. 1–7, 2016.

- BEAUCHAMP, B. *et al.* Low birth weight is associated with adiposity, impaired skeletal muscle energetics and weight loss resistance in mice. **Int. J. Obes.**, v. 39, n. 4, p. 702-711, 2014.
- BISSONNETTE, D. J. and JEEJEEBHOY, K. N. Feeding a low energy diet and refeeding a control diet affect glycolysis differently in the slow- and fast-twitch muscles of adult male Wistar rats. **J. Nutr.**, v. 128, n. 10, p. 1723-30, 1998.
- BLESSON, C. S. *et al.* Gestational protein restriction impairs insulin-regulated glucose transport mechanisms in gastrocnemius muscles of adult male offspring. **Endocrinol.**, v.155, n. 8, p. 3036-3046, 2014.
- BODINE, S. C. *et al.* Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nat. Cell Biol.**, v. 3, n. 11, p. 1014–1019, 2001.
- BONALDO, P. and SANDRI, M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. **Dis. Model. Mech.**, v. 6, n. 1, p. 25–39, 2013.
- BOWTELL, J. *et al.* Tricarboxylic acid cycle intermediate pool size: functional importance for oxidative metabolism in exercising human skeletal muscle. **Sports Med.**, v. 37, n. 12, p. 1071-1088, 2007.
- BRADFORD, M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.
- BUSTIN, S. A. *et al.* The MIQE Guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 611–622, 2009.
- CABEÇO, L. C. *et al.* Maternal protein restriction induce skeletal muscle changes without altering the MRFs MyoD and myogenin expression in offspring. **J. Mol. Histol.**, v. 43, n.5, p. 461–471, 2012.
- CARPINELLO, O. J.; DECHERNEY, A. H. and HILL, M. J. Developmental Origins of Health and Disease: the history of the barker hypothesis and assisted reproductive technology. **Semin. Reprod. Med.**, v. 36, n. 3–4, p. 177–182, 2018.
- CARUSO, F. R. *et al.* Resistance exercise training improves heart rate variability and muscle performance: a randomized controlled trial in coronary artery disease patients. **Eur. J. Phys. Rehabil. Med.**, v. 51, n. 3, p. 281-289, 2015.
- CHO, W. K. and SUH, B. Catch-up growth and catch-up fat in children born small for gestational age. **Korean J. Pediatr.**, v. 59, n. 1, p. 1-7, 2016.
- CONFORTIM, H. D. *et al.* Effects of aging and maternal protein restriction on the muscle fibers morphology and neuromuscular junctions of rats after nutritional recovery. **Micron**, v. 71, p. 7–13, 2015.
- CORVINO, S. B. *et al.* Intrauterine Growth Restricted Rats Exercised before and during pregnancy: Maternal and Perinatal Repercussions. **Reprod. Sci.**, v. 22, n. 8, 2015.

COSTA, T. C. *et al.* Impact of maternal feed restriction at different stages of gestation on the proteomic profile of the newborn skeletal muscle. **Animals (Basel)**, v. 12, n. 8, 2022.

DA SILVA, D. *et al.* Metformin reverses hexokinase and 6-phosphofructo-1-kinase inhibition in skeletal muscle, liver and adipose tissues from streptozotocin-induced diabetic mouse. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 496, n. 1, p. 53-60, 2010.

DAWSON, D. M.; GOODFRIEND, T. L. and KAPLAN, N. O. Lactic dehydrogenases: functions of the two types rates of synthesis of the two major forms can be correlated with metabolic differentiation. **Science**, v. 143, n. 3609, p. 929-33. 1964.

de BRITO ALVES, J. L. *et al.* Transcriptional response of skeletal muscle to a low protein perinatal diet in rat offspring at different ages: The role of key enzymes of glucose-fatty acid oxidation. **J. Nutr. Biochem.**, v. 41, p. 117-123, 2017.

de MELO, J. F. *et al.* Effect of a neonatal low-protein diet on the morphology of myotubes in culture and the expression of key proteins that regulate myogenesis in young and adult rats. **Eur. J. Nutri.**, v. 50, n. 4, p. 243-50, 2011.

DUBOWITZ, V. and PEARSE, A. G. A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle. **Histochem.**, v. 2, n. 2, p. 105–17, 1960.

DUNFORD, E. C. *et al.* PDH activation during in vitro muscle contractions in PDH kinase 2 knockout mice: effect of PDH kinase 1 compensation. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 300, n. 6, p. R1487-93, 2011.

ERGEN, N. *et al.* The effects of aerobic exercise on skeletal muscle metabolism, morphology and in situ endurance in diabetic rats. **J. Sports. Sci. Med.**, v. 4, n. 4, p. 472-481, 2005.

EVANS, P. L. *et al.* Regulation of skeletal muscle glucose transport and glucose metabolism by exercise training. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2432, 2019.

FANTINATTI, B. E. A. *et al.* Integrative microRNAome analysis of skeletal muscle of *Colossoma macropomum* (tambaqui), *Piaractus mesopotamicus* (pacu), and the hybrid tambacu, based on next-generation sequencing data. **BMC Genomics**, n. 22, v. 1, p. 237, 2021.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. 2021. The State of Food Security and Nutrition in the World 2021. transforming food systems for food security, improved nutrition and affordable healthy diets for all. Rome, FAO.

FERNIE, A. R., CARRARI, F. and SWEETLOVE, L. J. Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport. **Curr. Opin. Plant. Biol.**; v. 7, n. 3, p. 254-261, 2004.

FIDALGO, M. *et al.* Programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal protein restriction during gestation and lactation are attenuated by maternal moderate-low physical training. **Br. J. Nutr.**, v. 109, n. 3, p. 449-456, 2013.

FINKIELSTAINA, G. P.; LUIB J.C. and BARONB J. Catch-up growth: cellular and molecular mechanisms. **World Ver. Nutr. Diet.**, v. 106p. 100-104, 2013.

- FONSEKA, P. et al. FunRich enables enrichment analysis of OMICs datasets. **J Mol Biol**, v. 433, n. 11, 2021.
- FOWDEN, A. L.; GIUSSANI, A. D. and FORHEAD, A. J. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. *physiology*, v. 21, n.1, p. 29–37, 2006.
- FRITZEN, A. M.; LUNDSGAARD, A. and KIENS, B. Tuning fatty acid oxidation in skeletal muscle with dietary fat and exercise. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 16, n. 12, p. 683-696, 2020.
- FRONTERA, W. R. and OCHALA, J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. **Calcif Tissue Int.**, v. 96, n. 3, p. 183-95, 2015.
- GALLAGHER, J. P. *et al.* Insights into the ecology and evolution of polyploid plants through network analysis. **Mol Ecol.**, v. 25, n. 11, p. 2644-2660, 2016.
- GELFI, D. *et al.* 2-D protein maps of rat gastrocnemius and soleus muscles: a tool for muscle plasticity assessment. **Proteomics.**, v. 6, n. 1, p. 321-340, 2006.
- GICQUEL, C.; EL-OSTA, A. and LE BOUC, Y. Epigenetic regulation and fetal programming. **Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 22, n. 1, p. 1–16, 2008.
- GOSBY, A. K. *et al.* Maternal protein restriction increases hepatic glycogen storage in young rats. **Pediatr. Res.**, v. 54, n. 3, p. 413-8, 2003.
- GREVENDONK, L. *et al.* Impact of aging and exercise on skeletal muscle mitochondrial capacity, energy metabolism, and physical function. **Nat. Commun.**, v. 12, p. 4773, 2021.
- GUDIENSEN, A. *et al.* Training state and fasting-induced PDH regulation in human skeletal muscle. **Pflugers Arch.**, v. 470, n. 11, p. 1633-1645, 2018.
- GUTIÉRREZ-ARZAPALO, P. Y. *et al.* Role of fetal nutrient restriction and postnatal catch-up growth on structural and mechanical alterations of rat aorta. **J. Physiol.**, v. 596, n. 23, p. 5791-5806, 2018.
- HALES, C. N. and BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia.**, v. 35, n. 7, p. 595-601, 1992.
- HALL, M. M. *et al.* Lactate: friend or foe. **PMR**, p. S8-S15, 2016.
- HARGREAVES, H. Skeletal muscle metabolism during exercise in humans. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 27, n.3, p. 225-228, 2000.
- HEARRIS, M. A. *et al.* Regulation of muscle glycogen metabolism during exercise: implications for endurance performance and training adaptations. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 298-319, 2018.
- HO, S. S. *et al.* The effect of 12 weeks of aerobic, resistance or combination exercise training on cardiovascular risk factors in the overweight and obese in a randomized trial. **BMC Public Health**, n. 12, p. 704, 2012.

- HOLNESS, M. J. *et al.* Targeted upregulation of pyruvate dehydrogenase kinase (PDK)-4 in slow-twitch skeletal muscle underlies the stable modification of the regulatory characteristics of PDK induced by high-fat feeding. **Diabetes.**, v. 49, n. 5, p. 775-781, 2000.
- HOOD, D. A. *et al.* Maintenance of skeletal muscle mitochondria in health, exercise, and aging. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 10, n. 81, p. 19-41, 2019.
- HOPPELER, H. Exercise-induced ultrastructural changes in skeletal muscle. **International Int J. Sports Med.**, v. 7, n. 4, p. 187-204, 1986.
- HUXLEY, H. E. The mechanism of muscular contraction. **Science.**, v. 164, p. 1356-65, 1969.
- JELINEK, B. A and MOXLEY, M. A. Detailed evaluation of pyruvate dehydrogenase complex inhibition in simulated exercise conditions. **Biophys. J.**, v. 120, n. 5, p. 936-949, 2021.
- JENSEN, J. *et al.* The role of skeletal muscle glycogen breakdown for regulation of insulin sensitivity by exercise. **Front. Physiol.**, v. 2, n. 112, 2011.
- JIA, X. *et al.* Proteome changes in bovine longissimus thoracis muscle during the early postmortem storage period. **J. Proteome Res.**, v. 6, n. 7, p. 2720-2731, 2007.
- JIMENO-ALMAZÁN, A. *et al.* Post-COVID-19 syndrome and the potential benefits of exercise. **Int. J. Environ. Res. Public. Health**, v.18, n. 10, p. 5329, 2021.
- JOHNSON, R. A. and WICHERN, D. W. Applied multivariate statistical analysis, 6ed. P. 773, 2007.
- JONES, R. H. AND OZANNE S. E. Fetal programming of glucose–insulin metabolism. **Mol. Cell Endocrinol.**, v. 297, n. 1-2, p. 4-9, 2009.
- KANG, W. *et al.* Emerging role of TCA cycle-related enzymes in human diseases. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 22, n. 23, p. 13057, 2021.
- KELLY, A. M. and RUBINSTEIN, N. A, 2003. The diversity of muscle fiber types and its origin during development. **Myology**. 3ª edição, v.1, p: 87-103, 2003.
- KILKENNY, C. *et al.* Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. **Br. J. Pharmacol.**, v.160, 1577-1579, 2010.
- KIM, C. H. *et al.* Effects of high-fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 278, n. 6, p. E977-984, 2000.
- KIRÁLY, M. A. *et al.* Swim training prevents hyperglycemia in ZDF rats: mechanisms involved in the partial maintenance of β -cell function. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 294, n. 2, p. e271-83, 2008.
- KONOPKA, A. R. and HARBER, M. P. Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training. **Exerc. Sport. Sci. Ver.**, v. 42, n. 2, p. 53-61, 2014.

- KRÜGER, K. *et al.* Functional and muscular adaptations in an experimental model for isometric strength training in mice. **PlosOne**, v. 8, n. 11, p. e79069, 2013.
- LAMETSCH, R. *et al.* Changes in the muscle proteome after compensatory growth in pigs. **J. Anim. Sci.**, v. 84, n. 4, p. 918-924, 2006.
- LEANDRO, C. G. *et al.* Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet. **Eur. J. Nutr.**, v. 51, n. 7, p. 807-815, 2012.
- LEDNEV, E. M. *et al.* Effect of amino acids on IGF1 gene expression in human myotubes and skeletal muscle. **Growth Horm. IGF Res.**, p. 101323, 2020.
- LIANG, X. *et al.* Exercise inducible lactate dehydrogenase b regulates mitochondrial function in skeletal muscle. **J. Biol. Chem.**, v. 291, n. 49, p. 25306-25318, 2016.
- LIMA LEITE, A. *et al.* Proteomic analysis of gastrocnemius muscle in rats with streptozotocin-induced diabetes and chronically exposed to fluoride. **PLoS One**, v. 9, p. e106646, 2014.
- LIN, T. C.; PETTIT, and REED, L. J. Alpha-keto acid dehydrogenase complexes. X. Regulation of the activity of the pyruvate dehydrogenase complex from beef kidney mitochondria by phosphorylation and dephosphorylation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 62, n. 1, p. 234-241, 1969.
- LIRA, A. O. *et al.* Maternal low protein diet induces persistent expression changes in metabolic genes in male rats. **World J. Diabetes**, v.11, n. 5, p. 182-192, 2020.
- LIU, J. *et al.* Birth weight alters the response to postnatal high-fat diet-induced changes in meat quality traits and skeletal muscle proteome of pigs. **Br J Nutr.**, v. 111, n. 10, p.1738-1747, 2014.
- LIVAK, K. J. and SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} methods. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.
- LOBO, J.G. *et al.* Low-level fluoride exposure increases insulin sensitivity in experimental diabetes. **J. Dent. Res.**, v. 94, p. 990–997, 2015.
- LOWEY, S. *et al.* Substructure of the myosin molecule. I. Subfragments of myosin by enzymic degradation. **J. Mol. Biol.**, v. 42, n. 1, p. 1-29, 1969.
- LU, X. *et al.* Vascular endothelial growth factor B promotes transendothelial fatty acid transport into skeletal muscle via histone modifications during catch-up growth. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 319, p. E1031-E1043, 2020.
- LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. **Ciba Found Symp.**, v. 156, p. 38–50, 1991.

- LUNDSTGAARD, A.; FRITZE, A. M. and KIENS, B. Molecular regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle during aerobic exercise. **Trends. Endocrinol. Metab.**, v. 1, p. 18-30, 2018.
- MACEDO, N. C. D. *et al.* Swimming program on mildly diabetic rats in pregnancy. **Reprod. Sci.**, v. 28, n. 8, p. 2223-2235, 2021.
- MCKINNELL, I. W. and RUDNICKI, M. A. Molecular mechanisms of muscle atrophy. **Cell**, v. 119, n.7, p. 907–910, 2004.
- MINÁRIK, P. *et al.* Malate dehydrogenases--structure and function. **Gen. Physiol. Biophys.**, v. 21, n. 3, p. 257-265, 2002.
- MONTGOMERY, B. C. Design and analysis of experiments, 8ed. New York, 2012, 752 p.
- ZAR, J. H. Bioestatistical analyses, 5ed. New Jersey: Prentice-Hall, p. 994, 2009.
- MURGIA, M. *et al.* Ras is involved in nerve-activity-dependent regulation of muscle genes. **Nat. Cell Biol.**, v. 2, n. 2, p. 142–147, 2000.
- MUROYA, S. *et al.* Maternal undernutrition during pregnancy alters amino acid metabolism and gene expression associated with energy metabolism and angiogenesis in fetal calf muscle. **Metabolites**, v. 11, n. 9, p. 582, 2021.
- NOLFI-DONEGAN, D. BRAGANZA, A. and SHIVA, S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. **Redox Biol.**, v. 37, p. 101674, 2020.
- NORMAN, G. R. and STREINER, D. L. Biostatistics: the bare Essentials, 3ed. St. Louis: Mosby Yearbook, p. 393, 2008.
- NUNES-NESI, A. *et al.* Regulation of the mitochondrial tricarboxylic acid cycle. **Curr. Opin. Plant. Biol.**, v. 16, n. 3, p. 335-343, 2013.
- OHLENDIECK, K. Proteomics of skeletal muscle glycolysis. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1804, n. 11, p. 2089-2101, 2010.
- OKOMURA, N. *et al.* Proteomic analysis of slow- and fast-twitch skeletal muscles. **Proteomics**, n. 5, v. 11, p. 2896-2906, 2005.
- PAPA, S. *et al.* The oxidative phosphorylation system in mammalian mitochondria. **Adv. Exp. Med. Biol.**, p. 3-37, 2012.
- PÉREZ J. X. *et al.* Effect of starvation on gene expression of regulatory enzymes of glycolysis/gluconeogenesis in genetically obese (fa/fa) Zucker rats. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 22, n. 7, p. 667-672, 1998.
- PERTILLE, A. *et al.* Evaluation of skeletal muscle regeneration in experimental model after malnutrition. **Braz. J. Biol.**, v.77, n.1., p. 83-91, 2016.

- PETTE, D. and STARON, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions1. **Microsc. Res. Tech.**, v. 50, n. 6, p. 500–509, 2000.
- QAISAR, R.; BHASKARAN, S. and REMMEN, H. V. Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 98, p. 56-67, 2016.
- RAFACHO, A. *et al.* Functional alterations in endocrine pancreas of rats with different degrees of dexamethasone induced insulin resistance. **Pancreas**, v. 36, p. 284–293, 2008.
- REDDY, R. *et al.* Effect of aerobic and resistance exercise on glycemic control in adults with type 1 diabetes. **Can. J. Diabetes**, v. 46, n. 6, p. 406-414, 2019.
- REEVES, P. G., NIELSEN, F. H. and FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the american institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the ain-76a rodent diet. **J. Nutr.**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
- RICH, P. R. and MARÉCHAL, A. The mitochondrial respiratory chain. **Essays. Biochem.**, n. 47, p. 1-23, 2010.
- RINALDI, J. C. *et al.* Implications of intrauterine protein malnutrition on prostate growth, maturation and aging. **Life Sciences**, v. 92, n. 13, p. 763-774, 2013.
- ROACH, P. J. *et al.* Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. **Biochem. J.**, v. 441, n. 3, p. 763-87, 2012.
- ROWLAND, L. A.; BAL, C. N. and PERIASAMY, M. The role of skeletal-muscle-based thermogenic mechanisms in vertebrate endothermy. **Biol. Ver. Camb. Philos. Soc.**, v. 90, n. 4, p. 1279-97, 2015.
- RUIZ-ROSADO, A. *et al.* Histoenzymatic and morphometric analysis of muscle fiber type transformation during the postnatal development of the chronically food-deprived rat. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 61, n. 5, p. 372–381, 2013.
- SANDOVAL, C. *et al.* Effect of maternal nutrient restriction on expression of glucose transporters (SLC2A4 and SLC2A1) and insulin signaling in skeletal muscle of SGA and Non-SGA sheep fetuses. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 74, p. 1-14, 2021.
- SÄNGER, A. and STOIBER, W. Muscle fiber diversity and plasticity. **Fish physiology**, v. 18, p. 187–250, 2001.
- SANTOS, S. A. A. *et al.* Identification of potential molecular pathways involved in prostate carcinogenesis in offspring exposed to maternal malnutrition. **Aging**, v. 12, n. 20, p.19954-19978, 2020.
- SARTORELLI, V. and FULCO, M. Molecular and cellular determinants of skeletal muscle atrophy and hypertrophy. **Sci. STKE**, v. 2004, n. 244, p. 1–10, 2004.
- SCHIAFFINO, S. and REGGIANI, C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiol. Rev.**, v. 91, n. 4, p. 1447-531, 2011.

- SCHIAFFINO, S. and REGGIANI, C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 77, n. 2, p. 493-501, 1994.
- SCHIAFFINO, S. *et al.* Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. **FEBS J.**, v. 280, n. 17, p. 4294-314, 2013.
- SCHNEIDER, C. A., RASBAND, W. S. and ELICEIRI, K. W. NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nat. Methods**, v. 9, p. 671-675, 2012.
- SCHULZ, L. C. The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 107, n. 39, p. 16757–16758, 2010.
- SHARPLES, A. P.; STEWART, C. E. and SEABORNE, R. A. Does skeletal muscle have an “epi”- memory? The role of epigenetics in nutritional programming, metabolic disease, aging and exercise. **Aging Cell**, v. 15, n. 4, p. 603–616, 2016.
- SHI, L and TU, B. P. Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences. **Curr. Opin. Cell. Biol.**, v. 33, p. 125-131, 2015.
- SILLAU, A. H. and BANCHERO, N. Skeletal muscle fiber size and capillarity. **proc soc exp Bio Med.**, v. 158, n. 2, p. 288–291, 1978.
- SOUZA, R. W. A. *et al.* Aerobic exercise training prevents heart failure-induced skeletal muscle atrophy by anti-catabolic, but not anabolic actions. **Plos one**. v. 9, n. 10, p. e110020, 2014.
- SPRIET, L. L.; HOWLETT, R. A. and HEIGENHAUSER, G. J. An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise. **Med. Sci. Sports. Exerc.**, v. 32, n. 4, p. 756-63, 2000.
- STEARNS-REIDER, K. M. *et al.* Aging of the skeletal muscle extracellular matrix drives a stem cell fibrogenic conversion. **Aging Cell**. v. 16, n. 3, p. 518-528, 2017.
- STEVEN, A. and BANCROFT, J. Theory and Practice of Histological Techniques. 3rd ed New York: Churchill Livingstone, 1990.
- STRUMILO, S. Short-term regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. **Acta Biochim Pol.**, v. 52, n. 4, p. 759-764, 2005.
- TARNOPOLSKY, M. A. Myopathies related to glycogen metabolism disorders. **Neurother.**, v. 15, n. 4, p. 915-927, 2018.
- TEIXEIRA-DE-LEMOES, E. *et al.* Differential effects of acute (extenuating) and chronic (training) exercise on inflammation and oxidative stress status in an animal model of type 2 diabetes mellitus. **Mediators Inflamm.**, v. 2011, 2011.
- THOMPSON, L. V. Skeletal muscle adaptations with age, inactivity, and therapeutic exercise. **J. Orthop. Sports Phys. Ther.**, v. 32, n. 2, p. 44-57, 2002.

- TOSCANO, A. E.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. and CANON, F. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. **Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 270–278, 2008.
- UBAIDA-MOHIEN, C. *et al.* Discovery proteomics in aging human skeletal muscle finds change in spliceosome, immunity, proteostasis and mitochondria. **eLIFE**, 2019.
- VAAG, A. *et al.* Metabolic aspects of insulin resistance in individuals born small for gestational age. **Horm Res.**, v. 65, p. 137-143, 2006.
- VALENTE, J. S. *et al.* Maternal protein restriction changes structural and metabolic gene expression. in the skeletal muscle of aging offspring rats. **Histol. Histopathol.**, v. 36, p. 853-867 2021.
- VECHETTI-JÚNIOR, I. J. *et al.* NFAT isoforms regulate muscle fiber type transition without altering can during aerobic training. **Int. J. Sports Med.**, v. 34, p. 861-867, 2013.
- VISKER, J. R. *et al.* Postnatal growth restriction in mice alters cardiac protein composition and leads to functional impairment in adulthood. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 21, n. 24, p. 9459, 2020.
- VOGEL, C. and MARCOTTE, E. M. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. **Nature Ver. Genet.**, v. 13, p. 227–232, 2012.
- VOLTARELLI, F. A; GOBATTO, C. A and MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian J. of Med. Biol. Resear.**, p. 1389-94, 2002.
- WADHWA, P. D. *et al.* Developmental origins of health and disease: Brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms. **Semin. Reprod. Med.**, v. 27, n. 5, p. 358–368, 2009,
- WASSERMAN, K. and MCILROY, M. B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **Amer. J. of Cardiol.**, v. 14, p. 844-852, 1964.
- WELLS, G. D.; SELVADURAI, H. and TEIN, T. Bioenergetic provision of energy for muscular activity. *Paediatr. Respir. Ver.*,v. 10, n. 3, p. 83-90, 2009.
- WESTERBLAD, H.; BRUTON, J. D. and KATZ, A. Skeletal muscle: energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. **Exp. Cell Res.**, v. 316, n. 18, p. 3093-3099, 2010.
- WITTIG, I. and SCHÄGGER, H. Supramolecular organization of ATP synthase and respiratory chain in mitochondrial membranes. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1787, n. 6, p. 672-680, 2008.
- XIANG, C. *et al.* Increased glycolysis in skeletal muscle coordinates with adipose tissue in systemic metabolic homeostasis. **J. Cell. Mol. Med.**, n. 16, p. 7840-7854, 2021.
- XIE, C. *et al.* KOBAS 2.0: A web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases. **Nucleic Acids Research**, v. 39, n. SUPPL. 2, p. W316–W322, 2011.

XING, Y. *et al.* Reduction of the PI3K/Akt related signaling activities in skeletal muscle tissues involves insulin resistance in intrauterine growth restriction rats with catch-up growth. **Plos One**, v. 14, n. 5, p. e0216665, 2019.

XU, C. *et al.* Reduction of mitochondria and up regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 of skeletal muscle in patients with chronic kidney disease. **Nephrology. (Carlton)**, n. 3, p. 230-238, 2020.

YANG, W. Decreased blood glucose and lactate: is a useful indicator of recovery ability in athletes? **Int. J. Environ. Res. Public. Health.**, v. 17, n. 15, p. 5470, 2020.

YATES, J. R; RUSE, C. I and NAKORCHEVSKY A. Proteomics by mass spectrometry: approaches, advances, and applications. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 11, p. 49-79, 2009.

ZANELLA, A., BIANCHI, P. and FERMO, E. Pyruvate kinase deficiency. **J. Hemat.**, n. 92, v. 06, p. 721-723, 2007.

ZENG, Y. *et al.* Maternal protein restriction in rats leads to reduced PGC-1 α expression via altered DNA methylation in skeletal muscle. **Mol. Med. Rep.**, n. 1, p. 306-312, 2013.

ZHANG, G. *et al.* Overview of peptide and protein analysis by mass spectrometry. **Curr. Protoc. Protein. Sci.**, 2010.

ZHANG, S. *et al.* The pivotal role of pyruvate dehydrogenase kinases in metabolic flexibility. **Nutr. Metab. (Lond.)**, v. 11, n. 1, p. 10, 2014.

ZHENG, S.; ROLLET, R. and PAN, Y. Protein restriction during gestation alters histone modifications at the glucose transporter 4 (GLUT4) promoter region and induces GLUT4 expression in skeletal muscle of female rat offspring. **J. Nutr. Biochem.**, v. 23, n. 9, p. 1064-1071, 2012.

ZHU, M. J. *et al.* Effect of maternal nutrient restriction in sheep on the development of fetal skeletal muscle. **Biol. Reprod.**, v. 71, n. 6, p. 1968–1973, 2004.

ZHU, M. J. *et al.* Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. **J. Physiol.**, v. 15, n. 575, p. 241-250, 2006.

ZHU, S. *et al.* Aging- and obesity-related peri-muscular adipose tissue accelerates muscle atrophy. **Plos one**, v. 14, n. 8, p. e0221366, 2019.