

## INVESTIGAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE A MORFOLOGIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA COM O PERFIL LIPÍDICO DO LEITE MATERNO E GANHO DE PESO DA PROLE

Autores/as:

MAIARA DE JESUS DA SILVA, (FCA)  
MAYARA BAQUEIRO DA NÓBREGA, (FCA)  
Profª. Drª. ADRIANA SOUZA TORSONI, (FCA)

### INTRODUÇÃO:

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a obesidade pode ser definida como uma doença crônica, ocasionada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, que pode em algum momento prejudicar a saúde do indivíduo. De caráter multifatorial é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de outras doenças potencialmente fatais e sua prevalência global nos últimos anos vêm apresentando um aumento alarmante em todos os ciclos de vida, principalmente em mulheres em idade reprodutiva. Atualmente, o quadro de sobrepeso e obesidade materna demonstra-se preocupante, uma vez que nos últimos anos a literatura científica vêm evidenciando com mais clareza mecanismos associados à predisposição do desenvolvimento de doenças metabólicas entre progenitores e seus descendentes (HORTA, et al., 2019; LEGHI et al., 2020; CHEN et al. 2017).

O leite materno é um fluido biológico produzido pelas glândulas mamárias de mamíferos para conferir nutrição a seus filhos e possibilitar o desenvolvimento de seus sistemas fisiológicos (ANDREAS et al., 2015). No início da vida, o leite é a única fonte de nutrição para o recém-nascido lactente, portanto a composição deste alimento, bem como todo o processo da lactação, demonstra ser um fator crucial para o desenvolvimento de alterações metabólicas e os desfechos vitais do recém-nascido (CHEN et al. 2017).

A glândula mamária é o principal órgão exócrino responsável pelo aleitamento. Em humanos, seu desenvolvimento se inicia no útero, porém a maior parte do seu desenvolvimento só ocorre durante a

puberdade e gravidez (HANNAN et al., 2023). A glândula mamária se desenvolve em um leito de tecido adiposo branco. A relação entre os tecidos da glândula mamária e o tecido adiposo se amplia, em um contexto diferente, até o período da lactação, onde os triglicerídeos do tecido adiposo são mobilizados para fornecer ácidos graxos para a síntese de lipídios do leite (DAVID et al., 2005; FLINT et al., 1998). No entanto, o uso excessivo de ácidos graxos de cadeia longa do tecido adiposo em ratos com obesidade leva a um aumento no teor de ácidos graxos totais e saturados do leite (DAVID et al., 2005; ROLLS, 1986).

Nos últimos anos vários estudos observaram que a obesidade, somada ao consumo de dietas obesogênicas, possui efeitos diversos sob a lactogênese, sobretudo no que diz respeito a alterações no desenvolvimento e funcionamento da glândula mamária lactante, com consequências a longo prazo para a mãe e seus descendentes (DAVID et al., 2005; IVAN et al, 2022). O aumento do índice de massa corporal (IMC) materna correlaciona-se com a dificuldade de estabelecer uma prática de amamentação bem-sucedida, atraso no início da produção abundante de leite ao lactante e uma duração mais curta da lactação (CHAPMAN et al, 1999; HILSON et al., 2004; NOMMSEN-RIVERS et al., 2010).

Assim, tendo em vista a hipótese de que o consumo materno de uma dieta rica em gordura e uma dieta rica em sacarose pode resultar em hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos das glândulas mamárias, e assim também afetar o perfil lipídico do leite, o objetivo geral do presente projeto foi investigar a relação entre o número de adipócitos na

glândula mamária materna com alterações negativas no perfil lipidômico do leite e sua influência em parâmetros metabólicos na prole de mães alimentadas com dieta controle (CT), rica em sacarose (HS) ou hiperlipídica (HF).

## METODOLOGIA:

### 1. *Animais Experimentais:*

Todos os procedimentos passaram por aprovação prévia do Comitê de Ética em pesquisa animal (CEUA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) sob Protocolo nº 5639-1/2020.

Foram utilizados camundongos *Mus musculus* da linhagem C57/BL6 com 5 semanas de idade, provenientes do Centro de Bioterismo da UNICAMP (CEMIB). Os animais foram alojados em grupos de até 4 animais por caixa, dispostos em estantes ventiladas sob ambiente com termoneutralidade constante ( $22 \pm 1$  °C) e ciclos de 12 horas claro (06:00 am. às 18:00 pm.) e 12 horas escuro (18:00 pm às 6:00 am.), com livre acesso à alimentação e água.

Com 5 semanas de vida, as fêmeas foram divididas aleatoriamente em três grupos: fêmeas alimentadas com dieta controle (CT) (Research Diet D12450J), dieta rica em sacarose (HS) (Research Diet D12450B) e fêmeas alimentadas com dieta hiperlipídica (HF) (Research Diet D12451, New Brunswick, NJ) para indução da obesidade materna (Tabela 1). Os machos foram alimentados com dieta controle. Após 8 semanas de adaptação com as respectivas dietas ocorreu o acasalamento. A mesma dieta da adaptação foi mantida durante a gestação e lactação.

Após o nascimento da prole houve o pareamento dos filhotes, sendo estabelecido 6 filhotes por ninhada (3 fêmeas e 3 machos), os quais permaneceram com suas respectivas mães durante a lactação. Durante todo o período experimental, o peso corporal das mães e filhotes foi aferido semanalmente.

**Tabela 1.** Composição da dieta controle (Research Diet D12450J), dieta rica em sacarose (Research Diet D12450B) e hiperlipídica (Research Diet D12451).

	CONTROLE	RICA EM SACAROSE	HIPERLIPÍDICA
Carboidratos (%)	69	70	35
Proteínas (%)	20	20	20
Gorduras (%)	10	10	45
Densidade energética (kcal/g)	3,82	3,82	4,7

**Fonte Proteica:** caseína e L-cistina. **Carboidratos:** sacarose (CT= 7% sacarose, HS= 35% sacarose, HF= 17% sacarose), amido de milho e maltodextrina. **Lipídios:** óleo de soja e banha de porco.

### 2. *Coleta de Leite e Lipidômica:*

O leite foi coletado das fêmeas no 12º e 16º dia de lactação. As mães e seus filhotes foram separados por 2 a 4 horas. Após este período, foi administrada ocitocina (4UI/kg, ip) e, em seguida, as fêmeas foram anestesiadas com anestésico inalatório isoflurano. A área dos mamilos foi umedecida com água esterilizada e o leite foi coletado por meio da ordenha manual. O leite do dia 12 foi coletado e congelado para análise de lipidômica, em que 20 µL de amostra (n=6/grupo) foram usadas para extração de lipídios. O perfil de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM) foi realizado usando espectrometria de massa. Os dados foram divididos em três categorias de lipídios: (1) CE (éster de colesterol), CER (ceramidas), DG (diglicerídeos), PC (fosfatidilcolina), PE (fosfatidiletanolamina), PG (fosfatidilglicerol), PI (fosfatidilinositol), PS (fosfatidilserina), SM (esfingomielina); (2) Triglicerídeos (TG); e (3) Ácidos Graxos Livres (AG).

### 3. *Ingestão de leite da prole:*

Após o nascimento, nos dias 4, 8, 12, 16 e 20, os animais foram submetidos ao regime de “peso-sucção-peso”, no qual os filhotes foram removidos de suas mães por 4 horas às 8:00am horas e pesados antes de voltar para as mães às 12:00 horas para amamentar por 60 minutos. Os filhotes foram pesados novamente para estimar a ingestão de leite.

### 4. *Eutanásia e coleta de tecidos:*

Para eutanásia todos os animais foram mantidos em jejum noturno de 12 horas. As mães e os filhotes foram eutanasiados por meio da administração de anestesia (Quetamina de Sódio, Xilazina). Foram coletados os tecidos adiposos epigonadal e retroperitoneal para cálculo de adiposidade e glândula mamária materna para análise histológica.

### 5. *Análise Histológica:*

A glândula mamária foi coletada nos períodos gestacional e pós-lactação. Após a coleta, o tecido foi mantido em solução de formol 10% por 48 horas, seguido pelo armazenamento em álcool 70%. As glândulas foram parafinadas e cortes de 10µm foram realizados em micrótomo. Posteriormente, as células foram coradas em HE (hematoxilina-eosina) para a avaliação histológica do tecido e morfometria.

#### 6. **Análise de expressão gênica (rtPCR):**

A glândula mamária coletada foi utilizada para analisar a expressão gênica de *Acaca* (Acetil-CoA carboxilase alfa); *Fasn* (Sintase de ácidos graxos), *Scd1* (Ácido graxo dessaturase 1), *Elovl6* (Elongase 6), *Il1b* (Interleucina 1 beta) por meio da PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR). Foi realizada a extração dos mRNA utilizando o reagente TRIzol (Life Technologies) de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante. A quantificação de RNA total foi efetuada utilizando o equipamento NanoDrop ND-2000 (Thermo Electron, WI, EUA). A transcrição reversa foi realizada com 3 µg de RNA e High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific). Para a expressão gênica, foi empregado o sistema de detecção TaqMan, juntamente com primers específicos para os genes-alvo. O gene *Rplp0* foi utilizado como controle endógeno. A expressão gênica foi avaliada por meio de PCR quantitativo em tempo real em amostras com 20ng de DNA complementar (cDNA) na plataforma ABI Prism 7500 Fast. Os dados foram expressos em valores relativos, determinados pelo método de comparação do threshold cycle ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ), conforme as recomendações do fabricante.

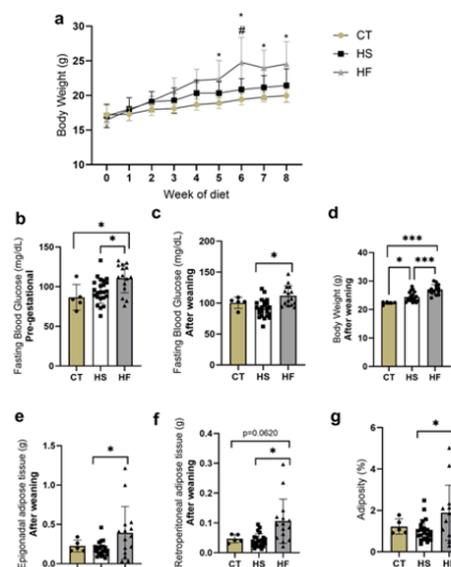
**7. Análise estatística:** Para as análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad Prism 9.0 (La Jolla, CA). A Análise de Componentes Principais (PCA) foi avaliada usando PERMANOVA. Os dados foram verificados quanto à aderência à normalidade, por meio do teste Shapiro-Wilk, e quanto à igualdade das variâncias, pelo teste de Levene. Para os dados com distribuição normal e homoscedasticidade, foi realizado o teste T de Student não pareado ou teste One-Way Anova

seguido do pós-teste Bonferroni. Para os dados sem distribuição normal e/ou sem igualdade de variâncias, foi realizado o teste de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn. Para avaliação da correlação entre as variáveis foi aplicada a Correlação de Pearson. Os resultados serão apresentados em Média  $\pm$  Erro Padrão da Média, com nível de significância estabelecido em 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Durante o período de adaptação, foi observado que as fêmeas expostas à dieta HF apresentaram aumento do peso corporal a partir da 5ª semana de exposição à dieta, quando comparadas às fêmeas HS e CT (Figura 1a).

No período pré-gestacional, foi observado um aumento na glicemia das fêmeas HF, quando comparado ao grupo CT e HS. No período pós-lactação, os dados de peso corporal, glicemia de jejum e adiposidade foram maiores no grupo HF, apenas quando comparado ao HS (Figura 1b-g).



**Figura 1.** Análise dos parâmetros murinométricos de fêmeas alimentadas com dieta CT, HS ou HF nos períodos pré-gestacional e pós-desmame. (a) peso corporal ao longo do período de adaptação dietética, (b) Glicemia em jejum no período pré-gestacional (mg/dL), (c) Glicemia em jejum no período pós-desmame (mg/dL), (d) Peso corporal no período pós-desmame (gramas), (e) Tecido adiposo epigonal (gramas), (f) Tecido adiposo retroperitoneal (gramas), (g) Adiposidade (%). n=5-23/grupo. *One-way Anova* ou *Two-way Anova* foram empregados para comparação entre os grupos, seguido por teste de Bonferroni. \*  $p \leq 0,05$ . \*\*\*  $p \leq 0,0001$ .

Por meio da análise histológica no período gestacional (e19), foi observado que fêmeas expostas à dieta HF apresentaram

aumento na área de adipócitos no tecido glandular mamário, quando comparadas à fêmeas do grupo HS, além de uma tendência de aumento na área de adipócitos da glândula mamária em comparação ao grupo CT (Figura 2a, b).

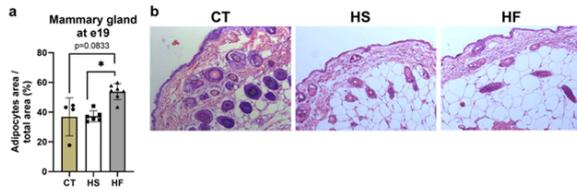


Figura 2. Análise da histologia da área de adipócitos da glândula mamária de fêmeas CT, HS e HF. (a) Quantificação da área de adipócitos no tecido mamário de fêmeas no 19º dia de gestação. (b) Cortes histológicos representativos do tecido mamário de fêmeas no 19º dia de gestação. n=4-23/grupo. One-way Anova foi empregado para comparação entre os grupos, seguido por teste de Bonferroni. \* p ≤ 0,05.

Através da análise de PCA do leite materno, foi observada uma segregação entre os grupos CT e HS, em relação ao grupo HF para as categorias 1 e 2, de derivados de lipídios (Figura 3a) e triglicerídeos (Figura 3b). No entanto, não foi observada nenhum tipo de segregação entre os grupos quando aos ácidos graxos. O leite de fêmeas HF apresentou aumento na proporção de triglicerídeos poliinsaturados e redução de saturados e monoinsaturados, quando comparado ao grupo CT e HS (Tabela 2).

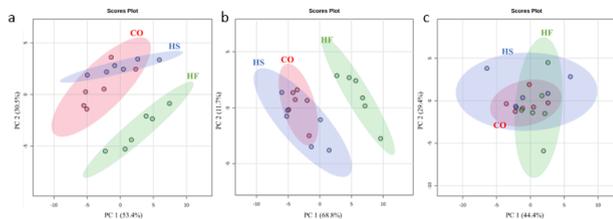


Figura 3. Análise PCA referente aos principais componentes lipídicos do leite materno de fêmeas CT, HS e HF. (a) Análise de lipídios: acilcartinanas, ceramidas, diacilglicerol, fosfatidilcolina, etanolamina, glicerol, inositol, serina e esfingomiélna (CE, CER, DG, PC, PE, PG, PI, PS, e SM respectivamente). (b) Análise de triglicerídeos e (c) Análise de ácidos graxos livres. n=6/grupo

Foi realizada a análise da expressão gênica (RT-PCR) de genes envolvidos com o metabolismo de lipídios e com a inflamação na glândula mamária nas fêmeas CT, HS e HF (*Acaca*, *Acadm*, *Acavl*, *Agpat*, *Elovl6*, *Fads1*, *Fads2*, *IL1b* e *Srebf1*). A expressão gênica de *Il1b* esteve aumentada em fêmeas HF em comparação com o grupo CT, sugerindo maior inflamação glandular. Ademais, em HF também foi observada uma tendência ao aumento de *Acadvl*, quando comparado com CT e HS (Figura 5a-j), sugerindo maior fornecimento de

energia proveniente da oxidação de ácidos graxos de cadeia longa (PENG *et al.*, 2022).

Tabela 2. Número de carbonos dos triglicerídeos presentes no leite de fêmeas CT, HF e HS.

Trait, %	CT	HS	HF	SEM	FDR
Carbon number					
37	0.0002 <sup>a</sup>	0.0002 <sup>a</sup>	0.0001 <sup>b</sup>	0.00002	0.022
38	0.0513 <sup>a</sup>	0.0456 <sup>a</sup>	0.0194 <sup>b</sup>	0.00378	<0.001
39	0.0004 <sup>a</sup>	0.0006 <sup>a</sup>	0.0003 <sup>b</sup>	0.00004	0.007
40	0.0956 <sup>a</sup>	0.0880 <sup>a</sup>	0.0397 <sup>b</sup>	0.00674	<0.001
41	0.0010 <sup>a</sup>	0.0013 <sup>a</sup>	0.0006 <sup>b</sup>	0.00010	0.008
42	0.1369 <sup>a</sup>	0.1294 <sup>a</sup>	0.0651 <sup>b</sup>	0.00862	<0.001
43	0.0015 <sup>a</sup>	0.0018 <sup>a</sup>	0.0010 <sup>b</sup>	0.00010	0.006
44	0.1583 <sup>a</sup>	0.1524 <sup>a</sup>	0.1035 <sup>b</sup>	0.00730	0.001
45	0.0019	0.0022	0.0014	0.00014	0.056
46	0.1318 <sup>a</sup>	0.1271 <sup>a</sup>	0.1039 <sup>b</sup>	0.00442	0.022
47	0.0023 <sup>a</sup>	0.0030 <sup>a</sup>	0.0014 <sup>b</sup>	0.00018	<0.001
48	0.0578	0.0560	0.0582	0.00155	0.850
49	0.0603	0.0597	0.0485	0.00280	0.177
50	0.0288 <sup>a</sup>	0.0304 <sup>a</sup>	0.0353 <sup>b</sup>	0.00099	0.018
51	0.0778 <sup>a</sup>	0.0787 <sup>a</sup>	0.1069 <sup>b</sup>	0.00416	0.002
52	0.0199 <sup>a</sup>	0.0230 <sup>a</sup>	0.0345 <sup>b</sup>	0.00186	0.001
53	0.1023 <sup>a</sup>	0.1147 <sup>a</sup>	0.2311 <sup>b</sup>	0.01668	<0.001
54	0.0140 <sup>a</sup>	0.0168 <sup>a</sup>	0.0319 <sup>b</sup>	0.00222	<0.001
55	0.0411 <sup>a</sup>	0.0458 <sup>a</sup>	0.0940 <sup>b</sup>	0.00697	<0.001
56	0.0048	0.0066	0.0079	0.00058	0.106
57	0.0075	0.0098	0.0106	0.00083	0.314
58	0.0022	0.0033	0.0027	0.00028	0.315
59	0.0018	0.0027	0.0018	0.00022	0.197
60	0.0001	0.0002	0.0001	0.00002	0.095
61	0.0003	0.0004	0.0002	0.00004	0.104
62	0.0001	0.0002	0.0001	0.00002	0.106

SEM = média e desvio padrão, FDR = método de diferença estatística. \*Diferentes letras indicam diferenças entre os grupos (a/b).

Tabela 3. Número insaturações dos triglicerídeos presentes no leite de fêmeas CT, HF e HS.

Trait, %	CT	HS	HF	SEM	FDR
Unsaturation number					
0	0.2349 <sup>a</sup>	0.2405 <sup>a</sup>	0.0924 <sup>b</sup>	0.01813	<0.001
1	0.2204 <sup>a</sup>	0.1953 <sup>a</sup>	0.1370 <sup>b</sup>	0.01018	<0.001
2	0.1313	0.1203	0.1103	0.00387	0.106
3	0.0537 <sup>b</sup>	0.0516 <sup>b</sup>	0.0620 <sup>a</sup>	0.00164	0.022
4	0.0270 <sup>b</sup>	0.0281 <sup>b</sup>	0.0410 <sup>a</sup>	0.00169	<0.001
5	0.0141 <sup>b</sup>	0.0164 <sup>b</sup>	0.0298 <sup>a</sup>	0.00190	<0.001
6	0.0108	0.0138	0.0139	0.00076	0.188
7	0.0247	0.0303	0.0240	0.00132	0.121
8	0.0973 <sup>b</sup>	0.0970 <sup>b</sup>	0.1228 <sup>a</sup>	0.00377	0.002
9	0.1051 <sup>b</sup>	0.1156 <sup>b</sup>	0.1869 <sup>a</sup>	0.01098	0.001
10	0.0591 <sup>b</sup>	0.0662 <sup>b</sup>	0.1296 <sup>a</sup>	0.00904	<0.001
11	0.0185 <sup>b</sup>	0.0205 <sup>b</sup>	0.0456 <sup>a</sup>	0.00345	<0.001
12	0.0024	0.0034	0.0040	0.00032	0.136
13	0.0003	0.0005	0.0004	0.00004	0.305
14	0.0001	0.0002	0.0001	0.00002	0.104
15	0.0001	0.0002	0.0001	0.00002	0.095
16	0.0001	0.0002	0.0001	0.00002	0.106

SEM = média e desvio padrão, FDR = método de diferença estatística. \*Diferentes letras indicam diferenças entre os grupos (a/b).

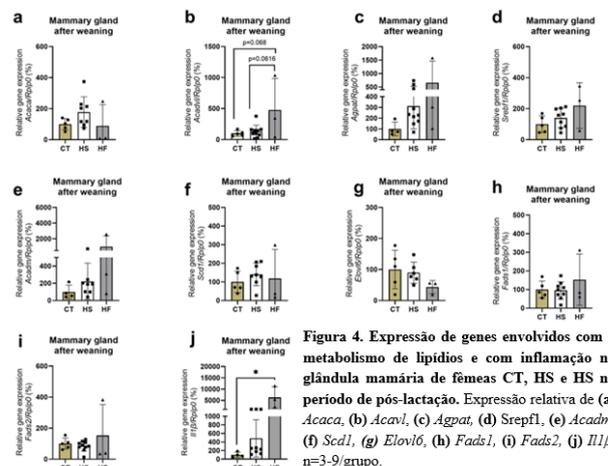
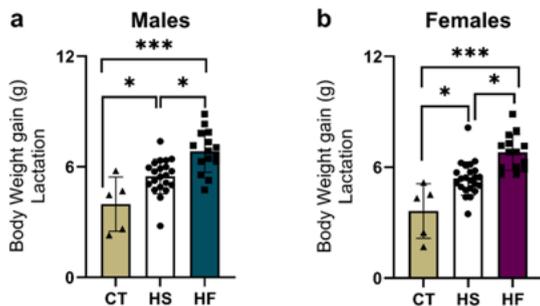


Figura 4. Expressão de genes envolvidos com o metabolismo de lipídios e com inflamação na glândula mamária de fêmeas CT, HS e HS no período de pós-lactação. Expressão relativa de (a) *Acaca*, (b) *Acavl*, (c) *Agpat*, (d) *Srebf1*, (e) *Acadm*, (f) *Scd1*, (g) *Elovl6*, (h) *Fads1*, (i) *Fads2*, (j) *Il1b*. n=3-9/grupo.

One-way Anova foi empregado para comparação entre os grupos, seguido por teste de Bonferroni. \* p ≤ 0,05.

Durante o período final da lactação, o ganho de peso da prole macho e fêmea foi

maior no grupo HF, em comparação aos descendentes de mães CT e HS. A prole de mães HS apresentou maior ganho de peso quando comparada com a prole CT (Figura 6 a-b).



**Figura 6. Ganho de peso da prole ao longo do período da lactação.** (a) Ganho de peso total de machos (gramas) e (b) fêmeas.  $n=5-24/\text{grupo}$ . *One-way Anova* foi empregado para comparação entre os grupos, seguido por teste de Bonferroni. \*  $p \leq 0.05$ . \*\*\*  $p \leq 0.0001$ .

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, concluímos que as dietas HS e HF foram capazes de impactar negativamente os parâmetros murinométricos das fêmeas durante o período da gestação e lactação. Além disso, essas dietas afetaram a composição do leite materno, contribuindo com o aumento de peso da prole e na programação obesogênica dos descendentes.

## BIBLIOGRAFIA

ANDREAS, N.J.; KAMPMANN, B.; LE-DOARE, K.M. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. **Early Hum.**, v.91, p. 629–635. Dev. 2015.

CHEN, Y., et al. Effect of high-fat diet on secreted milk transcriptome in midlactation mice. **Physiol Genomics**, v. 49, p. 747–762, 2017.

Cunha GR, Young P, Hom YK, Cooke PS, Taylor JA, and Lubahn DB. Elucidation of a role for stromal steroid hormone receptors in mammary gland growth and development using tissue recombinants. **J Mammary Gland Biol Neoplasia** 2: 393–402, 1997.

DESAI, M; HAN, G; ROSS, M.G. Programmed hyperphagia in offspring of obese dams: Altered expression of hypothalamic nutrient sensors, neurogenic factors and epigenetic modulators. **Appetite**, v.99, p.193-9, 2016.

ELLSWORTH, L., et al. Impact of maternal overweight and obesity on milk composition and infant growth. **Maternal & child nutrition**, v. 16, n. 3, 2020.

FANTE, T; et al. Diet-Induced Maternal Obesity Alters Insulin Signalling in Male Mice Offspring Rechallenged with a High-Fat Diet in Adulthood. **Plos one**, v. 11, n. 8, Aug. 2016.

Flint, DJ and Vernon RG. Effects of food restriction on the responses of the mammary gland and adipose tissue to prolactin and growth hormone in the lactating rat. **J Endocrinol** 156: 299–305, 2005

GEORGE, G; et al. Exposure to maternal obesity during suckling outweighs in útero exposure in programming for postweaning adiposity and insulin resistance in rats. **Scientific Reports**, v.9, July 2019.

HORTA, B.L., et al. Maternal anthropometry: trends and inequalities in four population-based birth cohorts in Pelotas, Brazil, 1982–2015. **International Journal of Epidemiology**, p.26–36, 2019.

KRUSE, M, et al. High-fat intake during pregnancy and lactation exacerbates high-fat diet-induced complications in male offspring in mice. **Endocrinology**, v. 154, p. 3565–3576, Oct. 2013.

HANNAN, Fadil M; TAHA ELAJNAF; VANDENBERG, Laura N; et al. Hormonal regulation of mammary gland development and lactation. **Nature reviews endocrinology**. v. 19, n. 1, p. 46–61, 2022.

LEGHI, G.E., et al. The impact of maternal obesity on human milk macronutrient composition: A systematic review and meta-analysis. **Nutrients**. v. 12, n. 4, p. 934, 2020.

LEMES, S. F. Maternal Consumption of High-fat Diet in Mice Alters Hypothalamic Notch Pathway, NPY Cell Population and Food Intake in Offspring. **Neuroscience**, v.371, p.1–15, 2018.

Luzardo-Ocampo I, Dena-Beltrán JL, Ruiz-Herrera X, Ocampo-Ruiz AL, Martínez de la Escalera G, Clapp C, Macotela Y. Obesity-derived alterations in the lactating mammary gland: Focus on prolactin. **Mol Cell Endocrinol**. v. 1, 2023,

MATSUNAGA, Kota; YUSAKU TSUGAMI; KUMAI, Aogu; et al. IL-1 $\beta$  directly inhibits milk lipid production in lactating mammary epithelial cells concurrently with enlargement of cytoplasmic lipid droplets. **Experimental Cell Research**, v. 370, n. 2, p. 365–372, 2018. Disponível em:

<[https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001448271830380X#:~:text=Mammary%20epithelial%20cells%20\(MECs\)%20in,in%20mammary%20glands%20with%20mastitis](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001448271830380X#:~:text=Mammary%20epithelial%20cells%20(MECs)%20in,in%20mammary%20glands%20with%20mastitis)>. Acesso em: 1 ago. 2024.

NERI, Caterina; EDLOW, Andrea G. Effects of maternal obesity on fetal programming: molecular approaches. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 2, 2016.

**ORGANIZATION, World Health**. Obesity and overweight. Peng P, Liu Y, Zheng W, Han B, Wang K, Sun D. Identification of Genetic Effects of ACADVL and IRF6 Genes with Milk Production Traits of Holstein Cattle in China. **Genes**. 2022; 13(12):2393. <https://doi.org/10.3390/genes13122393>

PRENTICE P., et al. Breast milk nutrient content and infancy growth. **Acta Paediatr**, v.106, n.6, p 641-647, Jun. 2016.

PRIEGO, T., et al. Maternal dietary fat affects milk fatty acid profile and impacts on weight gain and thermogenic capacity of suckling rats. **Lipids**, v. 48, n. 5, p. 481-495, 2013.

Rolls BA, Gurr MI, van Duijvenvoorde PM, Rolls BJ, and Rowe EA. Lactation in lean and obese rats: effect of cafeteria feeding and of dietary obesity on milk composition. **Physiol Behav** 38: 185–190, 1986.

SADOVNIKOVA, Anna; SÉRGIO BRITTO GARCIA ; HOVEY, Russell C. A Comparative Review of the Cell Biology, Biochemistry, and Genetics of Lactose Synthesis. **J Mammary Gland Biol Neoplasia**. v. 26, n. 2, p. 181–196, 2021.