

UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde

ISABELA MONIQUE FORTUNATO

**EFEITOS ANTIOBESIDADE DO GUARANÁ (*PAULLINIA
CUPANA*) EM MODELO DE PROGRAMAÇÃO INDUZIDA POR
OBESIDADE MATERNA**

Bragança Paulista
2022

ISABELA MONIQUE FORTUNATO – R.A.: 001202010037

EFEITOS ANTIOBESIDADE DO GUARANÁ (*PAULLINIA CUPANA*) EM MODELO DE PROGRAMAÇÃO INDUZIDA POR OBESIDADE MATERNA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Biologia Molecular e Celular

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro

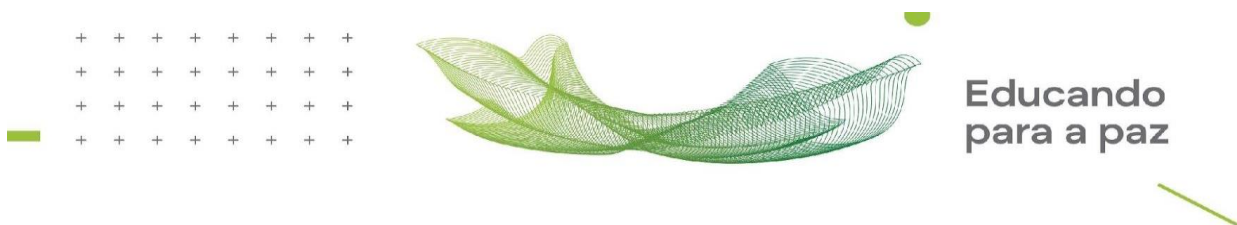
Coorientador: Prof. Dr. Lúcio Fábio Caldas Ferraz

Bragança Paulista
2022

WD 210 F851e	Fortunato, Isabela Monique Efeitos antiobesidade do Guaraná (<i>Paullinia Cupana</i>) em modelo de programação induzida por obesidade materna / Isabela Monique Fortunato. -- Bragança Paulista, 2022. 76 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação <i>Stricto Sensu</i> em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco. Orientação de: Marcelo Lima Ribeiro. 1. Obesidade materna. 2. <i>Paullinia Cupana</i>. 3. Adipogênese. 4. Desenvolvimento fetal. I. Ribeiro, Marcelo Lima. II. Título.
-----------------	---

Sistema de Bibliotecas da Universidade São Francisco – USF
Ficha catalográfica elaborada por: Denise Isabel Arten / CRB-8/5823

Folha de Aprovação e Assinatura da Banca Examinadora



FORTUNATO, Isabela Monique. “Efeitos antiobesidade do guaraná (*Paullinia cupana*) em modelo de programação induzida por obesidade materna”. Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em 15 de fevereiro de 2022 pela Banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro - Orientador e Presidente (por
videoconferência)
Universidade São Francisco

Profa. Dra. Giovanna Barbarini Longato (por
videoconferência)
Universidade São Francisco

Profa. Dra. Thais Parisotto Ulmer Universidade
São Francisco

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus que nunca me deixou desistir mesmo diante de todos os obstáculos, à minha amada mãe, que sempre foi e continuará sendo minha parceira, confidente e melhor amiga, ao meu padrasto e ao meu namorado por sempre trazerem palavras de conforto e alegria. Por fim, ao meu eterno e querido pai (*in memoriam*) que me dá forças para nunca deixar de sonhar.

Agradecimentos

Agradeço à Deus e à Nossa Senhora por sempre estarem à minha frente, guiando e iluminando o meu caminho;

À minha mãe que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, vibrando e chorando comigo; E ao meu pai, que nunca deixarei de amar e que continuará presente em minha memória para sempre;

Ao meu padrasto e amigo, por sempre me acalmar com palavras de sabedoria;

Ao meu querido namorado, por toda a paciência e compreensão e por trazer leveza aos meus dias;

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro e Prof. Dr. Lúcio Fábio Caldas Ferraz por me proporcionarem fazer parte de um estudo tão relevante para a sociedade, por todos os ensinamentos e tempo disponibilizado para a concretização desta; E à Dra. Natália da Silva Lima por me permitir dar continuidade à pesquisa iniciada por ela;

À Universidade São Francisco pela ótima formação acadêmica e infraestrutura oferecida;

Aos colegas de laboratório que compartilharam experiências e conhecimentos;

À Dona Alice por todas as nossas conversas, pelo seu cuidado e carinho conosco alunos;

À Prof. Dra. Raquel de Cássia por me abrir as portas do laboratório e me receber como sua aluna, a Quélita e ao Felipe, meus parceiros e queridos amigos, obrigada por toda ajuda e parceria!

À Dra. Tanila por ter me ajudado com as suas técnicas no laboratório no início do meu mestrado e por ter aceito fazer parte desta banca; À Prof. Dra. Giovana pela disponibilidade de estar presente nas 3 bancas e dar sugestões importantes para o enriquecimento desta dissertação; E à Prof. Thais pela presença na banca e pelas sugestões ao trabalho;

À coordenação e professores do curso de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento: 88887.511149/2020-00.

A todos, eu agradeço de todo o meu coração!

*“Sigo na paz que Deus me deu, plantando os sonhos que eu sonhei,
silenciosamente levando a fé que eu sempre acreditei!”*

Lanna Borges

RESUMO

A obesidade é um problema emergente de saúde pública, principalmente pelo fato desta estar associada com diversas condições como a hipertensão, dislipidemia, aterosclerose, resistência à insulina e diabetes. A obesidade materna é caracterizada como fator programador de doenças na idade adulta e está associada à maior prevalência de sobrepeso e obesidade nas proles. Tem sido demonstrado que compostos ricos em polifenóis contribuem para o controle do ganho de peso, regulação do perfil metabólico e para a melhora da composição da microbiota intestinal. Dentre estes destaca-se o guaraná (*Paullinia cupana*), uma planta nativa do Brasil com ampla fonte de compostos bioativos e antioxidantes. O guaraná é amplamente estudado devido aos seus efeitos benéficos na obesidade, síndrome metabólica, entre outras doenças crônicas, pode atuar ativando a biogênese mitocondrial e reprimindo genes adipogênicos. Um estudo prévio de nosso grupo mostrou que o guaraná pode restaurar os efeitos deletérios induzidos pela programação materna associada à obesidade. Tendo em vista estes resultados prévios, pretendeu-se neste trabalho aprofundar o conhecimento acerca do mecanismo de ação do guaraná na adipogênese através do estudo de genes reguladores deste processo tais como: adiponectina, *Pparg2*, *Zfp423*, leptina e *Slc2a4* por PCR em tempo real. Foram utilizadas biópsias isoladas de diferentes compartimentos do tecido adiposo das proles divididas em: C - filhotes de mães controles; HF - filhotes de mães obesas; HF + Guaraná Precoce (HF_{early}) - filhotes de mães obesas tratados com guaraná (1g/kg) de PN25 a PN45 e; HF + Guaraná Tardio (HF_{late}) - filhotes de mães obesas tratados com guaraná (1g/kg) de PN60 a PN80. Os resultados deste trabalho nos permitem indicar que o guaraná é capaz de modular a expressão de genes fortemente associados à adipogênese, tais como: *Pparg2*, *Zfp423* e leptina em ambos os grupos estudados, visto que, o composto reduziu significativamente os níveis de mRNA de *Pparg2* em ambos os grupos testados, reduzindo assim a diferenciação e proliferação dos adipócitos, quanto a expressão de *Zfp423*, que tem sua expressão aumentada durante o comprometimento precoce dos pré-adipócitos, o guaraná mostrou reduzir consideravelmente a sua expressão em TAS e TAR, e a expressão de leptina, considerada uma citocina pró-inflamatória, diminuiu notadamente em TAS e TAR, após a intervenção com o guaraná, em ambos os grupos. Supõe-se que esta modulação causada pelo mecanismo de ação do guaraná sob as vias de sinalização adipogênicas é um fator determinante para a normalização dos parâmetros obesogênicos observados previamente nestes animais.

Descritores em Português: Obesidade Materna. *Paullinia cupana*. Desenvolvimento Fetal. Adipogênese.

ABSTRACT

Obesity is an emerging public health problem. It is associated with several conditions such as hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, insulin resistance, and diabetes. Maternal obesity is characterized as a disease-programming factor in adulthood and is associated with a higher prevalence of overweight and obesity in offspring. It has been shown that compounds rich in polyphenols contribute to the control of weight gain, regulation of the metabolic profile, and the improvement of the composition of the intestinal microbiota. Among these, guarana (*Paullinia cupana*) stands out, a plant native to Brazil with a wide source of bioactive compounds and antioxidants. Guarana is widely studied due to its beneficial effects on obesity, metabolic syndrome, among other chronic diseases; it can act by activating mitochondrial biogenesis and repressing adipogenic genes. A previous study from our group showed that guarana restore the deleterious effects induced by maternal programming associated with obesity. In view of these previous results, this work intends to deepen the knowledge about the mechanism of action of guarana in adipogenesis through the study of genes that regulate this process such as Adiponectin, Pparg2, Zfp423, Leptin, and Slc2a4 by real-time PCR. Biopsies isolated from different adipose tissue compartments were used. The offspring were divided into C - pups from control mothers; HF - offspring of obese mothers; HF + Guaraná Early (HFearly) - offspring of obese mothers treated with guarana (1g/kg) from PN25 to PN45 and; HF + Late Guarana (HFlate) - offspring of obese mothers treated with guarana (1g/kg) from PN60 to PN80. The result of this work allows us to indicate that guarana is able to modulate the expression of genes strongly associated with adipogenesis, such as Pparg2, Zfp423 and Leptin in both groups studied, whereas the compound significantly reduced Pparg2 mRNA levels in both groups tested, thus reducing the differentiation and proliferation of adipocytes. While Zfp423 expression increased during the early commitment of pre-adipocytes, guarana showed to considerably reduce its expression in TAS and TAR, and the expression of leptin, considered a pro-inflammatory cytokine, expressively decreased in TAS and TAR, after the intervention with guarana in both groups. It is assumed that this modulation caused by the mechanism of guarana action on the adipogenic signaling pathways is a determining factor for the normalization of the obesogenic parameters previously observed in these animals.

Keywords: *Obesity maternal. Paullinia cupana. Fetal development. Adipogenesis.*

Lista de símbolos e abreviaturas

ACC	Acetil-CoA Carboxilase
ADIG	Gene Codificador de Adipogenina
ADIPOQ	Adiponectina
AGL	Ácidos Graxos Livres
AKT/PKB	Proteína Quinase B
ALT	Alanina Aminotransferase
AMPK	Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina
AMPK α	Proteína Quinase Ativada por AMP Alfa
aP2	Proteína Carreadora de Ácidos Graxos
AR	Receptor de Adenosina
AST	Aspartato Aminotransferase
ATGL	Lipase Triglicerídica Adiposa
C	Filhotes de Mães Controles
cAMP	Monofosfato Cíclico de Adenosina
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico Complementar
C/EBPs	Proteínas de Ligação ao Amplificador CCAAT
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CREB	Proteína de Ligação Responsiva ao AMPc
DCV	Doença Cardiovascular
DGAT	Diacilglicerol O-aciltransferase
DLK	Proteína Delta Homóloga
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
DOHaD	Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença
EE	Gasto Energético Basal
EGCG	Epigallocatequina-galato
EPID	Epididimal
ERK	Quinases Reguladas por Sinal Extracelular
FABP	Proteína de Ligação ao Ácido Graxo

FAS	Ácido Graxo Sintase
FCT	Fator de Células T
FIL	Fator Intensificador de Linfóide
FKHR	do inglês <i>Forkhead Transcription Factor</i>
FOX	do inglês <i>Forkhead Box</i>
GAPDH	Proteína Gliceraldeído-3-fosfato Desidrogenase
GATA	Fator de Transcrição Eritróide
GC	Glicocorticóides
GLUT	Transportador de Glicose
GSK β	Glicogênio Sintase Quinase Beta
HDL c	Baixa Concentração de Lipoproteínas de Alta Densidade
HF	Filhotes de Mães Obesas/Dieta Hiperlipídica
HF_{early}	Proles Provenientes de Mães Alimentadas com Dieta Hiperlipídica + Tratamento com Guaraná de PN25 a PN45 (precoce)
HF_{late}	Proles Provenientes de Mães Alimentadas com Dieta Hiperlipídica + Tratamento com Guaraná de PN60 a PN80 (tardio)
HSL	Lipase Sensível ao Hormônio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN	Interferon
IGF	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
IRS	Substrato do Receptor de Insulina
JNK	c-Jun N-terminal Quinase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LEF	Fator Intensificador de Linfóide
LEP	Leptina
LP	Proteína Transportadora de Lipídios
LPL	Lipoproteína Lipase
KLF	Fatores do Tipo Krüppel

MAPK	Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos
MCP	Proteína Quimiotática de Monócitos
miRNA	MicroRNA
mTOR	Alvo da Rapamicina em Mamíferos
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
NRF	Fator Respiratório Nuclear
NS	Não significativo quando comparado ao grupo HF.
NO/NO_x	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
P38/p38 MAPK	Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos p38
PAS	Pressão Sanguínea Sistólica
PCR	Proteína c-Reativa/ Reação em Cadeia da Polimerase
PGC1α	Co-ativador-1 Alfa do Receptor Ativado por Proliferador do
	Peroxisoma
PI3K	Fosfoinosítideo 3-Quinase
PKA	Proteína quinase A
PMQ	Penta-metil-quercetina
PN	Pós Nascimento
PN 25-35	Pós Nascimento do dia 25º ao dia 35º
PN 65-75	Pós Nascimento do dia 65º ao dia 75º
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
PPAR γ	Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxisoma
PREF	Fator de Pré-adipócitos
RETRO	Retroperitoneal
Rf	Ração final
Ri	Ração inicial
RI	Resistência Insulínica
SAM	S-adenosil-metionina
SIRT	Sirtuína

SLC2A	Transportador de Glicose
SM	Síndrome Metabólica
SMAD3	Mães Contra o Homólogo Decapentaplégico 3, proteína
SREBP	Proteína de Ligação ao Elemento Regulador de Esterol
SUB	Subcutâneo
TA	Tecido Adiposo
TAB	Tecido Adiposo Branco
TABE	Tecido Adiposo Bege
TAE	Tecido Adiposo Epididimal
TAM	Tecido Adiposo Marrom/Tecido Adiposo Mesentérico
TAR	Tecido Adiposo Retroperitoneal
TAS	Tecido Adiposo Subcutâneo
TCF	Fator de Células T
TG	Triglicerídeos
TGF-β	Fator de Transformação do Crescimento Beta
TLR	Receptores do Tipo Toll
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TRα	Receptor Tireoidiano Alfa
UCP 1	Proteína 1 de Desacoplamento Mitocondrial
VCO₂	Volume de Dióxido de Carbono ou Gás Carbônico
VISC	Visceral
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
VO₂	Volume de Oxigênio
YGD	Yerba maté, Guarana e Damiana
ZFP	Proteína do Dedo de Zinco

Lista de figuras

Figura 1 – Aumento na prevalência de obesidade entre adultos ao longo dos anos.....	16
Figura 2 – Aumento na prevalência de excesso de peso e obesidade entre adultos ao longo dos anos no Brasil.....	17
Figura 3 – Determinação e diferenciação de adipócitos.....	26
Figura 4 – Representação esquemática do efeito dos polifenóis na programação materna induzida pela obesidade materna.....	29
Figura 5 – Cascata da sinalização de genes envolvidos no processo de adipogênese e promoção de biogênese mitocondrial.....	35
Figura 6 – Compostos bioativos presentes no Guaraná.....	36
Figura 7 – Mecanismo de ação do Guaraná no Modelo de Obesidade Programada.....	37
Figura 8 – Avaliação do peso corporal e do gasto energético basal nas proles programadas pela obesidade materna.....	39
Figura 9 –Avaliação da adiposidade central/abdominal das proles programadas pela obesidade materna.....	40
Figura 10 – Desenho experimental do modelo de programação pela obesidade materna.....	43
Figura 11 – Análise da expressão de <i>Adipoq</i>	47
Figura 12 – Análise da expressão de <i>Pparγ2</i>	48
Figura 13 – Análise da expressão de <i>Zfp423</i>	49
Figura 14 –Análise da expressão de leptina.....	51
Figura 15 – Análise da expressão de <i>Slc2a4</i>	52
Figura 16 – Mecanismo anti-adipogênico do Guaraná.....	54

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Descrição do grupo experimental de proles alimentadas com dieta controle e dieta hiperlipídica.....	38
Tabela 2 - Sequência dos <i>primers</i> utilizados no estudo.....	44

SUMÁRIO

1. Introdução.....	16
1.1 Obesidade.....	16
1.2 Obesidade materna.....	20
1.3 Regulação da transcrição adipogênica.....	21
1.4 Adipogênese-mecanismo molecular.....	23
1.5 Genes envolvidos na programação epigenética da obesidade materna.....	26
1.6 Efeitos dos polifenóis na obesidade.....	27
2.Objetivos.....	42
2.1 Objetivo geral:.....	42
2.2 Objetivo específico:.....	42
3.Métodos.....	43
3.1 Extração de RNA e síntese de cDNA.....	43
3.2 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real.....	44
3.3 Análise estatística.....	44
4.Resultados e discussão.....	45
5.Conclusão.....	55
Referências bibliográficas.....	56
Anexos.....	75
Anexo I.....	75
Anexo II.....	76
Apêndice.....	77

1 . Introdução

1.1 Obesidade

A obesidade é uma doença crônica, acompanhada por acúmulo excessivo de gordura quando comparada com valores previstos para dada estatura, gênero e idade. Além disso, é considerada uma doença complexa de etiologia multifacetada, com sua própria fisiopatologia, comorbidades e capacidades desabilitantes, sendo considerada um fator de risco para morte prematura (1).

Como é possível observar na Figura 1, a obesidade é um problema de saúde pública que afeta todas as faixas etárias, etnias e classes sociais em todo o mundo. Estima-se que mais de 1,9 bilhões de adultos no mundo estão acima do peso, com base no IMC (Índice de Massa Corporal ≥ 30 kg/m²), dos quais 650 milhões são obesos (2). De modo semelhante os dados epidemiológicos do Brasil indicam claramente que este problema vem se agravando. Em 1975 apenas 4,5% da população adulta era definida como obesa; já em 2016, observa-se que 22,3% da população adulta é composta por indivíduos obesos (2).

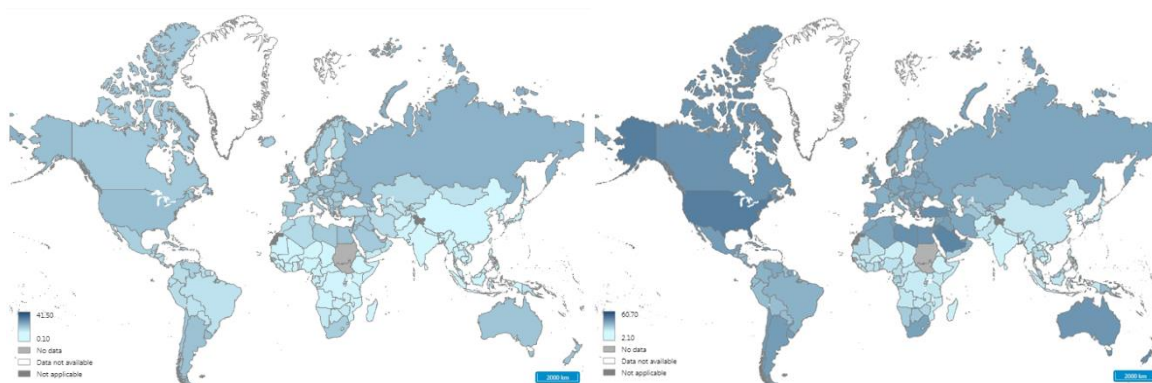


FIGURA 1. Aumento na prevalência de obesidade entre adultos ao longo dos anos. Prevalência de obesidade, segundo o IMC, em adultos com 30 anos ou mais em ambos os sexos, em 1975 e 2016 (estimativa bruta). Fonte: figura adaptada de Abarca-Gómez et al (2).

Dados obtidos da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), onde é mostrado a prevalência de excesso de peso e obesidade na população de 20 anos ou mais de idade por sexo em determinados períodos indicam que cerca de metade da população brasileira apresenta excesso de peso e em torno de 20% são obesos (Figura 2). As estimativas compararam 3 períodos distintos, permitindo ao final,

observar as modificações temporais na estrutura etária, assim sendo, para os homens, a prevalência de excesso de peso aumentou de 42,4% em 2002-2003 para 57,3% em 2013 e a obesidade de 9,3% para 17,5%. No caso das mulheres, este aumento foi mais acentuado, passando de 42,1% em 2002-2003 para 59,8% em 2013, ao passo que a obesidade passa de 14,0% para 25,2% (3). Dados estes, que são similares a outros países também em desenvolvimento, considerando as transições econômicas e demográficas (4), além da urbanização, mudanças na oferta de alimentos e dieta e redução na atividade física (5).

Considerando que a obesidade está associada ao surgimento de diversas comorbidades, o aumento do número de casos prejudica financeiramente o sistema público de saúde, devido ao maior gasto com tratamento de doenças como diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão, isquemias, infarto agudo do miocárdio e outras doenças coronarianas. Essas são uma das principais causas de morte da população mundial, ficando atrás somente da mortalidade ocasionada por neoplasias malignas (6).

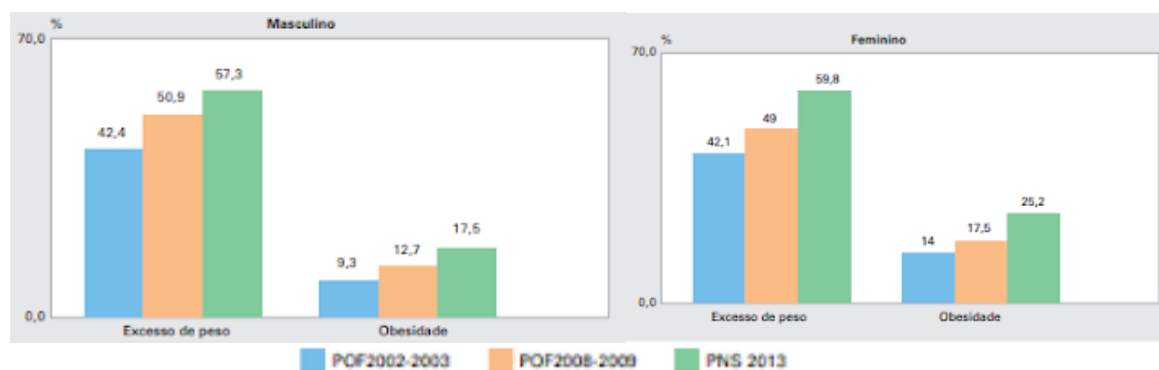


FIGURA 2. Aumento na prevalência de excesso de peso e obesidade entre adultos ao longo dos anos no Brasil. Prevalência de excesso de peso e obesidade na população de 20 anos ou mais de idade por sexo no Brasil- períodos 2002-2003, 2008-2009, 2013. Fonte: figura adaptada de IBGE (3).

1.1.2 Obesidade como indutor do processo inflamatório

O tecido adiposo atualmente é um dos principais focos das pesquisas em obesidade, a partir de uma revolução no entendimento da função biológica desse tecido (7). Nos últimos anos, o tecido adiposo tem sido identificado como um órgão endócrino, pois produz e libera vários fatores peptídicos e não peptídicos. Quantitativamente, as mais importantes secreções do tecido adiposo

são os ácidos graxos, que são liberados durante períodos de balanço energético negativo (particularmente o jejum). Além destes destacam-se as citocinas inflamatórias, também chamadas de adipocinas (7,8). De fato, sabe-se que a obesidade induz uma inflamação crônica de baixo grau, causada principalmente pelo aumento do tecido adiposo (9–11).

O processo inflamatório como consequência da obesidade envolve a ativação do sistema imune inato e pode resultar em respostas mal adaptadas como, fibrose e necrose. Uma cascata de adipocinas são liberadas e regulam outras células imunes, como eosinófilos, mastócitos e outros que mantêm os macrófagos residentes num estado M2 polarizado ou ativado alternadamente (12). Os macrófagos M2 polarizados secretam IL (Interleucina) 10 e outras citocinas, que atuam na manutenção da sensibilidade à insulina em adipócitos. Já os macrófagos M1 polarizados, exibem um fenótipo mais pró-inflamatório e secretam citocinas, como *TNF α* (Fator de Necrose Tumoral Alfa), o recrutamento destes macrófagos, gera aumento no número total de macrófagos e na proporção de macrófagos M1 para M2, isso é uma característica típica da inflamação no tecido adiposo causada pela obesidade, ainda associado com resistência insulínica e doenças metabólicas. A resposta imune Th1 ou Tipo1, geralmente ativado por inflamação, inicia uma resposta crônica no tecido adiposo, que envolve uma variedade de células capazes de produzir citocinas, que regulam o acúmulo e a atividade dos macrófagos M1 (13).

Os ácidos graxos livres podem promover inflamação por ligação indireta a TLR (Receptor do Tipo Toll) 4 e TLR2 através da proteína Fetuína A, resultando na ativação de NF- κ B (Fator Nuclear Kappa B) e JNK (c-Jun N-terminal cinase) 1 (14). Após a ativação, estas vias podem aumentar a síntese e secreção de quimiocinas como MCP (Proteína Quimiotática de Monócitos) 1, resultando na infiltração de macrófagos pró-inflamatórios.

Também há evidências de que a hipóxia gera inflamação por obesidade, por meio da má perfusão de adipócitos ou aumento do consumo de oxigênio (15). O aumento do volume de adipócitos, causado pelo mecanismo de hipertrofia, leva a redução do fluxo sanguíneo local, devido a compressão dos vasos sanguíneos (16–18). A exposição de tecido adiposo em cultura para condições hipóxias pode induzir a regulação positiva de muitos genes pró-inflamatórios, além de estar correlacionada com regiões que exibem infiltração de macrófagos (19). Portanto, os macrófagos infiltrados e os próprios adipócitos produzidos são os responsáveis pelo aumento de

marcadores inflamatórios, como *TNF α* , IL 6, PCR (Proteína C reativa), MCP1, tanto local, quanto em outros órgãos, estimulados por fatores secretados no tecido adiposo branco (18,20).

Várias citocinas como o *TNF* (Fator de Necrose Tumoral) α , *TNF β* , IL1, IL6 e IFN (Interferon) estão envolvidos no metabolismo dos adipócitos e são reconhecidos pelo seu potencial como reguladores endógenos da expressão gênica no tecido adiposo, todos eles afetam a homeostase da glicose em vários tecidos. O *TNF α* tem efeitos diretos no metabolismo dos adipócitos, através da sua capacidade de suprimir a expressão da maioria de genes específicos do tecido adiposo. Foi demonstrado que a sua administração causa aumento de triglicérides sérico e VLDL (Lipoproteína de Densidade Muito Baixa) em ratos e humanos (21–23). O tratamento à longo prazo de adipócitos com *TNF α* regula negativamente a expressão de *SLC2A* (Transportador de Glicose) 4, também denominado *GLUT4*, esse resultado indica que *TNF α* pode ser um mediador chave na expressão gênica anormal em síndromes que correlacionam obesidade e diabetes e deve assim, afetar a homeostase da glicose.

1.1.3 Síndrome metabólica

SM (Síndrome Metabólica) é considerada um transtorno complexo que abrange um conjunto de fatores de risco que se manifestam em um indivíduo. Estes fatores aumentam as chances para o desenvolvimento de DCV (Doença Cardiovascular) e outras condições crônicas.

Os fatores causais dessa síndrome são, deposição de gordura e RI (Resistência Insulínica) e são observadas alterações na obesidade abdominal, hipertensão, hipertrigliceridemia, HDL-c (Baixa Concentração de Lipoproteínas de Alta Densidade) e intolerância à glicose (24–27).

Um papel chave no desenvolvimento da síndrome metabólica é a RI visto que, a insulina é essencial no controle homeostático da glicose. A insulina é um hormônio produzido pelas células beta do pâncreas e tem a função de controlar os níveis de glicose no sangue. Se a função deste hormônio é prejudicada, o mecanismo de compensação é a produção elevada de insulina pelas células e conseqüentemente hiperinsulinemia.

As causas para a RI podem ser diversas, como: deficiência de secreção insulínica, ação irregular da insulina ou ambos (28) promovendo a proliferação de células beta como uma resposta compensatória (29).

Os fatores de risco relacionados à SM são: aumento do consumo de alimentos ricos em gordura e açúcares e aumento da inatividade física decorrente do aumento do sedentarismo, causado pelas novas formas de trabalho, meios de transporte e aumento da urbanização (5). Além dessas alterações consideradas fatores ambientais, os fatores genéticos, psicológicos e metabólicos também podem estar envolvidos. Os fatores ambientais ao interagirem com o genoma são chamados de fatores epigenéticos, cujo assunto vem sendo amplamente estudado pela importância na modulação de genes relacionados à obesidade. Além disso, existem outros fatores considerados não modificáveis como, o envelhecimento, sexo feminino e histórico familiar de obesidade (30). Sendo a idade um importante fator de risco na prevalência da síndrome metabólica (31).

1.2 Obesidade materna

A obesidade materna está amplamente associada ao nascimento de bebês que apresentam maior susceptibilidade para o desenvolvimento de sobrepeso e obesidade (32,33). Apesar da prevalência da obesidade crescer de forma alarmante e afetar todas as faixas etárias, devemos ressaltar que aproximadamente 34% das mulheres em idade reprodutiva (entre 20 e 39 anos) estão obesas (34). Este conjunto de dados mostra que a obesidade é um ciclo-vicioso altamente preocupante que necessita intensa investigação.

A obesidade materna tem sido associada ao desenvolvimento de maior percentual de gordura, maior adiposidade abdominal e maior risco cardiometabólico (35). Estudos *in vivo* mostram que a obesidade materna está associada com maior adiposidade, hiperfagia, maiores concentrações de colesterol e triglicerídeos e aumento da lipogênese com concomitante diminuição da beta oxidação (36,37). Além disso, já foi demonstrado que proles de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica apresentam alterações como aumento de peso, maior adiposidade, hiperleptinemia, hiperglicemia e resistência à *Lep* (Leptina) mesmo logo após o desmame (21 dias de vida) (38).

Considerando esse fator hereditário, alterações nutricionais, hormonais e ambientais em períodos críticos da vida (como a gestação e a lactação) estão fortemente associadas com o surgimento de doenças na idade adulta. As adaptações fisiológicas desenvolvidas pelo organismo como estratégia de sobrevivência podem se tornar prejudiciais à saúde do indivíduo a partir do momento em que as condições adversas são restauradas a níveis normais (39). Apesar de estudos

evidenciarem que essas desordens podem ter origem antes mesmo do nascimento, os mecanismos pelos quais essas alterações ocorrem ainda não estão totalmente elucidados. Este fenômeno biológico foi então denominado como “programação metabólica” (40–42).

O fenômeno da programação ou plasticidade ontogenética vem sendo estudado há décadas por diversos grupos de pesquisa em todo mundo. Uma adequada nutrição é essencial durante os períodos cruciais do desenvolvimento, já que ela pode agir como um fator de *imprinting* ou *priming*, levando a alterações fisiológicas e programando futuras doenças. A associação entre alterações em períodos críticos e desordens na vida adulta deu origem à “hipótese de Barker” ou “origem das doenças durante o desenvolvimento”, ganhando considerável expressão e levando a criação de uma sociedade mundial para o estudo a respeito da hipótese “DOHaD” (Origens Desenvolvimentistas da Saúde e da Doença). Em um famoso estudo publicado por Ravelli e colaboradores, em 1976, foi demonstrado que filhos de mães que sofreram restrição alimentar durante a gestação em virtude da II Guerra Mundial apresentavam maior prevalência de sobrepeso na idade adulta quando comparados a filhos de mulheres que tiveram uma gestação saudável. Outro importante estudo mostrou uma forte associação entre o baixo peso ao nascer e doenças comuns à síndrome metabólica como diabetes, hipertensão e sobrepeso na vida adulta (39).

Em um estudo acerca da associação entre obesidade materna e seus efeitos adversos à nível metabólico e vascular, resultados mostraram aumento de triglicérides e insulina em mulheres grávidas obesas em comparação as mulheres grávidas magras, além disso, o grupo obeso apresentou elevação da pressão arterial sistólica e redução da vasodilatação. Esses dados segundo os autores seriam capazes de influenciar na programação fetal (43).

Os efeitos deletérios da obesidade materna ocorrem durante períodos específicos de desenvolvimento fetal e pós-natal, todavia, para que ocorra a programação do tecido adiposo, o período sensível coincide com o da adipogênese (44), cujo mecanismo é desencadeado pela hiperplasia de adipócitos.

1.3 Regulação da transcrição adipogênica

O TA (Tecido Adiposo) desempenha um papel crucial na regulação metabólica sistêmica, ao armazenar a gordura, conservar o calor do corpo ou controlar a mobilização lipídica (45) Quando

excedemos a quantidade suficiente de gordura, esta é depositada na forma de triglicerídeos pelo tecido adiposo através da via lipogênica. O problema quanto ao armazenamento de TGs (Triglicerídeos) em adipócitos está no aumento do tamanho das gotículas de lipídios, expansão adiposa e consequentemente a obesidade (46). O armazenamento mantém os TGs divididos em glicerol e ácidos graxos, quando liberados pelo tecido adiposo passam a ser transportados pela corrente sanguínea e se infiltram em outros órgãos como, músculo e fígado, que garantem a ampla distribuição de lipídios e modulam o balanço energético (47).

O tecido adiposo é classificado em subtipos de acordo com a sua principal composição, ou seja, a área composta principalmente de adipócitos brancos, tem por definição TAB (Tecido Adiposo Branco) e a área com predomínio de adipócitos marrons é denominado TAM (Tecido Adiposo Marrom). O tecido adiposo branco é caracterizado por uma grande gota lipídica unilocular, presente no citoplasma, responsável pelo armazenamento e liberação de energia e secreção de adipocinas, como a leptina e adiponectina para a homeostase energética, participa também da regulação do balanço energético através da lipogênese e lipólise (48). Tem alta capacidade de estoque de energia na forma de TGs e protege órgãos como, o músculo e o fígado de lipotoxicidade (46). O TAB é o tecido mais abundante do corpo humano, que além de estar associado ao armazenamento, atua também como um importante órgão endócrino (49). Está localizado em regiões viscerais (inclui a gordura gonadal, epicardial, retroperitoneal, omental e peri-renal), consideradas mais deletérias, e em regiões subcutâneas, caracterizadas como protetoras no desenvolvimento de obesidade e doenças metabólicas relacionadas (50,51). Este tecido é constituído por adipócitos, fibroblastos, pré-adipócitos e células imunológicas (52) que contribuem para a manutenção de um microambiente pró-inflamatório na obesidade, por meio da expansão do tecido adiposo que ocorre através de um aumento no tamanho dos adipócitos (hipertrofia) ou um aumento no número de adipócitos (hiperplasia) que na adipogênese é considerado o mecanismo representativo (53).

O TAM é mais vascularizado e se encontra nas regiões suprarrenal, supraclavicular e cervical. Caracterizado morfológicamente por gotículas lipídicas multiloculares, numerosas mitocôndrias e altos níveis de expressão gênica de adipócitos marrons, principalmente a *UCP 1* (Proteína 1 de Desacoplamento Mitocondrial). O aumento de adipócitos marrons está associado à promoção de um fenótipo anti-inflamatório, diminuição da resistência insulínica, aumento da

termogênese, e por consequência a diminuição da obesidade, por estas razões, o TAM caracteriza o desenvolvimento de um tecido adiposo saudável. A exposição deste tecido a estímulos como frio, alterações na microbiota, ativação de receptores adrenérgicos causam mudanças morfológicas e funcionais, que possibilitam TAB por um processo de “amarronzamento” adquirir características do TAM, um ótimo marcador de identificação desse processo é a proteína 1 que permanece aumentada (54). Assim, é originado o TABE (Tecido Adiposo Bege), onde os adipócitos marrons gerados em TAB, são chamados de bege, estes são adipócitos originados e presentes em tecido adiposo branco, mas semelhantes ao tecido adiposo marrom, tornando este, o terceiro tipo de tecido adiposo, podem expressar também, *UCP1* em resposta a vários estímulos, portanto o TABE é considerado um órgão endócrino com função termogênica (54).

O quarto tipo de adipócito tem ganhado destaque recentemente na literatura, é denominado como tecido adiposo rosa, uma vez que, os adipócitos adquirem essa cor específica durante a gestação e lactação, esse processo é resultado da conversão reversível de adipócitos brancos (localizados nas glândulas mamárias) em células epiteliais produtoras de leite (adipócitos rosa). Estas células são consideradas estruturas alveolares, caracterizadas por inúmeras gotículas de lipídios citoplasmáticos, responsáveis pela secreção de leite. A porção alveolar se desenvolve somente durante a gestação e lactação e desaparece após o final deste período, portanto, camundongos fêmeas virgens não possuem esta porção em suas glândulas mamárias (55).

1.4 Adipogênese - mecanismo molecular

Para que a adipogênese ocorra uma célula-tronco multipotente do tipo mesenquimal indiferenciada se “compromete” à pré-adipócito, o qual se submete ao segundo estágio, que é a diferenciação para se tornar um adipócito carregado de lipídios (56,57), tendo a insulina e fatores de crescimento como fatores atuantes nestes processos (57). Durante a diferenciação à adipócitos, os pré-adipócitos comprometidos ao crescimento sofrem diversos ciclos de divisão mitótica (58) e após isso, deixam o ciclo celular e se submetem à diferenciação terminal, onde perdem a morfologia fibroblástica e acumulam triglicérides citoplasmático, adquirindo recursos metabólicos de adipócitos maduros. Essa diferenciação é regulada rigorosamente por uma cascata de fatores de transcrição (57).

Os reguladores primordiais da adipogênese são os da família *C/EBPs* (Proteínas de Ligação ao Amplificador CCAAT) e *PPAR γ* (Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissoma Gama) porém é importante considerar que o equilíbrio se faz necessário para a manutenção de um corpo humano saudável, portanto genes envolvidos na indução da adipogênese são tão essenciais quanto aqueles envolvidos na repressão do mecanismo (59). Outros fatores de transcrição pró-adipogênicos incluem *SREBP* (Proteína de Ligação ao Elemento Regulador de Esterol) 1, responsável por promover a diferenciação precoce dos adipócitos e por induzir a expressão de *PPAR γ* (60). E CREB (Proteína de Ligação Responsiva ao AMPc), cuja expressão se faz necessária em pré-adipócitos para induzir a diferenciação em adipócitos (61,62).

Além desses fatores de transcrição, a diferenciação ainda é influenciada por diversos hormônios, fatores de crescimento e citocinas, como: insulina, IGF (Fator de crescimento semelhante à insulina) 1, hormônios tireoidianos, mineralocorticóides, GCs (Glicocorticóides) e agonistas de *PPAR γ* (63). Considerando que a insulina é importante na regulação da adipogênese, existem moléculas essenciais envolvidas na cascata de sinalização insulínica, como PI3K (Fosfatidilinositol 3-quinases), mTOR (Alvo da Rapamicina em Mamíferos) e AKT (Proteína Quinase B) (64). O hormônio tireoidiano denominado Triiodotironina, promove a adipogênese através da expressão de um gene lipogênico induzido por TR α (Receptor Tireoidiano Alfa) 1 (65), enquanto que os glicocorticóides aumentam a expressão de *C/EBP γ* e *PPAR γ* (63).

A via de sinalização WNT pode ocorrer através da via canônica ou não canônica, e pela ação autócrina ou parácrina, regulando o crescimento e o destino das células em diversos tecidos (63). Por vias canônicas, a via WNT é responsável por manter os pré-adipócitos em um estado indiferenciado, ou seja, inibindo a diferenciação para adipócitos maduros, isso ocorre através da translocação de beta-catenina, que bloqueia os fatores de transcrição *C/EBPs* e *PPAR γ* . Detalhadamente, na via canônica a ligação de WNT a receptores *frizzled* presentes na superfície da célula causa a translocação da beta-catenina para o núcleo, permitindo a interação com os fatores de transcrição: TCF/LEF (Fator de Células T/ Fator Intensificador de Linfóide) para inibir *C/EBPs* e *PPAR γ* , consequentemente inibindo a adipogênese (66,67). Em contrapartida, a ausência de beta-catenina, pode levar à sua conversão para tecido adiposo, o que prejudicaria a regulação da adipogênese (68). Outro regulador negativo na diferenciação é o *TGF- β* (Fator de Transformação de Crescimento Beta), sua ação ocorre através da proteína SMAD3 (Mães Contra o Homólogo

Decapentaplégico 3) que interage com *C/EBPβ* e *C/EBPδ* (Proteínas de Ligação ao Amplificador CCAAT delta), reprimindo a atividade transcricional de *C/EBPα* (69). Além disso, as citocinas pró-inflamatórias podem inibir a adipogênese via ativação de diversos meios de sinalização intracelular. Estas diminuem a expressão de *PPARγ* e *C/EBPα* em pré-adipócitos e bloqueiam a ação da insulina (70–72).

O principal regulador da adipogênese é o *PPARγ* (73,74) e este gene é regulado diretamente ou indiretamente por diversos outros genes ou fatores, como por exemplo, a inibição de *C/EBPβ*, o aumento de GATA2 e GATA3, pela regulação de MAPK (Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos) ou pela ativação do meio WNT/ β -catenina (63). Outro grupo de proteínas denominadas SIRT (Sirtuínas) atuam regulando a atividade transcricional de *PPARγ* em especial a SIRT1, considerada como co-repressora de *PPARγ* (75,76).

A sinalização do cAMP (Monofosfato cíclico de adenosina) é mediada principalmente por CREB. A proteína Pka (Proteína Quinase A) é responsável por fosforilar e ativar CREB, este após estar ativo e fosforilado, conduz o promotor Ciclina D1 a ativar a transcrição das etapas iniciais da adipogênese, permitindo assim, a diferenciação de adipócitos em células 3T3L1 (77,78).

A via de sinalização MAPK intracelular é importante na proliferação e diferenciação celular (79) e ainda, na regulação da adipogênese. A via MAPK é subdividida em três vias, a via ERKs (Quinases Reguladas por Sinal Extracelular), a via JNK e a p38 MAPK (Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos p38), onde as vias ERKs e p38 MAPK estão envolvidas na adipogênese (80). A via ERK é capaz de diminuir a adipogênese pela inibição da expressão de *Pparγ* através da fosforilação mediada por MAPK (81). Quanto a via p38 MAPK, Aouadi e colaboradores (80) apontaram a inibição da adipogênese através da ausência de p38 que resultou no aumento de *C/ebpβ* e aumento na expressão de *Pparγ*. Por outro lado, outros estudos apontaram a promoção da diferenciação de células 3T3-L1 em etapas iniciais da adipogênese, ao observar que p38 inibido reduziu a fosforilação de *C/ebpβ* e diminuiu a expressão *Pparγ* (81,82). A Figura 3 representa as fases de determinação e diferenciação durante a adipogênese.

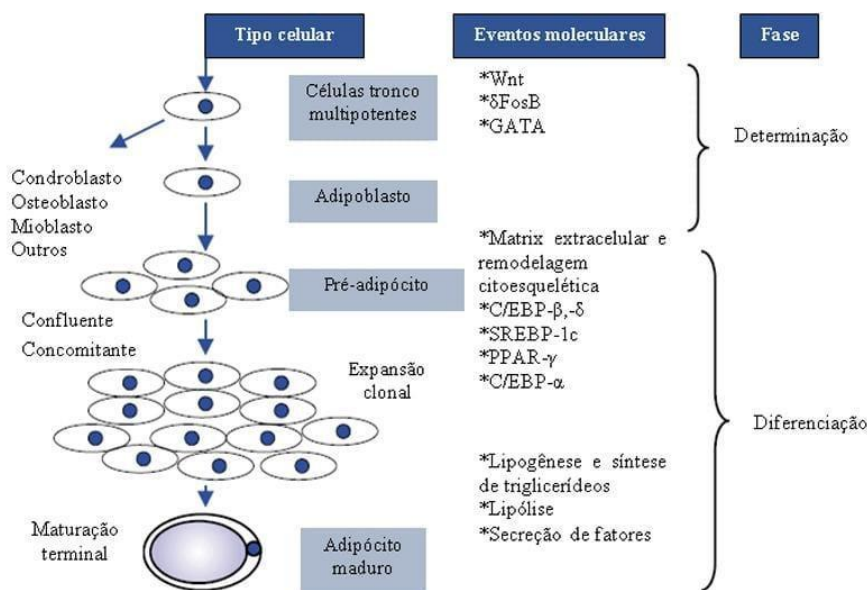


FIGURA 3. Determinação e diferenciação de adipócitos. Vias de sinalização e fatores de transcrição envolvidos na determinação e diferenciação de uma adipócito maduro. Fonte: figura adaptada de Fève (83).

1.5 Genes envolvidos na programação epigenética da obesidade materna

Estudos recentes, explicam que a prevalência de obesidade, diabetes e outras doenças crônicas não transmissíveis podem ter herança epigenética (84). Nesse sentido, tem sido demonstrado que, em roedores, a obesidade materna é capaz de alterar a expressão de fatores de transcrição pró-adipogênicos, como *Zfp* (Proteína do Dedo de Zinco) 423, *C/ebpβ* e *Pparγ*, na prole, reprogramando então a adipogênese. Em modelo de programação por obesidade materna foi demonstrado que a prole exibia um aumento nos níveis de expressão de *Zfp423* associado a hipometilação em seu promotor. Assim, ao desmame observou-se que a atividade elevada de *Zfp423* resulta em maior diferenciação de adipócitos, adipogênese acelerada, hiperplasia e maior adiposidade (85,86). Além disso, sabe-se que tanto a metilação do DNA quanto as modificações em histonas regulam a expressão de *Pparγ* no tecido adiposo. Neste sentido, tem sido descrito que a obesidade materna reprime a expressão de *Pparγ2*, uma isoforma de splicing do *PPARγ*, através de mecanismos epigenéticos no tecido adiposo branco da prole. Embora pareça paradoxal, acredita-se que o declínio na expressão deste gene no tecido adiposo pode ser visto como um mecanismo adaptativo para evitar maior acúmulo de gordura (87,88). Entretanto, verifica-se que a expressão

persistentemente reduzida de *Ppar γ 2* está correlacionada com um aumento na expressão de genes associados ao acúmulo de gordura, *Fas* (Ácido Graxo Sintase), *Dgat* (Diacilglicerol O-aciltransferase) 2 e *Lp* (Proteína Transportadora de Lipídeos) 1, sugerindo que ao menos em parte tal regulação deva ocorrer por vias adicionais de sinalização independentes de *Ppar γ* (89). Em resumo, a obesidade materna pode estar associada a modificações epigenéticas importantes que expliquem a origem da obesidade e outras morbidades apresentadas pela progênie.

1.6 Efeitos dos polifenóis na obesidade

Diante do que foi exposto fica claro que diferentes genes e fatores de transcrição estão intimamente ligados ao processo de adipogênese e que a obesidade não é uma condição singular, e sim um grupo complexo de condições com múltiplas causas que, em última análise, refletem no fenótipo obeso. Como mencionado anteriormente, parece evidente a tendência secular no aumento da obesidade paralelamente à redução na prática de atividade física e aumento no sedentarismo. Atualmente, diversas estratégias são utilizadas visando à redução de peso corporal, como por exemplo, o uso de suplementos alimentares naturais ricos em polifenóis (90,91).

Polifenóis são compostos bioativos encontrados em frutas e vegetais naturalmente sintetizados, envolvidos na proteção de plantas como moléculas sinalizadoras para protegê-las contra estresse oxidativo e radiação ultravioleta, ou a atração de polinizadores (92). Esses compostos naturais são capazes de modular a expressão de vários genes pró-inflamatórios como citocinas, síntese de óxido nítrico ciclooxigenase, lipoxigenase e, além de seu efeito antioxidante, contribui para a regulação da sinalização inflamatória e auxilia na diminuição do progresso em distúrbios metabólicos (93,94).

Os polifenóis pertencem a um amplo grupo de substâncias químicas, e podem ser divididos em flavonóides, compostos polifenólicos e fenólicos totais (95). Estes exercem efeito anti-obesidade por sua capacidade de interagir, direta ou indiretamente, com o tecido adiposo e ativar AMPK (Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina) que resulta na redução do colesterol, da síntese de ácidos graxos e da formação de triglicerídeos. Além disso, os polifenóis podem reprimir genes envolvidos na diferenciação de adipócitos e acúmulo de triglicerídeos (96).

Foi demonstrado que a obesidade materna altera as propriedades funcionais dos adipócitos desde o desenvolvimento fetal (97) até a idade adulta (98), resultando em adipócitos maiores e massa de TAB mais elevada (99). Além disso, a obesidade materna leva ao aumento da produção de citocinas e inflamação mediada pela placenta, o que pode afetar o desenvolvimento fetal e predispor a progênie à obesidade subsequente (100). Uma vez que a programação metabólica induzida pela obesidade materna tem um impacto profundo na prole, há uma necessidade urgente de encontrar abordagens de reprogramação eficazes para retomar o desenvolvimento normal. Nesse sentido, a suplementação com compostos naturais como os polifenóis pode ser útil na reprogramação das adversidades maternas associadas à obesidade.

Um estudo conduzido por Kataoka et al (101) mostrou que a ingestão de extrato de chá verde rico em EGCG (Epigallocatequina-galato) durante a lactação teve efeitos protetores sobre os rins de filhos adultos alimentados com HF (Dieta Hiperlipídica), uma vez que, o tratamento de embriões de rato com EGCG bloqueia a ativação do FOXO3A (*Forkhead Box O3*) e reverte a inibição de AKT, prevenindo a embriopatia induzida por hiperglicemia (102). Da mesma forma, a dieta rica em isoflavona de soja durante a gravidez pode proteger contra doenças cardiovasculares na prole por meio da estimulação de enzimas antioxidantes e da expressão de genes redox-sensíveis (103).

Curiosamente, Tain Y et al (104) destaca os efeitos benéficos da suplementação de resveratrol como uma importante estratégia de reprogramação contra o desenvolvimento de distúrbios relacionados à síndrome metabólica. Os efeitos a longo prazo de uma HF materna e pós-natal combinada levam à interrupção metabólica caracterizada por aumento do peso corporal, altos níveis de ALT (Alanina Aminotransferase), HDL, triglicerídeos séricos, leptina, colesterol e angiotensina I e II, que podem ser melhorados pela terapia com resveratrol (105). Foi sugerido que o resveratrol poderia atravessar a placenta e afetar a sua função por meio de suas atividades anti-inflamatórias (106) e antioxidantes (107). A Figura 4 resume os efeitos da programação materna induzida pela obesidade, onde uma memória epigenética é transmitida para os seus recém-nascidos, logo para descendentes adultos, aumentando assim a expressão de *Ppary*, *Zfp423* e *C/ebpa*, porém a suplementação de polifenóis foi capaz de inibir a expressão desses genes adipogênicos, regulado negativamente a adipogênese.

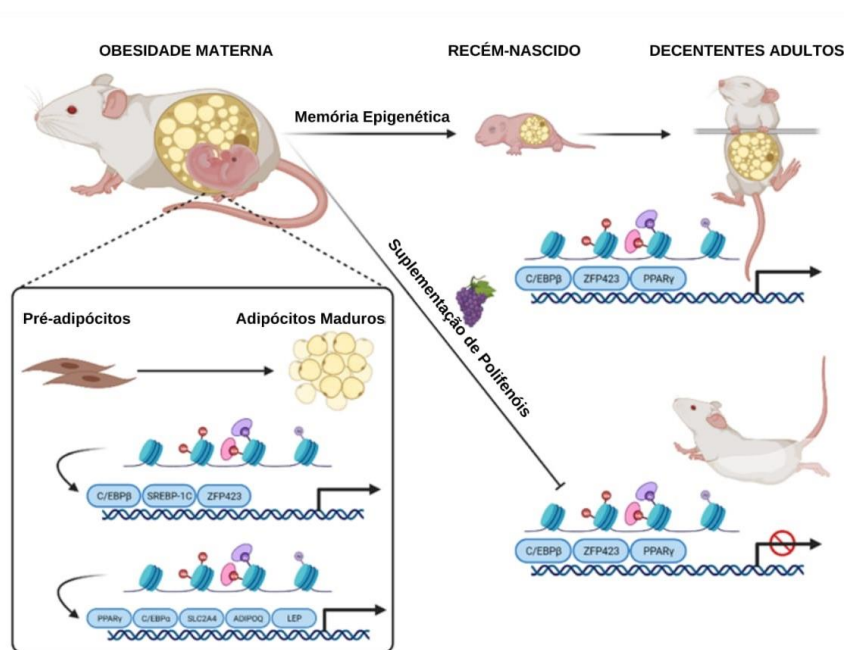


FIGURA 4. Representação esquemática do efeito dos polifenóis na programação materna induzida pela obesidade materna. A suplementação de polifenóis na neutralização dos efeitos deletérios da programação da obesidade materna na prole, através da regulação negativa da adipogênese via inibição de *Pparγ*, *Zfp423* e *C/ebpα*. Fonte: figura adaptada de Fortunato et al (108).

A teobromina (3,7-dimethylxanthine) é o maior alcaloide do tipo xantina, encontrado principalmente em sementes de cacau, porém também pode estar presente em folhas de guaraná (109). Tem sido demonstrado que este bioativo do guaraná pode regular a adipogênese por meio da ativação de AMPK e inibindo as vias ERK e JNK, resultando na inibição do estágio inicial da diferenciação de adipócitos, indicando o seu efeito anti-adipogênico. O composto ainda mostrou inibir a acumulação lipídica por meio da expressão diminuída de *Pparγ* e *C/ebpα*. Além de levar a inibição da adipogênese em pré-adipócitos 3T3-L1 em estágio inicial pela regulação na expressão dos genes másters (110). Estudos realizados por Mitani et al (111) onde camundongos machos ICR administrados com teobromina durante 7 dias, demonstraram atenuação nos ganhos de peso corporal e do tecido adiposo epididimal e supressão de genes adipogênicos associados ao tecido adiposo de camundongo, como *Fas* e *perilipina*, além disso a teobromina também promove a

degradação de C/ebp β através da inibição da sinalização do Ar1 (Receptor de Adenosina), o que causa uma atenuação na diferenciação de adipócitos em células 3T3-L1.

A cafeína (1,3,7-trimethylxanthine) é um alcaloide, presente no chocolate, café e chá, amplamente consumida por seres humanos em todo mundo (112). Diversos estudos vêm apontando a sua eficácia na redução do ganho de peso, aumento do gasto energético, supressão do acúmulo de lipídios intracelular, entre outros benefícios (113–116). In vitro, a associação de cafeína e ácido clorogênico atenuou a adipogênese em células 3T3-L1, ao inibir a expressão de RNAm dos principais genes adipogênicos, como Ppar- γ 2 e C/ebp α em estágios tardios de diferenciação e regulou o metabolismo de gordura através da sinalização AMPK (115). Outra associação foi descrita por Zhu et al (117) em células 3T3-L1, onde a combinação de catequinas e cafeína reduziram a acumulação de gordura intracelular, níveis de expressão de RNAm de Ppar- γ e C/ebp α em estágios iniciais de diferenciação celular e reprimiram os níveis de expressão de RNAm de Fas e de Gapdh (Proteína Gliceraldeído-3-fosfato Desidrogenase). A cafeína também contribuiu para aumentar a expressão das proteínas, ATGL (Lipase Triglicerídica Adiposa) e HSL (Lipase Sensível ao Hormônio), os resultados obtidos a partir dessa combinação sugerem que, a catequina e a cafeína, em conjunto podem contribuir para um efeito antiobesidade. A cafeína considerada um bioativo anti-adipogênico, suprimiu a diferenciação de adipócitos 3T3-L1, inibindo a expressão de Ppar γ 2 e C/ebp α , enquanto o fator secretado de Pref (Fator de Pré-adipócitos) 1 e 2, considerados marcadores anti-adipogênicos permaneciam expressos, além disso a cafeína inibiu a adipogênese através da inativação da via AKT/GSK β (Glicogênio Sintase Quinase Beta) 3. A via de sinalização AKT é essencial para a diferenciação de adipócitos, e o seu envolvimento na via de sinalização insulínica ou IGF1 ocorre parcialmente pela fosforilação da proteína GSK3 β . Além disso, a via AKT inativada pode resultar na inativação de FKHR (do inglês, Forkhead Transcription Factor) outro elemento essencial para a progressão da adipogênese (118).

Com o objetivo de desenvolver um agente anti-obesidade, foram avaliados os efeitos produzidos pela combinação de glicosil hesperidina e cafeína na obesidade em camundongos, essa combinação resultou em diminuição do peso corporal e do tecido adiposo, menor lipogênese e níveis de triglicerídeos hepáticos mais baixos (119).

A Quercetina é o flavonoide mais abundante, encontrado em frutas, vegetais, chás, vinhos, nozes e sementes, com diversas funções biológicas, como anticarcinogênica, anti-inflamatória e atividades antivirais (120). Incluem também atividade inflamatória e antiobesidade (121). Diversos estudos investigam os mecanismos moleculares associados aos efeitos que a quercetina exerce na adipogênese, incluindo pré-adipócitos 3T3-L1. O tratamento com a quercetina em células 3T3-L1 resultou na indução de apoptose e consequente diminuição da fosforilação JNK e ERK, através da regulação positiva da via de sinalização AMPK e de seu substrato ACC (acetil-CoA Carboxilase), produzindo um efeito anti-adipogênico (120). Níveis diminuídos de expressão de RNAm de genes chaves tais como, Ppar γ , C/ebp α , Fabp (Proteína de Ligação ao Ácido Graxo) 4 e aP2 (Proteína Carreadora de Ácidos Graxos) e LPL (Lipoproteína Lipase), prevenindo assim a adipogênese, através de cascas de cebola, com alto conteúdo de quercetina (122). A quercetina exerceu efeitos anti-adipogênicos através de fatores de transcrição C/ebp α , Ppar γ e Srebp-1c que tiveram a sua expressão diminuída em nível proteico e RNAm. Além disso, preveniu a adipogênese através da regulação positiva na expressão de ATGL e HSL e supressão de Fas, LPL e aP2, assim como a expressão de fatores de transcrição. A quercetina ainda inibiu os fatores de sinalização da via MAPK (ERK1/2, JNK e p38), e os níveis de expressão Mcp1 e Tnf α em adipócitos e macrófagos (123).

Estudos in vivo de Nettore et al (124) mostraram que a suplementação com Q2 em ratos machos Wistar reduziu o ganho no peso corporal e no tecido adiposo branco, melhorou a dislipidemia, tolerância à glicose e reduziu a acumulação de lipídeos hepáticos pela ativação na expressão de genes relacionados à beta-oxidação. A redução da PAS (Pressão Sanguínea Sistólica) e as baixas concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol total, AGL (Ácidos Graxos Livres) e a insulina foram encontrados em ratos Zucker obesos que receberam uma das doses de quercetina. O aumento da concentração de adiponectina promoveu a melhora no estado inflamatório, com redução dos níveis plasmáticos de NOx (Óxido Nítrico) e Tnf α no tecido adiposo visceral (125). Ying et al (126) apresentaram a Penta-metil-quercetina (PMQ) um derivado natural da quercetina encontrado em uma variedade de ervas comestíveis, este estudo objetivou investigar se o composto pode ser capaz de atenuar a adipogênese no tecido adiposo epididimal de camundongos, resultados indicaram que os camundongos que foram alimentados com o composto, comparados com camundongos alimentados com a dieta hiperlipídica, apresentaram menor ganho

de peso corporal, massa de tecido adiposo e níveis plasmáticos mais baixos de TG, colesterol total, LDL-c, porém níveis plasmáticos mais elevados de HDL-c. PMQ reverteu significativamente a regulação induzida por HF de genes de sinalização Sirt1 / mTOR (Sirt1 e mTOR), e genes adipogênicos chave (Ppar γ , Srebp1, Fas, Atgl, Hsl e perilipina) nos tecidos adiposos epididimais de camundongos obesos.

Apesar do número limitado de publicações envolvendo os descritores “quercetin and adipogenesis” no pubmed, é importante para avaliar os efeitos do composto no tratamento da obesidade e doenças relacionadas. Lee et al (127) tinham por objetivo investigar os efeitos do extrato da casca da cebola, rica em quercetina, na composição de sujeitos obesos e em sobrepeso, durante 12 semanas, no estudo haviam grupos, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, resultados mostraram que o extrato reduziu a porcentagem de gordura corporal em ambos os grupos, diminuiu os níveis de glicose e leptina no sangue e gerou aumento do gasto energético em repouso e do quociente respiratório. Nos estudos de Kim e Yim (128), utilizando do mesmo composto, em mulheres obesas e em sobrepeso, com dois grupos distintos, grupo encapsulado por placebo e outro com o composto rico em quercetina, obtiveram resultados na diminuição da porcentagem de massa gorda corporal e indução dos níveis plasmáticos de adiponectina. As atividades de ALT e AST, bem como os níveis de leptina, visfatina, TNF- α e IL-4 no plasma não foram significativamente diferentes entre os dois grupos após 12 semanas de suplementação.

1.6.1 Benefícios do guaraná na adipogênese

O guaraná (*Paullinia cupana*) é uma planta originária do Brasil. Apresenta espécies nativas na região Amazônica, e sua descoberta e utilização por povos indígenas precede a conquista da América. Devido a sua ação estimulante, tônica e afrodisíaca, os povos Maués a consideravam uma espécie sagrada e tão valiosa quanto o ouro. Com sabor levemente amargo, adstringente e ácido, o pó de guaraná, dissolvido em água, foi considerado pela sabedoria popular indígena o elixir para obtenção de uma vida longa (129).

O guaraná é rico em compostos bioativos, em sua grande maioria pertencentes ao grupo de polifenóis, tais como metilxantinas como cafeína, teobromina e teofilina e em flavonóides como taninos, saponinas, catequinas, epicatequinas, proantocianinas e traços de outros compostos (130). Dentre os bioativos presentes na semente do Guaraná, a cafeína é considerada o principal bioativo

e está associada ao aumento da função cognitiva e gasto energético, as sementes quando em pó ou torradas, podem ser usadas para produzir produtos comerciais com alto conteúdo de cafeína (131). Hoje, sabe-se que os extratos têm sido usados como estimulantes, afrodisíacos, tônicos e para perda de peso (132). Apresentam ainda atividade antioxidante (133–135), efeitos antimicrobianos (136,137), propriedades antitumorais e anticarcinogênicas (138,139), melhora na performance cognitiva (140,141), e efeitos antidepressivos (142). O guaraná atua positivamente no metabolismo lipídico, aumentando o gasto energético basal e resultando na perda de peso (143,144). Alguns trabalhos sugerem que o guaraná exibe efeitos similares aos observados no chá verde e chá preto, e devido suas propriedades benéficas, o interesse pelo seu estudo vem ganhando destaque (145).

Um estudo epidemiológico demonstrou uma associação significativa entre o consumo habitual de guaraná entre a população idosa amazônica e a diminuição na prevalência de distúrbios metabólicos relacionadas, dentre elas, obesidade, síndrome metabólica e hipertensão. Ainda demonstrou menor circunferência na região da cintura e menores níveis de colesterol (total e LDL-c) (Lipoproteína de Baixa Densidade) quando comparados com aqueles que não consumiam o guaraná habitualmente (146). Outro estudo que avaliou os efeitos benéficos do Guaraná contra a aterosclerose através da avaliação da oxidação de LDL em idosos, mostrou que consumidores habituais de guaraná demonstraram menor oxidação de LDL em comparação aos indivíduos que não consumiam habitualmente, a substância ainda, demonstrou alta atividade antioxidante *in vitro* (147). Resultados obtidos por Yonekura e colaboradores (148), a partir da ingestão diária de 3 gramas do pó de guaraná por 15 dias, revelou redução do estresse oxidativo de indivíduos clinicamente saudáveis, por ação antioxidante direta dos fitoquímicos absorvidos e aumento da regulação de enzimas antioxidantes.

In vivo, ratos Wistar após a suplementação com o pó de Guaraná, preveniu o ganho de peso, a resistência insulínica e a desregulação de adipocinas induzida pela dieta Ocidental, comparada com dieta controle, o guaraná ainda induziu expansão do tecido adiposo marrom, biogênese mitocondrial, superexpressão de *Ucp1*, ativação de AMPK e pequenas alterações na microbiota intestinal (149). Os dados referentes aos modelos experimentais *in vivo* desenvolvidos por nosso grupo serão apresentados em item subsequente.

Visto as propriedades farmacológicas do guaraná e sua importância na medicina popular, estudos apontam o uso desse extrato em vias adipogênicas. Santos et al (150) demonstraram em cultura de células 3T3L1 que a associação de erva mate, guaraná e damiana (“YGD”) foi capaz de reduzir a expressão de genes pró-adipogênicos como *C/ebpa*, *Adig* (Gene Codificador de Adipogenina), *Pparγ* e aumentar a expressão de genes anti-adipogênicos como *Klf2* e *Ucp1*. Lima et al (151) investigou os efeitos do guaraná em genes e miRNAs (microRNAs) relacionados a adipogênese em células 3T3-L1, resultados mostraram que o extrato aumentou a expressão de genes anti-adipogênicos, *Foxo1* e *Gata3* que reprimiram *Pparγ*, enquanto *Dlk1* (Proteína Delta Homóloga) reprimiu *C/ebpβ* e *C/ebpδ* que consequentemente prejudicou a interação direta entre *Pparγ* com *C/ebpa*. O guaraná induziu ainda, a expressão de três importantes vias, Wnt1, Wnt3a e Wnt10b, a ativação dessas vias ocorreu pelo aumento da translocação nuclear de β-catenina que conduziu a repressão de *C/ebpa* e *Pparγ*, assim sendo, estes eventos favoreceram o efeito anti-adipogênico, ao reprimir genes chaves envolvidos com a adipogênese. Este estudo ainda demonstrou o papel de miRNAs nos genes alvos selecionados e, por conseguinte na adipogênese, os alvos moleculares foram, Wnt1, Wnt3a e Wnt10b, todos envolvidos na inibição da adipogênese, os resultados mostraram que o guaraná conduziu ao aumento da expressão desses alvos moleculares, aumentando o efeito anti-adipogênico. A figura 5 mostra os genes envolvidos no efeito anti-adipogênico e promoção da biogênese mitocondrial do estudo citado anteriormente.

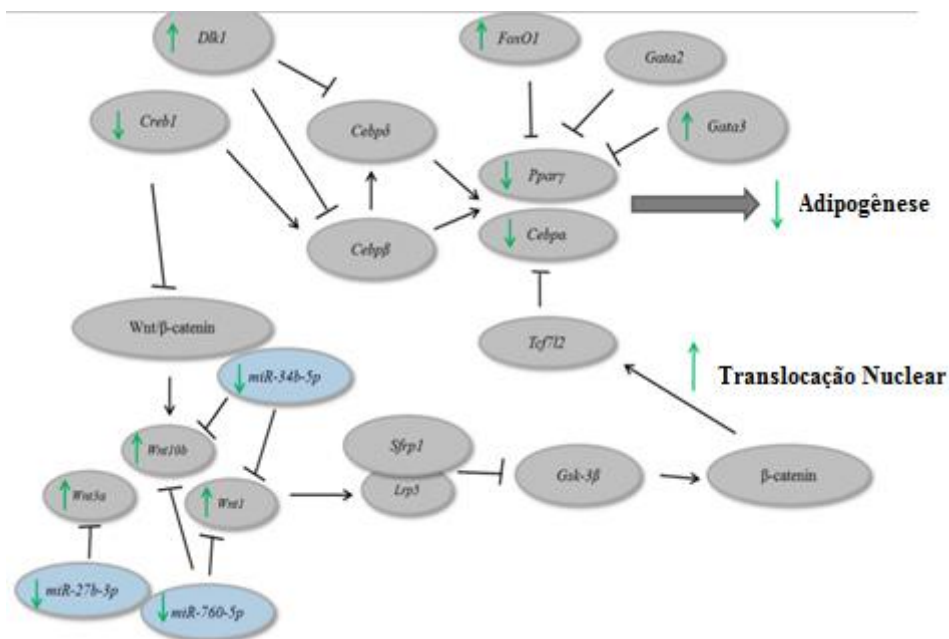


FIGURA 5. Cascata da sinalização de genes envolvidos no processo de adipogênese e promoção de biogênese mitocondrial. Efeitos in vitro do guaraná nos genes e microRNAs envolvidos na adipogênese. Fonte: figura adaptada de Da Silva Lima et al (151).

Embora os dados de literatura indiquem que o guaraná pode ter um papel relevante no tratamento e prevenção da obesidade, poucos estudos acerca dos mecanismos moleculares da adipogênese são encontrados na literatura. Em nível molecular, há estudos que demonstram resultados do efeito inibitório na adipogênese, através dos mecanismos dos compostos bioativos presentes no guaraná, incluindo teobromina, cafeína e quercetina (Figura 6).

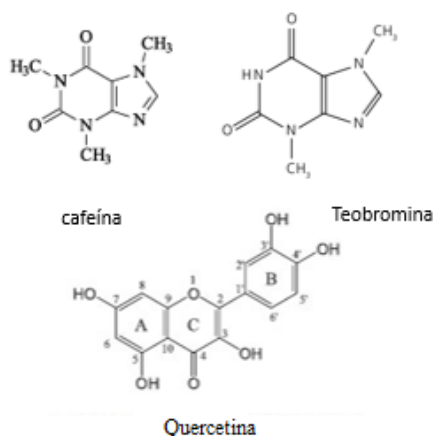


FIGURA 6. Compostos bioativos presentes no Guaraná. Estruturas moleculares denominadas cafeína, teobromina e quercetina. Fonte: figura modificada de Heckmam (152).

1.6.2 Benefícios do guaraná em modelos de obesidade

Dois estudos pregressos de nosso grupo de pesquisa avaliaram o efeito do Guaraná na biogênese mitocondrial em animais obesos e nos parâmetros metabólicos e inflamatórios em camundongos machos adultos programados pela obesidade materna. Os resultados do primeiro estudo *in vivo* com camundongos C57BL6J revelaram que o guaraná (1g/kg de peso) foi capaz de diminuir o ganho de peso (Figura 7A) e a deposição de vários compartimentos do tecido adiposo (Figura 7B), mesmo quando associado ao consumo de dieta hiperlipídica. Além disso, o VO₂ (Volume de Oxigênio) (Figura 7C e D) e o EE (Gasto Energético Basal) (Figura 7E) foram maiores em animais alimentados com dieta hiperlipídica que receberam tratamento com guaraná por oito semanas quando comparados aos animais alimentados com dieta hiperlipídica sem tratamento (153).

Outros resultados deste mesmo experimento demonstram que o guaraná aumenta o número de mitocôndrias e modula diversos genes relacionados com a biogênese mitocondrial como *Pgc1α* (Co-ativador-1 Alfa do Receptor Ativado por Proliferador do Peroxissoma), *Ucp1*, *Ucp2*, *Creb1*, *Ampka1* (Proteína Quinase Ativada por AMP alfa), *Nrf* (Fator respiratório nuclear) 1, *Nrf2* e *Sirt1*. Em resumo, acredita-se que a modulação causada pelo tratamento com guaraná contribuiu para o menor acúmulo de gordura em todos os depósitos de tecido adiposo e o aumento do gasto energético, bem como o maior conteúdo de mitocôndrias no músculo esquelético. A Figura 7F resume o modo de ação do guaraná neste modelo (153).

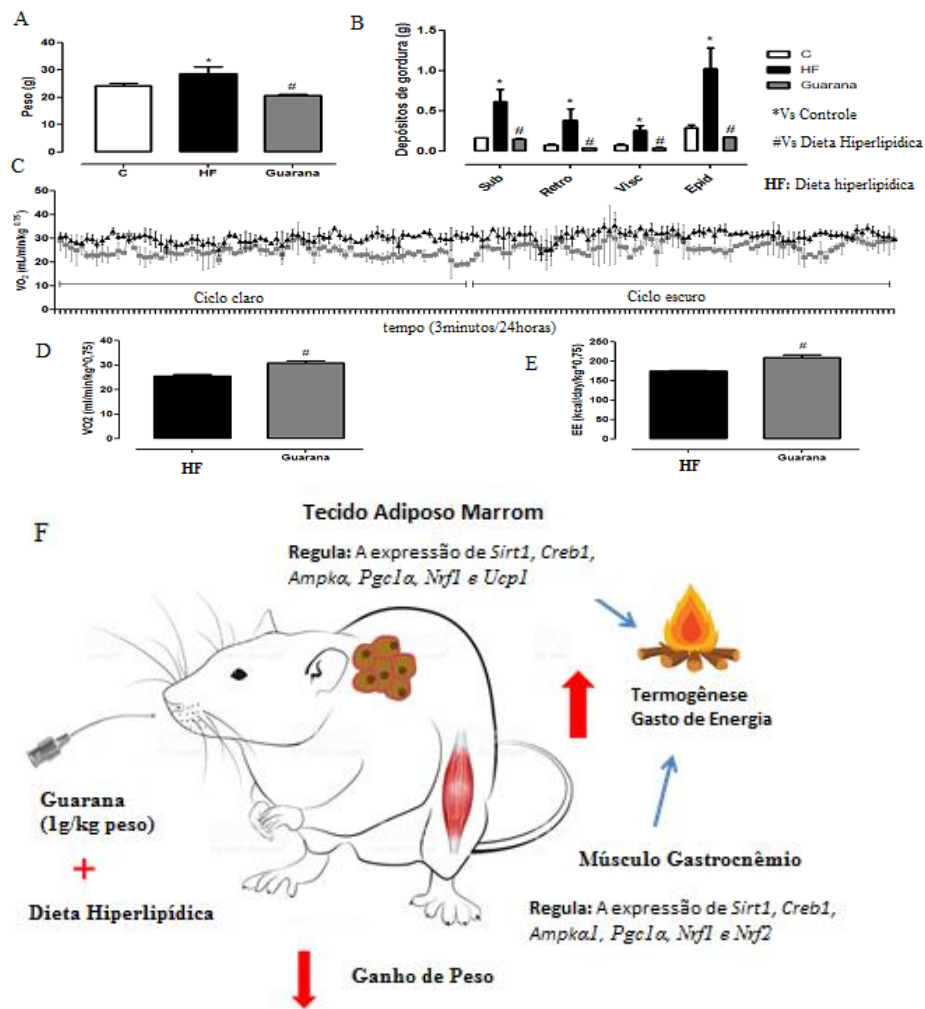


FIGURA 7: Mecanismo de ação do Guaraná no Modelo de Obesidade Programada. Peso corporal (A) e peso de diferentes depósitos de tecido adiposo (Sub – Subcutâneo, Retro – Retroperitoneal, Visc – Visceral e Epid – Epididimal) (B), figura representativa do volume de O₂ consumido (C), volume de VO₂ (D) e gasto energético basal em 24 horas após oito semanas de dieta hiperlipídica com ou sem tratamento com guaraná (1g/kg de peso). Resultados significantes quando $p < 0,05$ (F) Efeitos do guaraná na biogênese mitocondrial. Fonte: Lima et al, 2018 (153).

Posteriormente avaliamos o efeito do guaraná em camundongos machos adultos programados pela obesidade materna (154). Para o desenvolvimento deste trabalho, camundongos Swiss fêmeas foram alimentados por oito semanas com dieta hipercalórica rica em lipídios com

teor calórico 36% maior que a dieta padrão (sendo 60% proveniente de gordura, contra 16% na dieta padrão) e divididas em: Grupo Controle (Fêmeas alimentadas com dieta padrão (16% de gordura) e água pura *ad libitum* por oito semanas) e Grupo Dieta Hiperlipídica (Fêmeas alimentadas com dieta hiperlipídica (60% de gordura) e água pura *ad libitum* por oito semanas). Após oito semanas de dieta, as fêmeas foram acasaladas e acondicionadas em gaiolas individuais até o nascimento das proles. Ao nascimento, a ninhada foi ajustada para seis filhotes machos por mãe a fim de melhorar o potencial lactotrófico. Ao desmame (21 dias) todas as proles (Controle e Hiperlipídica) foram alimentadas com dieta padrão e água *ad libitum*.

A dose de guaraná utilizada foi 1g/kg de peso corporal. Previamente o composto utilizado foi caracterizado e possui em sua composição: 2,42% de flavonóides, 9,18% de compostos fenólicos totais e uma alta concentração de cafeína (12,4%) (151). Para avaliação dos efeitos do guaraná sobre proles programadas pela obesidade materna, as mesmas foram subdivididas de acordo com a Tabela 1.

TABELA 1. Descrição do grupo experimental de proles alimentadas com dieta controle e dieta hiperlipídica. Fonte: tabela adaptada de Lima et al (154).

Grupo experimental	Descrição
Controle (C)	Proles provenientes de mães alimentadas com dieta padrão que receberam solução veículo com volume similar ao grupo tratado com guaraná;
Dieta Hiperlipídica (HF)	Proles provenientes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica que receberam solução veículo com volume similar ao grupo tratado com guaraná;
HF + Guaraná Precoce (HFEarly)	Proles provenientes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica + tratamento com guaraná de PN (Pós Nascimento) 25 a PN35
HF + Guaraná Tardio (HFlate)	Proles provenientes de mães alimentadas com dieta hiperlipídica + tratamento com guaraná de PN65 a PN75

Nossos dados mostram que o tratamento com guaraná foi capaz de prevenir o ganho de peso sem alterar o consumo alimentar das proles. Animais provenientes de mães obesas tratados

precocemente ou tardiamente (HF_{early} e HF_{late}) apresentam ao final do período experimental peso similar ao grupo controle quando comparados ao grupo HF sem tratamento (Figura 8A). O gasto energético basal também foi modificado pelo tratamento com guaraná. Animais do grupo HF que não receberam tratamento apresentaram um gasto energético basal reduzido quando comparados ao grupo Controle (C), no entanto os animais que receberam tratamento tanto no período inicial (HF_{early}) quanto no período tardio (HF_{late}) apresentaram um aumento do gasto energético. Estes dados confirmam que o guaraná apresenta efeito potencial que pode prevenir os efeitos deletérios causados pela obesidade materna (Figura 8B).

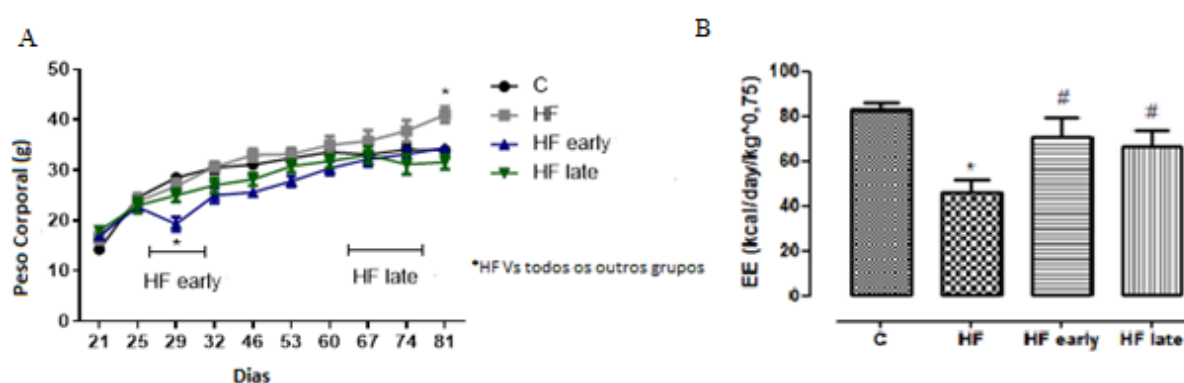


FIGURA 8: Avaliação do peso corporal e do gasto energético basal nas proles programadas pela obesidade materna. (A) Evolução de peso corporal nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HF_{early}) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HF_{late}). Resultados significantes quando $p < 0,05$. (B) Gasto energético basal em 24 horas nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HF_{early}) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HF_{late}). Resultados significantes quando $p < 0,05$. Fonte: Lima et al, 2019 (154).

A avaliação da adiposidade central/abdominal foi realizada através da dissecação e pesagem dos compartimentos de gordura subcutânea, epididimal, retroperitoneal e mesentérica. Na figura abaixo, podemos observar que a obesidade materna programou as proles para um maior acúmulo de gordura retroperitoneal, epididimal e visceral (Figura 9A-C) e o tratamento com guaraná preveniu o acúmulo destes depósitos (Figura 9A-C), exceto no depósito de gordura epididimal do grupo de tratamento precoce (HF_{early}), apesar da forte tendência. Observamos um perfil similar nos depósitos de gordura subcutânea, no entanto sem diferença significativa (Figura 9D). Além

disso, nenhuma modificação foi observada nas reservas musculares em ambos os grupos (Figura 9E).

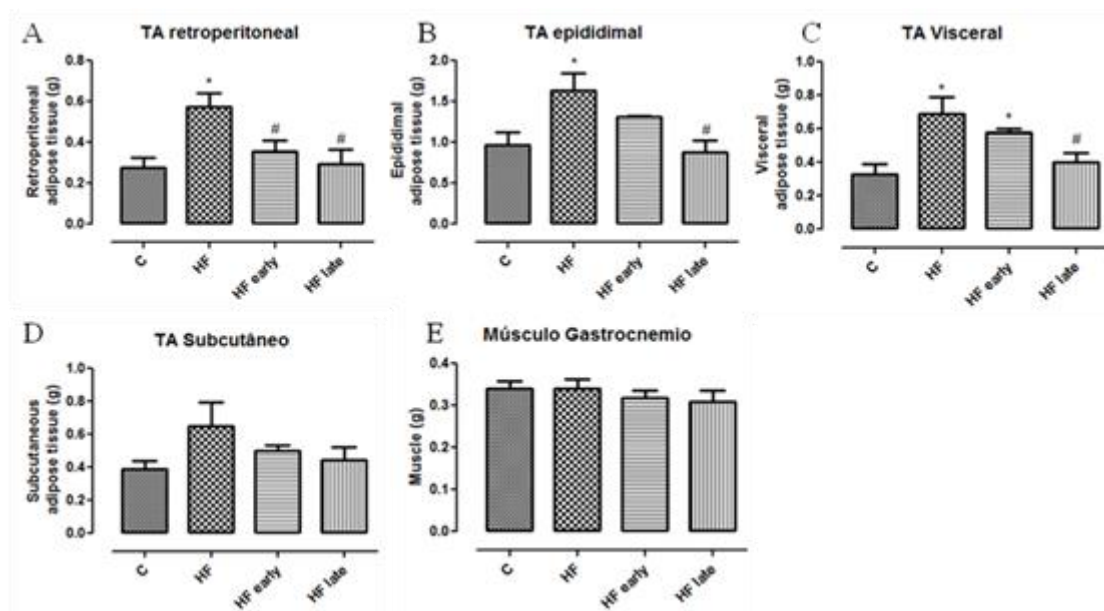


FIGURA 9. Avaliação da adiposidade central/abdominal das proles programadas pela obesidade materna. Peso do tecido adiposo retroperitoneal (A), epididimal (B), visceral (C), subcutâneo (D), músculo gastrocnêmico (E) nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HFearly) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HFlate). Resultados significantes quando $p < 0,05$. Fonte: Lima et al, 2019 (154).

Do ponto de vista molecular, observamos um aumento da expressão de leptina, IL-6, *Tnf- α* e *Mcp-1* comparado ao grupo de filhotes de mães com dieta HF sem tratamento em qualquer estágio de vida, neste modelo de programação induzido por obesidade materna foi verificado que a obesidade materna programou alterações metabólicas e inflamatórias na prole, e que o tratamento com guaraná em diferentes fases da vida (precoce e tardia), induziu melhorias em vários parâmetros metabólicos e inflamatórios que foram mantidos ao longo de todas as fases da vida (154).

Tendo em vista os resultados prévios obtidos pelo grupo, pretende-se neste trabalho aprofundar o conhecimento acerca do mecanismo de ação do guaraná em um modelo de obesidade induzida por programação materna. Todos os resultados descritos nesta Dissertação foram gerados a partir do material biológico obtido do modelo experimental previamente desenvolvido (154). É

importante destacar que este trabalho se enquadra perfeitamente nos conceitos mais modernos de bem-estar animal, também conhecido como Princípio dos 3R's (redução, substituição e refinamento), o qual busca obter o maior número possível de informações relevantes em um pequeno número de animais. Estes trabalhos foram aprovados de acordo com o CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) da Universidade São Francisco. (**Anexo I**: Aprovação do CEUA).

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral:

Avaliar os efeitos anti-adipogênicos do guaraná em um modelo de programação induzida pela obesidade materna;

2.2 Objetivo específico:

Verificar a expressão de genes associados à adipogênese.

3. Métodos

3.1 Desenho experimental

Este projeto de pesquisa envolve outros trabalhos do nosso grupo de pesquisa sobre o uso de polifenóis em doenças metabólicas, sendo assim, a motivação para investigar a adipogênese neste modelo animal surgiu a partir de outras análises prévias que garantiram resultados em vias de sinalização diferentes, portanto o mesmo grupo experimental já utilizado em nosso laboratório (154), possibilitará neste trabalho investigar as vias de sinalização que regulam a adipogênese. A figura 10 representa o desenho experimental utilizado.

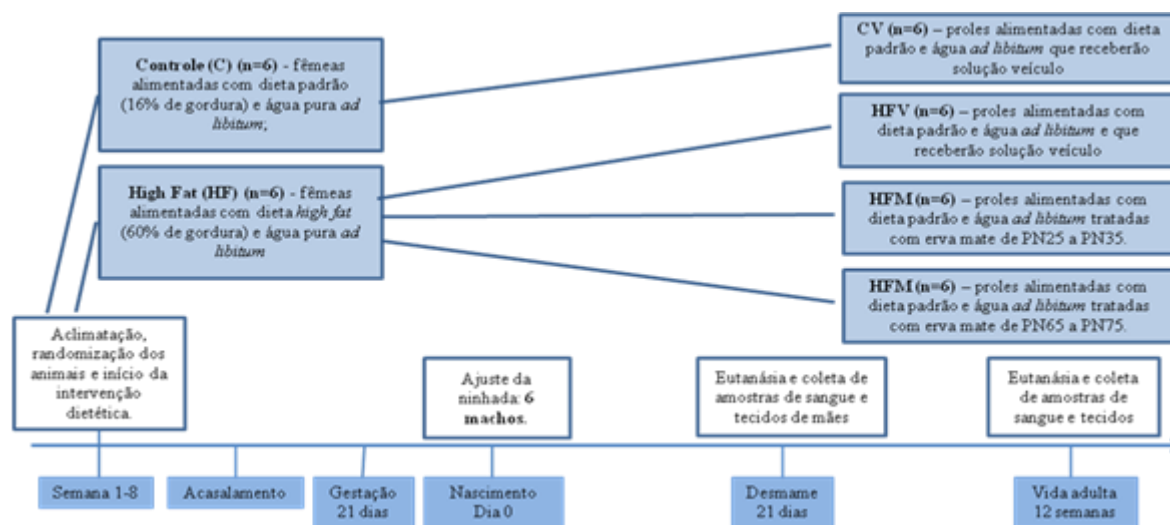


FIGURA 10: Desenho experimental do modelo de programação pela obesidade materna. Esquema que descreve os grupos experimentais das mães e proles, utilizados neste modelo programado durante as 12 semanas de vida dos camundongos. Fonte Lima et al, 2019 (154).

3.2 Extração de RNA e síntese de cDNA

Amostras do tecido adiposo foram destinadas à extração de RNA. Para a estabilização e proteção do RNA, todas as amostras destinadas a este fim foram armazenadas em RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, Valencia, CA, USA) a -80°C até o momento da extração do RNA. Esta foi feita usando-se o TRI Reagent®/Clorofórmio (Sigma Aldrich) seguindo o protocolo do fabricante. Após a extração, 2 µg de RNA foram usados para a síntese do cDNA usando o High Capacity cDNA Archive Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

3.3 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real

A análise de expressão dos genes *Adipoq* (Adiponectina), *C/ebpa*, *C/ebpβ*, *Slc2a4*, *Lep*, *Pparγ* e *Zfp423* foi feita por PCR em tempo real. Esta foi realizada usando o QuantiTect Multiplex SYBR GREEN PCR Kits (Quiagen) seguindo as especificações do fabricante. As amostras foram cicladas no equipamento 7500 Real-Time PCR System e analisadas com o auxílio do RQ Study Software (Applied Biosystems). Os experimentos foram realizados em triplicata, como controle interno foi utilizado o gene endógeno *Gapdh*, previamente validado. Todos os dados foram avaliados usando a fórmula $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (155). Os *primers* utilizados nos experimentos de PCR em Tempo Real foram desenhados com o programa *Primer3* v. 0.4.0 (156) e estão representados na Tabela 2.

TABELA 2. Sequência dos *primers* utilizados no estudo.

Gene	Sense	Antisense
<i>Adipoq</i>	5'-ATGGCACTCCTGGAGAGAA -3'	5'- CAGCTCCTGTCATTCCAACA -3'
<i>Slc24a</i>	5'- CCAACTGGCCATCGTCATTG - 3'	5'- AGGGAGTACTGTGAGAGCCA -3'
<i>Lep</i>	5'- GCCAAGCAGAGGGTCACT -3'	5'- GGACCTGTTGATAGACTGCCA - 3'
<i>Pparγ</i>	5'- CCCTGGTGTCCCAACTCTTA - 3'	5'- GTGCAACAGAAGAGCCATCA -3'
<i>Zfp423</i>	5'- GGAAAGGTGCCCAGACGT -3'	5'- TTGGCGACGTGGATCTGAAT -3'
<i>C/ebpa</i>	5'- CGCAAGCCAGGACTAGGAG-3'	5'- CCTCATCTTAGACGCACCGA -3'
<i>C/ebpβ</i>	5'- AAGATGCGCAACCTGGAGA-3'	5'- TGCTCCACCTTCTTCTGCAG -3'
<i>Gapdh</i>	5'-TCTCCACACCTATGGTGCAA-3'	5'- CAAGAAACAGGGGAGCTGAG -3'

3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism 5 e os valores apresentados como média $\pm$ EPM. As análises foram realizadas por one-way ANOVA, com pós-teste Newman Keuls. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. Resultados e discussão

Neste trabalho avaliou-se do ponto de vista molecular os efeitos do guaraná, em diferentes fases da vida (precoce e tardia), na regulação da expressão de genes associados à adipogênese no tecido adiposo de camundongos em que a obesidade foi induzida por meio de programação materna. Nossos dados apresentados neste trabalho demonstraram claramente que, quando tratados com guaraná, camundongos obesos exibiram acentuada perda de peso, o que pode estar associado a capacidade que o guaraná possui em modular a adipogênese através da regulação dos genes *Ppar γ 2*, *Zfp423* e leptina.

Previamente havíamos observado nestes animais que a ingestão de guaraná 1g/kg foi capaz de reduzir o ganho de peso e depósito de tecido adiposo, aumentar o gasto energético e restaurar a expressão de genes associados à inflamação (154). Este conjunto de resultados mostraram pela primeira vez na literatura que a intervenção com guaraná realizadas no início da vida influenciou fenotipicamente em parâmetros associados à obesidade. É importante destacar que a plasticidade epigenética é intensa durante os períodos fetais e diminui gradativamente ao longo da vida.

Conforme mencionado anteriormente, o tecido adiposo é um órgão endócrino que tem papel fundamental na regulação do metabolismo e da homeostase. Neste sentido é sabido que produção e secreção de uma quantidade excessiva ou insuficiente de adipocinas influenciam a sensibilidade à insulina, o metabolismo da glicose, a inflamação e a aterosclerose, e podem fornecer uma ligação molecular entre o aumento da adiposidade e o desenvolvimento de diabetes mellitus, síndromes metabólicas e doenças cardiovasculares (157). Dada a relevância do tecido adiposo nos processos anteriormente mencionados, avaliamos o papel do guaraná na regulação da expressão de genes que controlam o processo de expansão deste tecido através da adipogênese.

Adiponectina é a adipocina mais abundantemente expressa no TAB (158). É uma proteína multifuncional que exerce efeitos pleiotrópicos de sensibilização à insulina. Reduz a produção hepática de glicose e aumenta a captação de glicose e a oxidação de ácidos graxos no músculo esquelético (158). Além disso, o papel anti-inflamatório da adiponectina também foi relatado (158). Ao contrário da maioria das adipocinas, o mRNA da adiponectina no TAB e seus níveis séricos estão diminuídos em indivíduos obesos (159). Foi relatado que em modelos animais os níveis plasmáticos de adiponectina diminuíram com o ganho de peso quando os animais se tornaram

obesos (159). Por outro lado, a perda de peso induz aumentos significativos nos níveis circulantes de adiponectina (159). Os resultados aqui apresentados indicam que assim como previamente observado, a obesidade induz um aumento na expressão de *Adipoq* em TAS (Tecido Adiposo Subcutâneo), TAR (Tecido Adiposo Retroperitoneal), e TAM (Tecido Adiposo Mesentérico) (Figura 11). A suplementação com guaraná foi capaz de aumentar os níveis de mRNA de *Adipoq* somente em TAM, já em TAS e TAR observou-se um aumento nos grupos *late* e *early*, respectivamente. Embora seja muito relevante e inédito a modulação deste gene em tecido adiposo, de fato, os níveis plasmáticos desta adipocina é responsável pelos efeitos anti-inflamatórios associados a adiponectina. Assim, para validar nossos dados faz-se necessário avaliar os níveis circulantes desta em nosso grupo experimental. Em relação ao TAE (Tecido Adiposo Epididimal) observou-se uma modulação oposta ao que já havia sido reportado em literatura, assim sendo é preciso considerar os múltiplos fatores que podem estar interferindo para que o resultado não seja complacente a outros trabalhos já relatados, como os fatores hormonais deste tipo de tecido adiposo e a influência da potente ação da cafeína sob o TAE.

Assim sendo, o tecido adiposo epididimal é considerado, dentre outros tecidos, como um pequeno depósito de tecido adiposo visceral (TAV) localizado cercando órgãos específicos (160,161). Sendo um TAV é metabolicamente mais ativo, e o acúmulo é mais preditivo de mortalidade relacionada à obesidade (162), além de estar mais associado a resistência à insulina e inflamação (163). O tecido adiposo epididimal é amplamente usado para referenciar o omento maior, porém é um depósito de gordura análogo ao tecido adiposo perigonadal em humanos, portanto pode ter influências de hormônios sexuais (161).

Considerando estes fatores e que o nosso extrato de guaraná possui em sua composição uma alta concentração de cafeína (12,4%) (151), que além de estar associada ao aumento da função cognitiva e gasto energético (131), pode estar correlacionada a comportamentos de estresse (164). Esse conjunto de fatores podem ter influenciado os perfis bioquímicos no TAE, afetando a expressão de adiponectina neste tecido, uma vez que já foi visto na literatura que a cafeína é capaz de modular a expressão de *Adipoq* na diferenciação de pré-adipócitos in vitro (165).

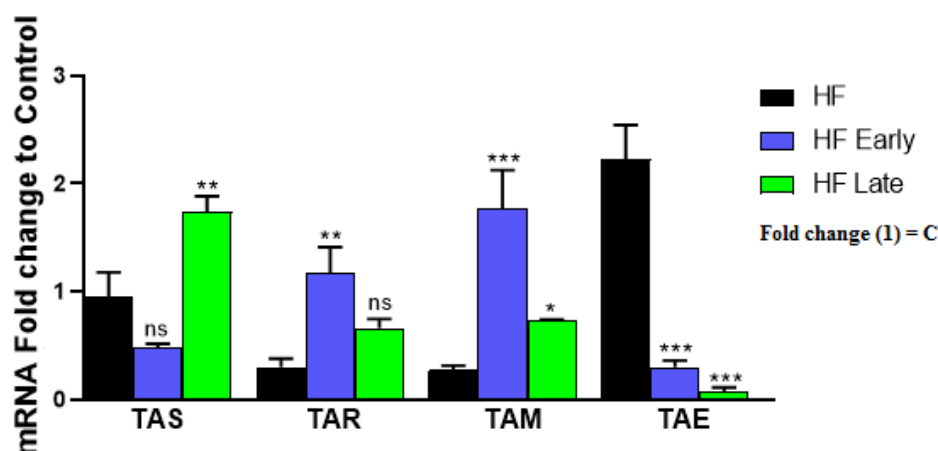


FIGURA 11. Análise da expressão de *Adipoq*. A análise da expressão de *Adipoq* nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HFe_{early}) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HFl_{ate}). Os valores de expressão gênica estão expressos em *Fold change* pelo controle. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0.001$, ns – não significativo quando comparado ao grupo HF.

A adipogênese é o processo de desenvolvimento pelo qual uma célula-tronco mesenquimal multipotente se diferencia em um adipócito maduro. Dentre todos os fatores de transcrição envolvidos nesta complexa cascata, *Ppar γ* é considerado um regulador mestre da adipogênese (166). O *Ppar γ 2*, uma isoforma de splicing do *Ppar γ* como anteriormente citado, é expresso seletivamente nos tecidos adiposos e promove a diferenciação e proliferação dos adipócitos causando aumento do tecido adiposo (167). No presente estudo, os níveis de mRNA de *Ppar γ 2* foram regulados em todos os depósitos de tecido adiposo dos animais. De modo semelhante, Desai e seus colaboradores (168) já mostraram que a obesidade materna é capaz de induzir a expressão deste gene. Os resultados apresentados neste estudo mostram que o tratamento com guaraná reduz significativamente os níveis de mRNA de *Ppar γ 2* em ambos os grupos testados (Figura 12). Esta é a primeira vez em que se avalia a expressão deste importante regulador da adipogênese em tecido adiposo de animais obesos. Os resultados oriundos da análise deste gene fornecem uma importante evidência do mecanismo de ação do guaraná na adipogênese, o que poderia contribuir para a perda de peso em ambos os grupos. *In vitro* nosso grupo já havia mostrado que o guaraná é capaz de reduzir significativamente a expressão deste gene durante a adipogênese (151). *In vitro*, acredita-

se que tal efeito deva-se a potente ação da cafeína sob *Ppar γ 2*, conforme demonstrado previamente por outros pesquisadores (115,118). De modo similar tem sido demonstrado que tanto a teobromina quanto a quercetina também podem modular *Ppar γ 2* (111,122), entretanto devido à baixa concentração destes compostos no extrato de guaraná não se pode atribuir o efeito observado a um ou outro composto isoladamente, e sim ao sinergismo entre eles.

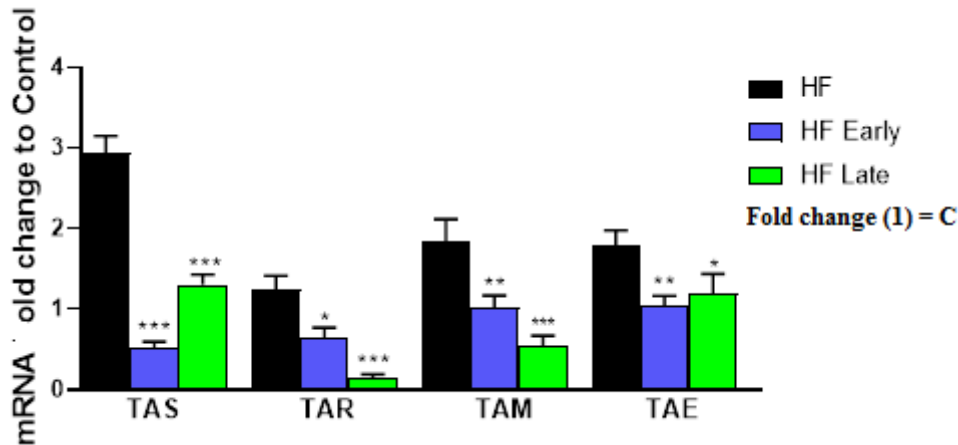


FIGURA 12. Análise da expressão de *Ppar γ 2*. A análise da expressão de *Ppar γ 2* nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HFEarly) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HFLate). Os valores de expressão gênica estão expressos em *Fold change* pelo controle. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, ns – não significativo quando comparado ao grupo HF.

Zfp423 é uma proteína do tipo dedo de zinco que inicia o comprometimento precoce dos pré-adipócitos no tecido adiposo maduro, o que induz a expressão de *Ppar γ* e a diferenciação adipogênica (169). Um interessante estudo mostrou que a obesidade materna é capaz de modular *Zfp423* através de mecanismos epigenéticos. Levando em consideração que a metilação do DNA é estável, os autores verificaram uma diminuição na metilação da região promotora do gene *Zfp423*, e uma consequente expressão aumentada deste gene nas células progenitoras fetais. Fenotipicamente observou-se um aumento na capacidade adipogênica das suas células derivadas no tecido adiposo da prole, predispondo a prole à obesidade e à disfunção metabólica acompanhada (170). Desse modo, como prova de conceito avaliamos a expressão de *Zfp423* nas amostras de tecido adiposo da prole que teve a obesidade induzida por programação materna. A Figura 13 mostra que, de fato, a obesidade materna induz um aumento de expressão na prole do grupo HF

em TAS, TAR e TAE, corroborando com os dados previamente publicados (170). Tendo em vista o importante papel deste fator de transcrição na adipogênese, verificamos que, em TAS e TAR, o guaraná foi capaz de reduzir significativamente a expressão de *Zfp423*. A regulação epigenética induzida pela obesidade materna sob este gene ainda precisa ser determinada no nosso modelo, assim como o efeito do guaraná sob tal mecanismo.

Considerando que *Zfp423* é responsável por iniciar o comprometimento precoce dos pré-adipócitos e consequentemente induzir a expressão de *Ppar γ* , este que é o principal gene regulador da adipogênese, associado a diferenciação e proliferação dos adipócitos (166). Ambos os genes são atuantes no processo de diferenciação adipocitária e possivelmente não são relativos a controle hormonal, visto que a expressão de *Ppar γ* correspondeu com a literatura em todos os tecidos adiposos examinados. E o mesmo ocorreu na avaliação da expressão de *Zfp423*, exceto o TAM, onde supõe-se que os níveis de expressão deste gene neste tecido são tão baixos que o PCR-*real time* não foi capaz de detectar, sendo necessário o uso de outra técnica como Immunoblotting.

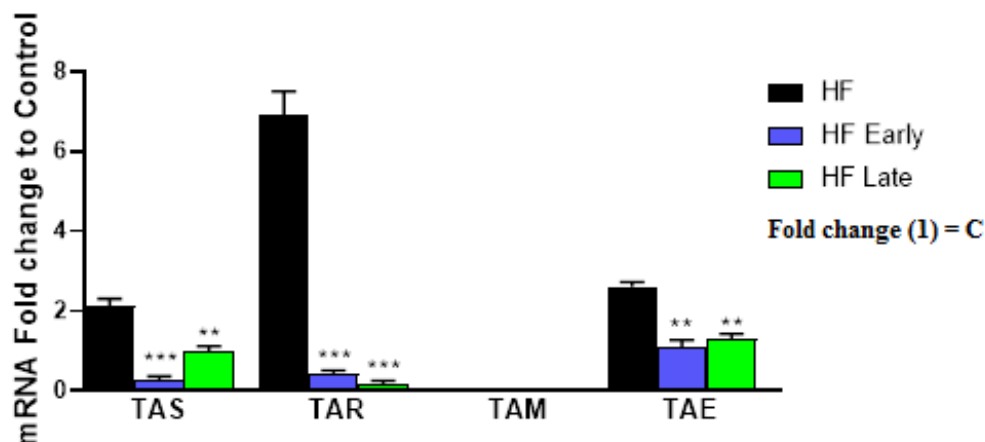


FIGURA 13. Análise da expressão de *Zfp423*. A análise da expressão de *Zfp423* nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HF_{early}) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HF_{late}). Os valores de expressão gênica estão expressos em *Fold change* pelo controle. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, quando comparado ao grupo HF.

Sabe-se que o *Tnf- α* pode modular a secreção de leptina aumentando sua expressão gênica e níveis circulantes (171). Em adultos, sabe-se que o índice de massa corporal (principalmente percentual de gordura corporal) está diretamente relacionado aos níveis de citocinas pró-

inflamatórias, como IL-6, *Tnfa*, e leptina (172). Além disso verificou-se que mulheres com sobrepeso/obesas apresentaram maior expressão de leptina, genes pró-inflamatórios e relacionados ao estresse oxidativo em comparação com mulheres com peso normal (173). Previamente observamos que a obesidade materna aumenta a expressão de *Tnfa* e leptina no TAE da prole HF e que o guaraná reduz a expressão destes genes em HFEarly e late (154) (**Anexo II**: Resultados prévios da expressão de *Tnfa* e *Lep* em TAE). Assim, verificamos a expressão de *Lep* nos outros depósitos de tecido adiposo destes animais. Dados mostraram que o tecido adiposo regula positivamente a expressão de mRNA de *Lep* em TAS e TAR. A intervenção com guaraná, em ambos os grupos, reduz significativamente a expressão deste gene (Figura 14). Portanto, assim como publicado anteriormente (154), parece razoável que os efeitos anti-inflamatórios observados após o tratamento com guaraná possam ser atribuídos à redução observada na massa adiposa e a uma atividade anti-inflamatória. *In vitro*, dados de nosso grupo indicaram previamente que YGD, que contém guaraná, é capaz de modular a expressão de *Lep* em adipócitos (150). Não se observou modulação na expressão deste gene em TAM, principalmente porque não há diferença significativa no peso deste compartimento de tecido adiposo nos subgrupos experimentais. Em relação aos principais bioativos, sabe-se que a cafeína e a quercetina são capazes de modular os níveis séricos de leptina tanto em modelos animais (174,175) quanto em seres humanos (176,177).

Em relação ao TAE, podem ser feitas duas suposições a respeito, sendo a primeira, a necessidade de uma técnica diferente, considerando a hipótese de que o PCR-*real time* não detectou a expressão deste gene neste tecido, pois os níveis eram muito baixos, ou ainda, a ação da cafeína sob os hormônios sexuais, que prejudicou a expressão de leptina neste tecido.

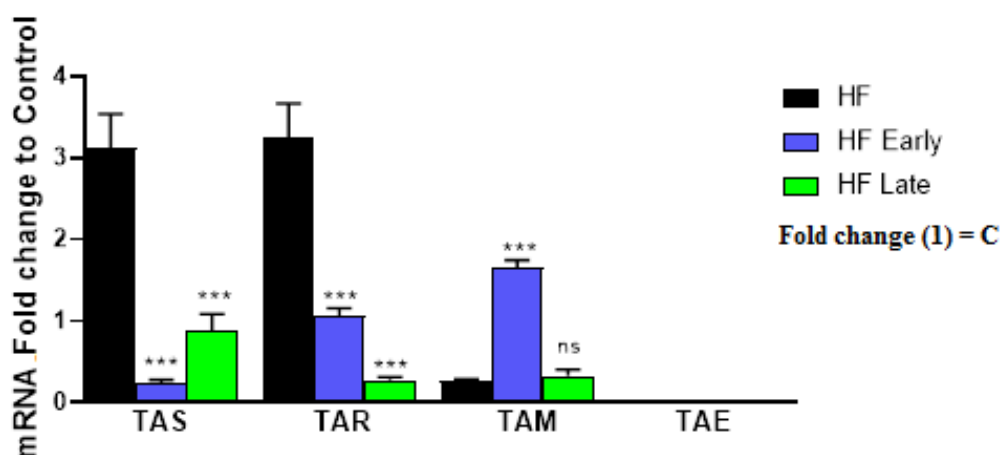


FIGURA 14. Análise da expressão de leptina. A análise da expressão de leptina nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HFEarly) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HFLate). Os valores de expressão gênica estão expressos em *Fold change* pelo controle. *** $p < 0,001$, ns – não significativo quando comparado ao grupo HF. Os dados do grupo TAE foram publicados previamente (154).

Sabe-se que o adipócito é um dos principais alvos da ação da insulina. Durante o curso da captação de glicose estimulada por insulina em adipócitos, a insulina ativa a atividade da tirosina quinase do receptor de insulina, que, por sua vez, fosforila IRS (Substrato do Receptor de Insulina) 1, resultando no recrutamento de *Slc2a4* à membrana plasmática para a captação de glicose (178). Tem sido reportado que a diminuição da expressão de *Slc2a4* contribui para a resistência à insulina e diabetes tipo 2 (179). Além disso, foi demonstrado que o *Tnfα*, um fator que induz resistência à insulina, leva a uma diminuição da expressão de *Slc2a4* nos adipócitos (180). Tendo em vista os resultados observados por nosso grupo indicando que a obesidade materna aumenta a expressão de *Tnfα* na prole HF e que o guaraná reduz a expressão deste gene em HFEarly e late (154), avaliamos a modulação de *Slc2A4* nestes animais. Os dados da Figura 15 indicam que no grupo HF nos tecidos TAR, TAM e TAE há uma correlação entre os altos níveis de *Tnfα* (previamente descritos) e a repressão em *Slc2A4* (**Anexo II**). Entretanto, os resultados observados nos grupos HFEarly e late, não nos permitem inferir que haja uma relação direta no eixo *Tnfα-Slc2A4* como anteriormente mencionado (180). Os resultados para TAS são ainda mais contraditórios, indicando que possivelmente há algum outro mecanismo regulatório sob *Slc2a4* neste tecido adiposo.

Apesar dessa correlação entre *Tnfa* e *Slc2A4*, é importante ressaltar que o TAS apresenta maior expressão gênica de fatores de transcrição centrais para a adipogênese, como o *Pparγ* e o *C/ebpa*, os quais atuam coordenadamente para regular a diferenciação terminal dos adipócitos imaturos em adipócitos maduros (181). Assim sendo, possivelmente estes fatores sejam os responsáveis por esse “mecanismo regulatório” citado anteriormente, resultando em efeitos opostos no TAS ao que já havia sido relatado em literatura.

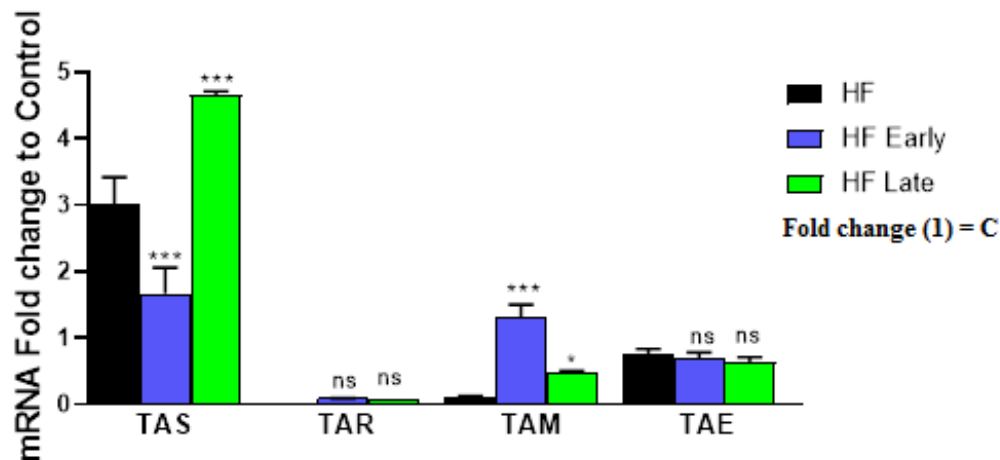


FIGURA 15. Análise da expressão de *Slc2a4*. A análise da expressão de *Slc2a4* nos grupos controle (C), dieta hiperlipídica (HF), HF com tratamento precoce com guaraná (1g/kg de peso) PN25-35 (HFe_{early}) e HF com tratamento tardio com guaraná (1g/kg de peso) PN65-75 (HF_{late}). Os valores de expressão gênica estão expressos em *Fold change* pelo controle. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, ns – não significativo quando comparado ao grupo HF.

Por fim, considerando os benefícios do guaraná na modulação da adipogênese em proles programadas por obesidade materna, a figura 16 representa o possível mecanismo de ação deste importante composto, evidenciando as vias de sinalização moduladas durante os tratamentos precoce e tardio. A figura 16A representa o mecanismo adipogênico (considerado um processo homeostático), onde as células tronco mesenquimais passam por uma etapa denominada de determinação e se tornam pré-adipócitos, estes recebem um estímulo adipogênico para o início da etapa de comprometimento (182), em que as gotículas lipídicas começam a se acumular e a expressão de *Zfp423* é aumentada, uma vez que, este gene está relacionado ao comprometimento

precoce dos pré-adipócitos (168) e a etapa final é a diferenciação terminal, onde as gotículas lipídicas aumentam de tamanho e se fundem (182), considerando que *Ppary* é um gene associado ao controle da diferenciação e proliferação de adipócitos (166), a expressão deste gene está aumentada. Com os adipócitos maduros, ocorre o aumento de adipocinas pró-inflamatórias como: Leptina e *Tnfa* (171) e a diminuição na expressão de adiponectina, com perfil anti-inflamatório (158). É importante ressaltar que um desequilíbrio nesse processo causado por um quadro de obesidade, resulta em uma produção desregulada de citocinas e fatores de transcrição, aumentando assim, a inflamação (182). É sugerido que os efeitos anti-adipogênicos em depósitos de tecido adiposo de animais provenientes de mães obesas seja pelo mecanismo de ação do guaraná sob as vias de sinalização observadas na figura 16B. Permitindo mostrar que o uso deste composto promove a diminuição da adipogênese, através da expressão diminuída de *Ppary*, *Zfp423*, leptina e *Tnfa* e o aumento de adiponectina.

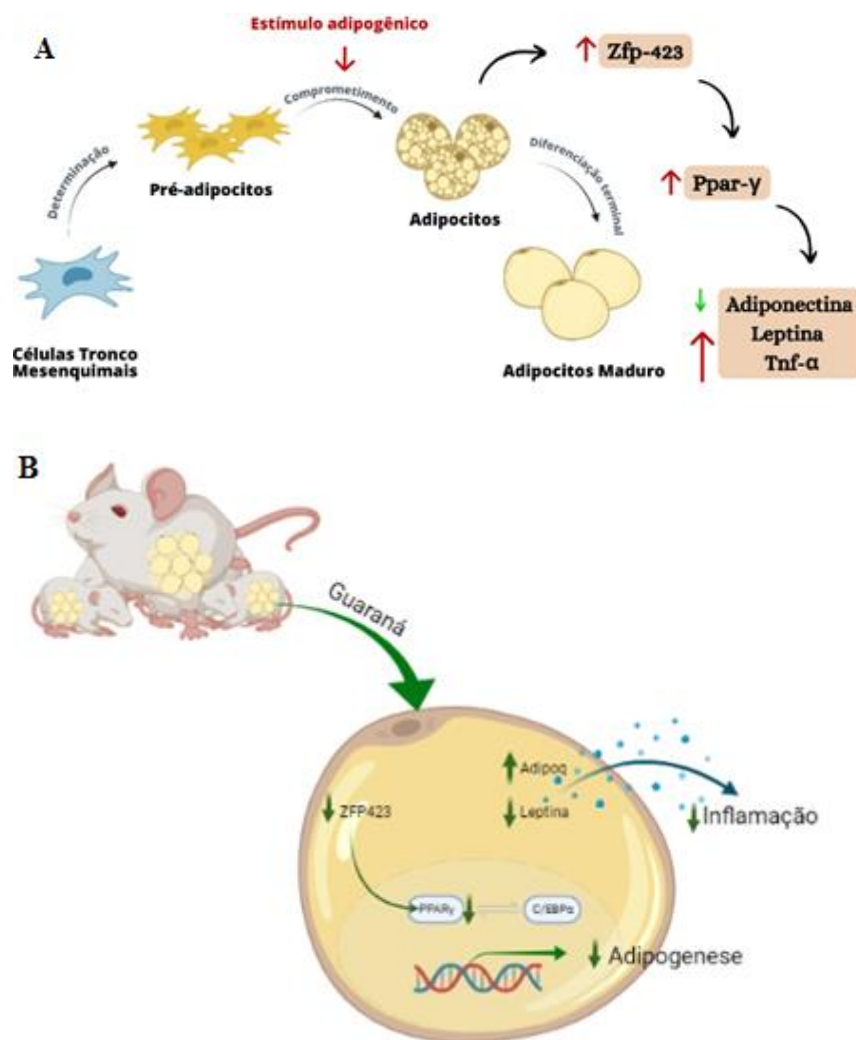


FIGURA 16. Mecanismo anti-adipogênico do Guaraná. **A** - mecanismo adipogênico, destacando o aumento na expressão de *Pparγ*, *Zfp423*, leptina e *Tnfα* **B** efeito do guaraná regulando negativamente a expressão de genes e adipocinas relacionadas a adipogênese e inflamação.

5. **Conclusão**

Nosso modelo de programação mostrou que a obesidade materna foi responsável por programar futuras gerações, predispondo a alterações fisiológicas e possíveis doenças na vida adulta e que o tratamento com o guaraná possibilitou a diminuição dos depósitos de tecido adiposo de animais provenientes de mães obesas, possivelmente pelo mecanismo de ação do guaraná sob as vias de sinalização adipogênicas.

O resultado deste trabalho nos permite concluir que o guaraná é capaz de modular a expressão de genes fortemente associados à adipogênese, tais como: *Ppar γ 2*, *Zfp423* e *Lep*. Supõe-se que esta modulação é provavelmente um fator determinante para a normalização dos parâmetros obesogênicos observados nestes animais.

Referências Bibliográficas

1. Conway B, Rene A. Obesity as a disease: no lightweight matter. *Obes Rev.* 2004; 5(3):145-51.
2. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, Abu-Rmeileh NM, Acosta-Cazares B, Acuin C, et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *The Lancet.* 2017;390(10113):2627–42.
3. Ibge.org [internet]. Pesquisa Nacional de Saúde: Ciclos de vida. Brasil e Grandes Regiões; c2015 [acesso em 3 de jan. 2022]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/>.
4. Seravalle G, Grassi G. Obesity and hypertension. *Pharmacological Research.* Academic Press; 2017; 122:1–7.
5. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet.* 2014; 384(9945):766–81.
6. cdc.gov [internet]. Centers for Disease Control and Prevention. Adult Obesity Facts: Obesity is a common, serious, and costly disease; c2021 [acesso em 20 dez. 2021]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/obesity/data/adult.html/>.
7. Trayhurn P. Adipocyte biology. *Obesity reviews.* 2007; 8 Suppl 1:41-4.
8. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition.* 2004;92(3):347–55.
9. Roberts SB. Abnormalities of Energy Expenditure and the Development of Obesity. *Obesity Research.* 1995;3(2 S):155–63.
10. Weinsier RL, Hunter GR, Heini AF, Goran MI, Sell SM. The Etiology of Obesity: Relative Contribution of Metabolic Factors, Diet, and Physical Activity. *Am J Med.* 1998; 105.

11. Hill JO, Wyatt HR, Peters JC. Energy balance and obesity. *Circulation*. 2012;126(1):126–32.
12. Lackey DE, Olefsky JM. Regulation of metabolism by the innate immune system. *Nature Reviews Endocrinology*. Nature Publishing Group; 2016; 23:15–20.
13. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(1):175–84.
14. Shi H, Kokoeva M v., Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(11):3015–25.
15. Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *Journal of Clinical Investigation*. American Society for Clinical Investigation; 2017;127:1–4.
16. Neels JG, Olefsky JM. Inflamed fat: What starts the fire? *Journal of Clinical Investigation*. 2006; 116:33–5.
17. Lolmède K, Durand de Saint Front V, Galitzky J, Lafontan M, Bouloumié A. Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27(10):1187-95
18. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition*. 2004;92(3):347–55.
19. Trayhurn P. Hypoxia and Adipose Tissue Function and Dysfunction in Obesity. *Physiol Rev*. 2013; 93(1):1–21
20. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. In: *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2004; 89(6):2548-56.
21. H. Semb, J. Peterson, J. Tavernier, T. Olivecrona, *J. Biol. Chem*. 1987; 262(17):8390-4
22. Grunfeld C, Gulli R, Moser AH, Gavin LA, Feingold KR. Effect of tumor necrosis factor administration in vivo on lipoprotein lipase activity in various tissues of the rat. *Journal of Lipid Research*. 1989;30(4):579–85.

23. Feingold KR, Soued M, Staprans I, Gavin LA, Donahue ME, Huang BJ, et al. *J Clin Invest.* 1989; 83(4):1116-21.
24. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. *The metabolic syndrome.* Lancet. Elsevier Limited. 2005; 365(9468):1415-28.
25. Samson SL, Garber AJ. *Metabolic syndrome.* Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. 2014; 43(1):1-23.
26. Dommermuth R, Ewing K. *Metabolic Syndrome: Systems Thinking in Heart Disease.* Primary Care - Clinics in Office Practice. 2018; 45: 109–29.
27. Sperling LS, Mechanick JI, Neeland IJ, Herrick CJ, Després JP, Ndumele CE, et al. *The CardioMetabolic Health Alliance Working Toward a New Care Model for the Metabolic Syndrome.* Journal of the American College of Cardiology. Elsevier USA. 2015; 66:1050–67.
28. Oyemade A A, Iqbal B, Abdalla L F, et al. *An Overview of the Pathophysiology of Metabolic Changes and Their Sequence of Occurrence in Obese Diabetic Females A Narrative Review.* Cureus. 2020;12(10):e10947
29. Das UN. *Obesity: Genes, brain, gut, and environment.* Nutrition. 2010; 26(5):459–73.
30. Sarafidis PA, Nilsson PM. *The metabolic syndrome: a glance at its history.* Journal of Hypertension. Lippincott Williams & Wilkins. 2006; 24(4):621-6.
31. Alsaraj F, McDermott JH, Cawood T, McAteer S, Ali M, Tormey W, et al. *Prevalence of the metabolic syndrome in patients with diabetes mellitus.* Irish Journal of Medical Science. 2009; 178(3):309–13.
32. Catalano PM, Shankar K. *Obesity and pregnancy: Mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child.* BMJ (Online). BMJ Publishing Group. 2017; 356.
33. Moreno-Mendez E, Quintero-Fabian S, Fernandez-Mejia C, Lazo-De-La-Vega-Monroy ML. *Early-life programming of adipose tissue.* Nutrition Research Reviews. 2020; 33(2):244–59.

34. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of Obesity in the Key findings. NCHS Data Brief. 2012 Jan;(82):1-8.
35. Tan HC, Roberts J, Catov J, Krishnamurthy R, Shypailo R, Bacha F. Mother's pre-pregnancy BMI is an important determinant of adverse cardiometabolic risk in childhood. *Pediatric Diabetes*. 2015; 16(6):419–26.
36. Ornellas F, Souza-Mello V, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. Programming of obesity and comorbidities in the progeny: Lessons from a model of diet-induced obese parents. *PLoS ONE*. 2015;10(4).
37. Lecoutre S, Pourpe C, Butruille L, Marouze L, Laborie C, Guinez C, et al. Reduced PPAR γ 2 expression in adipose tissue of male rat offspring from obese dams is associated with epigenetic modifications. *FASEB Journal*. 2018; 32(5):2768–78.
38. Franco JG, Fernandes TP, Rocha CPD, Calviño C, Pazos-Moura CC, Lisboa PC, et al. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning. *Journal of Physiology*. 2012; 590(21):5503–18.
39. Barker DJP, Hales CN, Fall CHD, Smond CO, Phipps K, Clark PMS. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*. Springer-Verlag. 1993; 36(1):62-7.
40. Barker DJP. The developmental origins of adult disease. *J Intern Med*. 2007;261(5):412-7.
41. De Moura EG, Passos MCF. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. *Bioscience Reports*. 2005; 25:251–69.
42. Lecoutre S, Petrus P, Rydén M, Breton C. Transgenerational Epigenetic Mechanisms in Adipose Tissue Development. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Inc.; 2018; 29:675–85.
43. Brook CGD, Lloyd JK, Wolf H. Relation between Age of Onset of Obesity and Size and Number of Adipose Cells. *British Medical Journal*. 1972; 2(5804):25-7.

44. Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH, Ross MG. Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014; 211(3):237.
45. Sethi JK, Vidal-Puig AJ. Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *Journal of Lipid Research*. 2007; 48:1253–62.
46. Tan CY, Vidal-Puig A. Adipose tissue expandability: The metabolic problems of obesity may arise from the inability to become more obese. In: *Biochemical Society Transactions*. 2008; 36:935–40.
47. Frayn K. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux., *Diabetologia*. 2002; 45:1201–10.
48. Zhang F, Hao G, Shao M, Nham K, An Y, Wang Q, et al. An Adipose Tissue Atlas: An Image-Guided Identification of Human-like BAT and Beige Depots in Rodents. *Cell Metabolism*. 2018; 27(1):252-262.
49. Stolarczyk E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier Ltd. 2017; 37:35–40.
50. Foster MT, Shi H, Seeley RJ, Woods SC. Removal of intra-abdominal visceral adipose tissue improves glucose tolerance in rats: Role of hepatic triglyceride storage. *Physiology and Behavior*. 2011; 104(5):845–54.
51. Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2011; 121(1):96–105.
52. Brestoff JR, Artis D. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. *Cell*. Cell Press. 2015; 161: 146–60.
53. Vishvanath L, Macpherson KA, Hepler C, Wang QA, Shao M, Spurgin SB, et al. Pdgfr β + mural preadipocytes contribute to adipocyte hyperplasia induced by high-fat-diet feeding and prolonged cold exposure in adult mice. *Cell Metabolism*. 2016; 23(2):350–9.

54. Corrêa, Heyn, Magalhaes. The Impact of the Adipose Organ Plasticity on Inflammation and Cancer Progression. *Cells*. 2019; 8(7):662.
55. Cinti S. Pink Adipocytes. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Inc. 2018; 29:651–66.
56. Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2008; 19:717–26.
57. Topics in Tissue Engineering [Internet]. Chapter 4: Adipose Tissue and Adipocyte Differentiation: Molecular and Cellular Aspects and Tissue Engineering; c2008[acesso em 16 out. 2021]. Disponível em: https://www.oulu.fi/spareparts/ebook_topics_in_t_e_vol4/
58. Patel YM, Lane MD. Mitotic clonal expansion during preadipocyte differentiation: Calpain- mediated turnover of p27. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(23):17653–60.
59. Khalilpourfarshbafi M, Gholami K, Murugan DD, Abdul Sattar MZ, Abdullah NA. Differential effects of dietary flavonoids on adipogenesis. *European Journal of Nutrition*. 2019; 58:5–25.
60. Fajas, Fruchart JC, Auwerx J. Transcriptional control of adipogenesis. *Curr Opin Cell Biol*. 1998 Apr;10(2):165-73.
61. Reusch JEB, Colton LA, Klemm DJ. CREB Activation Induces Adipogenesis in 3T3-L1 Cells. Vol. 20, *Molecular And Cellular Biology*. 2000; 20(3):1008-20.
62. Zhang JW, Klemm DJ, Vinson C, Lane MD. Role of CREB in Transcriptional Regulation of CCAAT/Enhancer-binding Protein β Gene during Adipogenesis. *Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279(6):4471–8.
63. Khalilpourfarshbafi M, Gholami K, Murugan DD, Abdul Sattar MZ, Abdullah NA. Differential effects of dietary flavonoids on adipogenesis. *European Journal of Nutrition*. 2019; 58(1):5-25.

64. Blü M, Dodson Michael M, Peroni OD, Ueki K, Carter N, Kahn BB, et al. Adipose Tissue Selective Insulin Receptor Knockout Protects against Obesity and Obesity-Related Glucose Intolerance. *Developmental Cell*. 2002; 3(1):25-38.
65. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Ribas V, Esteve E, Rodriguez-Hermosa JI, Ruiz B, et al. Subcutaneous fat shows higher thyroid hormone receptor- $\alpha 1$ gene expression than omental fat. *Obesity*. 2009 Dec;17(12):2134–41.
66. Moldes M, Zuo Y, Morrison RF, Silva D, Park B-H, Liu J, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor γ suppresses Wnt/ β -catenin signalling during adipogenesis. *Biochem. J*. 2003; 376(Pt 3):607-13.
67. Ross, SE. Inhibition of Adipogenesis by Wnt Signaling. *Science*. 2000; 289(5481), 950–953.
68. Kanazawa A, Kawamura Y, Sekine A, Iida A, Tsunoda T, Kashiwagi A, et al. Single nucleotide polymorphisms in the gene encoding Krüppel-like factor 7 are associated with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2005;48(7):1315–22.
69. Choy L, Derynck R. Transforming growth factor- β inhibits adipocyte differentiation by Smad3 interacting with CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) and repressing C/EBP transactivation function. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(11):9609–19.
70. Yarmo MN, Landry A, Molgat ASD, Gagnon AM, Sorisky A. Macrophage-conditioned medium inhibits differentiation-induced Rb phosphorylation in 3T3-L1 preadipocytes. *Experimental Cell Research*. 2009;315(3):411–8.
71. Constant VA, Gagnon A, Landry A, Sorisky A. Macrophage-conditioned medium inhibits the differentiation of 3T3-L1 and human abdominal preadipocytes. *Diabetologia*. 2006; 49(6):1402–11.
72. Lumeng CN, Deyoung SM, Saltiel AR. Macrophages block insulin action in adipocytes by altering expression of signaling and glucose transport proteins. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 292:166–74.

73. He W, Barak Y, Hevener A, Olson P, Liao D, Le J, et al. Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Dec 23;100(26):15712-7.
74. Giorgino F, Leonardini A, Laviola L, Perrini S, Natalicchio A. Cross-Talk between PPAR γ and insulin signaling and modulation of Insulin Sensitivity. *PPAR Research*. 2009:818945.
75. Guarente L. Sirtuins as potential targets for metabolic syndrome. *Nature Publishing Group*. 2006; 444:868–74.
76. Dé Ric Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ 2004. *Nature*. 2004 Jun 17;429(6993):771-6.
77. Tang QQ, Lane MD. Adipogenesis: From stem cell to adipocyte. *Annual Review of Biochemistry*. 2012; 81:715–36.
78. Fox KE, Colton LA, Erickson PF, Friedman JE, Cha HC, Keller P, et al. Regulation of cyclin D1 and Wnt10b gene expression by cAMP-responsive element-binding protein during early adipogenesis involves differential promoter methylation. *Journal of Biological Chemistry*. 2008; 283(50):35096–105.
79. Ambele MA, Dhanraj P, Giles R, Pepper MS. Adipogenesis: A complex interplay of multiple molecular determinants and pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020; 21:1–27.
80. Aouadi M, Laurent K, Prot M, le Marchand-Brustel Y, Biné B, Dé F, et al. Inhibition of p38MAPK Increases Adipogenesis From Embryonic to Adult Stages. *Diabetes*. 2006; 55(2):281-289.
81. Font J, Mora DE, Porras A, Ahn N, Santos E. Mitogen-Activated Protein Kinase Activation Is Not Necessary for, but Antagonizes, 3T3-L1 Adipocytic Differentiation. *Molecular And Cellular Biology*. 1997;17(10): 6068–6075.

82. Aouadi M, Jager J, Laurent K, Gonzalez T, Cormont M, Binétruy B, et al. p38MAP Kinase activity is required for human primary adipocyte differentiation. *FEBS Letters*. 2007; 581(29):5591–6.
83. Fève B. Adipogenesis: Cellular and molecular aspects. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. Bailliere Tindall Ltd. 2005; 19:483–99.
84. Wei, Y; Yang, C.R; Wei,Y.P; Zhao, Z.A; Hou, Y; Schatten, H; Sun, Q.Y. Paternally induced transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes in mammals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(5):1873-8.
85. Borengasser SJ, Zhong Y, Kang P, Lindsey F, Ronis MJJ, Badger TM, et al. Maternal obesity enhances white adipose tissue differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring. *Endocrinology*. 2013; 154(11):4113–25.
86. Yang, Q.Y; Liang, J.F; Rogers, C.J; Zhao, J.X; Zhu, M.J; Du, M. Maternal obesity induces epigenetic modifications to facilitate Zfp423 expression and enhance adipogenic differentiation in fetal mice. *Diabetes*. 2013; 62(11):3727-35.
87. Fujiki, K Kano, F; Shiota, K Murata, M. Expression of the peroxisome proliferator activated receptor gamma gene. *BMC Biol*. 2009 Jul 10; 7:38.
88. Zwamborn RAJ, Slieker R, Mulder PCA, Zoetemelk I, Verschuren L, Suchiman HED. Prolonged high-fat diet induces gradual and fat depot-specific DNA methylation changes in adult mice. *Sci Rep*. 2017; 7:43261.
89. Lecoutre S, Petrus P, Rydén M, Breton C. Transgenerational Epigenetic Mechanisms in Adipose Tissue Development. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Inc. 2018; 29:675–85.
90. Eberhardt M v, Lee CY, Liu RH. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*. 2000; 405(6789):903-904.
91. Andriantsitohaina R, Auger C, Chataigneau T, Étienne-Selloum N, Li H, Martínez MC, et al. Molecular mechanisms of the cardiovascular protective effects of polyphenols. *British Journal of Nutrition*. 2012. 108:1532–49.

92. Vuolo MM, Lima VS, Maróstica Junior MR. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier. 2018; 33–50.
93. Santangelo C, Scazzocchio B, Filesi C. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita*. 2007;43(4):394-405.
94. Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. The adipose tissue renin-angiotensin system and metabolic disorders: A review of molecular mechanisms. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2012; 47:379–90.
95. Dragan S, Andrica F, Serban M-C, Timar R. Polyphenols-Rich Natural Products for Treatment of Diabetes. *Current Medicinal Chemistry*. 2014; 22(1):14–22.
96. Meydani M, Hasan ST. Dietary polyphenols and obesity. Vol. 2, *Nutrients*. MDPI AG; 2010; 2:737–51.
97. Muhlhausler B, Smith SR. Early-life origins of metabolic dysfunction: role of the adipocyte. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2009; 20(2):51–7.
98. Murabayashi N, Sugiyama T, Zhang L, Kamimoto Y, Umekawa T, Ma N, et al. Maternal high-fat diets cause insulin resistance through inflammatory changes in fetal adipose tissue. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2013; 169(1):39–44.
99. Lecoutre S, Breton C. The cellularity of offspring's adipose tissue is programmed by maternal nutritional manipulations. *Adipocyte*. 2014; 3(4):256–62.
100. Challier JC, Basu S, Bintein T, Minium J, Hotmire K, Catalano PM, et al. Obesity in Pregnancy Stimulates Macrophage Accumulation and Inflammation in the Placenta. *Placenta*. 2008; 29(3):274–81.
101. Kataoka S, Norikura T, Sato S. Maternal green tea polyphenol intake during lactation attenuates kidney injury in high-fat-diet-fed male offspring programmed by maternal protein restriction in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2018; 56:99–108.

102. Yang P, Li H. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates hyperglycemia-induced embryonic vasculopathy and malformation by inhibition of Foxo3a activation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010;203(1):75-76.
103. Bonacasa B, Siow RCM, Mann GE. Impact of Dietary Soy Isoflavones in Pregnancy on Fetal Programming of Endothelial Function in Offspring. Vol. 18, *Microcirculation*. 2011; 18:270 –85.
104. Tain YL, Hsu CN. Developmental Programming of the Metabolic Syndrome: Can We Reprogram with Resveratrol? *Int J Mol Sci*. 2018;19(9):2584.
105. Sheen JM, Yu HR, Tain YL, Tsai WL, Tiao MM, Lin IC, et al. Combined maternal and postnatal high-fat diet leads to metabolic syndrome and is effectively reversed by resveratrol: A multiple-organ study. *Scientific Reports*. 2018;8(1).
106. Oliveira ALB, Monteiro VVS, Navegantes-lima KC, Reis JF, Gomes RS, Rodrigues DVS et al. Resveratrol Role in Autoimmune Disease- A Mini- Review. *Nutrients*. 2017; 9(12):1306.
107. Truong VL, Jun M, Jeong WS. Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress. *BioFactors*. Blackwell Publishing Inc. 2018;44:36–49.
108. Fortunato IM, dos Santos TW, Ferraz LFC, Santos JC, Ribeiro ML. Effect of polyphenols intake on obesity-induced maternal programming. *Nutrients*. MDPI AG.2021;13(7):2390.
109. Clough BH, Ylostalo J, Browder E, McNeill EP, Bartosh TJ, Rawls HR, et al. Theobromine Upregulates Osteogenesis by Human Mesenchymal Stem Cells In Vitro and Accelerates Bone Development in Rats. *Calcified Tissue International*. 2017;100(3):298–310.
110. Jang YJ, Koo HJ, Sohn EH, Kang SC, Rhee DK, Pyo S. Theobromine inhibits differentiation of 3T3-L1 cells during the early stage of adipogenesis via AMPK and MAPK signaling pathways. *Food and Function*. 2015; 6(7):2365–74.
111. Mitani T, Watanabe S, Yoshioka Y, Katayama S, Nakamura S, Ashida H. Theobromine suppresses adipogenesis through enhancement of CCAAT-enhancer-binding protein β

- degradation by adenosine receptor A1. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 2017; 1864(12):2438–48.
112. Su SH, Shyu HW, Yeh YT, Chen KM, Yeh H, Su SJ. Caffeine inhibits adipogenic differentiation of primary adipose-derived stem cells and bone marrow stromal cells. *Toxicology in Vitro*. 2013; 27(6):1830–7.
 113. Magkos F, Kavouras SA. Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005; 45:535–62.
 114. Paluska SA. Caffeine and Exercise. *Curr Sports Med Rep*. 2003; 2(4):213-9.
 115. Kong L, Xu M, Qiu Y, Liao M, Zhang Q, Yang L, et al. Chlorogenic acid and caffeine combination attenuates adipogenesis by regulating fat metabolism and inhibiting adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Journal of Food Biochemistry*. 2021; 45(7):13795.
 116. Goldstein E, Jacobs PL, Whitehurst M, Penhollow T, Antonio J. Caffeine enhances upper body strength in resistance-trained women. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2010; 7:18.
 117. Zhu X, Yang L, Xu F, Lin L, Zheng G. Combination therapy with catechins and caffeine inhibits fat accumulation in 3T3-L1 cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2017; 13(2):688–94.
 118. Kim HJ, Yoon BK, Park H, Seok JW, Choi H, Yu JH, et al. Caffeine inhibits adipogenesis through modulation of mitotic clonal expansion and the AKT/GSK3 pathway in 3T3-L1 adipocytes. *BMB Reports*. 2016; 49(2):111–5.
 119. Ohara T, Muroyama K, Yamamoto Y, Murosaki S. A combination of glucosyl hesperidin and caffeine exhibits an anti-obesity effect by inhibition of hepatic lipogenesis in mice. *Phytotherapy Research*. 2015; 29(2):310–6.
 120. Ahn J, Lee H, Kim S, Park J, Ha T. The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008; 373(4):545–9.

121. Lee CW, Seo JY, Lee J, Choi JW, Cho S, Bae JY, et al. 3-O-Glucosylation of quercetin enhances inhibitory effects on the adipocyte differentiation and lipogenesis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2017; 95:589–98.
122. Bae CR, Park YK, Cha YS. Quercetin-rich onion peel extract suppresses adipogenesis by down-regulating adipogenic transcription factors and gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014; 94(13):2655–60.
123. Seo MJ, Lee YJ, Hwang JH, Kim KJ, Lee BY. The inhibitory effects of quercetin on obesity and obesity-induced inflammation by regulation of MAPK signaling. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2015; 26(11):1308–16.
124. Nettore IC, Rocca C, Mancino G, Albano L, Amelio D, Grande F, et al. Quercetin and its derivative Q2 modulate chromatin dynamics in adipogenesis and Q2 prevents obesity and metabolic disorders in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2019; 69:151–62.
125. Rivera L, Morón R, Sánchez M, Zarzuelo A, Galisteo M. Quercetin ameliorates metabolic syndrome and improves the inflammatory status in obese Zucker rats. *Obesity*. 2008; 16(9):2081–7.
126. Ying HZ, Zang JN, Deng LL, Wang ZY, Yu C huan. Pentamethylquercetin reduces fat deposition via Sirt1-mediated pathways in male obese mice induced by a high fat diet. *Food and Chemical Toxicology*. 2013; 62:463–9.
127. Lee JS, Cha YJ, Lee KH, Yim JE. Onion peel extract reduces the percentage of body fat in overweight and obese subjects: A 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrition Research and Practice*. 2016; 10(2):175–81.
128. Kim K-A, Yim J-E. Antioxidative Activity of Onion Peel Extract in Obese Women: A Randomized, Double-blind, Placebo Controlled Study. *Journal of Cancer Prevention*. 2015; 20(3):202–7.
129. Schimpl FC, da Silva JF, Gonçalves JFDC, Mazzafera P. Guarana: Revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013; 150:14–31.

130. Belliardo F, Martelli A, Valle MG. HPLC Determination of Caffeine and Theophylline in *Paullinia cupana* Kunth (Guarana) and *Cola* spp. samples. *Z Lebensm Unters Forsch*. 1985; 180(5):398-401.
131. Kleber Silveira A, Moresco KS, Mautone Gomes H, da Silva Morrone M, Kich Grun L, Pens Gelain D, et al. Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) alters gut microbiota and modulates redox status, partially via caffeine in Wistar rats. *Phytotherapy Research*. 2018; 32(12):2466–74.
132. Ângelo PCS, Nunes-Silva CG, Brígido MM, Azevedo JSN, Assunção EN, Sousa ARB, et al. Guarana (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*), an anciently consumed stimulant from the Amazon rain forest: The seeded-fruit transcriptome. *Plant Cell Reports*. 2008; 27(1):117–24.
133. Mattei R, Dias RF, Espínola EB, Carlini EA, Barros SBM. Guarana (*Paullinia cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998; 60(2):111-6.
134. Basile A, Ferrara L, del Pezzo M, Mele G, Sorbo S, Bassi P, et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 102(1):32–6.
135. Jimoh FO, Sofidiya MO, Afolayan AJ. Antioxidant properties of the methanol extracts from the leaves of *Paullinia pinnata*. *Journal of Medicinal Food*. 2007; 10(4):707–11.
136. Adilia C, da Fonseca S, Leal J, Costa SS, Leitão AC. Genotoxic and mutagenic effects of guarana (*Paullinia cupana*) in prokaryotic organisms. *Genetic Toxicology Elsevier Mutation Research*. 1994; 321(3):165-73.
137. Yamaguti-Sasaki E, Ito LA, Dias Canteli VC, Mara T, Ushirobira A, Ueda-Nakamura T, et al. Antioxidant Capacity and In Vitro Prevention of Dental Plaque Formation by Extracts and Condensed Tannins of *Paullinia cupana*. *Molecules*. 2007; 12:1950–63.

138. Fukumasu H, Silva TC da, Avanzo JL, Lima CE de, MacKowiak II, Atroch A, et al. Chemopreventive effects of *Paullinia cupana* Mart var. *sorbilis*, the guaraná, on mouse hepatocarcinogenesis. *Cancer Letters*. 2006; 233(1):158–64.
139. Leite RP, Wada RS, Monteiro JC, Predes FS, Dolder H. Protective effect of Guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) pre-treatment on cadmium-induced damages in adult Wistar testis. *Biological Trace Element Research*. 2011; 141(1–3):262–74.
140. Espinola EB, Dias RF, Mattei B' R, Carlini EA. Pharmacological activity of Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) in laboratory animals. *Pharmacology Elsevier Journal of Ethnopharmacolog*. 1997; 55(3):223-9.
141. Kennedy DO, Haskell CF, Wesnes KA, Scholey AB. Improved cognitive performance in human volunteers following administration of guarana (*Paullinia cupana*) extract: Comparison and interaction with *Panax ginseng*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2004;79(3):401–11.
142. Campos AR, Barros AIS, Albuquerque FAA, Leal LKAM, Rao VSN. Acute effects of Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) on mouse behaviour in forced swimming and open field tests. *Phytotherapy Research*. 2005; 19(5):441–3.
143. Bérubé-Parent S, Pelletier C, Doré J, Tremblay A. Effects of encapsulated green tea and Guarana extracts containing a mixture of epigallocatechin-3-gallate and caffeine on 24 h energy expenditure and fat oxidation in men. *British Journal of Nutrition*. 2005; 94(3):432–6.
144. Boozer CN, Nasser JA, Heymsfield SB, Wang V, Chen G, Solomon JL. An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. *International Journal of Obesity*. 2001; 25(3):316-24.
145. Velayutham P, Babu A, Liu D. Green Tea Catechins and Cardiovascular Health: An Update. *Current Medicinal Chemistry*. 2008; 15(18):1840-50.
146. da Costa Krewer C, Ribeiro EE, Ribeiro EAM, Moresco RN, de Ugalde Marques Da Rocha MI, dos Santos Montagner GFF, et al. Habitual intake of Guaraná and metabolic

- morbidities: An epidemiological study of an elderly amazonian population. *Phytotherapy Research*. 2011; 25(9):1367–74.
147. Portella RDL, Barcelos RP, da Rosa EJJ, Ribeiro EE, da Cruz IBM, Suleiman L, et al. Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) effects on LDL oxidation in elderly people: An in vitro and in vivo study. *Lipids in Health and Disease*. 2013;12(1).
 148. Yonekura L, Martins CA, Sampaio GR, Monteiro MP, César LAMH, Mito BM, et al. Bioavailability of catechins from guaraná (: *Paullinia cupana*) and its effect on antioxidant enzymes and other oxidative stress markers in healthy human subjects. *Food and Function*. 2016; 7(7):2970–8.
 149. Bortolin RC, Vargas AR, de Miranda Ramos V, Gasparotto J, Chaves PR, Schnorr CE, et al. Guarana supplementation attenuated obesity, insulin resistance, and adipokines dysregulation induced by a standardized human Western diet via brown adipose tissue activation. *Phytotherapy Research*. 2019; 33(5):1394–403.
 150. Santos JC, Gotardo EMF, Brianti MT, Pirae M, Gambero A, Ribeiro ML. Effects of yerba maté, a plant extract formulation (“YGD”) and resveratrol in 3T3-L1 adipogenesis. *Molecules*. 2014; 19(10):16909–24.
 151. da Silva Lima N, de Paula Numata E, de Souza Mesquita LM, Dias PH, Vilegas W, Gambero A, et al. Modulatory effects of guarana (*Paullinia cupana*) on adipogenesis. *Nutrients*. 2017; 9(6).
 152. Heckman MA, Weil J, de Mejia EG. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: A comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of Food Science*. 2010; 75(3).
 153. Lima N da S, Teixeira L, Gambero A, Ribeiro ML. Guarana (*Paullinia cupana*) stimulates mitochondrial biogenesis in mice fed high-fat diet. *Nutrients*. 2018; 10(2).
 154. Lima N da S, Caria CR e. P, Gambero A, Ribeiro ML. The effect of Guarana (*Paullinia cupana*) on metabolic and inflammatory parameters in adult male mice programmed by maternal obesity. *European Journal of Nutrition*. 2019; 58(2):765–74.

155. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 2001; 25(4):402–8.
156. Misener S, Krawetz SA, Rozen S, Skaletsky H. Primer3 on the WWW for General Users and for Biologist Programmers. *Methods Mol Biol*. 2000; 132:365-86.
157. Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature*. 1999; 401(6748):73-6.
158. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem*. 1996; 271(18):10697-703.
159. Yang W-S, Lee W-J, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao C-L, et al. Weight Reduction Increases Plasma Levels of an Adipose-Derived Anti-Inflammatory Protein, Adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(8):3815-9.
160. Wronska A, Kmiec Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiologica*. 2012. 205(2):194-208
161. Chusyd DE, Wang D, Huffman DM, Nagy TR. Relationships between Rodent White Adipose Fat Pads and Human White Adipose Fat Depots. *Frontiers in Nutrition*. 2016; 3:10.
162. Girard J, Lafontan M. Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism and insulin resistance. Part II: Visceral adipose tissue production and liver metabolism. *Diabetes and Metabolism*. 2008; 34:439–45.
163. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010; 314:1–16.
164. Akerstedt T, Ficca G. Alertness-Enhancing Drugs As A Countermeasure To Fatigue In Irregular Work Hours. *Chronobiology International*. 1997; 14(2):145-58.
165. Aoyagi R, Funakoshi-Tago M, Fujiwara Y, Tamura H. Coffee Inhibits Adipocyte Differentiation via Inactivation of PPAR γ . *Biol. Pharm. Bull*. 2014;37(11):1820-5.

166. Rosen ED, Spiegelman BM. Molecular Regulation Of Adipogenesis. *Annu. Rev.Cell Dev. Biol.* 2000; 16:145-71.
167. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of Adipogenesis in Fibroblasts by PPAR γ 2, a Lipid-Activated Transcription Factor. *Cell.* 1994 ;79(7):1147-56.
168. Desai M, Jellyman JK, Han G, Lane RH, Ross MG. Programmed regulation of rat offspring adipogenic transcription factor (PPAR γ) by maternal nutrition. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease.* 2015; 6(6):530–8.
169. Gupta RK, Arany Z, Seale P, Mepani RJ, Ye L, Conroe HM, et al. Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423. *Nature.* 2010; 464(7288):619–23.
170. Yang Q-Y, Liang J-F, Rogers CJ, Zhao J-X, Zhu M-J, Du M. Maternal Obesity Induces Epigenetic Modifications to Facilitate Zfp423 Expression and Enhance Adipogenic Differentiation in Fetal Mice. 2013; 62(11):3727-35.
171. Corica F, Allegra A, Corsonello A, Buemi M, Calapai G, Ruello A, et al. Relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor- α system in obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999; 23(4):355-60.
172. Khaodhiar L, Ling P-R, Blackburn GL, Bistrian BR. Original Communications Serum Levels of Interleukin-6 and C-Reactive Protein Correlate With Body Mass Index Across the Broad Range of Obesity. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004; 28(6):410-5.
173. Ruebel ML, Cotter M, Sims CR, Moutos DM, Badger TM, Cleves MA, et al. Obesity modulates inflammation and lipidmetabolism oocyte gene expression: A single-cell transcriptome perspective. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2017; 102(6):2029–38.
174. Xu M, Yang L, Zhu Y, Liao M, Chu L, Li X, et al. Collaborative effects of chlorogenic acid and caffeine on lipid metabolism via the AMPK α -LXR α /SREBP-1c pathway in high-fat diet-induced obese mice. *Food and Function.* 2019; 10(11):7489–97.
175. Tan Y, Tam CC, Rolston M, Alves P, Chen L, Meng S, et al. Quercetin ameliorates

- insulin resistance and restores gut microbiome in mice on high-fat diets. *Antioxidants*. 2021; 10(8).
176. Kumar AA, Satheesh G, Vijayakumar G, Chandran M, Prabhu PR, Simon L, et al. Plasma leptin level mirrors metabolome alterations in young adults. *Metabolomics*. 2020; 16(8).
 177. Dostal AM, Arikawa A, Espejo L, Kurzer MS. Long-term supplementation of green tea extract does not modify adiposity or bone mineral density in a randomized trial of overweight and obese postmenopausal women. *Journal of Nutrition*. 2016; 146(2):256–64.
 178. Khan A, Pessin J. Insulin regulation of glucose uptake: A complex interplay of intracellular signalling pathways. *Diabetologia*. 2002; 45:1475–83.
 179. Garvey WT, Maianu L, Huecksteadt TP, Bimbaum MJ, Molina JM, Ciaraldi TP. Pretranslational Suppression of a Glucose Transporter Protein Causes Insulin Resistance in Adipocytes from Patients with Non-Insulin-dependent Diabetes Mellitus and Obesity. *The Journal of Clinical Investigation, Inc*. 1991; 87(3):1072-81.
 180. Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor Necrosis Factor-induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes Is Accompanied by a Loss of Insulin Receptor Substrate-1 and GLUT4 Expression without a Loss of Insulin Receptor-mediated Signal Transduction. *J Biol Chem*. 1997 Jan 10;272(2):971-6.
 181. Tang QQ, Zhang JW, Lane MD. Sequential gene promoter interactions of C/EBP β , C/EBP α , and PPAR γ during adipogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004; 319(1):235–9.
 182. Ghaben AL, Scherer PE. Adipogenesis and metabolic health. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group; 2019. 20:242–58.

Anexos

Anexo I: Aprovação do CEUA




COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAL EM PESQUISA - CEUA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto de Pesquisa: EFEITOS SOBRE DESORDENS METABÓLICAS, HORMONAIS E EPIGENÉTICAS EM PROLES DE MÃES OBESAS TRATADAS COM ERVA MATE (ILEX PARAGUARIENSIS) DURANTE A GESTAÇÃO.

ÁREA DE CONHECIMENTO: Farmacologia Geral

Autor(es): Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro, Natália da Silva Lima

Instituição: UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO

Protocolo: 001.05.2015
IP. CIUCA: 200.225.122.34
CIAEP/CONCEA N°: 01.0226.2014
Número de Animais/Espécie: 120 camundongos Macho e 20 camundongos Fêmea
Total de Animais: 140 camundongos

Prezado(a)(s) Pesquisador(a)(s),

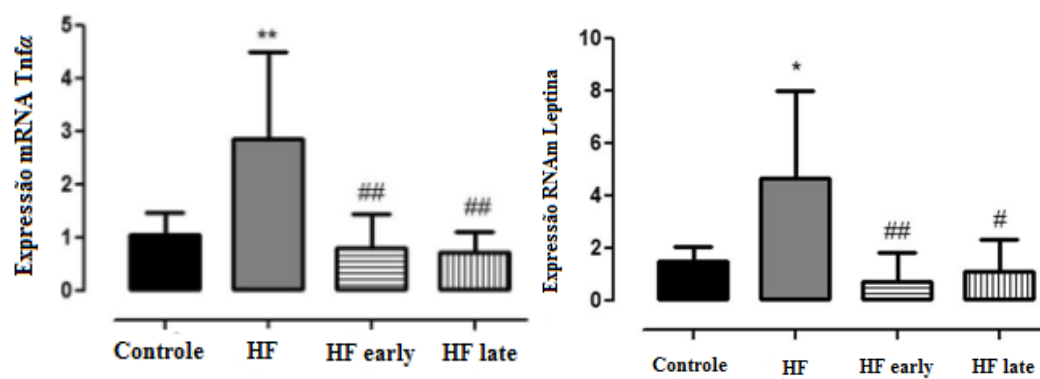
O Comitê de Ética em Pesquisa com Uso de Animais de Pesquisa- CEUA, da Universidade São Francisco, analisou a resolução de pendência do projeto de pesquisa em reunião ordinária no dia **25/06/2015**, sob a responsabilidade de Vossa Senhoria.

Este Comitê, acatando o parecer do relator indicado, apresenta-lhe o seguinte resultado:

Parecer: APROVADO


Michelle Darrieux Sampaio Bertoncini
Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animal em Pesquisa
Universidade São Francisco

Anexo II: Resultados prévios da expressão de *Tnfa* e *Lep* em TAE (Lima et al, 2019)¹



¹ Lima N da S, Caria CR e. P, Gambero A, Ribeiro ML. The effect of Guarana (*Paullinia cupana*) on metabolic and inflammatory parameters in adult male mice programmed by maternal obesity. *European Journal of Nutrition*. 2019 Mar 1;58(2):765–74.

Review

Effect of Polyphenols Intake on Obesity-Induced Maternal Programming

Isabela Monique Fortunato ¹, Tanila Wood dos Santos ¹, Lucio Fábio Caldas Ferraz ¹,
Juliana Carvalho Santos ^{2,*} and Marcelo Lima Ribeiro ^{1,*}

¹ Post Graduate Program in Health Science, Universidade São Francisco (USF), Bragança Paulista 12916-900, SP, Brazil; fortunato.misabela@gmail.com (I.M.F.); tanilawood@gmail.com (T.W.d.S.); lucio.ferraz@usf.edu.br (L.F.C.F.)

² Lymphoma Translational Group, Josep Carreras Leukemia Research Institute (IJC), 08916 Badalona, Spain

* Correspondence: jcarvalho@carrerasresearch.org (J.C.S.); marcelo.ribeiro@usf.edu.br (M.L.R.)

Abstract: Excess caloric intake and body fat accumulation lead to obesity, a complex chronic disease that represents a significant public health problem due to the health-related risk factors. There is growing evidence showing that maternal obesity can program the offspring, which influences neonatal phenotype and predispose offspring to metabolic disorders such as obesity. This increased risk may also be epigenetically transmitted across generations. Thus, there is an imperative need to find effective reprogramming approaches in order to resume normal fetal development. Polyphenols are bioactive compounds found in vegetables and fruits that exert its anti-obesity effect through its powerful anti-oxidant and anti-inflammatory activities. Polyphenol supplementation has been proven to counteract the prejudicial effects of maternal obesity programming on progeny. Indeed, some polyphenols can cross the placenta and protect the fetal predisposition against obesity. The present review summarizes the effects of dietary polyphenols on obesity-induced maternal reprogramming as an offspring anti-obesity approach.

Keywords: bioactive compounds; nutraceutical; maternal obesity; adipose tissue; metabolic disorders



Citation: Fortunato, I.M.; dos Santos, T.W.; Ferraz, L.F.C.; Santos, J.C.; Ribeiro, M.L. Effect of Polyphenols Intake on Obesity-Induced Maternal Programming. *Nutrients* **2021**, *13*, 2390. <https://doi.org/10.3390/nu13072390>

Academic Editors: Silvia Di Giacomo and Antonella Di Sotto

Received: 25 May 2021

Accepted: 3 July 2021

Published: 13 July 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Excess caloric intake and body fat accumulation lead to obesity. Obesity is considered as one of the main public health problems worldwide, and affects not only industrialized nations, but also developing countries. Epidemiological data presented by the World Health Organization have found that since 1975, obesity has almost tripled and at least 2.8 million people die annually due to complications from obesity or overweight. Despite the current public awareness of the consequences of obesity, its incidence continues to rise, and is distributed in almost all ethnicities and in both sexes, mainly affecting the population aged 25 to 44 years [1].

Obesity has a multifactorial etiology and involves an interaction between genetic and environmental factors [2]. It is characterized as white adipose tissue (WAT) expansion, and in general results from an energy imbalance as a result of an increase in caloric intake coupled with a decrease in daily energy spending [3,4]. The hyperplasia or hypertrophy of adipocytes caused by an accumulation of triacylglycerols leads to an expansion of body fat deposits and an increase in the concentrations of free circulating fatty acids, peptides, inflammatory cytokines, and adipokines, resulting in metabolic disorders such as hepatic steatosis, diabetes, metabolic syndrome, atherosclerosis, and dyslipidemia, conditions that also contribute to the cardiometabolic risk [5,6].

Maternal obesity also has different clinical implications, and is associated with significant health risks to the mother and the newborn. Of note, in animal models, high fat diet (HFD) intake during the pregnancy may predispose offspring to postnatal metabolic inflammatory

disorders such as obesity. In this sense, the well-known anti-inflammatory activity of polyphenols could be considered as a reprogramming strategy against maternal obesity-induced adversities. Thus, the present review summarizes the effects of dietary polyphenols on obesity-induced maternal reprogramming as an offspring anti-obesity approach.

2. Obesity and Maternal Programming

It has been described that nutritional, hormonal, and environmental changes during pregnancy and lactation are strongly associated with the appearance of adulthood diseases. The physiological adaptations developed by the organism, as a survival strategy, could potentially become detrimental to the individual's health from the moment when adverse conditions are restored to normal levels. Although several studies have shown that these disorders can have origins even before birth, the exact mechanisms by which these alterations occur are still poorly understood. This biological phenomenon was initially called "metabolic programming" [7–9] and later as "ontogenetic plasticity", as it is a more probabilistic than a deterministic event [10].

Indeed, the phenomenon of programming or ontogenetic plasticity has been extensively studied for decades by several research groups around the world. Adequate nutrition is known to be essential during crucial periods of development as it can act as an imprinting or priming factor, leading to physiological changes programming future diseases. The association between the observed changes in critical periods and disorders in adulthood gave rise to the "Barker hypothesis", then the Fetal Origin of Adult Disease, and is now the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) [11].

Several factors involved in disease-programming have already been described [12–15]. Among them, we highlight maternal obesity, which has been widely linked to the birth of newborns who are more susceptible to overweight and obesity development [16,17]. Although the prevalence of obesity grows alarmingly and affects all age groups, it should be noted that approximately 39.7% of women between 20 and 39 years of age are obese in the U.S. (NCHS Data Brief No. 360, February 2020). This dataset shows that obesity is a seriously concerning vicious cycle that requires intensive research.

Maternal obesity has been associated with abdominal fat expansion and higher cardiometabolic risk (increased blood pressure, increased serum concentrations of triglycerides, LDL-C and C-Reactive Protein, and low levels of HDL-C) [18]. In animal studies, maternal obesity is correlated with increased adiposity, hyperphagia, increased cholesterol and triglyceride concentrations and increased lipogenesis and a decrease in beta oxidation, leading to the development of hepatic steatosis on offspring [15,19]. Furthermore, it has already been demonstrated that the progeny of HFD-fed rats showed changes such as weight gain, increased adiposity, hyperleptinemia, leptin resistance, and hyperglycemia, even immediately after weaning (21 days) [20].

The deleterious consequence of maternal obesity occurs during specific periods of fetal and offspring development, where epigenetic memory can be switched [21]. Murine models have shown that adipogenesis is active, especially during the last week of gestation, and accelerates in early postnatal life until the puppies are weaned. In humans, adipogenesis and adipose tissue growth occur mainly before birth [9]. In both, the expansion of adipose tissue involves hyperplasia and hypertrophy. In adult mice, the adipocyte reserve remains quite stable, ranging from 10 to 20% of adipocyte renewal per month [22]. The number of fat cells in humans is established in adulthood, with a renewal of 10% per year, regardless of body weight, which means that obese persons renew twice as many fat cells annually. Furthermore, when obese persons lose a substantial amount of weight, they maintain their high number of adipocytes, indicating that the adipose tissue has a numerical adipocyte memory, which is defined at the beginning of development [9]. Thus, it is suggested that multiple epigenetic factors are involved in "memorizing" the number of adipocytes.

3. Adipose Tissue Programming

Human adipose tissue development is an uninterrupted process that starts early during embryogenesis [23]. The transcriptional cascade promoting adipogenesis is very complex and has been well-studied. Mechanically, during the adipose tissue development, the stem cells are sensitive to pro-adipogenic signals (such as metabolites and hormones). These signals stimulate several epigenomic changes in transcriptionally accessible regions of adipogenic genes. The epigenomic profiles established during adipogenesis take place in two steps: (1) differentiation of multipotent mesenchymal stem cells (MSCs) into preadipocytes, and (2) terminal adipocyte differentiation [24].

Stem cells have active transcription of pluripotency genes, and repression of adipogenic genes through the presence of epigenetic marks such as DNA methylation (H3K27me3 and H3K9me3) [9,24]. During the pre-adipogenic process, pro-adipogenic genes are silenced by the presence of bivalent histones H3K27me3 and H3K4me3 [25]. The bivalent state is converted to an active state during the adipocyte terminal differentiation, which is associated with the recruitment of the first wave of transcription factors (such as CCAAT Enhancer Binding Protein (C/EBP) β , glucocorticoid receptor, Sterol Regulatory Element Binding Transcription Factor 1 (SREBP-1C), and Zinc Finger Protein 423 (ZFP423)) [25–28]. These transcription factors, in turn, stimulate the open state of chromatin at regions containing genes involved in the second wave of transcription factors, among which Peroxisome Proliferator Activated Receptor (PPAR) γ and CEBP α stand out. The second wave of transcription factors leads to the transcription of pro-adipogenic genes (such as Solute Carrier Family 2 Member 4 (SLC2A4), Adiponectin (ADIPOQ), and Leptin (LEP)) [25]. The pregnancy and lactation period involve a strong adipogenesis commitment. The adipose tissue, in turn, originates in both embryonic and postnatal development, especially during early childhood and puberty. In fact, in rodents and in humans, there is a gradual gain in adipocyte number until puberty under physiological conditions [29,30]. The number and size of adipocytes remain stable after puberty [29,31].

Several molecular evidences suggest that transmission of epigenetic marks such as DNA methylation and changes in histone code may be important in the children's phenotypes. Recent studies suggest that the emergence of chronic diseases such as obesity and diabetes may have an epigenetic inheritance [32–34]. Accordingly, it has been shown in rodent models that maternal obesity modulates the expression of pro-adipogenic genes such as C/EBP β , ZFP423, and PPAR γ in the offspring, thus reprogramming adipogenesis. In a maternal obesity-programming model, it was observed that the offspring exhibited an increase in the levels of ZFP423 expression, which was associated with a reduced methylation in its promoter. At weaning, it was observed that the high activity ZFP423 led to faster adipogenesis, increased adipocyte differentiation, and higher adiposity [35–37]. In addition, DNA methylation and histone modifications may regulate PPAR γ expression in adipose tissue. Thus, maternal obesity inhibits PPAR γ 2 expression through epigenetic mechanisms in the WAT of the offspring. Although it seems paradoxical, it is believed that the repression of this gene in adipose tissue may be an adaptive mechanism to avoid further accumulation of fat [38,39]. However, the persistent repression of PPAR γ 2 is associated with an increase in the expression of genes involved with fat accumulation (TNF receptor superfamily member 6 (Fas), diacylglycerol O-acyltransferase 2 (Dgat2), and lipoprotein lipase (Lpl)), suggesting that, at least in part, such regulation should occur by additional signaling pathways independent of PPAR γ [15]. In summary, maternal obesity may be related to important epigenetic modifications that explain the emergence of obesity and other morbidities presented by the offspring.

4. Polyphenol Effect on Obesity

Beneficial effects of some natural diet components are attributed to their anti-inflammatory and anti-oxidant properties, and have been commonly used to treat and/or prevent diseases. In this sense, several studies highlight a broad range of beneficial effects to polyphenols [40,41].

Polyphenols are bioactive compounds abundantly found in vegetables and fruits involved in plant defense against oxidative stress and ultraviolet radiation, or attracting pollinators [42]. Since chronic inflammation is known to be a leading cause of different disorders such as obesity, diabetes type 2, cancer, arthritis, neurodegenerative, and cardiovascular diseases, many studies have studied the beneficial role of polyphenols in reducing inflammation to treat chronic disorders [43].

These natural compounds contribute to the regulation of inflammatory signaling through the modulation of several pro-inflammatory genes such as cytokines, lipoxygenases, nitric oxide synthases cyclooxygenase, and through their anti-oxidant activity, which support progress toward decreased metabolic disorders [44,45].

Polyphenols belong to a broad group of chemical metabolites, and can be categorized into flavonoids, allied phenolic, and polyphenolic compounds [46]. Some polyphenols such as anthocyanins are absorbed through the gut barrier, while the unabsorbed polyphenols must be enzymatically hydrolyzed to be uptaken by epithelial cells [47]. The anti-obesity effect ascribed to polyphenols are achieved by their ability to interact, directly or indirectly, with adipose tissues and activate 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), which results in the reduction of cholesterol, fatty acid synthesis, and triglyceride formation. Moreover, polyphenols can repress genes that regulate adipocyte differentiation and triglyceride accumulation [48].

Epigallocatechin gallate (EGCG) is the most active flavonoid compound present in green tea. Strong emerging evidence has shown the anti-obesity potential of EGCG. For instance, in vitro studies have demonstrated that EGCG inhibits preadipocyte differentiation, decreases adipocyte proliferation, suppresses lipogenesis, induces adipocyte apoptosis, and promotes lipolysis and fatty acid β -oxidation [49–51]. Additionally, EGCG decreased obesity and epididymal WAT weight in mice partially via activating the AMPK pathway [52]. Adipocyte differentiation may be suppressed by EGCG through the inhibition of the PI3K/AKT and MEK/ERK pathways, which may lead to downregulation of PPAR γ and C/EBP α , the main adipogenesis regulators [48].

Quercetin is one of the primary flavonoid compounds and widely exists in vegetables, tea, and fruits. It has been reported that quercetin suppresses lipid accumulation, body weight, and insulin resistance in mice [53]. In HFD-induced rodents, treatment with quercetin attenuated both obesity and insulin resistance, inhibited hepatic lipid accumulation by inducing the expression of beta-oxidation related genes and decreasing inflammation [54,55]. In human adipocyte models, quercetin significantly downregulated adipokines (i.e., Angiopoietin Like 4 (ANGPTL4) and Serpin Family E Member 1 (SERPINE1, previously known as PAI-1)) and glycolysis-associated enzymes (i.e., Enolase 2, gamma neuronal (ENO2) and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 4 (PFKFB4)), which are closely related to obesity [56]. Mechanistically, in vitro and in vivo analysis has shown that quercetin is able to revert unfavorable epigenomic profiles associated with adipogenesis through the induction of chromatin remodeling and histone modifications, which lead to a decrease in C/EBP α and PPAR γ gene expression [55].

In a HFD-fed rat model, kaempferol suppressed the visceral fat accumulation and improved hyperlipidemia through the downregulation of SREBPs and upregulation of hepatic PPAR α expression [57]. In obese HFD-induced mice, kaempferol protected against obesity and ameliorated hyperlipidemia partly through maintaining microbial diversity and modulating microbial communities as well as downregulating PPAR γ and SREBP-1C [58,59]. In another study, kaempferol modulated 3T3-L1 adipocyte differentiation through regulation of C/EBP α and PPAR α [60,61].

Curcumin, the primary natural polyphenolic compound of the spice turmeric, also has anti-insulin sensitivity and anti-obesity activity. It has been shown that curcumin can

suppress weight gain, improve insulin sensitivity, and prevent the development of diabetes in rodents and in prediabetic subjects [62]. Curcumin promoted beige adipogenesis and induced pre-adipocyte apoptosis in white adipocytes possibly mediated by AMPK, PPAR γ , and C/EBP α [63,64]. In pro-adipogenic conditions of rat MSCs, curcumin inhibited the expression of PPAR γ and C/EBP α , which in turn suppressed adipocyte differentiation [65].

Resveratrol, one of the most studied bioactive polyphenolic compounds found in grapes, red wine, and some berries, also modulates several events involved in the obesity process. Due its powerful antioxidant and anti-inflammatory activity, resveratrol has been used as dietary supplements, and as a functional food ingredient to achieve different health benefits. Several in vitro studies have demonstrated that resveratrol has an anti-obesity effect by negatively regulating white adipogenesis via inhibiting PPAR γ and C/EBP α [66], activating Sirtuin 1 (SIRT1) and (PPAR γ Coactivator 1) PGC1 α [67], attenuating white adipogenesis and lipid accumulation. Furthermore, their anti-obesity effect is carried out by inhibiting the transcriptional activities of PPAR γ , suppressing adipocyte differentiation, proliferation, and lipogenesis, and promoting adipocyte apoptosis, lipolysis, and fatty acid oxidation [68–70].

Several studies have shown that chlorogenic acid (CGA), the major polyphenol present in the coffee, has beneficial effects on obesity. It has been demonstrated, in an HFD-induced mice obese model, that CGA supplementation significantly decreased body weight, visceral fat mass, and leptin and insulin plasma levels [71,72]. Mechanistically, the CGA beneficial anti-obesity effects might be attributed to its ability to decrease C/EBP, PPAR γ , and SREBP expression [72]. Furthermore, an interesting study conducted in mice that become identifiably obese due to homozygous diabetes spontaneous mutation (Lepr^{db}) showed that CGA treatment inhibited G6Pase expression, improved lipid metabolism, insulin sensitivity, and glucose tolerance via AMPK activation [73].

Increasing clinical evidence has also shown that coffee exerts anti-obesity effects in humans [74]. Nordestgaard et al. [75] conducted a Mendelian randomization study including 93,179 subjects, and showed that the consumption of up to four cups of coffee per day was associated with a lower risk of obesity than non-coffee drinkers. Similarly, Koyama et al. [76] reported that the daily coffee intake was associated with lower levels of visceral obesity and metabolic syndrome in a population of 3539 Japanese. Another clinical study indicated that 30 obese women who consumed 180 mg of CGA for eight weeks presented significant reductions in body weight, BMI, and fat mass indices as well as lower serum LDL, TC, leptin, and plasma free FA levels when compared with 34 obese women from the placebo group [77].

Salvianolic acid A (SA) is another natural polyphenolic compound found in *Radix Salvia miltiorrhiza*, with well reported anti-oxidant and anti-inflammatory properties [78]. It has been shown that SA can also reverse the HFD-induced obesity [79]. Indeed, a study conducted with HFD-induced obese mice showed that SA supplementation exerts its anti-obesity effects by activation of WAT browning via the AMPK-SIRT1 pathway [80]. Moreover, SA has a cardioprotective role against lipotoxicity by suppressing the expression of TLR4 target genes, both in vitro and in vivo [81].

Ferulic acid (FA), a polyphenol abundantly found in whole grains, also has the ability to activate AMPK signaling and exerts its anti HFD-induced obesity effects by inhibiting oxidative stress, inflammation, and circulating LDL levels along with increasing adiponectin expression and circulating HDL levels [82]. Additionally, using a 3T3-L1 pre-adipocytes in vitro model, Kuppusamy et al. [83] demonstrated that FA may prevent obesity through downregulation of key transcriptional factors PPAR γ and C/EBP α and consequently suppressing adipocyte differentiation and lipid accumulation.

Recent data have shown that TOTUM-63 (T63), a novel plant-based polyphenol extracted from olive leaves, bilberry, artichoke, chrysanthellum, and black pepper, may also have anti-obesity properties. Indeed, a translational study indicated that T63 can reduce body weight, control glucose homeostasis, and may protect against type 2 diabetes [84]. Accordantly, recent studies based on obese rodent models have shown that T63 supple-

mentation improves glycemic levels by inducing skeletal muscle oxidative capacity [85], decreases inflammation, and improves insulin sensitivity [86], suggesting that T63 might be a promising novel nutritional supplement against obesity. Figure 1 summarizes the molecular mechanisms underlying the anti-obesity effects of the main polyphenols.

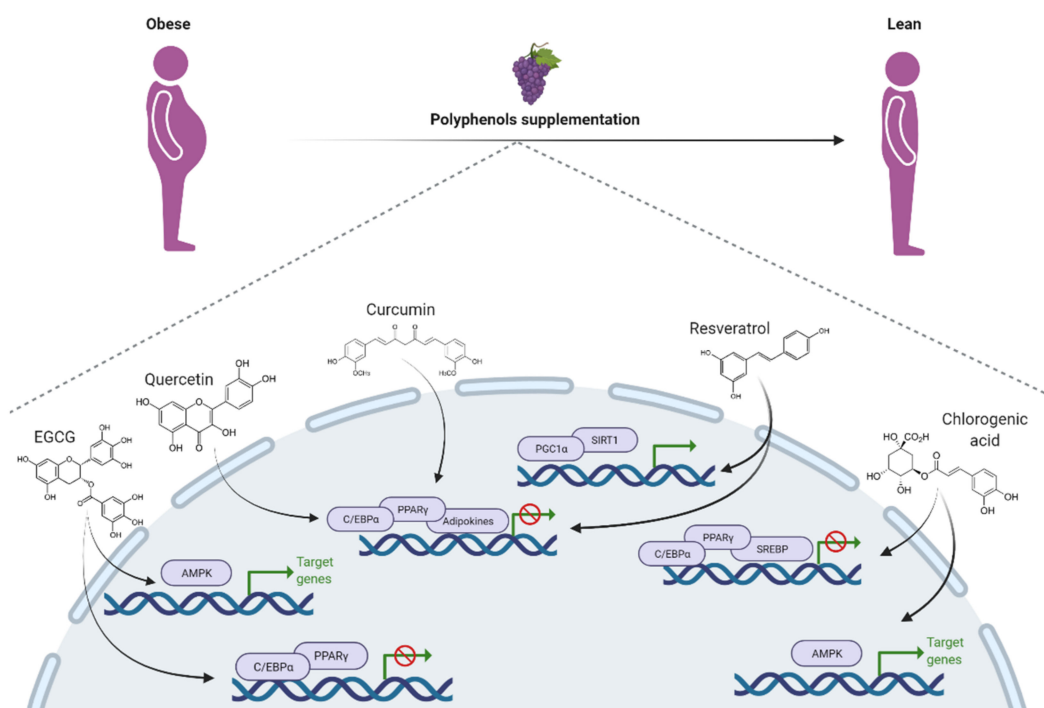


Figure 1. Schematic representation of molecular mechanisms underlying the anti-obesity effects of the main polyphenols.

5. Beneficial Impact of Polyphenols on Obesity-Induced Maternal Programming

It has been shown that maternal obesity functionally modulates adipogenesis from fetal development [87] to adulthood [88], presenting larger adipocytes and WAT mass accumulation [89]. Moreover, maternal obesity leads to increased cytokine production and placental-mediated inflammation, which could affect fetal development and may predispose progeny to subsequent obesity [90,91]. Since maternal obesity-induced metabolic programming has a profound impact on offspring, there is a compelling need to find effective reprogramming approaches in order to resume normal development. In this sense, supplementing with natural compounds such as polyphenols could be helpful in the reprogramming of maternal adversities associated with obesity.

A study conducted by Kataoka, Norikura, and Sato (2018) [92] showed that the intake of EGCG-rich green tea extract during lactation of Wistar rats had a protective effect on the kidney of HFD-fed adult offspring through the suppression of epigenetic modulators such as DNA methyltransferase 1 (DNMT1), ubiquitin like with PHD and ring finger domains 1 (UHRF1), and euchromatic histone lysine methyltransferase 2 (EHMT2), highlighting that the offspring phenotype can be programmed by maternal polyphenol intake. In addition, EGCG treatment of rat embryos blocks Forkhead Box O3 (FOXO3A) activation and reverses AKT inhibition, preventing hyperglycemia-induced embryopathy [93]. Similarly, it has been shown that an isoflavone-rich soy-based diet during rat pregnancy may afford cardiovascular protection in the offspring through the stimulation of antioxidant and redox-sensitive gene expression [94].

Since efficiency and safety of EGCG supplementation has rarely been evaluated during pregnancy in humans, a well-conducted randomized, placebo-controlled, double-blind clinical study evaluated the effects of EGCG in gestational diabetes mellitus-affected women. In general, the authors described that daily administration of 500 mg of EGCG,

starting from the beginning of their third trimester, was well tolerated and improved both circulating glucose and insulin response. Additionally, EGCG also ameliorates some neonatal complications such as low birth weight and hypoglycemia [95].

Interestingly, Tain Y et al. [96] highlighted the beneficial effects of resveratrol supplementation as an important reprogramming approach against the metabolic syndrome-related disorders. The long-term effects of both maternal and postnatal HFD intake lead to metabolic disruption characterized by body weight gain, high levels of serum HDL, ALT, triglycerides, leptin, cholesterol, and angiotensin I and II, which could be ameliorated by resveratrol therapy [97]. It has been suggested that resveratrol could cross the placenta and exert its anti-inflammatory [98] and anti-oxidant function [99]. Animal studies have shown the fat browning activator action of resveratrol involving the secretion of several myokines and adipokines and suggest that maternal resveratrol supplementation may have a protective role against HFD-induced obesity [100,101]. Similarly, Zou et al. found that the resveratrol supplementation during pregnancy led to a thermogenic program in BAT and WAT, and stimulated beige adipocyte development of WAT in male progeny [102]. Hsu et al. [103] assessed the effect of maternal resveratrol intake of obese rats and found that resveratrol treatment restored adiponectin, AKT phosphorylation, and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in male fetal brain, increased blood pressure, and reduced increased body weight and peripheral insulin resistance in adult male offspring, further demonstrating that intervention with this polyphenol may protect offspring against HFD-induced obesity. Another study using the HFD-obese rat model [104] highlighted that maternal resveratrol supplementation had a reprogramming role for progeny through lipid metabolic modulation. The authors showed the anti-obesity effect of resveratrol treatment through the suppression of lipogenesis and SIRT1 protein expression, attenuation of leptin resistance, and induction of lipolysis for offspring. Additionally, it has been shown that resveratrol supplementation prevents maternal glucose intolerance and lower blood glucose levels by insulin secretion stimulation [105]. Figure 2 summarizes obesity-induced maternal programming and how polyphenol intake could reprogram the epigenetic memory of adult offspring.

Although there is growing evidence suggesting the therapeutic potential of resveratrol in obesity-induced maternal reprogramming, the safety and long-term risk of in utero exposure in humans are unexplored. Thus, the effects of resveratrol supplementation was evaluated in a Western-style diet-fed pregnant nonhuman primates [106]. In this interesting study, the authors showed that resveratrol supplementation in pregnancy has beneficial effects such as a reduction in maternal weight, an improvement on insulin secretion, restore uteroplacental blood flow, decreased placental inflammation, and an improvement in lipid deposition in the fetal liver. However, an increase in fetal pancreas mass was observed. Altogether, these data highlight that the use of resveratrol should be carefully evaluated in pregnant women.

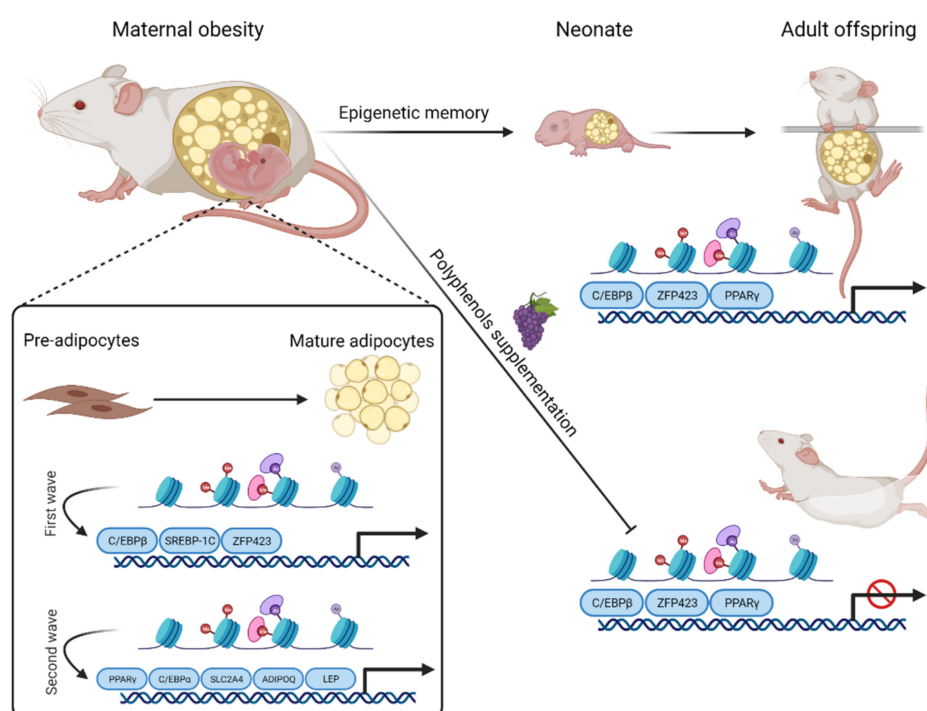


Figure 2. Schematic representation of polyphenol effect on obesity-induced maternal programming. The recruitment of the first wave of transcription factors (C/EBP β , SREBP-1C, and ZFP423) take place during adipocyte differentiation, leading to the conversion of the histone bivalent state to an active state. These transcription factors, in turn, promote an open state of chromatin in regions containing genes involved in the second wave of transcription factors, among which PPAR γ and CEBP α stand out. The second wave of transcription factors induces the expression of pro-adipogenic genes such as LEP, SLC2A4, and ADIPOQ. Maternal obesity is also involved in the regulation of pro-adipogenic transcription factors such as ZFP423, C/EBP β , and PPAR γ during adipogenesis in the perinatal period and affects the offspring. Polyphenol supplementation could counteract the detrimental effects of maternal obesity programming on the progeny by negatively regulating adipogenesis via inhibiting PPAR γ , ZFP423, and C/EBP α .

6. Conclusions

The current evidence highlights the relevance of maternal obesity for the metabolic health of the progeny. This review shows that there is an increasing amount of experimental data pointing to the potential effects of polyphenols as a strategy to counteract the deleterious effects induced by maternal obesity. In general, the data reviewed here demonstrated that supplementing pregnant and lactating obese animals with polyphenols including resveratrol, genistein, EGCG, and anthocyanins led to metabolic health reprogramming that ultimately decreased adiposity in the offspring. Whether these observations translate to the human condition remains to be determined. Further examination of obesity-induced maternal programming, especially in humans, is urgently needed and may help to develop polyphenol-based strategies to decrease the propagation of obesity across generations.

Author Contributions: All authors made a substantial contribution to all aspects of the preparation of this manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: MLR acknowledges support from the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, 305402/2019-6). I.M.F. was supported by a scholarship from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Ministry of Education of Brazil). J.C.S. holds a Sara Borrell research contract from Instituto de Salud Carlos III (CD19/00228).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Benthall, J.; Di Cesare, M.; Bilano, V.; Bixby, H.; Zhou, B.; Stevens, G.A.; Riley, L.M.; Taddei, C.; Hajifathalian, K.; Lu, Y.; et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: A pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet* **2017**, *390*, 2627–2642.
2. Hruby, A.; Hu, F.B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* **2015**, *33*, 673–689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Finer, N. Medical consequences of obesity. *Medicine* **2015**, *43*, 88–93. [[CrossRef](#)]
4. De Ferranti, S.; Mozaffarian, D. The perfect storm: Obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin. Chem.* **2008**, *54*, 945–955. [[CrossRef](#)]
5. Moseti, D.; Regassa, A.; Kim, W.K. Molecular regulation of adipogenesis and potential anti-adipogenic bioactive molecules. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Neeland, I.J.; Ayers, C.R.; Rohatgi, A.K.; Turer, A.T.; Berry, J.D.; Das, S.R.; Vega, G.L.; Khera, A.; McGuire, D.K.; Grundy, S.M.; et al. Associations of visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue with markers of cardiac and metabolic risk in obese adults. *Obesity* **2013**, *21*, E439–E447. [[CrossRef](#)]
7. Barker, D.J.P. The Developmental Origins of Adult Disease. *J. Am. Coll. Nutr.* **2004**, *23*, 588S–595S. [[CrossRef](#)]
8. De Moura, E.G.; Passos, M.C.F. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. *Biosci. Rep.* **2005**, *25*, 251–264. [[CrossRef](#)]
9. Lecoutre, S.; Petrus, P.; Rydén, M.; Breton, C. Transgenerational Epigenetic Mechanisms in Adipose Tissue Development. *Trends Endocrinol. Metab.* **2018**, *29*, 675–685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Gluckman, P.D.; Hanson, M.A. Developmental plasticity and human disease: Research directions. *J. Intern. Med.* **2007**, *261*, 461–471. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Barker, D.J.P.; Hales, C.N.; Fall, C.H.D.; Osmond, C.; Phipps, K.; Clark, P.M.S. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): Relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* **1993**, *36*, 62–67. [[CrossRef](#)]
12. Da Silva Lima, N.; Gaspar De Moura, E.; Cottini Fonseca Passos, M.; Firmino Nogueira Neto, J.; Reis, A.M.; De Oliveira, E.; Lisboa, P.C. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. *Br. J. Nutr.* **2011**, *105*, 1405–1413. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Harris, K.; Desai, N.; Gupta, M.; Xue, X.; Chatterjee, P.K.; Rochelson, B.; Metz, C.N. The effects of prenatal metformin on obesogenic diet-induced alterations in maternal and fetal fatty acid metabolism. *Nutr. Metab.* **2016**, *13*, 55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Veiga-Lopez, A.; Moeller, J.; Sreedharan, R.; Singer, K.; Lumeng, C.; Ye, W.; Pease, A.; Padmanabhan, V. Developmental programming: Interaction between prenatal bpa exposure and postnatal adiposity on metabolic variables in female sheep. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2016**, *310*, E238–E247. [[CrossRef](#)]
15. Lecoutre, S.; Pourpe, C.; Butruille, L.; Marousez, L.; Laborie, C.; Guinez, C.; Lesage, J.; Vieau, D.; Eeckhoutte, J.; Gabory, A.; et al. Reduced PPAR γ 2 expression in adipose tissue of male rat offspring from obese dams is associated with epigenetic modifications. *FASEB J.* **2018**, *32*, 2768–3778. [[CrossRef](#)]
16. Catalano, P.M. Obesity and pregnancy—The propagation of a viscous cycle? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2003**, *88*, 3505–3506. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Moreno-Mendez, E.; Quintero-Fabian, S.; Fernandez-Mejia, C.; Lazo-De-La-Vega-Monroy, M.L. Early-life programming of adipose tissue. *Nutr. Res. Rev.* **2020**, *33*, 244–259. [[CrossRef](#)]
18. Tan, H.C.; Roberts, J.; Catov, J.; Krishnamurthy, R.; Shypailo, R.; Bacha, F. Mother's pre-pregnancy BMI is an important determinant of adverse cardiometabolic risk in childhood. *Pediatr. Diabetes* **2015**, *16*, 419–426. [[CrossRef](#)]
19. Ornellas, F.; Souza-Mello, V.; Mandarim-de-Lacerda, C.A.; Aguila, M.B. Programming of obesity and comorbidities in the progeny: Lessons from a model of diet-induced obese parents. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0124737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Franco, J.G.; Fernandes, T.P.; Rocha, C.P.D.; Calviño, C.; Pazos-Moura, C.C.; Lisboa, P.C.; Moura, E.G.; Trevenzoli, I.H. Maternal high-fat diet induces obesity and adrenal and thyroid dysfunction in male rat offspring at weaning. *J. Physiol.* **2012**, *590*, 5503–5518. [[CrossRef](#)]
21. Desai, M.; Jellyman, J.K.; Han, G.; Beall, M.; Lane, R.H.; Ross, M.G. Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2014**, *211*, 237.e1–237.e13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Birsoy, K.; Berry, R.; Wang, T.; Ceyhan, O.; Tavazoie, S.; Friedman, J.M.; Rodeheffer, M.S. Analysis of gene networks in white adipose tissue development reveals a role for ETS2 in adipogenesis. *Development* **2011**, *138*, 4709–4719. [[CrossRef](#)]
23. Poissonnet, C.M.; Burdi, A.R.; Garn, S.M. The chronology of adipose tissue appearance and distribution in the human fetus. *Early Hum. Dev.* **1984**, *10*, 1–11. [[CrossRef](#)]
24. Tang, Q.Q.; Lane, M.D. Adipogenesis: From stem cell to adipocyte. *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, *81*, 715–736. [[CrossRef](#)]
25. Steger, D.J.; Grant, G.R.; Schupp, M.; Tomaru, T.; Lefterova, M.I.; Schug, J.; Manduchi, E.; Stoeckert, C.J.; Lazar, M.A. Propagation of adipogenic signals through an epigenomic transition state. *Genes Dev.* **2010**, *24*, 1035–1044. [[CrossRef](#)]
26. Lefterova, M.I.; Haakonsson, A.K.; Lazar, M.A.; Mandrup, S. PPAR γ and the global map of adipogenesis and beyond. *Trends Endocrinol. Metab.* **2014**, *25*, 293–302. [[CrossRef](#)]
27. Gupta, R.K.; Arany, Z.; Seale, P.; Mepani, R.J.; Ye, L.; Conroe, H.M.; Roby, Y.A.; Kulaga, H.; Reed, R.R.; Spiegelman, B.M. Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp. *Nature* **2010**, *471*, 619–623. [[CrossRef](#)]
28. Musri, M.M.; Parrizas, M. Epigenetic regulation of adipogenesis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2012**, *15*, 342–349. [[CrossRef](#)]

29. Spalding, K.L.; Arner, E.; Westermark, P.O.; Bernard, S.; Buchholz, B.A.; Bergmann, O.; Blomqvist, L.; Hoffstedt, J.; Näslund, E.; Britton, T.; et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* **2008**, *453*, 783–787. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Holtrup, B.; Church, C.D.; Berry, R.; Colman, L.; Jeffery, E.; Bober, J.; Rodeheffer, M.S. Puberty is an important developmental period for the establishment of adipose tissue mass and metabolic homeostasis. *Adipocyte* **2017**, *6*, 224–233. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Berry, D.C.; Jiang, Y.; Graff, J.M. Emerging Roles of Adipose Progenitor Cells in Tissue Development, Homeostasis, Expansion and Thermogenesis. *Trends Endocrinol. Metab.* **2016**, *27*, 574–585. [\[CrossRef\]](#)
32. Radford, E.J.; Ito, M.; Shi, H.; Corish, J.A.; Yamazawa, K.; Isganaitis, E.; Seisenberger, S.; Hore, T.A.; Reik, W.; Erkek, S.; et al. In utero undernourishment perturbs the adult sperm methylome and intergenerational metabolism. *Science* **2014**, *345*, 1255903. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Wei, Y.; Yang, C.R.; Wei, Y.P.; Zhao, Z.A.; Hou, Y.; Schatten, H.; Sun, Q.Y. Paternally induced transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 1873–1878. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Ma, X.; Kang, S. Functional implications of DNA methylation in adipose biology. *Diabetes* **2019**, *68*, 871–878. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Borengasser, S.J.; Zhong, Y.; Kang, P.; Lindsey, F.; Ronis, M.J.J.; Badger, T.M.; Gomez-Acevedo, H.; Shankar, K. Maternal obesity enhances white adipose tissue differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring. *Endocrinology* **2013**, *154*, 4113–4125. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Yang, Q.Y.; Liang, J.F.; Rogers, C.J.; Zhao, J.X.; Zhu, M.J.; Du, M. Maternal obesity induces epigenetic modifications to facilitate Zfp423 expression and enhance adipogenic differentiation in fetal mice. *Diabetes* **2013**, *62*, 3727–3735. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Liang, X.; Yang, Q.; Fu, X.; Rogers, C.J.; Wang, B.; Pan, H.; Zhu, M.J.; Nathanielsz, P.W.; Du, M. Maternal obesity epigenetically alters visceral fat progenitor cell properties in male offspring mice. *J. Physiol.* **2016**, *594*, 4453–4466. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Fujiki, K.; Kano, F.; Shiota, K.; Murata, M. Expression of the peroxisome proliferator activated receptor γ gene is repressed by DNA methylation in visceral adipose tissue of mouse models of diabetes. *BMC Biol.* **2009**, *7*, 38. [\[CrossRef\]](#)
39. Zwamborn, R.A.J.; Sliker, R.C.; Mulder, P.C.A.; Zoetemelk, I.; Verschuren, L.; Suchiman, H.E.D.; Toet, K.H.; Droog, S.; Slagboom, P.E.; Kooistra, T.; et al. Prolonged high-fat diet induces gradual and fat depot-specific DNA methylation changes in adult mice. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 43261. [\[CrossRef\]](#)
40. Eberhardt, M.V.; Lee, C.Y.; Liu, R.H. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* **2000**, *405*, 903–904. [\[CrossRef\]](#)
41. Andriantsitohaina, R.; Auger, C.; Chataigneau, T.; Étienne-Selloum, N.; Li, H.; Martínez, M.C.; Schini-Kerth, V.B.; Laher, I. Molecular mechanisms of the cardiovascular protective effects of polyphenols. *Br. J. Nutr.* **2012**, *108*, 1532–1549. [\[CrossRef\]](#)
42. Vuolo, M.M.; Lima, V.S.; Maróstica Junior, M.R. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*; Woodhead Publishing: Sawston, UK, 2018; ISBN 9780128147757.
43. Yahfoufi, N.; Alsadi, N.; Jambi, M.; Matar, C. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients* **2018**, *10*, 1618. [\[CrossRef\]](#)
44. Santangelo, C.; Vari, R.; Scazzocchio, B.; Di Benedetto, R.; Filesi, C.; Masella, R. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann. Ist. Super. Sanita* **2007**, *43*, 394.
45. Kalupahana, N.S.; Moustaid-Moussa, N. The adipose tissue renin-angiotensin system and metabolic disorders: A review of molecular mechanisms. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2012**, *47*, 379–390. [\[CrossRef\]](#)
46. Dragan, S.; Andrica, F.; Serban, M.-C.; Timar, R. Polyphenols-Rich Natural Products for Treatment of Diabetes. *Curr. Med. Chem.* **2014**, *22*, 14–22. [\[CrossRef\]](#)
47. Mosele, J.I.; Macià, A.; Romero, M.P.; Motilva, M.J.; Rubió, L. Application of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds. *J. Funct. Foods* **2015**, *14*, 529–540. [\[CrossRef\]](#)
48. Meydani, M.; Hasan, S.T. Dietary polyphenols and obesity. *Nutrients* **2010**, *2*, 737–751. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Chan, C.Y.; Wei, L.; Castro-Muñozledo, F.; Koo, W.L. (–)-Epigallocatechin-3-gallate blocks 3T3-L1 adipose conversion by inhibition of cell proliferation and suppression of adipose phenotype expression. *Life Sci.* **2011**, *89*, 779–785. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Hwang, J.T.; Park, I.J.; Shin, J.I.; Lee, Y.K.; Lee, S.K.; Baik, H.W.; Ha, J.; Park, O.J. Genistein, EGCG, and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *338*, 694–699. [\[CrossRef\]](#)
51. Moon, H.S.; Chung, C.S.; Lee, H.G.; Kim, T.G.; Choi, Y.J.; Cho, C.S. Inhibitory effect of (–)-epigallocatechin-3-gallate on lipid accumulation of 3T3-L1 cells. *Obesity* **2007**, *15*, 2571–2582. [\[CrossRef\]](#)
52. Li, F.; Gao, C.; Yan, P.; Zhang, M.; Wang, Y.; Hu, Y.; Wu, X.; Wang, X.; Sheng, J. EGCG reduces obesity and white adipose tissue gain partly through AMPK activation in mice. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 1366. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Seo, M.J.; Lee, Y.J.; Hwang, J.H.; Kim, K.J.; Lee, B.Y. The inhibitory effects of quercetin on obesity and obesity-induced inflammation by regulation of MAPK signaling. *J. Nutr. Biochem.* **2015**, *26*, 1308–1316. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Forney, L.A.; Lenard, N.R.; Stewart, L.K.; Henagan, T.M. Dietary quercetin attenuates adipose tissue expansion and inflammation and alters adipocyte morphology in a tissue-specific manner. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 895. [\[CrossRef\]](#)
55. Nettore, I.C.; Rocca, C.; Mancino, G.; Albano, L.; Amelio, D.; Grande, F.; Puoci, F.; Pasqua, T.; Desiderio, S.; Mazza, R.; et al. Quercetin and its derivative Q2 modulate chromatin dynamics in adipogenesis and Q2 prevents obesity and metabolic disorders in rats. *J. Nutr. Biochem.* **2019**, *69*, 151–162. [\[CrossRef\]](#)
56. Leiherer, A.; Stoemmer, K.; Muendlein, A.; Saely, C.H.; Kinz, E.; Brandtner, E.M.; Fraunberger, P.; Drexel, H. Quercetin impacts expression of metabolism-and obesity-associated genes in SGBS adipocytes. *Nutrients* **2016**, *8*, 282. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

57. Chang, C.J.; Tzeng, T.F.; Liou, S.S.; Chang, Y.S.; Liu, I.M. Kaempferol regulates the lipid-profile in high-fat diet-fed rats through an increase in hepatic PPAR levels. *Planta Med.* **2011**, *77*, 1876–1882. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
58. Wang, T.; Wu, Q.; Zhao, T. Preventive Effects of Kaempferol on High-Fat Diet-Induced Obesity Complications in C57BL/6 Mice. *Biomed. Res. Int.* **2020**, *2020*, 4532482. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
59. Zang, Y.; Zhang, L.; Igarashi, K.; Yu, C. The anti-obesity and anti-diabetic effects of kaempferol glycosides from unripe soybean leaves in high-fat-diet mice. *Food Funct.* **2015**, *6*, 834–841. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
60. Lee, B.; Kwon, M.; Choi, J.S.; Jeong, H.O.; Chung, H.Y.; Kim, H.R. Kaempferol Isolated from *Nelumbo nucifera* Inhibits Lipid Accumulation and Increases Fatty Acid Oxidation Signaling in Adipocytes. *J. Med. Food* **2015**, *18*, 1363–1370. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
61. Torres-Villarreal, D.; Camacho, A.; Castro, H.; Ortiz-Lopez, R.; de la Garza, A.L. Anti-obesity effects of kaempferol by inhibiting adipogenesis and increasing lipolysis in 3T3-L1 cells. *J. Physiol. Biochem.* **2019**, *75*, 83–88. [\[CrossRef\]](#)
62. Jin, T.; Song, Z.; Weng, J.; Fantus, I.G. Curcumin and other dietary polyphenols: Potential mechanisms of metabolic actions and therapy for diabetes and obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2018**, *314*, E201–E205. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Lone, J.; Choi, J.H.; Kim, S.W.; Yun, J.W. Curcumin induces brown fat-like phenotype in 3T3-L1 and primary white adipocytes. *J. Nutr. Biochem.* **2016**, *27*, 193–202. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Wu, L.Y.; Chen, C.W.; Chen, L.K.; Chou, H.Y.; Chang, C.L.; Juan, C.C. Curcumin attenuates adipogenesis by inducing preadipocyte apoptosis and inhibiting adipocyte differentiation. *Nutrients* **2019**, *11*, 2307. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Gu, Q.; Cai, Y.; Huang, C.; Shi, Q.; Yang, H. Curcumin increases rat mesenchymal stem cell osteoblast differentiation but inhibits adipocyte differentiation. *Pharmacogn. Mag.* **2012**, *8*, 202–208.
66. Aguirre, L.; Fernández-Quintela, A.; Arias, N.; Portillo, M.P. Resveratrol: Anti-obesity mechanisms of action. *Molecules* **2014**, *19*, 18632–18655. [\[CrossRef\]](#)
67. Lagouge, M.; Argmann, C.; Gerhart-Hines, Z.; Meziane, H.; Lerin, C.; Daussin, F.; Messadeq, N.; Milne, J.; Lambert, P.; Elliott, P.; et al. Resveratrol Improves Mitochondrial Function and Protects against Metabolic Disease by Activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell* **2006**, *127*, 1109–1122. [\[CrossRef\]](#)
68. Chen, S.; Li, Z.; Li, W.; Shan, Z.; Zhu, W. Resveratrol inhibits cell differentiation in 3T3-L1 adipocytes via activation of AMPK. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2011**, *89*, 793–799. [\[PubMed\]](#)
69. Chen, S.; Xiao, X.; Feng, X.; Li, W.; Zhou, N.; Zheng, L.; Sun, Y.; Zhang, Z.; Zhu, W. Resveratrol induces Sirt1-dependent apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes by activating AMPK and suppressing AKT activity and survivin expression. *J. Nutr. Biochem.* **2012**, *23*, 1100–1112. [\[CrossRef\]](#)
70. Lasa, A.; Schweiger, M.; Kotzbeck, P.; Churrua, I.; Simón, E.; Zechner, R.; del Puy Portillo, M. Resveratrol regulates lipolysis via adipose triglyceride lipase. *J. Nutr. Biochem.* **2012**, *23*, 379–384. [\[CrossRef\]](#)
71. Cho, A.S.; Jeon, S.M.; Kim, M.J.; Yeo, J.; Seo, K.; Il; Choi, M.S.; Lee, M.K. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 937–943. [\[CrossRef\]](#)
72. Wang, Z.; Lam, K.L.; Hu, J.; Ge, S.; Zhou, A.; Zheng, B.; Zeng, S.; Lin, S. Chlorogenic acid alleviates obesity and modulates gut microbiota in high-fat-fed mice. *Food Sci. Nutr.* **2019**, *7*, 579–588. [\[CrossRef\]](#)
73. Ong, K.W.; Hsu, A.; Tan, B.K.H. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85*, 1341–1351. [\[CrossRef\]](#)
74. Santos, R.M.M.; Lima, D.R.A. Coffee consumption, obesity and type 2 diabetes: A mini-review. *Eur. J. Nutr.* **2016**, *55*, 1345–1358. [\[CrossRef\]](#)
75. Nordestgaard, A.T.; Thomsen, M.; Nordestgaard, B.G. Coffee intake and risk of obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes: A Mendelian randomization study. *Int. J. Epidemiol.* **2015**, *44*, 551–565. [\[CrossRef\]](#)
76. Koyama, T.; Maekawa, M.; Ozaki, E.; Kuriyama, N.; Uehara, R. Daily consumption of coffee and eating bread at breakfast time is associated with lower visceral adipose tissue and with lower prevalence of both visceral obesity and metabolic syndrome in Japanese populations: A cross-sectional study. *Nutrients* **2020**, *12*, 3090. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Haidari, F.; Samadi, M.; Mohammadshahi, M.; Jalali, M.T.; Engali, K.A. Energy restriction combined with green coffee bean extract affects serum adipocytokines and the body composition in obese women. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2017**, *26*, 1048–1054.
78. Zhang, H.F.; Wang, Y.L.; Gao, C.; Gu, Y.T.; Huang, J.; Wang, J.H.; Wang, J.H.; Zhang, Z. Salvianolic acid A attenuates kidney injury and inflammation by inhibiting NF- κ B and p38 MAPK signaling pathways in 5/6 nephrectomized rats. *Acta Pharmacol. Sin.* **2018**, *39*, 1855–1864. [\[CrossRef\]](#)
79. Ding, C.; Zhao, Y.; Shi, X.; Zhang, N.; Zu, G.; Li, Z.; Zhou, J.; Gao, D.; Lv, L.; Tian, X.; et al. New insights into salvianolic acid A action: Regulation of the TXNIP/NLRP3 and TXNIP/ChREBP pathways ameliorates HFD-induced NAFLD in rats. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 28743. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
80. Lai, J.; Qian, Q.; Ding, Q.; Zhou, L.; Fu, A.; Du, Z.; Wang, C.; Song, Z.; Li, S.; Dou, X. Activation of AMP-Activated Protein Kinase-Sirtuin 1 Pathway Contributes to Salvianolic Acid A-Induced Browning of White Adipose Tissue in High-Fat Diet Fed Male Mice. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 1361. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
81. Yang, Z.; Chen, Y.; Yan, Z.; Xu, T.T.; Wu, X.; Pi, A.; Liu, Q.; Chai, H.; Li, S.; Dou, X. Inhibition of TLR4/MAPKs Pathway Contributes to the Protection of Salvianolic Acid A Against Lipotoxicity-Induced Myocardial Damage in Cardiomyocytes and Obese Mice. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 76.

82. Luna-Vital, D.; Luzardo-Ocampo, I.; Cuellar-Núñez, M.L.; Loarca-Piña, G.; Gonzalez de Mejia, E. Maize extract rich in ferulic acid and anthocyanins prevents high-fat-induced obesity in mice by modulating SIRT1, AMPK and IL-6 associated metabolic and inflammatory pathways. *J. Nutr. Biochem.* **2020**, *12*, 1361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Kuppasamy, P.; Ilavenil, S.; Hwang, I.H.; Kim, D.; Choi, K.C. Ferulic acid stimulates adipocyte-specific secretory proteins to regulate adipose homeostasis in 3T3-L1 adipocytes. *Molecules* **2021**, *26*, 1984. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Chavanelle, V.; Otero, Y.F.; Le Joubioux, F.; Ripoche, D.; Bargetto, M.; Vluggens, A.; Montaurier, C.; Pickering, G.; Ducheix, G.; Dubray, C.; et al. Effects of Totum-63 on glucose homeostasis and postprandial glycemia: A translational study. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2021**, *320*, E1119–E1137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Dupuit, M.; Chavanelle, V.; Chassaing, B.; Perriere, F.; Etienne, M.; Plissonneau, C.; Boscaro, A.; Barnich, N.; Pialoux, V.; Maugard, T.; et al. The totum-63 supplement and high-intensity interval training combination limits weight gain, improves glycemic control, and influences the composition of gut mucosa-associated bacteria in rats on a high fat diet. *Nutrients* **2021**, *13*, 1569. [[CrossRef](#)]
86. Van der Zande, H.J.P.; Lambooi, J.M.; Chavanelle, V.; Zawistowska-Deniziak, A.; Otero, Y.; Otto, F.; Lantier, L.; McGuinness, O.P.; Le Joubioux, F.; Giera, M.; et al. Effects of a novel polyphenol-rich plant extract on body composition, inflammation, insulin sensitivity, and glucose homeostasis in obese mice. *Int. J. Obes.* **2021**. [[CrossRef](#)]
87. Muhlhausler, B.; Smith, S.R. Early-life origins of metabolic dysfunction: Role of the adipocyte. *Trends Endocrinol. Metab.* **2009**, *20*, 51–57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Murabayashi, N.; Sugiyama, T.; Zhang, L.; Kamimoto, Y.; Umekawa, T.; Ma, N.; Sagawa, N. Maternal high-fat diets cause insulin resistance through inflammatory changes in fetal adipose tissue. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2013**, *169*, 39–44. [[CrossRef](#)]
89. Lecoutre, S.; Breton, C. The cellularity of offspring's adipose tissue is programmed by maternal nutritional manipulations. *Adipocyte* **2014**, *3*, 256–262. [[CrossRef](#)]
90. Challier, J.C.; Basu, S.; Bintein, T.; Minium, J.; Hotmire, K.; Catalano, P.M.; Hauguel-de Mouzon, S. Obesity in Pregnancy Stimulates Macrophage Accumulation and Inflammation in the Placenta. *Placenta* **2008**, *29*, 274–281. [[CrossRef](#)]
91. Denison, F.C.; Roberts, K.A.; Barr, S.M.; Norman, J.E. Obesity, pregnancy, inflammation, and vascular function. *Reproduction* **2010**, *140*, 373–385. [[CrossRef](#)]
92. Kataoka, S.; Norikura, T.; Sato, S. Maternal green tea polyphenol intake during lactation attenuates kidney injury in high-fat-diet-fed male offspring programmed by maternal protein restriction in rats. *J. Nutr. Biochem.* **2018**, *56*, 99–108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Yang, P.; Li, H. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates hyperglycemia-induced embryonic vasculopathy and malformation by inhibition of Foxo3a activation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2010**, *203*, 75.e1–75.e6. [[CrossRef](#)]
94. Bonacasa, B.; Siow, R.C.M.; Mann, G.E. Impact of Dietary Soy Isoflavones in Pregnancy on Fetal Programming of Endothelial Function in Offspring. *Microcirculation* **2011**, *18*, 270–285. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Zhang, H.; Su, S.; Yu, X.; Li, Y. Dietary epigallocatechin 3-gallate supplement improves maternal and neonatal treatment outcome of gestational diabetes mellitus: A double-blind randomised controlled trial. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2017**, *30*, 753–758. [[CrossRef](#)]
96. Tain, Y.L.; Hsu, C.N. Developmental programming of the metabolic syndrome: Can we reprogram with resveratrol? *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 2584. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Sheen, J.M.; Yu, H.R.; Tain, Y.L.; Tsai, W.L.; Tiao, M.M.; Lin, I.C.; Tsai, C.C.; Lin, Y.J.; Huang, L.T. Combined maternal and postnatal high-fat diet leads to metabolic syndrome and is effectively reversed by resveratrol: A multiple-organ study. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 5607. [[CrossRef](#)]
98. De Brito Oliveira, A.L.; Monteiro, V.V.S.; Navegantes-Lima, K.C.; Reis, J.F.; de Souza Gomes, R.; Rodrigues, D.V.S.; de França Gaspar, S.L.; Monteiro, M.C. Resveratrol role in autoimmune disease—A mini-review. *Nutrients* **2017**, *9*, 1306. [[CrossRef](#)]
99. Truong, V.L.; Jun, M.; Jeong, W.S. Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress. *BioFactors* **2018**, *44*, 36–49. [[CrossRef](#)]
100. Kim, O.Y.; Chung, J.Y.; Song, J. Effect of resveratrol on adipokines and myokines involved in fat browning: Perspectives in healthy weight against obesity. *Pharmacol. Res.* **2019**, *148*, 104411. [[CrossRef](#)]
101. Jeon, B.T.; Jeong, E.A.; Shin, H.J.; Lee, Y.; Lee, D.H.; Kim, H.J.; Kang, S.S.; Cho, G.J.; Choi, W.S.; Roh, G.S. Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes* **2012**, *61*, 1444–1454. [[CrossRef](#)]
102. Zou, T.; Chen, D.; Yang, Q.; Wang, B.; Zhu, M.J.; Nathanielsz, P.W.; Du, M. Resveratrol supplementation of high-fat diet-fed pregnant mice promotes brown and beige adipocyte development and prevents obesity in male offspring. *J. Physiol.* **2017**, *595*, 1547–1562. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Hsu, M.H.; Sheen, J.M.; Lin, I.C.; Yu, H.R.; Tiao, M.M.; Tain, Y.L.; Huang, L.T. Effects of maternal resveratrol on maternal high-fat diet/obesity with or without postnatal high-fat diet. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 3428. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
104. Liu, T.Y.; Yu, H.R.; Tsai, C.C.; Huang, L.T.; Chen, C.C.; Sheen, J.M.; Tiao, M.M.; Tain, Y.L.; Lin, I.C.; Lai, Y.J.; et al. Resveratrol intake during pregnancy and lactation re-programs adiposity and ameliorates leptin resistance in male progeny induced by maternal high-fat/high sucrose plus postnatal high-fat/high sucrose diets via fat metabolism regulation. *Lipids Health Dis.* **2020**, *19*, 174. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

-
105. Brawerman, G.M.; Kereliuk, S.M.; Brar, N.; Cole, L.K.; Seshadri, N.; Pereira, T.J.; Xiang, B.; Hunt, K.L.; Fonseca, M.A.; Hatch, G.M.; et al. Maternal resveratrol administration protects against gestational diabetes-induced glucose intolerance and islet dysfunction in the rat offspring. *J. Physiol.* **2019**, *597*, 4175–4192. [[CrossRef](#)]
 106. Roberts, V.H.J.; Pound, L.D.; Thorn, S.R.; Gillingham, M.B.; Thornburg, K.L.; Friedman, J.E.; Frias, A.E.; Grove, K.L. Beneficial and cautionary outcomes of resveratrol supplementation in pregnant nonhuman primates. *FASEB J.* **2014**, *28*, 2466–2477. [[CrossRef](#)]