



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA
E PLASTICIDADE FENOTÍPICA

REGINA KATIUSKA BEZERRA DA SILVA

**EFEITOS DA INIBIÇÃO NEONATAL DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA
SOBRE VIAS HIPOTALÂMICAS ENVOLVIDAS NO CONTROLE DO
COMPORTAMENTO ALIMENTAR EM PROLE DE RATOS SUBMETIDA À DIETA
HIPERLIPÍDICA-HIPERCALÓRICA MATERNA**

Vitória de Santo Antão
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA E
PLASTICIDADE FENOTÍPICA

REGINA KATIUSKA BEZERRA DA SILVA

**EFEITOS DA INIBIÇÃO NEONATAL DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA
SOBRE VIAS HIPOTALÂMICAS ENVOLVIDAS NO CONTROLE DO
COMPORTAMENTO ALIMENTAR EM PROLE DE RATOS SUBMETIDA À
DIETA HIPERLIPÍDICA-HIPERCALÓRICA MATERNA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Bases Experimentais e
Clínicas da Plasticidade Fenotípica

Orientador: Profa. Dra. Lígia Cristina Monteiro Galindo

Coorientador: Prof. Dr. Diogo Antônio Alves de Vasconcelos

Vitória de Santo Antão
2021

Catalogação na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Ligia F. dos Santos, CRB4/2005

S586e Silva, Regina Katiuska Bezerra da.

Efeitos da inibição neonatal da recaptção de serotonina sobre vias hipotalâmicas envolvidas no controle do comportamento alimentar em prole de ratos submetida à dieta hiperlipídica-hipercalórica materna./ Regina Katiuska Bezerra da Silva - Vitória de Santo Antão, 2021.

106 folhas; il., fig., tab.

Orientadora: Lígia Cristina Monteiro Galindo.

Coorientador: Diogo Antônio Alves de Vasconcelos.

Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2021.

Inclui referências e anexos.

1. Serotonina. 2. Ingestão de Alimentos. 3. Dieta Hiperlipídica. I. Galindo, Lígia Cristina Monteiro (Orientadora). II. Vasconcelos, Diogo Antônio Alves de (Coorientador). III. Título.

591.53 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE - 013/2021

REGINA KATIUSKA BEZERRA DA SILVA

**EFEITOS DA INIBIÇÃO NEONATAL DA
RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA SOBRE VIAS HIPOTALÂMICAS
ENVOLVIDAS NO CONTROLE DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR EM
PROLE DE RATOS SUBMETIDA À DIETA HIPERLIPÍDICA-HIPERCALÓRICA
MATERNA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Bases Experimentais e Clínicas da Plasticidade Fenotípica.

Aprovada em: 24/02/2021.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lígia Cristina Monteiro Galindo
Universidade Federal de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA:

Prof.^a Dr.^a Lígia Cristina Monteiro Galindo
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Ângela Amâncio dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Omar Guzmán Quevedo
Instituto Tecnológico Superior de Tacámbaro – ITST/México

Aos meus pais, Raimundo Bezerra da Silva e Maria José Bezerra da Silva, por todo amor,
dedicação e por serem os meus maiores incentivadores.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder as oportunidades para que eu realize os meus sonhos e por me dar forças de seguir em frente.

Às minhas irmãs, Roxana Patrícia (Paty) e Raphaella Kathiane (Rafinha), por todo amor e carinho. Obrigada pelo incentivo, pelos sorrisos e abraços apertados. Vocês são incentivadoras para que eu busque realizar os meus objetivos.

À minha pequena Isabelly Kathiane (Bellinha), por trazer mais amor e alegria em minha vida. O seu sorriso ilumina até os dias mais sombrios. Eu te amo!

Aos meus pais, Raimundo e Maria José, deixo um agradecimento especial por todas as lições de amor, carinho, compreensão e perdão. Eu tenho orgulho de vocês.

Ao meu cunhado e amigo Amaury Alyson (Aly), por ser uma das pessoas que mais me incentiva a crescer. Obrigada por acreditar em mim e por não me deixar desistir dos meus sonhos.

À Adriano Vinícios, por ter sido um anjo que apareceu em minha vida. Nos momentos mais difíceis você estava me ajudando. Obrigada pela amizade, bom humor, pelas gargalhadas e conversas durante os intervalos entre os experimentos.

À Emanuelle (Manu), por toda disponibilidade, pelas risadas e momentos de descontrações durante os nossos preparos de soluções.

À Henrique e Bárbara, meus companheiros durante a execução do *Western Blotting*. Obrigada pela convivência, risadas e conversas aleatórias.

À Erika Cadena e Carol Cadete, pela convivência, bom humor e auxílio nos cuidados aos animais quando eu precisava me ausentar do biotério.

À minha orientadora, Profa. Dra. Lígia Galindo, pelo qual tenho uma enorme admiração pessoal e profissional. Obrigada pela amizade, compreensão e por todo aprendizado. Obrigada por acreditar no meu trabalho. Imensa gratidão!

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Diogo Vasconcelos, pelo qual também tenho enorme respeito e gratidão. Obrigada por todos os ensinamentos, pela solicitude e por embarcar comigo nesse mundo de *Western Blotting*. Muito obrigada!

À Profa. Dra. Mariane, por disponibilizar seu laboratório para realização de parte do estudo.

À CAPES, órgão de fomento que financiou este projeto.

"Saber muito não lhe torna inteligente. A inteligência se traduz na forma que você recolhe, julga, maneja e, sobretudo, onde e como aplica esta informação".

Carl Sagan

RESUMO

A exposição materna à dieta hiperlipídica/hipercalórica (DHH) durante a gestação e lactação está associada à redução de conteúdo de serotonina e prejuízo aos circuitos neuronais hipotalâmicos em prole adulta de ratos. Por outro lado, o aumento da disponibilidade sináptica de serotonina pela sua inibição farmacológica neonatal, através da fluoxetina, parece gerar efeitos sobre a expressão fenotípica da ingestão alimentar e componentes centrais de controle do balanço energético em prole de ratos. O objetivo desse estudo foi investigar os efeitos da inibição neonatal da recaptação da serotonina (INRS) sobre o comportamento alimentar e a expressão proteica hipotalâmicas em prole de ratos adultos provindos de nutrízes alimentadas com DHH durante gestação e lactação. Ratas *Wistar* foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais, segundo o tipo de dieta recebida durante a gestação e lactação: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g; 4,5% kcal de lipídeos) e Grupo DHH (4,62 kcal/g; 51,0% kcal de lipídeos). Do 1º ao 21º dia pós-natal (DPN), cada ninhada foi ajustada para 8 neonatos, onde metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (10µl/g) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg; 10µl/g, s.c), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S, n=13); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F, n=12); DHH + Salina (DHH-S, n=14) e DHH + Fluoxetina (DHH-F, n=14). O n corresponde ao número de ninhadas. No 55º DPN, o consumo alimentar diário (CAD) foi avaliado por 3 dias consecutivos. No 60º DPN, um conjunto de animais realizou a Sequência Comportamental de Saciedade (SCS). Na mesma idade, um outro conjunto de animais foi eutanasiado por decapitação e os hipotálamos foram armazenados para posterior análise molecular. No 10º DPN, o grupo C-F apresentou menor peso corporal que o grupo C-S e o grupo DHH-F apresentou menor peso corporal que o grupo DHH-S. Do 19º ao 21º DPN, o grupo C-S apresentou menor peso corporal que o grupo DHH-S e o grupo C-F apresentou menor peso corporal em relação ao grupo DHH-F. Aos 30 e 60 dias, o grupo C-F apresentou menor peso corporal que o grupo C-S e o grupo DHH-F apresentou menor peso corporal que o grupo DHH-S. O peso dos encéfalos do grupo C-F foi maior que no grupo C-S. Em termos de CAD, o grupo C-F apresentou maior consumo calórico relativo em relação ao grupo C-S e o grupo DHH-F apresentou menor consumo calórico relativo que o grupo C-F. A SCS demonstrou que o grupo C-F apresentou um atraso no ponto de saciedade em relação ao grupo C-S e o grupo DHH-F apresentou atraso no ponto de saciedade em relação ao grupo DHH-S. O grupo DHH-F apresentou maior taxa de alimentação que o grupo C-F. O uso perinatal de DHH atrasou o ponto de saciedade na SCS e a INRS não reverteu essa alteração. No entanto, a intervenção farmacológica neonatal foi capaz de promover menor peso corporal desde a lactação até a vida adulta, mesmo diante de dieta com alto teor energético. Adicionalmente, os resultados demonstram interação da dieta sobre a expressão da proteína ERK1/2 e tendência aos efeitos da intervenção farmacológica sobre a expressão de IRS-1 hipotalâmica. Estes resultados ampliam o conhecimento da manipulação farmacológica e nutricional durante o início da vida sobre o comportamento alimentar e a expressão proteica hipotalâmica associada à via das melanocortinas em prole adulta jovem.

Palavras-chave: Fluoxetina. Serotonina. Ingestão alimentar. Peso corporal. Plasticidade fenotípica. Dieta hiperlipídica-hipercalórica.

ABSTRACT

Maternal exposure to a high-fat/high-calorie diet (HHD) during pregnancy and lactation is associated with reduction in serotonin content and damage to hypothalamic neuronal circuits in adult rats. On the other hand, the increase synaptic availability of serotonin due to its neonatal pharmacological inhibition, by fluoxetine, seems to generate effects on the phenotypic expression of food intake and central components of energy balance control in rats. The aim of this study was to investigate the effects of neonatal serotonin reuptake inhibition (NSRI) on feeding behavior and hypothalamic protein expression in adult offspring of rats fed with maternal HHD during pregnancy and lactation. Wistar female rats were randomly divided into two experimental groups, according to the type of diet received during pregnancy and lactation: Control Diet Group (C, 3.11 kcal/g; 4.5% kcal from lipids) and HHD Group (4.62 kcal/g; 51.0% kcal from lipids). The litters were composed by the dam plus 8 pups. From the 1st until the 21st postnatal day (PND), in each litter, 4 pups were injected with sterile saline (10µl/ g, s.c) and the another 4 pups received a subcutaneous shot of fluoxetine diluted in sterile saline (10mg/kg; 10µl /g, s.c), constituting the following subgroups: Control Diet + Saline (C-S, n = 13); Control Diet + Fluoxetine (C-F, n = 12); HHD + Saline (HHD-S, n = 14) and HHD + Fluoxetine (HHD-F, n = 14). The experimental “n” represents the number of litters. On the 55th PND, daily food consumption (DFI) was measured during 3 consecutive days. On the 60th PND, a group of animals performed the Behavioral Satiety Sequence (BSS). At the same age, another set of animals was euthanized by decapitation and the hypothalamic were stored for further molecular analysis. On the 10th PND, the C-F group presented lower body weight (BW) than the C-S group and the HHD-F showed lower BW than the HHD-S group. From the 19th to the 21st PND, the BW of the C-S group was reduced when compared to the DHH-S group and the C-F group had lower BW than the HHD-F group. With the age of 30 and 60 days, pups from C-F group had lower body weight than the C-S group and pups from DHH-F group had less BW when compared to the HHD-S group. The weight of the brains of the C-F group was greater than this weight of the C-S group. In terms of DFI, the C-F group had a higher relative caloric intake compared to the C-S group and the DHH-F group had a lower relative caloric consumption than the C-F group. The BSS demonstrated that the C-F group showed a delay in the satiety point in relation to the C-S group and the DHH-F group showed a delay in the satiety point in relation to the DHH-S group. The DHH-F group had a higher feeding rate than the C-F group. In a nutshell, the maternal consumption of HHD during gestation and lactation delayed the satiety point in BSS and the NSRI did not reverse this change. However, the neonatal pharmacological intervention was able to promote lower BW from lactation to adulthood, even in the face of a high energy diet. Additionally, the results demonstrate interaction between maternal HHD and the expression of hypothalamic the ERK1/2 protein of offspring. These results expand the knowledge of pharmacological and nutritional manipulation during early life on the feeding behavior and hypothalamic protein expression associated with the melanocortin pathway in young adult offspring.

Key-words: Fluoxetine. Serotonin. Food intake. Body weight. Phenotypic plasticity. Hyperlipidic-hypercaloric diet.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Síntese de serotonina e mecanismo de recaptação da serotonina extracelular.	26
Figura 2 - Via de sinalização do receptor de serotonina 5-HT _{1B} .	27
Figura 3 - Via de sinalização do receptor de serotonina 5-HT _{2C} .	27
Figura 4 - Ação da serotonina no núcleo arqueado do hipotálamo.	29
Figura 5 - Função biológica da isoforma de 5-HT _{2C} .	30
Figura 6 - Protocolo experimental do estudo.	37
Figura 7 - Evolução do peso corporal da prole durante a lactação (A), aos 30 (B) e 60 dias de vida (C).	42
Figura 8 - Peso relativo do encéfalo aos 60 dias de vida.	44
Figura 9 - Consumo calórico relativo.	45
Figura 10 - Ponto de saciedade da Sequência Comportamental de Saciedade.	46
Figura 11 - Consumo relativo e microestrutura da SCS.	48
Figura 12 - Expressão proteica no hipotálamo.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal da dieta experimental hiperlipídica/hipercalórica. 35

Tabela 2 - Composição de macronutrientes da dieta hiperlipídica/hipercalórica (DHH), segundo o Valor Energético Total (VET). 35

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: ácido araquidônico
 α , β , γ -MSH: hormônio α , β , γ -estimulante de melanócitos
AC: adenilil ciclase
ACTH: hormônio adrenocorticotrófico
AgRP: proteína relacionada ao Agouti
AHL: área hipotalâmica lateral
Akt: proteína quinase B
ARC: núcleo arqueado
ATP: adenosina trifosfato
C: controle
C-S: dieta controle + salina neonatal
C-F: dieta controle + fluoxetina neonatal
CAD: consumo alimentar diário
CaMK: proteína quinase dependente de calmodulina
cAMP: adenosina monofosfato cíclica
CART: transcrito relacionado à cocaína e anfetamina
DAG: diacilglicerol
DHH: dieta hiperlipídica/hipercalórica
DHH -S: dieta hiperlipídica/hipercalórica + salina neonatal
DHH -F: dieta hiperlipídica/hipercalórica + fluoxetina neonatal
DPN: dia pós-natal
DTT: ditioneitol
EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético
ERK 1/2: proteína quinase regulada por sinal extracelular 1/2
GABA: ácido γ -aminobutírico
GIRK: canal de potássio acoplado à proteína G
GSK3 β : glicogênio sintase quinase 3-beta
INRS: inibição neonatal da recaptação de serotonina
IP3: inositol trifosfato
IP6: inositol hexafosfato
IRS-1: substrato-1 do receptor de insulina
ISRS: inibidor seletivo da recaptação de serotonina
Kcal: quilocalorias
MAO: monoamino oxidase
MAPK: proteínas quinase ativada por mitógeno
MCR1: receptor de melanocortina-1
MCR3: receptor de melanocortina-3
MCR4: receptor de melanocortina-4
MCR5: receptor de melanocortina-5
MEK: quinase ativadora de MAPK
mRNA: RNA mensageiro
mTOR: proteína alvo de Rapamicina em mamíferos
mTORC1: proteína alvo de Rapamicina em mamíferos do complexo 1
mTORC2: proteína alvo de Rapamicina em mamíferos do complexo 2
NDM: núcleo dorsomedial
NPV: núcleo paraventricular

NVM: núcleo ventromedial
NPY: neuropeptídeo Y
PFA: paraformaldeído
PI3K: fosfoinositídeo-3-quinase
PIP2: fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
PKA: proteína quinase A
PKC: proteína quinase C
PLA2: fosfolipase A2
PLC: fosfolipase C
PLD: fosfolipase D
PMSF: fluoreto de fenilmetilsulfonil
POMC: pro-opiomelanocortina
Raf-1: proto-oncogene, RAF serina/treonina proteína quinase
RhoA: proteína transformadora RhoA
RhoGEF: fator de troca de nucleotídeo guanina-Rho
Rho quinase (ROCK): proteína quinase associada à Rho.
RPS6K: proteína ribossomal S6
SERT: transportador de serotonina
SCS: Sequência Comportamental de Saciedade
SNC: Sistema Nervoso Central
SNORD115: pequeno RNA nucleolar
TF: fator de transcrição
TPH: triptofano hidroxilase
TPH2: triptofano hidroxilase-2
UCP-1: proteína desacopladora mitocondrial 1
VET: Valor Energético Total.
VMAT: transportador de monoamina vesicular
VO₂: consumo de oxigênio
5-HT: serotonina ou 5-hidroxitriptamina
5-HTP: 5-hidroxitriptofano
5-HT_{1A}: receptor 1A da serotonina
5-HT_{1B}: receptor 1B da serotonina
5-HT_{2C}: receptor 2C da serotonina
5-HT₃: receptor 3 da serotonina
5-HT₄: receptor 4 da serotonina
5-HT₅: receptor 5 da serotonina
5-HT₆: receptor 6 da serotonina
5-HT₇: receptor 7 da serotonina

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Nutrição e Plasticidade Fenotípica	18
2.2	Controle Central do Balanço Energético e Sistema Serotoninérgico.	20
2.3	Dieta Hiperlipídica, Comportamento Alimentar e Inibição da Recaptação da Serotonina	22
2.4	Via de Sinalização da Serotonina e Sistema das Melanocortinas	25
3	HIPÓTESE	32
4	OBJETIVOS	33
4.1	Objetivo Geral	33
4.2	Objetivos Específicos	33
5	METODOLOGIA	34
5.1	Animais e Grupos Experimentais	34
5.2	Experimentos	37
5.2.1	<i>Evolução do Peso e Consumo Alimentar</i>	<i>37</i>
5.2.2	<i>Análise da Sequência Comportamental de Saciedade</i>	<i>38</i>
5.3	Análises Moleculares	39
5.3.1	<i>Expressão proteica de ERK 1/2, AKT e IRS-1 no hipotálamo por Western Blotting</i>	<i>39</i>
5.4	Análise Estatística	40
6	RESULTADOS	41
6.1	Peso Corporal da Prole Durante a Lactação, aos 30 e 60 dias	41
6.2	Peso Relativo do Encéfalo	44
6.3	Consumo Calórico Relativo na Prole Adulta	44
6.4	Sequência Comportamento de Saciedade	45
6.5	Expressão proteica de ERK1/2, AKT e IRS-1 no hipotálamo	49
7	DISCUSSÃO	50
8	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXO A- PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA PARA USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS – CEUA	73

1 APRESENTAÇÃO

A obesidade é considerada um problema de saúde global com crescimento prevalente nas últimas décadas (DIAS *et al.*, 2017). No Brasil, a obesidade em adultos aumentou de 11,8% em 2006 para 18,9% em 2016 (BRASIL, 2017), com estimativa de aumentar para 20% em 2025 (HU, 2008). A obesidade se deve, em parte, aos hábitos alimentares inadequados e ao comportamento sedentário (NURWANTI *et al.*, 2018). O elevado consumo de gorduras durante a gestação e lactação aumenta o risco de doenças cardiometabólicas na vida adulta (RABASA *et al.*, 2016).

Além de alterações metabólicas, tem sido descrita a associação entre dieta hiperlipídica e desregulação do sistema serotoninérgico. Estudos em modelos animais demonstraram que a dieta hiperlipídica reduziu os níveis de serotonina (5-HT) no hipotálamo em ratos *Wistar* (HALEEM e MAHMOOD, 2019) e a expressão da enzima síntese-limitante de serotonina, a triptofano hidroxilase-2 (TPH2), em primatas não-humanos (THOMPSON *et al.*, 2017).

Adicionalmente, estudos relacionaram os efeitos da dieta hiperlipídica materna sobre a regulação do balanço energético. Em roedores, a dieta hiperlipídica durante a gestação, lactação e pós-desmame aumentou a expressão dos peptídeos orexígenos (neuropeptídeo Y - NPY e proteína relacionada ao Agouti - AgRP) e reduziu a expressão dos peptídeos anorexígenos (pró-opiomelanocortina - POMC e transcrito relacionado à cocaína e anfetamina - CART), resultando no aumento da ingestão alimentar (CHOI, 2018). Sabe-se que a via das melanocortinas desempenha papel importante no controle da ingestão alimentar e gasto energético. Entretanto, os mecanismos moleculares que alteram a expressão gênica e afetam os circuitos neuronais hipotalâmicos envolvidos na homeostase energética não estão bem estabelecidos. A via da quinase regulada por sinal extracelular (ERK1/2) está relacionada com a ativação de POMC no núcleo arqueado hipotalâmico (STAMM *et al.*, 2017) e, desta forma, parece atuar sobre a regulação do balanço energético.

A utilização de Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (ISRS) e sua atuação no transportador de serotonina (SERT) foi investigada. A fluoxetina, um potente ISRS prescrito para o tratamento de depressão em gestantes e lactantes, é capaz de aumentar a disponibilidade sináptica de 5-HT (NOORLANDER *et al.*, 2008). Além disso, o fármaco pode passar para o feto ao atravessar a barreira hemato-placentária (HENDRICK *et al.*, 2003), bem como passar para o neonato através do leite materno (BERLE e SPIGSET, 2011). Ratos submetidos à dieta hiperlipídica e tratados com fluoxetina (10mg/kg; 10µl/g) apresentaram hipofagia na vida

adulta (GALINDO *et al.*, 2015). Adicionalmente, animais superalimentados que receberam o tratamento com fluoxetina (10mg/kg) do 39º ao 59º dia pós-natal, apresentaram um aumento na expressão de neuropeptídeos saciogênicos (SILVA *et al.*, 2019). Esses resultados demonstram que o incremento dos níveis extracelulares de 5-HT pode atuar como modulador da plasticidade fenotípica. Assim, este estudo tem como objetivo investigar os efeitos da inibição da recaptação da serotonina durante a lactação sobre o comportamento alimentar e a expressão proteica de ERK1/2, AKT e IRS-1 em ratos adultos submetidos à dieta hiperlipídica/hipercalórica (DHH) durante a gestação e lactação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nutrição e Plasticidade Fenotípica

O período de crescimento e desenvolvimento do sistema nervoso é marcado por uma sequência ordenada de eventos como proliferação, diferenciação celular, migração de neurônios e células gliais, sinaptogênese, gliogênese, mielinização (RICE e BARONE, 2000; MORGANE *et al.*, 2002) e apoptose (RICE e BARONE, 2000). O período crítico para o desenvolvimento do sistema nervoso é definido como uma janela de tempo limitada em que o indivíduo está mais sensível às influências ambientais (KUH *et al.*, 2003) e, com isso, os processos celulares e organizacionais podem ser modificados ou interrompidos com mais facilidade (MORGANE *et al.*, 2002).

A hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença postula que fatores ambientais adversos durante os períodos de vulnerabilidade podem ter impacto no desenvolvimento fetal e na saúde a longo prazo (FERNANDEZ-TWINN *et al.*, 2015). Doenças na vida adulta são induzidas por respostas adaptativas às modificações ambientais que resultam em variações do fenótipo (WEST-EBERHARD, 2005; GLUCKMAN *et al.*, 2008; WELLS, 2014). Em geral, se a exposição às condições adversas ocorre antes ou depois do desenvolvimento de um órgão, o risco de perturbações é menor do que quando ocorre durante o desenvolvimento (RICE e BARONE, 2000).

As mudanças nutricionais no período intrauterino programam efeitos sobre uma série de processos fisiológicos, como alterações na estrutura e fisiologia da prole, com repercussões na vida adulta (BARKER, 1995; GLUCKMAN *et al.*, 2005). Assim, de acordo com a hipótese do fenótipo poupador (*thrifty phenotype hypothesis*) proposta por Hales e Barker (1992), quando o feto é exposto a um insulto nutricional, o organismo passa por um processo de programação fetal, o que resulta em adaptação fisiológica e metabólica para garantir a sua sobrevivência. Entretanto, quando o ambiente pós-natal possui maior disponibilidade de nutrientes há risco aumentado de ocorrerem doenças metabólicas na vida adulta (HALES E BARKER, 1992).

Ampliando as considerações desta hipótese, Gluckman e colaboradores (2005) anunciaram a Resposta Adaptativa Preditiva (*Predictive Adaptive Responses*). Durante as fases iniciais do desenvolvimento, o organismo prediz respostas ao ambiente do qual será exposto ao nascimento, através de sinais hormonais maternos e estímulos neuroquímicos

(GLUCKMAN *et al.*, 2005). Tais sinais geram uma resposta adaptativa em seu organismo e, consequentemente, uma vantagem para enfrentar ambientes com restrição nutricional e aumento do gasto energético (GLUCKMAN *et al.*, 2005). Assim, se o indivíduo for submetido a um ambiente semelhante com o previsto (*match*) o risco de desenvolver doenças será baixo e a chance de sobrevivência será maior (GLUCKMAN *et al.*, 2005). Caso a previsão não seja semelhante (*mismatch*) o risco de desenvolver doenças é aumentado (GLUCKMAN *et al.*, 2005).

A associação do baixo peso ao nascer com o aumento do risco de doenças crônicas (GLUCKMAN *et al.*, 2008; GLYNN e SANDMAN, 2011), como hipertensão (STEIN *et al.*, 2006), doenças cardíacas (BARKER *et al.*, 1989), diabetes *mellitus* tipo 2 (BURKE *et al.*, 2004; JORNAYVAZ *et al.*, 2016, MI *et al.*, 2017) e obesidade (JORNAYVAZ *et al.*, 2016) está bem elucidada. Todavia, a plasticidade atua desde a desnutrição até ambientes nutricionais excessivos (GLUCKMAN *et al.*, 2009).

Com o processo de industrialização dos alimentos e de globalização dos *fast foods*, a alimentação da sociedade atual caracteriza-se pelo consumo de dietas ricas em gorduras (ácidos graxos saturados e *trans*) que, em excesso, causam prejuízos à saúde (SHARMA e SHARMA, 2012). Isso é alarmante em termos de saúde pública, pois a exposição crônica à dieta hiperlipídica/hipercalórica durante a gestação e lactação vem sendo apontada como causa de alterações no balanço energético que culminam em obesidade, doenças metabólicas e cardiovasculares em longo prazo, tanto em estudos observacionais em humanos (SCHACK-NIELSEN *et al.*, 2010) como nos pré-clínicos (experimentais) (PICONE *et al.*, 2011; DESAI *et al.*, 2014).

Associações entre obesidade no período gestacional e alterações metabólicas maternas afetam o crescimento e o desenvolvimento da prole (WEST-EBERHARD, 1986; STEARNS *et al.*, 1991; WEST-EBERHARD, 2005). Adicionalmente, alterações nutricionais no ambiente perinatal podem estar relacionadas ao aumento do risco da prole em desenvolver obesidade (LAWLOR *et al.*, 2007). Experimentalmente, a prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação apresentou menor peso ao nascer e maior peso corporal durante o desenvolvimento pós-natal (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Ao desmame, houve incremento no consumo alimentar e na adiposidade corporal bem como prejuízo no desenvolvimento do músculo esquelético e alterações metabólicas associadas à resistência à insulina (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Em longo prazo, animais adultos demonstraram maior consumo alimentar e peso corporal, hipercolesterolemia e glicemia elevada (OLIVEIRA *et al.*,

2011). Assim, o ambiente nutricional inadequado no período inicial do desenvolvimento está associado às alterações metabólicas e doenças crônicas degenerativas ao longo da vida.

2.2 Controle Central do Balanço Energético e Sistema Serotoninérgico.

A ingestão alimentar, um dos processos de comportamento alimentar, é regulada por uma complexa interação de mecanismos periféricos e centrais (YORK, 1999). Em conjunto, estes mecanismos detectam e integram as informações provenientes dos estímulos externos e internos ao organismo com a finalidade de gerar respostas mais apropriadas às necessidades do mesmo (SCHWARTZ e ZELTSER, 2013). A quantidade e a qualidade de alimentos consumida, bem como a frequência das refeições são reguladas pela homeostase energética (WOODS *et al.*, 1998). Tal homeostase é regulada por meio de sistemas neural, químico e hormonal altamente integrados (WOODS *et al.*, 1998) que controlam a ingestão de alimentos, o gasto e estoque energético (SCHWARTZ *et al.*, 2000). O sistema nervoso central (SNC) desempenha papel fundamental na regulação da homeostase energética do organismo (MYERS-JUNIOR e OLSON, 2012).

O hipotálamo representa um importante centro regulador da homeostase energética, sendo subdividido em diversos núcleos interconectados, dentre eles: núcleo arqueado (ARC), núcleo paraventricular (NPV), núcleo ventromedial (NVM), núcleo dorsomedial (NDM) e área hipotalâmica lateral (AHL) (SIMPSON *et al.*, 2009). Todavia, o ARC é a principal área envolvida no controle da ingestão alimentar e do metabolismo energético (VALASSI *et al.*, 2008; MYERS-JUNIOR e OLSON, 2012). Anatomicamente, o ARC situa-se adjacente à eminência mediana e o terceiro ventrículo (ROH *et al.*, 2016). Pelo fato de não ser totalmente isolado da circulação, vários sinais metabólicos podem acessar facilmente este núcleo (SIMPSON *et al.*, 2009; ROH *et al.*, 2016).

O ARC é constituído por dois grupos de neurônios distintos, a saber, os que expressam os neuropeptídeos anorexígenos POMC e CART, responsáveis pelo aumento do gasto energético e diminuição da ingestão alimentar, e os que expressam os neuropeptídeos orexígenos AgRP e NPY, relacionados com a diminuição do gasto energético e aumento da ingestão alimentar (VALASSI *et al.*, 2008; SIMPSON *et al.*, 2009; MYERS-JUNIOR e OLSON, 2012). Assim, em situações de jejum, a expressão de NPY (MURPHY *et al.*, 2009) e AgRP (VARELA e HORVATH, 2012) é aumentada e os níveis de POMC são reduzidos, enquanto o inverso ocorre no estado alimentado (VARELA e HORVATH, 2012). Projeções

neuronaes dessas duas populações se comunicam com outras áreas hipotalâmicas envolvidas na regulação do apetite, como o NPV, NDM e AHL (BOURET *et al.*, 2004; VAN DER KLAUW, 2018), tronco cerebral, bem como áreas mais amplas do cérebro, como o sistema límbico, o *nucleus accumbens* e o córtex pré-frontal. Coletivamente, eles integram e respondem aos sinais periféricos de hormônios e nutrientes, alterando a ingestão de alimentos e o gasto de energia (VAN DER KLAUW, 2018).

O sistema das melanocortinas é caracterizado por um conjunto de circuitos neurais envolvidos na regulação da ingestão alimentar (CONE, 2005; WATERSON e HORVATH, 2015). A clivagem de POMC produz o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e os hormônios α , β e γ - estimulantes de melanócitos (MSH) (SIMPSON *et al.*, 2009). Os peptídeos de melanocortinas agem através da ligação com receptores de melanocortina (MC1R a MC5R) acoplados à proteína G (CONE, 2005). Destes, apenas o MC3R e MC4R são expressos no SNC (KISHI *et al.*, 2003). O α -MSH é um agonista do receptor de melanocortina-3 (MC3R) e receptor de melanocortina-4 (MC4R), o qual aumenta o gasto energético, diminui a ingestão de alimentos e reduz as reservas de gordura corporal (BALTHASAR *et al.*, 2005; CONE, 2005; MYERS-JUNIOR e OLSON, 2012). Por outro lado, o AgRP é um agonista inverso da MC3R e MC4R, contrário à ação da melanocortina (MYERS-JUNIOR e OLSON, 2012). Assim, tanto o AgRP quanto o NPY reduzem o gasto de energia e aumentam a ingestão de alimentos (CONE, 2005; MYERS-JUNIOR e OLSON, 2012).

A 5-HT desempenha papel na regulação da ingestão alimentar e gasto energético (XU *et al.*, 2008). A ação da serotonina nos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, localizados nos neurônios NPY/AgRP e POMC/CART, respectivamente, tem sido implicada na saciedade (HEISLER *et al.*, 2006). Adicionalmente, a 5-HT também está envolvida na regulação de processos comportamentais e fisiológicos (TECOTT, 2007). Nos mamíferos, a serotonina do SNC é sintetizada nos núcleos da rafe (DONOVAN e TECOTT, 2013). Os neurônios serotoninérgicos da rafe projetam-se ampla e extensivamente por todo o SNC (DONOVAN e TECOTT, 2013). Estudos demonstraram que o aumento na disponibilidade de 5-HT na fenda sináptica induziu hipogafia (LEIBOWITZ e ALEXANDER, 1998; DONOVAN e TECOTT, 2013). Por outro lado, o efeito oposto foi observado em eventos que reduzem a atividade de 5-HT e de seus receptores (LEIBOWITZ e ALEXANDER, 1998). Além disso, a estimulação serotoninérgica no NPV tem mostrado aumentar o metabolismo energético (SAKAGUCHI e BRAY, 1989) e, especificamente, a oxidação lipídica, enquanto reduz a oxidação de carboidratos (BOSCHMANN *et al.*, 1996). Com isso, análogos de serotonina e fármacos que aumentam a

atividade das vias serotoninérgicas centrais têm sido amplamente utilizados como inibidores de apetite (BREISCH *et al.*, 1976), do ganho de peso corporal (LEIBOWITZ e ALEXANDER, 1998) e, conseqüentemente, no tratamento da obesidade (SCHWARTZ *et al.*, 2000).

Vários subtipos de receptores de serotonina foram identificados, sendo o 5-HT_{1B} (LEE *et al.*, 2002) e 5-HT_{2C} (LAM *et al.*, 2008) os principais envolvidos na saciedade e balanço energético. Os receptores 5-HT_{1B} são expressos em neurônios NPY/AgRP do núcleo arqueado, enquanto os receptores 5-HT_{2C} são co-expressos nas células que produzem a POMC/CART (HEISLER *et al.*, 2006). Através dos mecanismos mediados pelos receptores, a serotonina afeta a atividade neuronal da POMC (QIU *et al.*, 2007) e AgRP (HEISLER *et al.*, 2006). A infusão prolongada de um agonista do receptor 5-HT_{2C} em ratos obesos aumentou os níveis de mRNA de POMC no ARC, reduziu o peso corporal e a ingestão alimentar (QIU *et al.*, 2007; LAM *et al.*, 2008).

Os agonistas seletivos da 5-HT_{1B} demonstraram efeitos anoréticos agudos em roedores (KOE *et al.*, 1992), que está associado com a hiperpolarização de neurônios NPY/AgRP e uma despolarização de neurônios POMC/CART no ARC (HEISLER *et al.*, 2006). Esses efeitos ocorrem pela ativação do α -MSH que atua sobre os MC4R (BALTHASAR *et al.*, 2005), o que demonstra o importante papel das vias de melanocortinas e de sua ativação pela serotonina na regulação da homeostase energética.

2.3 Dieta Hiperlipídica, Comportamento Alimentar e Inibição da Recaptação da Serotonina

A obesidade é uma consequência do desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto energético (WEI *et al.*, 2015). Atualmente, na sociedade ocidental, a alimentação é caracterizada pelo consumo excessivo de proteínas, gorduras e açúcares, com reduzida ingestão de fibras (DREHER, 2015). Assim, estudos dietéticos em modelos animais são importantes para avaliar os mecanismos envolvidos no ganho de peso excessivo (BAGNOL *et al.*, 2012) e o impacto no crescimento fetal (BRETT *et al.*, 2014). Um método capaz de induzir obesidade em animais experimentais é a exposição à dieta rica em gorduras (BOURET, 2012) ou dietas de cafeteria (MACEDO *et al.*, 2012). No entanto, a composição das dietas hiperlipídicas utilizadas em modelos de obesidade são altamente heterogêneas (BRIAUD *et al.*, 2002).

Entre os diferentes nutrientes, os ácidos graxos são importantes constituintes dos fosfolipídios das membranas celulares (KABARAN e BESLER, 2015). Além disso, atuam como sensores metabólicos que participam da regulação dos genes envolvidos na oxidação e armazenamento de energia (KABARAN e BESLER, 2015). Alguns dos ácidos graxos presentes nos alimentos apresentam efeitos adversos à saúde humana, como os saturados e os *trans* (MORENGA e MONTEZ, 2017). O consumo de gordura vegetal hidrogenada, rica em *trans*, e gordura saturada está associado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (IQBAL, 2014), dislipidemias (MORENGA e MONTEZ, 2017) e estresse oxidativo (KABARAN e BESLER, 2015). De uma forma geral, os ácidos graxos são transportados para o feto através da placenta e, para o recém-nascido, através do leite materno (INNIS, 2005). Assim, alterações dos componentes lipídicos por ingestão dietética materna durante a gestação e lactação podem gerar implicações no desenvolvimento pós-natal dos descendentes (HERRERA e RAMOS, 2008).

A maturação do sistema nervoso central inicia na gestação e perdura até a vida pós-natal (GUPTA *et al.*, 2009). Em humanos, esta fase ocorre no último trimestre de gestação até os cinco anos de vida (MORGANE *et al.*, 1978). Em roedores, continua até as três primeiras semanas após o parto (MORGANE *et al.*, 1978). Durante a lactação, há a formação de redes neuronais com a ontogênese das projeções axonais e conexões sinápticas (GRAYSON *et al.*, 2006). Desta forma, alterações na disponibilidade de nutrientes durante esses estágios resultam em mudanças no desenvolvimento e função do hipotálamo como, por exemplo, alterações na expressão de neuropeptídios envolvidos na regulação do apetite (GUPTA *et al.*, 2009).

Estudo randomizado com camundongos C57BL/6 evidenciou que o consumo de dieta hiperlipídica (49% de gordura, sendo 32% provenientes de banha de porco e 17% de óleo de soja) durante a gestação e lactação resultou em aumento na ingestão alimentar e consumo calórico, bem como maior expressão de NPY no núcleo arqueado, em camundongos aos 3 meses de vida (ORNELLAS *et al.*, 2016). Além disso, os descendentes de mães obesas também apresentaram diminuição na expressão de POMC e α -MSH (ORNELLAS *et al.*, 2016). Camundongos C57Bl6/J machos com mais de 8 semanas de idade, alimentados com dieta hiperlipídica (45% de gordura) por um período de 6 a 8 semanas, apresentaram ativação de neurônios AgRP no núcleo arqueado e mudança nas projeções para o núcleo paraventricular (WEI *et al.*, 2015). Além disso, os autores evidenciaram que a composição da dieta exerce um papel mais significativo na remodelação dos neurônios AgRP/ NPY do que a quantidade de calorias consumidas (WEI *et al.*, 2015).

Estudos prévios têm demonstrado os efeitos do consumo de dieta hiperlipídica/hipercalórica sobre a alteração de vias centrais de neurotransmissores, como o sistema serotoninérgico. A obesidade induzida pela exposição prolongada à dieta hiperlipídica (60% de gordura) durante 8 semanas, contribuiu para a redução nos níveis plasmáticos de serotonina em camundongos C57BL/6 com 35 a 42 dias de vida (KIM *et al.*, 2013). Outro estudo evidenciou que a dieta rica em gordura (45% de lipídios) durante 16 semanas, aumentou a expressão do auto receptor 5-HT_{1A} e, conseqüentemente, diminuiu dos níveis basais de serotonina extracelular no hipocampo ventral em camundongos de 50 dias de vida (ZEMDEGS *et al.*, 2016). Adicionalmente, em modelo de primatas não-humanos, o uso de dieta hiperlipídica (36,6% de gordura), durante a fase perinatal, contribuiu para redução na expressão do mRNA da enzima triptofano hidroxilase-2 (enzima síntese-limitante de 5-HT) nos núcleos dorsal e mediano da rafe (THOMPSON *et al.*, 2017). O mesmo estudo verificou que o consumo pós-natal de dieta rica em gordura diminuiu a imunorreatividade serotoninérgica no córtex pré-frontal (THOMPSON *et al.*, 2017). No geral, é necessário compreender as consequências das práticas alimentares inadequadas e comportamento sedentário, bem como as respostas dos descendentes aos estímulos maternos a curto e longo prazo.

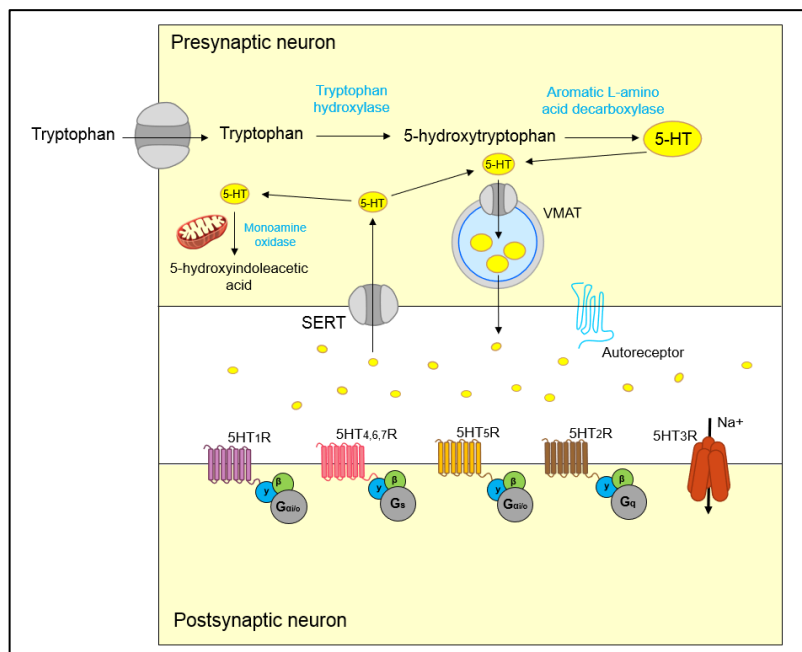
Ao contrário da dieta hiperlipídica, fármacos que inibem a recaptação de serotonina, por exemplo, a fluoxetina, aumentam a disponibilidade sináptica deste neurotransmissor (NOORLANDER *et al.*, 2008). Scabia e colaboradores (2018) demonstraram que ratos alimentados com dieta rica em gordura (36% de gordura) por 9 semanas e tratados com fluoxetina (10,8 mg/kg/dia dissolvido em água potável) durante as 3 últimas semanas de consumo dietético, apresentaram menor peso corporal, menor deposição de tecido adiposo branco, aumento da produção de energia e diminuição nas concentrações de leptina. Ratos submetidos à inibição neonatal da receptação da serotonina, ao receberem dieta obesogênica na vida adulta, apresentaram menor deposição de tecido adiposo branco abdominal, maior expressão genica do receptor 5-HT_{2C} e menor expressão gênica de NPY, o que demonstra um efeito tardio à exposição farmacológica neonatal (GALINDO *et al.*, 2015). Outro estudo recente mostrou uma redução nos índices murinométricos, no acúmulo de tecido adiposo branco e nas concentrações séricas de glicose e lipídios, em modelo de superalimentação neonatal que recebeu fluoxetina (10mg/kg) do 39º ao 59º dia pós-natal (SILVA *et al.*, 2019). O mesmo estudo ainda observou um aumento na expressão dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, aumento nos níveis de POMC e CART, bem como uma diminuição na expressão de NPY e AgRP (SILVA *et al.*, 2019). Esses resultados sugerem que os efeitos hipofágicos da inibição seletiva da

receptação da serotonina, via fluoxetina, estão associados com o sistema das melanocortinas. Portanto, a diminuição do peso corporal e da ingestão alimentar, mesmo na presença de dietas com alto teor energético, demonstra que a fluoxetina pode gerar efeitos duradouros sobre a expressão fenotípica da ingestão alimentar, da deposição adiposa e em componentes centrais de controle do balanço energético.

2.4 Via de Sinalização da Serotonina e Sistema das Melanocortinas

Os mecanismos moleculares serotoninérgicos desempenham papel chave no controle da ingestão alimentar e do gasto energético (HOPKINS e BLUNDELL, 2016). A 5-HT é derivada do triptofano dietético (MILLAN *et al.*, 2008) e sua síntese compreende duas etapas. (MATTHES *et al.*, 2019). Na primeira etapa, a enzima triptofano hidroxilase (TPH) catalisa a hidroxilação do triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) (MATTHES *et al.*, 2019). Em seguida, o 5-HTP é descarboxilado para 5-hidroxitriptamina (5-HT) pela enzima L-aminoácido aromático descarboxilase (MATTHES *et al.*, 2019). Após sintetizada, a serotonina é armazenada em vesículas pelo transportador de monoamina vesicular (VMAT) (BORUE *et al.*, 2007). Após ser liberada na fenda sináptica, a 5-HT pode se ligar a um dos seus receptores ou ser removida do espaço extracelular através do transportador de serotonina (SERT) (BORUE *et al.*, 2007). Uma vez de volta ao neurônio pré-sináptico, a 5-HT pode ser novamente armazenada em vesículas ou degradada pela enzima mitocondrial monoamino oxidase A (MAO) (BORUE *et al.*, 2007) (Figura 1).

Figura 1 - Síntese de serotonina e mecanismo de recaptação da serotonina extracelular.

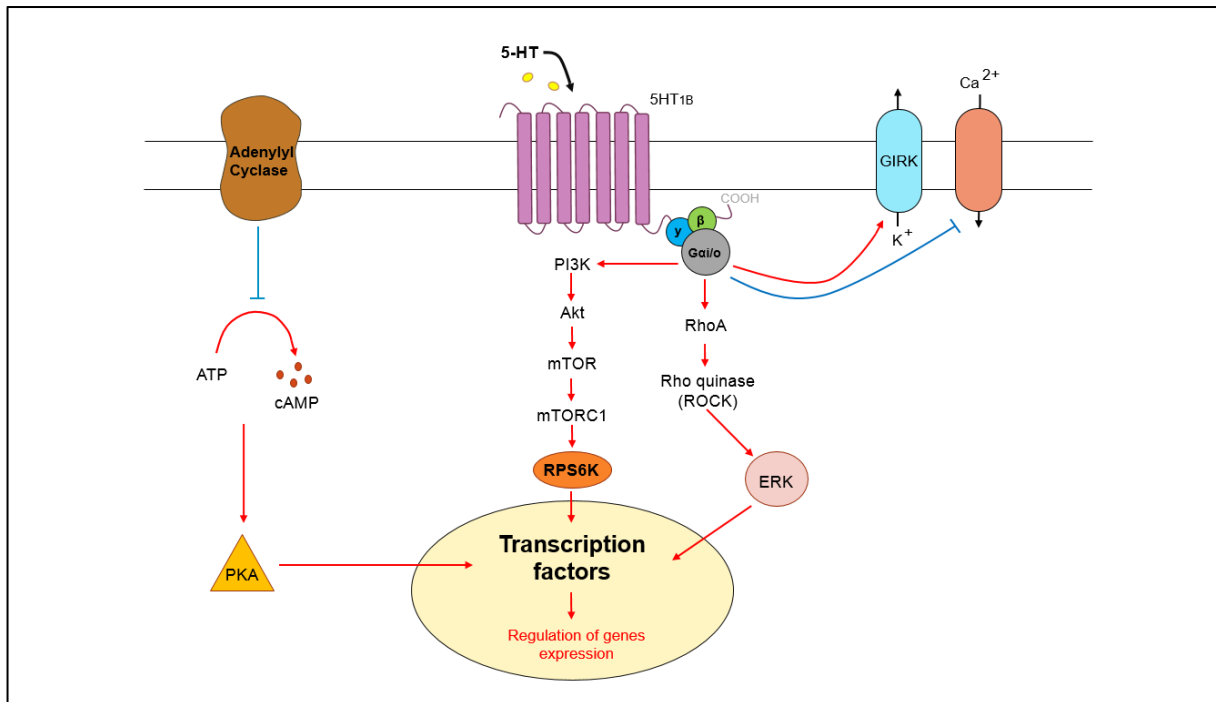


Abreviaturas: 5-HT = serotonina; 5HT_{1R} = receptor de serotonina da classe 1; 5HT_{2R} = receptor de serotonina da classe 2; 5HT_{3R} = receptor de serotonina da classe 3; 5HT_{4,6,7R} = receptor de serotonina das classes 4, 6 e 7; 5HT_{5R} = receptor de serotonina da classe 5; VMAT = transportador de monoamina vesicular; SERT = transportador de serotonina. Adaptado de DWARKASING *et al.*, 2018.

A 5-HT desempenha papel em várias funções fisiológicas devido à sua ampla distribuição no SNC, além de possuir sete classes (5-HT₁ a 5-HT₇) e, pelo menos, 14 subtipos diferentes de receptores (MASSON *et al.*, 2012; STAMM *et al.*, 2017). Ao contrário do receptor 5-HT₃ que age como um subtipo ionotrópico, todos os outros receptores são metabotrópicos e pertencem à superfamília dos receptores acoplados à proteína G (HOYER *et al.*, 2002).

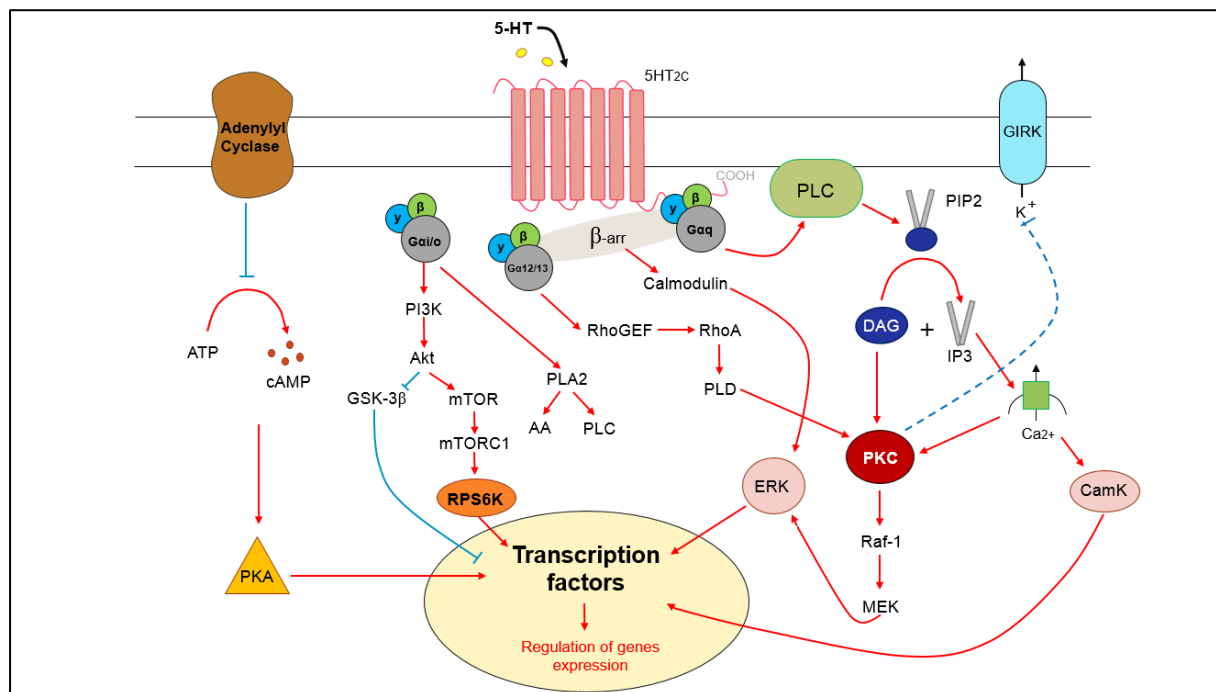
De uma forma geral, o receptor 5-HT_{1B} é acoplado à subunidade α da proteína Gi, a qual inibe a adenilil ciclase (AC) e, conseqüentemente, inibe o acúmulo de adenosina monofosfato cíclica (cAMP) (MASSON *et al.*, 2012) (Figura 2). Além disso, a mesma subunidade, inibe a abertura dos canais de cálcio e estimula os canais de potássio (HAGAN *et al.*, 2012). Ao ser estimulado, o receptor 5-HT_{1B} facilita a translocação da ERK 1/2 fosforilada, por meio da via RhoA/ROCK (MASSON *et al.*, 2012) (Figura 2). Por outro lado, a atividade da proteína ribossomal S6 (RPS6K) é estimulada através da via de sinalização de fosfoinositídeo-3-quinase (PI3K) / serina-treonina proteína quinase ou proteína quinase B (AKT) / proteína alvo de Rapamicina em mamíferos (mTOR) (KITAGISHI *et al.*, 2012; HUANG *et al.*, 2012) (Figura 2).

Figura 2 - Via de sinalização do receptor de serotonina 5-HT_{1B}.



Abreviaturas: 5-HT = serotonina; 5HT_{1B} = receptor de serotonina 5-HT_{1B}; GIRK = canal de potássio acoplado à proteína G; ATP = adenosina trifosfato; cAMP = adenosina monofosfato cíclica; PKA = proteína quinase A; PI3K = fosfoinositídeo 3-quinase; Akt = proteína quinase B; mTOR = proteína alvo de Rapamicina em mamíferos; mTORC1 = proteína alvo de Rapamicina em mamíferos do complexo 1; RPS6K = proteína ribossomal S6; RhoA = proteína transformadora RhoA; Rho quinase (ROCK) = proteína quinase associada à Rho; ERK = proteína regulada por fator extracelular. Adaptado de MILLAN *et al.*, 2008.

Figura 3 - Via de sinalização do receptor de serotonina 5-HT_{2C}.



Abreviaturas: 5-HT = serotonina; 5HT_{2C} = receptor de serotonina 5-HT_{2C}; GIRK = canal de potássio acoplado à proteína G; ATP = adenosina trifosfato; cAMP = adenosina monofosfato cíclica; PKA = proteína quinase A;

PI3K = fosfoinositídeo 3-quinase; Akt = proteína quinase B; GSK3 β = glicogênio sintase quinase 3 beta; mTOR = proteína alvo de Rapamicina em mamíferos; mTORC1 = proteína alvo de Rapamicina em mamíferos do complexo 1; RPS6K = proteína ribossomal S6; PLA2 = fosfolipase A2; AA = ácido araquidônico; PLC = fosfolipase C; RhoGEF = fatores de troca de nucleotídeos guanina-Rho; RhoA = proteína transformadora RhoA; PLD = fosfolipase D; PIP2 = fosfatidilinositol-4,5-bifosfato; DAG = diacilglicerol; IP3 = inositol trifosfato; PKC = proteína quinase C; Raf-1 = proto-oncogene RAF serina / treonina-proteína quinase; MEK = quinase ativadora da proteína quinase ativada por mitógeno; ERK = proteína regulada por fator extracelular; CaMK = proteína quinase dependente de calmodulina. Adaptado de MILLAN *et al.*, 2008.

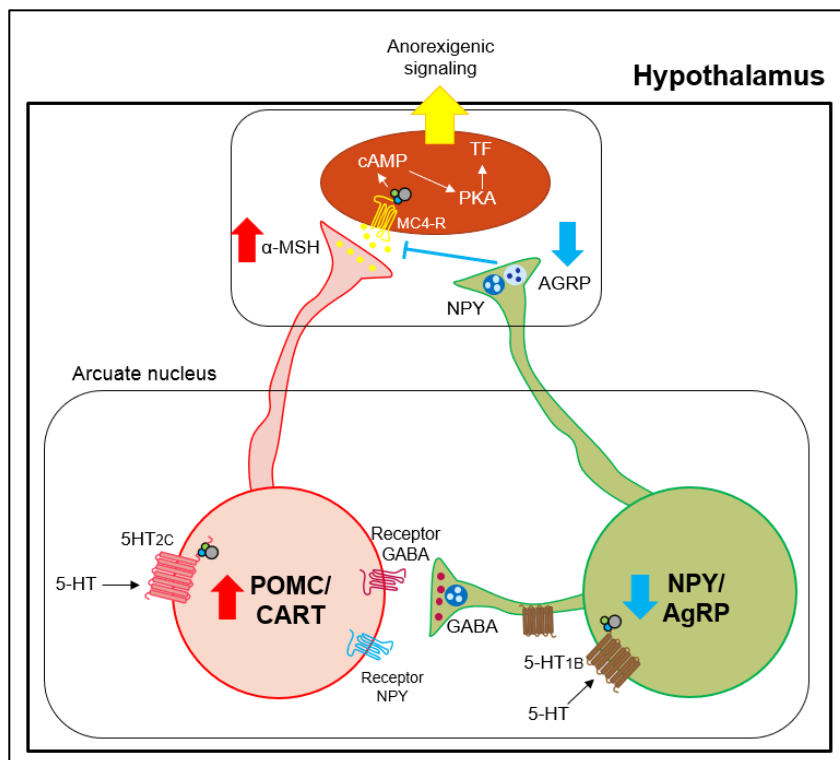
O receptor 5-HT_{2C}, acoplado à proteína G α_q /G₁₁, ativa a via da fosfolipase C (PLC) (MASSON *et al.*, 2012) (Figura 3). Com isso, ocorre a hidrólise de fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) para formar o diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP3) (MASSON *et al.*, 2012). O IP3 atua no influxo de cálcio extracelular, mobilização de cálcio intracelular, enquanto o diacilglicerol ativa a proteína quinase C (PKC) (LEYSEN, 2004; CHAGRAOUI *et al.*, 2016; STAMM *et al.*, 2017). O acoplamento com a proteína G α_{13} pode ativar a fosfolipase D (PLD) (CHAGRAOUI *et al.*, 2016). Assim, tanto a estimulação de PLC quanto a de PLD convergem para a PKC, o que resulta na fosforilação da ERK 1/2 (MILLAN *et al.*, 2008; MASSON *et al.*, 2012). Por outro lado, por meio do acoplamento com a proteína G α_i ocorre ativação da via de sinalização de PI3K/AKT/mTOR/RPS6K (KITAGISHI *et al.*, 2012; HUANG *et al.*, 2012), que atua em paralelo e de forma independente da cascata de MAPK/ERK (LIU e FANBURG, 2006). Entretanto, os receptores 5-HT_{2C} também ativam a ERK 1/2, independentemente do acoplamento com a proteína G (LABASQUE *et al.*, 2010).

A via das melanocortinas desempenha um papel crítico na regulação do balanço energético. Entretanto, a via de sinalização dos neurônios POMC/CART e NPY/AgRP não está bem elucidada. Sabe-se que a cascata de ERK 1/2, membro da superfamília das vias de sinalização das proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPK), está envolvida na regulação de várias funções celulares, como proliferação, diferenciação e sobrevivência e mudanças plásticas (CRUZ e CRUZ, 2007). Adicionalmente, a via de sinalização PI3K/AKT também parece desempenhar um papel na regulação da ingestão de alimentos e no balanço energético através dos neurônios hipotalâmicos (DONATO-JUNIOR *et al.*, 2010).

No núcleo arqueado do hipotálamo, a serotonina atua no receptor 5-HT_{1B} (HEISLER *et al.*, 2006). Com isso, inibe a atividade de AgRP – que antagoniza o MC4R, bem como reduz as correntes pós-sinápticas inibitórias nos neurônios POMC (CHADHA *et al.*, 2000; HEISLER *et al.*, 2006), através da liberação do ácido γ -aminobutírico (GABA) (OH *et al.*, 2016). Por outro lado, a serotonina ativa os neurônios POMC/CART via receptor 5-HT_{2C} (Figura 4) (HEISLER *et al.*, 2006). Assim, a via de sinalização através do acoplamento com a G α_q /11 promove a ativação de c-FOS, via ERK (Figura 5) (STAMM *et al.*, 2017). A c-FOS ativa o promotor

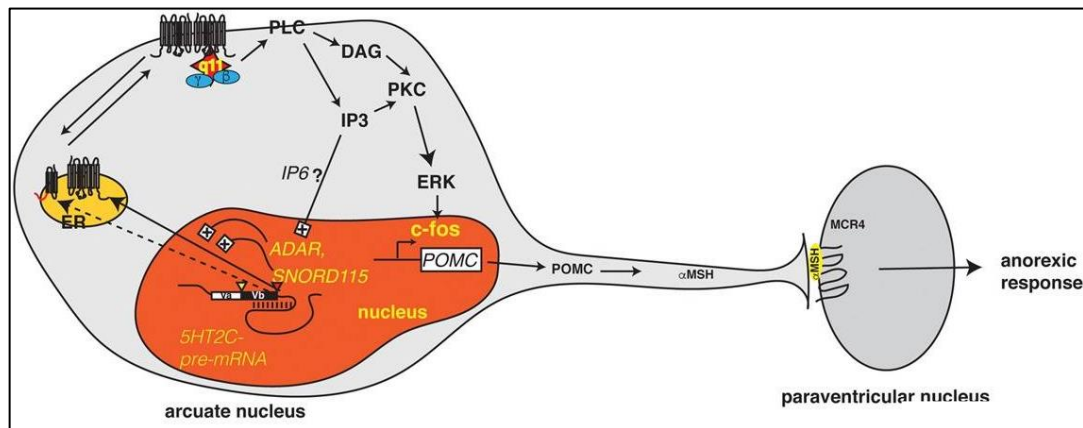
POMC, que resulta na clivagem e formação de α -MSH (STAMM *et al.*, 2017). Em seguida, o α -MSH ativa os neurônios que expressam o MC4R em múltiplas regiões centrais, como o NPV do hipotálamo (TODA *et al.*, 2017). A ação simultânea da serotonina de inibir neurônios orexígenos e ativar neurônios anorexígenos, através dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, respectivamente, promove modulação da ingestão alimentar.

Figura 4 - Ação da serotonina no núcleo arqueado do hipotálamo.



Abreviaturas: 5-HT = serotonina; 5-HT_{1B} = receptor de serotonina 1B; 5-HT_{2C} = receptor de serotonina 2C; POMC = proopiomelanocortina; CART = transcrito regulado por cocaína e anfetamina; NPY = neuropeptídeo Y; AgRP = peptídeo relacionado ao agouti; GABA = ácido γ -aminobutírico; α -MSH = hormônio α -estimulante de melanócitos; MC4-R = receptor de melanocortina-4; cAMP = adenosina monofosfato cíclica; PKA = proteína quinase A; TF = fator de transcrição. Adaptado de HEISLER *et al.*, 2006.

Figura 5 - Função biológica da isoforma de 5-HT_{2C}.



Sinalização de 5HT_{2C} em neurônios POMC do núcleo arqueado. Abreviaturas: PLC = fosfolipase C; DAG = diacilglicerol; IP₃ = inositol trifosfato; PKC = proteína quinase C; IP₆ = inositol hexafosfato; POMC = proopiomelanocortina; α-MSH = α-estimulante de melanócitos; MC4-R = receptor de melanocortina-4; ADAR = adenosina desaminase; SNORD115 = pequeno RNA nucleolar. Retirado de STAMM *et al.*, 2017.

A insulina desempenha papel no metabolismo e balanço energético através da ativação das vias de sinalização intracelulares (DODD *et al.*, 2021). Tanto os neurônios POMC quanto os neurônios NPY/AgRP expressam receptores de insulina (IR) (TIMPER e BRÜNING, 2017). Assim, a insulina pode ativar neurônios POMC e inibir neurônios AgRP, resultando em redução da ingestão alimentar (TIMPER e BRÜNING, 2017; DODD *et al.*, 2021). A ligação da insulina ao seu receptor induz a fosforilação de resíduos de tirosina dos substratos do receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2) (DONATO-JUNIOR *et al.*, 2010). Quando fosforiladas, as proteínas IRS podem se ligar aos domínios de homologia Src (SH2) de moléculas sinalizadoras (MYERS-JUNIOR *et al.*, 1998), como a subunidade regulatória p85 de PI3K (MYERS-JUNIOR *et al.*, 1992), resultando na ativação da via PI3K/AKT (TANIGUCHI *et al.*, 2006). Liu e colaboradores (2015) evidenciaram uma redução na expressão de IRS-1 no cérebro de camundongos adultos expostos a dieta hiperlipídica (60% kcal de lipídeos) durante 12 semanas. Outro estudo também demonstrou que a dieta hiperlipídica materna promoveu uma diminuição na expressão de IRS-1 no hipotálamo de camundongos, durante estágio embrionário (E13) (DEARDEN *et al.*, 2020). Esses resultados sugerem que a exposição materna à dieta hiperlipídica pode alterar vias de sinalização, resultando em resistência à insulina no hipotálamo em desenvolvimento e, conseqüentemente, desregulação das vias de alimentação (DEARDEN *et al.*, 2020).

A mTOR, uma serina/treonina quinase (COTA *et al.*, 2006), está inserida na via de sinalização PI3K/AKT/mTOR (KITAGISHI *et al.*, 2012; HUANG *et al.*, 2012). Assim, atua como um sensor de combustível celular em resposta à disponibilidade de nutrientes e aos sinais

hormonais que regulam a ingestão alimentar (COTA *et al.*, 2006). A mTOR interage com várias proteínas para formar dois complexos distintos, denominados de complexo 1 da mTOR (mTORC1) e complexo 2 da mTOR (mTORC2) (BHASKAR e HAY, 2007; LAPLANTE e SABATINI, 2012). No geral, o mTORC1 controla o crescimento celular em resposta a vários estímulos como disponibilidade de aminoácidos, fatores de crescimento (LAPLANTE e SABATINI, 2012; MAGNUSON *et al.*, 2012; MOSCHETTA *et al.*, 2014; JHANWAR-UNIYAL *et al.*, 2019), estado energético da célula e estresse celular (LAPLANTE e SABATINI, 2012; MAGNUSON *et al.*, 2012; MOSCHETTA *et al.*, 2014). Por outro lado, embora insensível aos sinais de nutrientes (LAPLANTE e SABATINI, 2012) e energia (MOSCHETTA *et al.*, 2014), o mTORC2 é regulado por hormônios e fatores de crescimento (LAPLANTE e SABATINI, 2012) para promover a proliferação e a sobrevivência celular (MOSCHETTA *et al.*, 2014). A ativação da mTORC1, via PI3K/AKT/mTOR, induz a fosforilação da RPS6K (BHASKAR e HAY, 2007), responsável pela promoção de síntese proteica (SABATINI, 2006).

Poucos estudos avaliaram os mecanismos celulares envolvidos no balanço energético em resposta ao uso de fluoxetina. Huang e colaboradores (2012) usaram cultura de células-tronco oriundas dos tecidos cerebrais embrionários de ratos *Wistar* (E15-16) para avaliar o efeito da fluoxetina (50 μ M) e o mecanismo de duas vias de sinalização: PI3K/AKT e MAPK/ERK. Os autores encontraram um aumento da fosforilação de AKT e ERK 1/2 no grupo que recebeu a intervenção farmacológica, quando comparado com o grupo não tratado (HUANG *et al.*, 2012). No estudo realizado por Barone e colaboradores (2018) foi demonstrado que a administração oral de fluoxetina (16-18mg/kg/dia, dissolvido em água) durante 3 semanas (p60 a p81), resultou em redução do peso corporal e ativação dos neurônios POMC no hipotálamo de camundongos. Adicionalmente, a fluoxetina induziu a via mTOR, bem como aumentou a RPS6K fosforilada (Ser235/236 e Ser240/244) e ERK 1/2 total e fosforilada (Thr202/Tyr204), no hipotálamo (BARONE *et al.*, 2018). Os autores observaram que os efeitos fisiológicos do POMC foram atenuados com a administração do inibidor de mTORC1, a rapamicina (BARONE *et al.*, 2018). A via de sinalização dos neuropeptídeos envolvidos no controle da ingestão alimentar em resposta aos efeitos da serotonina é complexa. Portanto, a compreensão desses mecanismos celulares e moleculares pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias farmacológicas terapêuticas para o tratamento da obesidade.

3 HIPÓTESE

A inibição neonatal da recaptação da serotonina promove redução do peso corporal e do consumo alimentar, bem como modulação da expressão proteica associada à via das melanocortinas em prole de ratos adulta submetida à dieta hiperlipídica/hipercalórica durante a gestação e lactação.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da inibição neonatal da recaptação de serotonina sobre o comportamento alimentar, peso corporal e expressão proteica hipotalâmica em prole adulta submetida à DHH durante a gestação e lactação.

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar em prole de ratos adultos submetida à DHH durante gestação e lactação e à manipulação farmacológica do sistema serotoninérgico neonatal:

- Evolução de peso e consumo alimentar;
- Sequência Comportamental de Saciedade;
- Expressão proteica de ERK 1/2, AKT e IRS-1 no hipotálamo.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais e Grupos Experimentais

Foram utilizadas ratas nulíparas da linhagem *Wistar* obtidas da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Os animais foram alocados na proporção de duas fêmeas por gaiola e mantidos sob condições padrão de biotério, com ciclo de luz de 12/12 horas invertido (escuro: 08-20h / claro: 20-08h) e temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 1$. A água e alimentação foram oferecidas *ad libitum*. Os animais foram utilizados segundo a “Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos” (CONCEA, 2013). Este estudo foi submetido à Comissão para Uso de Animais Experimentais (CEUA) –UFPE, sob o número 0029/2018.

As ratas tiveram um período de adaptação de ciclo e dieta durante uma semana. Durante esse período, as fêmeas foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais, segundo a manipulação dietética: grupo dieta controle (C) (Presence[®]; 3,11 kcal/g; 4,50% kcal de lipídeos) e grupo dieta hiperlipídica/hipercalórica (DHH) (4,62 kcal/g; 51,00% kcal de lipídeos) (CADENA-BURBANO *et al.*, 2017). A composição da dieta hiperlipídica/hipercalórica está apresentada na Tabela 1 e a distribuição dos macronutrientes da DHH e dieta controle na Tabela 2. Após distribuição randômica e adaptação, as ratas foram postas para acasalar. O acasalamento ocorreu na proporção de duas fêmeas para um macho e, logo após acasalarem, as fêmeas foram alocadas em gaiolas individuais. A gestação foi acompanhada por meio do ganho de peso corporal.

Tabela 1 - Composição centesimal da dieta experimental hiperlipídica/hipercalórica

Ingredientes	Hiperlipídica/Hipercalórica (g/100g)
Caseína (>85% proteína)	25,20
Amido de milho (87% carboidrato)	24,50
Amido dextrinizado (92% carboidrato)	8,00
Sacarose	6,17
Óleo de soja	7,00
Banha animal (100% lipídeo)	19,00
Celulose	5,00
Mix mineral (AIN-93G)	3,50
Mix vitamínico	1,00
L-Metionina	0,38
Bitartarato de colina	0,25
TBHQ	0,0014
TOTAL (g)	100
Valor Energético kcal/g	4,62

Os cálculos da composição centesimal foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos. Fonte: Adaptado de (REEVES *et al.*, 1993; CADENA-BURBANO *et al.*, 2017).

Tabela 2 - Distribuição de macronutrientes da dieta controle e dieta hiperlipídica/hipercalórica (DHH), segundo o Valor Energético Total (VET).

Macronutrientes	Dieta Controle (% kcal VET)	DHH (% kcal VET)
Proteína	23,00	18,70
Carboidrato	44,50	30,30
Lipídeo	4,50	51,00

Os cálculos da distribuição de macronutrientes foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos. Fonte: CADENA-BURBANO *et al.*, 2017.

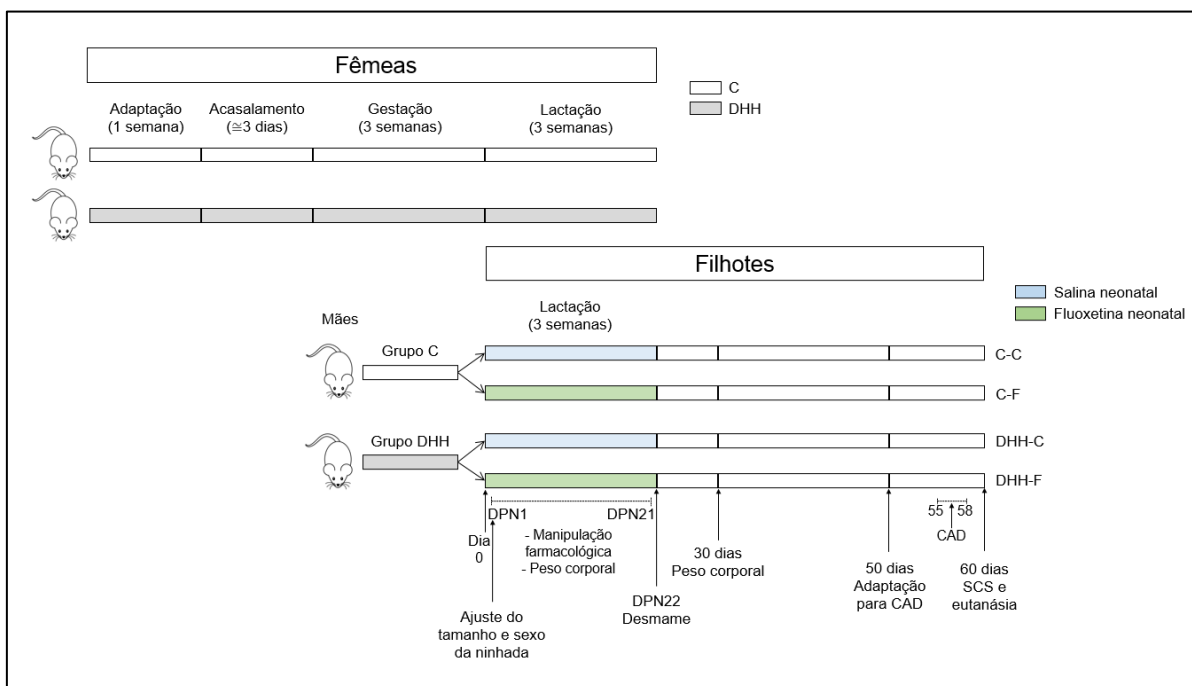
No primeiro dia pós-natal (1º DPN), 24h após o nascimento, cada ninhada foi formada por uma fêmea e oito filhotes machos com peso corporal entre 5 a 7g. Para completar as ninhadas que apresentaram número de machos inferior a oito, foram utilizadas fêmeas. Ainda no 1º DPN, os filhotes provenientes dos grupos C e DHH foram divididos em quatro subgrupos experimentais em função da manipulação dietética e farmacológica:

- Subgrupo dieta controle + salina neonatal (C-S): filhotes provenientes do grupo C e tratados com salina estéril (NaCl 0,9%; 10µl/g, s.c., n=4/ninhada) durante a lactação;
- Subgrupo dieta controle + fluoxetina neonatal (C-F): filhotes provenientes do grupo C e tratados com fluoxetina (Bristol-USA®) diluída em salina estéril a 0,9% (SILVA *et al.*, 2010) (10mg/kg; 10µl/g, s.c., n=4/ninhada) durante a lactação;
- Subgrupo dieta hiperlipídica/hipercalórica + salina neonatal (DHH-S): filhotes provenientes do grupo DHH e tratados com salina estéril (NaCl 0,9%; 10µl/g, s.c., n=4/ninhada) durante a lactação;
- Subgrupo dieta hiperlipídica/hipercalórica + fluoxetina neonatal (DHH-F): filhotes provenientes do grupo DHH e tratados com fluoxetina (Bristol-USA®) diluída em salina estéril a 0,9% (10mg/kg; 10µl/g, s.c., n=4/ninhada) durante a lactação.

A manipulação dietética foi realizada durante toda a gestação e perdurou até o 21º dia de lactação. A administração de fluoxetina ou salina estéril foi realizada por via subcutânea (s.c.) na região dorsal, diariamente, do 1º ao 21º DPN, uma hora após o início do ciclo escuro (às 9h). Nesse horário ocorre o pico de liberação de 5-HT no hipotálamo e, assim, potencializa a ação do fármaco (MATEOS *et al.*, 2009).

A partir do desmame, no 22º DPN, até o final dos experimentos (60º DPN), a prole foi mantida em gaiola com até três animais e recebeu dieta padrão de biotério (Presence®). O protocolo experimental utilizado no estudo está descrito na Figura 6. Para cada experimento, foi utilizado apenas 1 animal por subgrupo ou, no caso de se utilizar mais de 1 animal no mesmo experimento, foi utilizada a média do subgrupo para compor o resultado. Dessa forma, evitou-se a interferência da consanguinidade nos resultados.

Figura 6 - Protocolo experimental do estudo.



Ratas *Wistar* foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g). As mães foram alimentadas com suas respectivas dietas até o final da lactação (21º dia). No 1º DPN, cada ninhada foi ajustada para 8 filhotes, sendo metade deles tratados com salina estéril (NaCl 0,9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg, 10µl/g, n=4/ninhada) até o 21ºDPN, constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); DHH + Salina (DHH-S) e DHH + Fluoxetina (DHH-F). Após o desmame (22º DPN), a prole de cada grupo foi alimentada com dieta controle até o final dos experimentos. Os animais foram pesados do 1º ao 21º DPN, no 30º e 60º DPN. O consumo alimentar foi realizado a partir do 55º DPN por três dias consecutivos. A Sequência Comportamental de Saciedade e a eutanásia foram realizadas aos 60 dias de vida.

5.2 Experimentos

5.2.1 Evolução do Peso e Consumo Alimentar

A aferição do peso corporal foi realizada diariamente durante a lactação (do 1º ao 21º DPN), bem como aos 30 e 60 dias de vida. O procedimento foi realizado em balança eletrônica digital, marca *BEL Engineering®*, modelo L2102i, classe II, capacidade máxima de 2100g e mínima de 0,6g.

Aos 50 dias de vida, os animais foram alocados individualmente em gaiolas transparentes de polipropileno medindo 31x21x13 cm. O consumo alimentar (g) foi aferido aos 55 dias de vida pela diferença entre a quantidade de alimento oferecido e alimento rejeitado durante três dias consecutivos. O resultado foi expresso em consumo relativo (consumo (g) ÷ peso corporal (g)) x 100.

5.2.2 Análise da Sequência Comportamental de Saciedade

Um grupo de animais (n=10/subgrupo) foi submetido à análise da Sequência Comportamental de Saciedade (SCS) basal aos 60 dias de vida, segundo a descrição de Halford *et al.* (1998). No dia do teste, os animais foram pesados e, em seguida, submetidos ao jejum de três horas (às 7h). Após o jejum, foram oferecidos 30g de dieta padrão (Presence[®]) aos animais. A partir deste momento, foi registrada a duração (em segundos) dos comportamentos de alimentação, limpeza e repouso durante uma hora. O teste foi realizado no período de 10h às 11h (2h após o início do ciclo escuro). Os registros foram obtidos através da aquisição das imagens por câmera com sistema de infravermelho e armazenados em computador. Apenas um avaliador treinado, sem prévio conhecimento dos grupos experimentais, observou os filmes e registrou os dados comportamentais em protocolo.

O comportamento de alimentação foi registrado quando o animal se aproximou do comedouro e ingeriu, roeu, mastigou ou segurou o alimento com as patas. A limpeza foi quantificada quando o animal lambeu o corpo, patas e genitais, mordeu a cauda ou movimentou as patas anteriores sobre a cabeça. O descanso foi registrado quando o rato ficou sentado em posição relaxada ou com o corpo repousado sobre o assoalho da gaiola. A atividade exploratória foi obtida pela soma dos tempos dos demais comportamentos, subtraída da duração total da SCS (3600 segundos), divididos em 12 períodos de 300 segundos (HALFORD *et al.*, 1998).

O ponto de saciedade foi dado pela intersecção das linhas que representam os tempos de alimentação e de descanso, em segundos. O consumo alimentar foi obtido pela diferença entre a quantidade de ração oferecida após o período de jejum e a quantidade de ração restante após o término da SCS (HALFORD *et al.*, 1998). O consumo alimentar relativo foi calculado pela razão entre a ingestão alimentar (g) e o peso corporal (g). A duração da alimentação foi mensurada pelo tempo (segundos) em que o animal se alimentou (HALFORD *et al.*, 1998). A taxa de alimentação foi obtida pela razão entre a quantidade de alimento consumido (g) e duração da refeição (segundos) (HALFORD *et al.*, 1998).

A SCS foi utilizada para avaliar medidas complementares como a frequência alimentar (número de vezes que o rato buscou por alimento) e período de latência (tempo que o animal demorou para iniciar a alimentação) (HALFORD *et al.*, 1998).

5.3 Análises Moleculares

Ainda na idade de 60 dias, um outro conjunto de animais contendo um animal de cada subgrupo provenientes de 5 ninhadas diferentes (n=5/subgrupo) foi eutanasiado por decapitação. Os hipotálamos foram dissecados rapidamente e congelados. Em seguida, foram armazenados em ultrafreezer para posterior realização dos experimentos moleculares. Em seguida, foram mensurados em balança de precisão (*Ohaus Adventurer*[®], AR1530, capacidade máxima 150g e mínima 0,001g).

5.3.1 Expressão proteica de ERK 1/2, AKT e IRS-1 no hipotálamo por Western Blotting

Amostras de hipotálamo congeladas (n=5/subgrupo) foram lisadas em 500 µl de tampão de lise contendo Trisma-base pH 7,5 100 mM, EDTA 10 mM, pirofosfato de sódio 10 mM, fluoreto de sódio 100mM, PSMF 2 mM, ortovanadato de sódio 10 mM e aprotinina 0,01mg/mL. Após homogeneização, foi adicionado Triton x-100 (1%) às amostras e mantidas a 4 °C por 30 minutos. Em seguida, os homogenatos foram centrifugados a 5488 x g, durante 20 minutos a 4 °C. Os sobrenadantes foram recolhidos e armazenados em freezer até o momento da análise. A concentração de 50 µL de proteína de cada amostra foi determinada usando método de Bradford (1976). Uma solução foi preparada usando *Coomassie blue* G-250 (0,01%), etanol (47,5%) e ácido fosfórico (8,5%).

Para cada amostra, foram separadas 20-30 µg de proteína e diluídas em tampão *Laemmli* contendo ditioneitol (DTT) a 1M. Em seguida, foram fervidas em banho seco (100°C) e as proteínas foram separadas pelo peso molecular usando o método de eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida, a 10% e 12% para as proteínas IRS-1, AKT e ERK 1/2. Subsequentemente, foram transferidos para membranas de nitrocelulose a 80 V por 2 horas. Em seguida, as membranas foram coradas com *Ponceau* e capturadas as imagens (*Amersham*[™] Imager 600, GE Health Care, Little Chalfont, Buckinghamshire, Inglaterra).

As membranas foram lavadas três vezes em solução salina tamponada (TBS-T) contendo Tris pH 7,5 1 M, NaCl 5 M e *Tween* 20, por 7 minutos. Logo após, foram bloqueadas durante 4 horas em 5mL de solução contendo albumina de soro bovino a 5% (BSA) em TBS-T. Em seguida, as membranas passaram por novas lavagens em TBS-T e, posteriormente, foram incubadas *overnight* com anticorpos primários específicos para as proteínas de interesse, diluídos (1µL:1000µL) em BSA a 5%. No dia seguinte, após três lavagens com TBS-T, por 10

minutos, as membranas foram incubadas com anticorpo secundário ligado à peroxidase, diluído (1 μ L:5000 μ L) em BSA a 5%, por uma hora e trinta minutos.

Os sinais foram visualizados usando reagentes quimioluminescentes ECL (Biorad) por um minuto e detectados por equipamento de captura de imagens *ChemiDoc™ MP Image System* (Bio-Rad, Hemel Hempstead, Reino Unido). As intensidades das bandas foram quantificadas por densitometria ótica utilizando programa *Image J* 1.37 (NIH, Wayne Rasband, Bethesda, Maryland, Estados Unidos). Os conteúdos das seguintes proteínas totais foram analisados utilizando os seguintes anticorpos primários: p44/42 MAPK (Erk1/2), AKT, IRS-1 e anticorpo secundário anti-IgG de coelho conjugado com *HRP* (peroxidase) obtidos pelo *Cell Signaling Technology*, Danvers, Massachusetts, Estados Unidos. Os conteúdos foram normalizados pelo valor obtido da quantidade total de proteínas, conforme quantificado pela coloração de *Ponceau*.

5.4 Análise Estatística

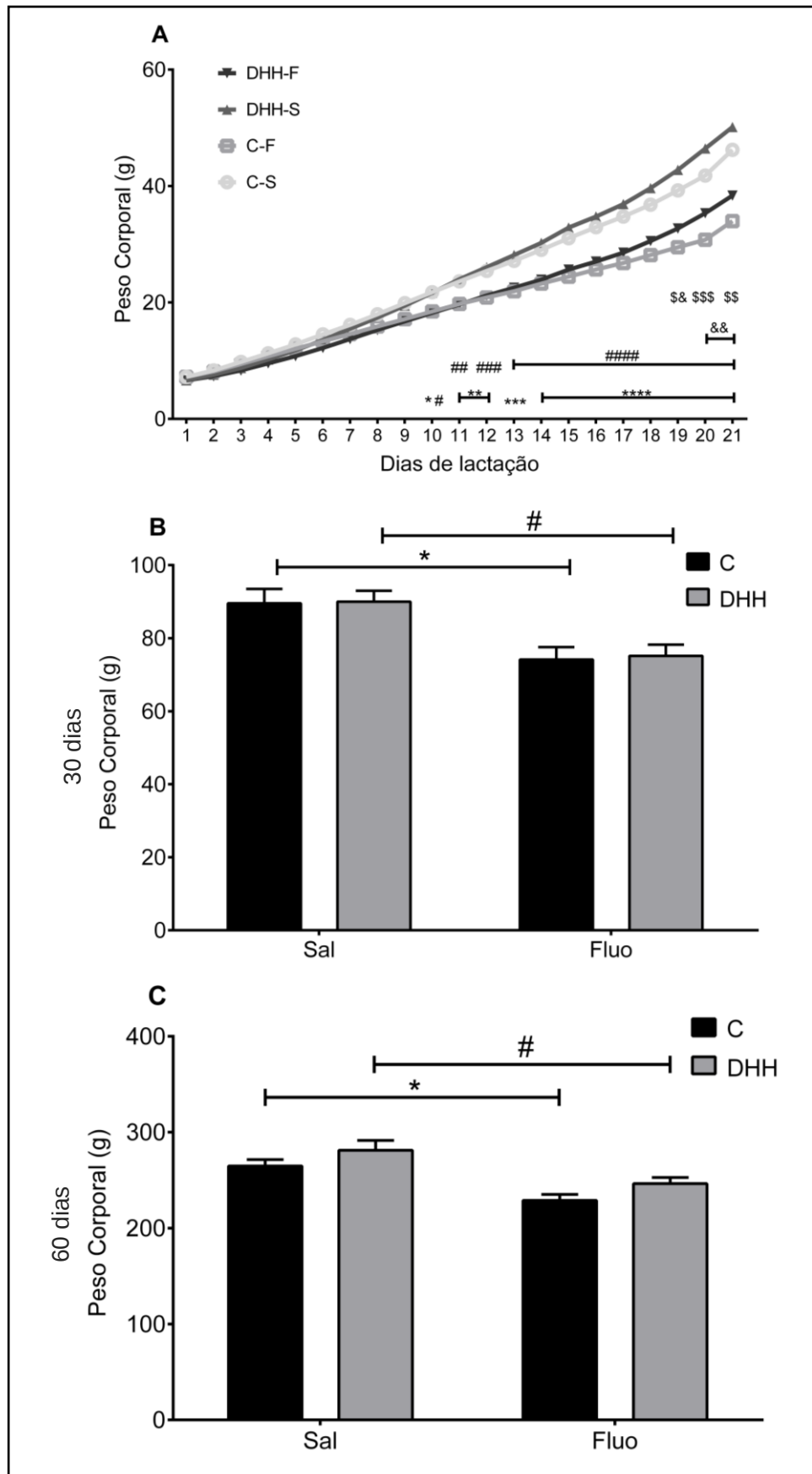
A distribuição dos dados pelo critério de normalidade foi avaliada pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para comparação entre os diferentes grupos, foi empregada a Análise de Variância (ANOVA), quando se tratou de dados paramétricos. Quando a ANOVA revelou a existência de diferença significativa, foi utilizado o pós-teste de *Tukey*, a fim de identificar que grupos diferiram entre si. Os *outliers* foram excluídos da análise usando a calculadora *GraphPad QuickCalcs*, disponível em: <https://www.graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>. A significância estatística foi considerada, admitindo-se um nível crítico de 5% em todos os casos. A análise dos dados foi realizada por meio do programa estatístico *GraphPad Prism®* (Graph Pad Software, Inc, 2007).

6 RESULTADOS

6.1 Peso Corporal da Prole Durante a Lactação, aos 30 e 60 dias.

A evolução do peso da prole durante a lactação está representada na Figura 7A. Foi observada interação entre os grupos experimentais [$F(3,49) = 14,25$; $p < 0,0001$]. No 10° DPN, os animais do grupo C-F apresentaram menor peso corporal comparados ao grupo C-S ($C-S = 21,74g \pm 0,71$; $C-F = 18,44g \pm 0,73$; $p < 0,05$). No mesmo dia, observou-se menor peso corporal nos filhotes do grupo DHH-F quando comparados aos filhotes do grupo DHH-S ($DHH-S = 21,66g \pm 0,68$; $DHH-F = 18,21g \pm 0,62$; $p < 0,05$). Essa diferença perdurou até o 18° DPN. Do 19° ao 21° DPN, além da diferença entre os grupos acima, houve efeito da dieta e o grupo C-S apresentou menor peso corporal que o grupo DHH-S ($C-S = 39,24g \pm 1,18$; $DHH-S = 42,76g \pm 1,63$; $p < 0,05$). Neste mesmo período, a intervenção farmacológica promoveu menor peso corporal no grupo C-F em relação ao grupo DHH-F ($C-F = 29,48g \pm 1,14$; $DHH-F = 32,72g \pm 1,19$; $p < 0,05$).

Figura 7 - Evolução do peso corporal da prole durante a lactação (A), aos 30 (B) e 60 dias de vida (C).



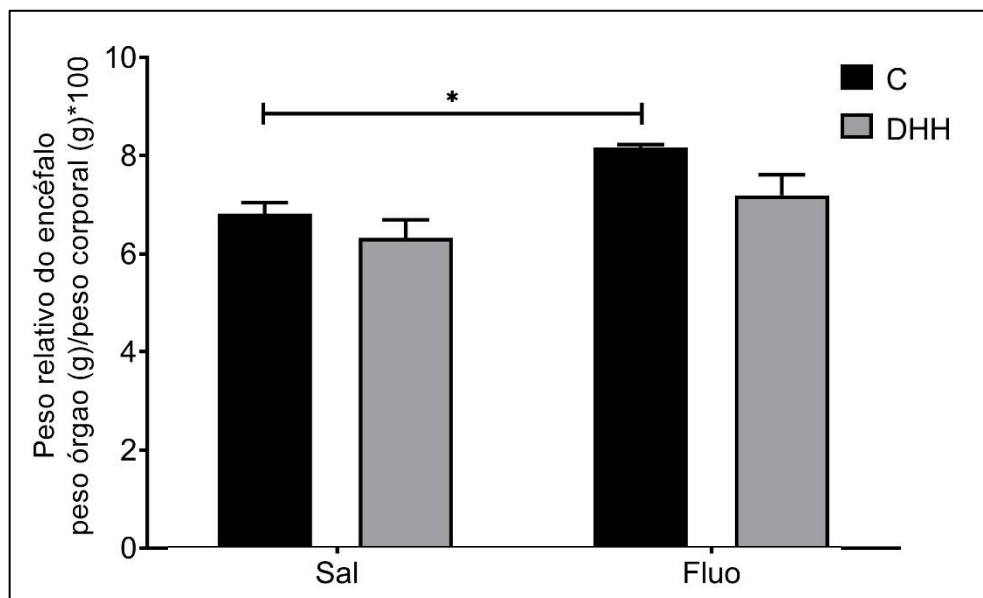
Ratas *Wistar* foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g). No 1º DPN, cada ninhada foi ajustada para 8 filhotes, onde metade deles foi tratado com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg, 10µl/g, n=4/ninhada) até o 21º DPN, constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); DHH + Salina (DHH-S) e DHH + Fluoxetina (DHH-F). Os animais foram pesados do 1º ao 21º DPN, no 30º e 60º DPN. (A) C-S (n=12); C-F (n=12); DHH-S (n=14); DHH-F (n=14). (B) C-S (n=12); C-F (n=12); DHH-S (n=12); DHH-F (n=12). (C) C-S (n=10); C-F (n=10); DHH-S (n=10); DHH-F (n=10). Os tratamentos foram realizados do 1º ao 21º DPN. O n corresponde ao número de ninhadas. Dados expressos em SEM±EP. *Two Way ANOVA*, Tukey Pós-Teste. *representa as diferenças entre C-S e C-F; # representa as diferenças entre DHH-S e DHH-F; \$ representa as diferenças entre C-S e DHH-S; & representa as diferenças entre C-F e DHH-F. O n representa o número de ninhadas. Em caso de mais de uma unidade experimental advir da mesma ninhada para determinado experimento, foi realizada a média que representou o n da ninhada.

Aos 30 dias, foi observado efeito farmacológico sobre os grupos experimentais [$F(1,44) = 20,11$; $p < 0,0001$], mas não houve interação da dieta sobre os mesmos [$F(1,44) = 0,046$; $p = 0,83$]. Sendo assim, os animais submetidos à inibição da recaptação da serotonina (grupo C-F) apresentaram menor peso corporal em relação aos animais do grupo C-S (C-S = $89,55g \pm 3,95$; C-F = $74,16g \pm 3,40$; $p < 0,05$) (Figura 7B). Da mesma forma, os animais do grupo DHH-F apresentaram menor peso corporal, quando comparados ao grupo DHH-S (DHH-S = $90,02g \pm 2,99$; DHH-F = $75,14g \pm 3,07$; $p < 0,05$). Já aos 60 dias de vida, houve interação do fármaco [$F(1,36) = 21,45$; $p < 0,0001$] e da dieta [$F(1,36) = 4,959$; $p = 0,03$]. Entretanto, o pós-teste identificou menor peso corporal nos animais adultos jovens submetidos à manipulação farmacológica neonatal em relação aos seus controles (C-S = $264,64g \pm 6,81$; C-F = $228,87g \pm 6,24$; $p < 0,05$) e (DHH-S = $281,16g \pm 10,27$; DHH-F = $246,31g \pm 6,45$; $p < 0,05$) (Figura 7C).

6.2 Peso Relativo do Encéfalo

Aos 60 dias, um conjunto de animais foi eutanasiado por decapitação e, em seguida, os encéfalos foram dissecados e pesados. Em relação ao peso relativo do encéfalo, foi verificada interação farmacológica [$F(1,14) = 13,03$; $p < 0,01$] e dietética [$F(1,14) = 5,695$; $p < 0,05$]. Curiosamente, o peso dos encéfalos do grupo C-F foi maior em relação ao grupo C-S ($p < 0,05$) (Figura 8). Observou-se que o peso dos encéfalos no grupo DHH-F apresentou tendência a ser maior do que no grupo DHH-S. Houve interação farmacológica sobre o peso relativo do baço [$F(1,14) = 4,789$; $p = 0,05$] e do fígado [$F(1,14) = 9,720$; $p < 0,01$], entretanto, não houve diferença entre os grupos.

Figura 8 - Peso relativo do encéfalo aos 60 dias de vida.

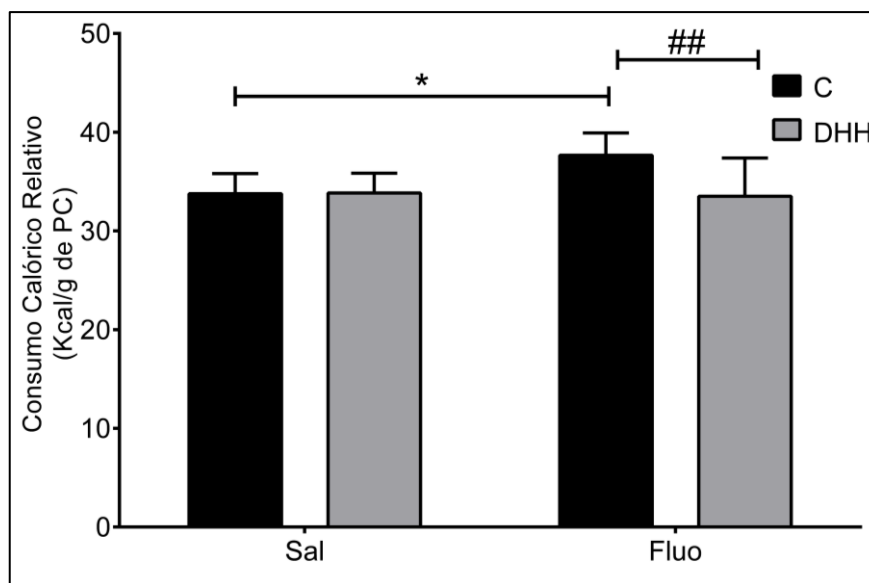


Ratas *Wistar* foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g). No 1° DPN, cada ninhada foi ajustada para 8 filhotes, onde metade deles foi tratado com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg, 10µl/g, n=4/ninhada) até o 21° DPN, constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); DHH + Salina (DHH-S) e DHH + Fluoxetina (DHH-F). Os animais foram eutanasiados por decapitação no 60° DPN e os órgãos foram pesados. A fórmula usada para o cálculo do peso relativo dos órgãos foi [(peso do órgão (g) / peso corporal (g))*100]. Grupos: C-S (n=5); C-F (n=6); DHH-S (n=5); DHH-F (n=6). Dados expressos em SEM±EP. *Two Way ANOVA*, Tukey Pós-Teste. *Representa a diferença entre C-S e C-F. O n representa o número de ninhadas. Em caso de mais de uma unidade experimental advir da mesma ninhada para determinado experimento, foi realizada a média que representou o n da ninhada.

6.3 Consumo Calórico Relativo na Prole Adulta

O consumo alimentar diário (CAD) foi avaliado do 55° ao 58° DPN. O grupo C-F apresentou maior consumo calórico relativo em relação ao grupo C-S (C-S = 33,76 kcal/g/dia ± 0,64; C-F = 37,67 kcal/g/dia ± 0,71; p<0,05). No entanto, o grupo DHH-F apresentou menor consumo calórico relativo, quando comparado ao grupo C-F (C-F = 37,67 kcal/g/dia ± 0,71; DHH-F = 33,50 kcal/g/dia ± 1,23; p<0,01) (Figura 9).

Figura 9 - Consumo calórico relativo.

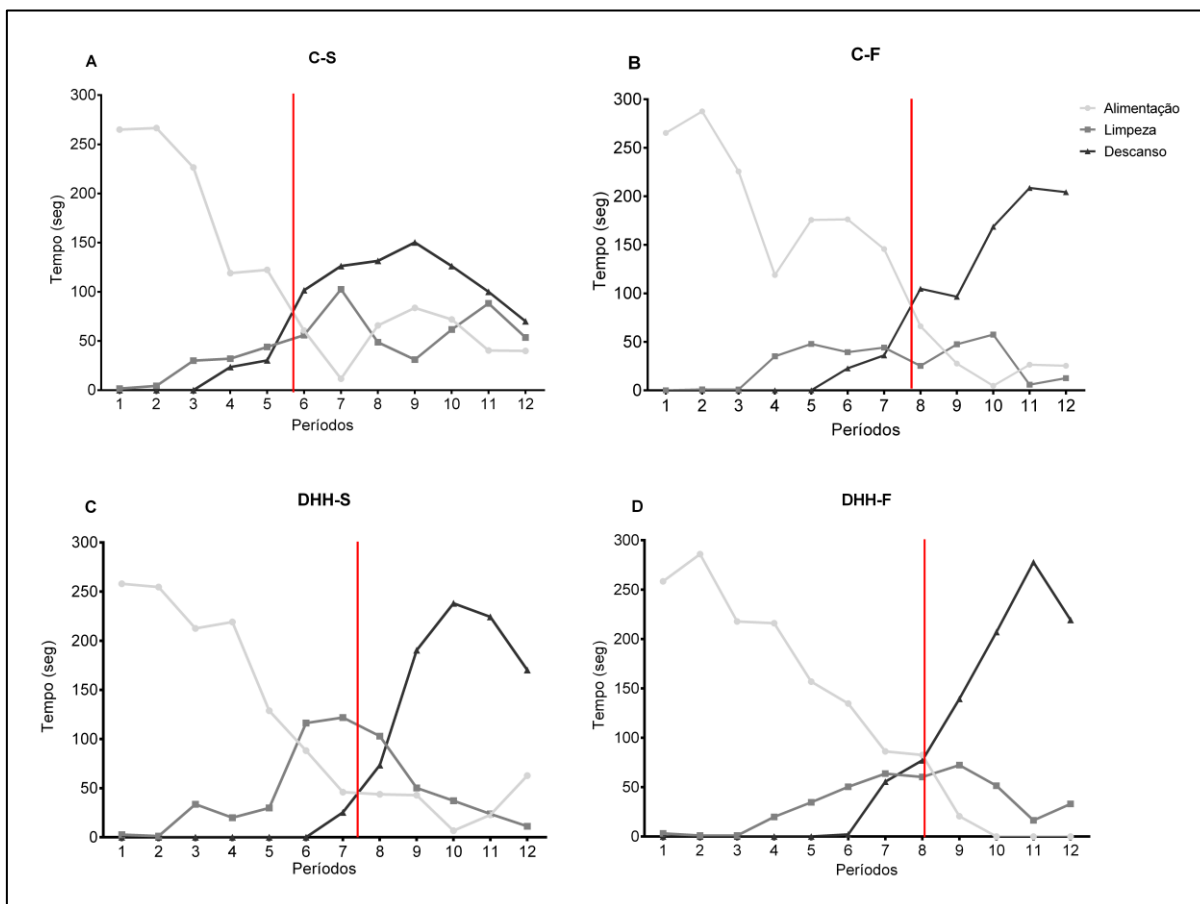


Ratas Wistar foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hiperclórica (DHH, 4,62 kcal/g). No 1º DPN, cada ninhada foi ajustada para 8 filhotes, onde metade deles foi tratado com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg, 10µl/g, n=4/ninhada) até o 21º DPN, constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); DHH + Salina (DHH-S) e DHH + Fluoxetina (DHH-F). No 55º DPN, o consumo alimentar foi avaliado por 3 dias consecutivos. O peso do alimento oferecido, consumido e rejeitado foi registrado. A fórmula para o cálculo do consumo alimentar relativo foi $[(\text{consumo (g)} / \text{peso corporal (g)}) * 100]$. O valor calórico total foi baseado nas informações nutricionais contidas na embalagem da ração. Grupos: C-S (n=10); C-F (n=10); DHH-S (n=10); DHH-F (n=10). Dados expressos em SEM±EP. Two Way ANOVA, Tukey Pós-Teste. *Representa a diferença entre C-S e C-F; # representa as diferenças entre C-F e DHH-F. O n representa o número de ninhadas. Em caso de mais de uma unidade experimental advir da mesma ninhada para determinado experimento, foi realizada a média que representou o n da ninhada.

6.4 Sequência Comportamental de Saciedade

Aos 60 dias de vida, um conjunto de animais foi submetido à SCS para o registro do Tempo da Alimentação, Limpeza e Descanso. O ponto de saciedade compreende o ponto de intersecção entre as linhas que representam as médias dos tempos de alimentação e de descanso. O grupo C-F apresentou um atraso no ponto de saciedade em relação ao grupo C-S. No primeiro grupo, a saciedade ocorreu no final do 7º período e no segundo, em torno do 6º período. (Figura 10A e B). O grupo DHH-F também apresentou atraso no ponto de saciedade em relação ao grupo DHH-S (Figura 10C e D). A saciedade demorou mais a acontecer no grupo DHH-S em relação C-S (Figura 10A e C) e no grupo DHH-F em relação ao C-F (Figura 10B e D).

Figura 10 - Ponto de saciedade da Sequência Comportamental de Saciedade.



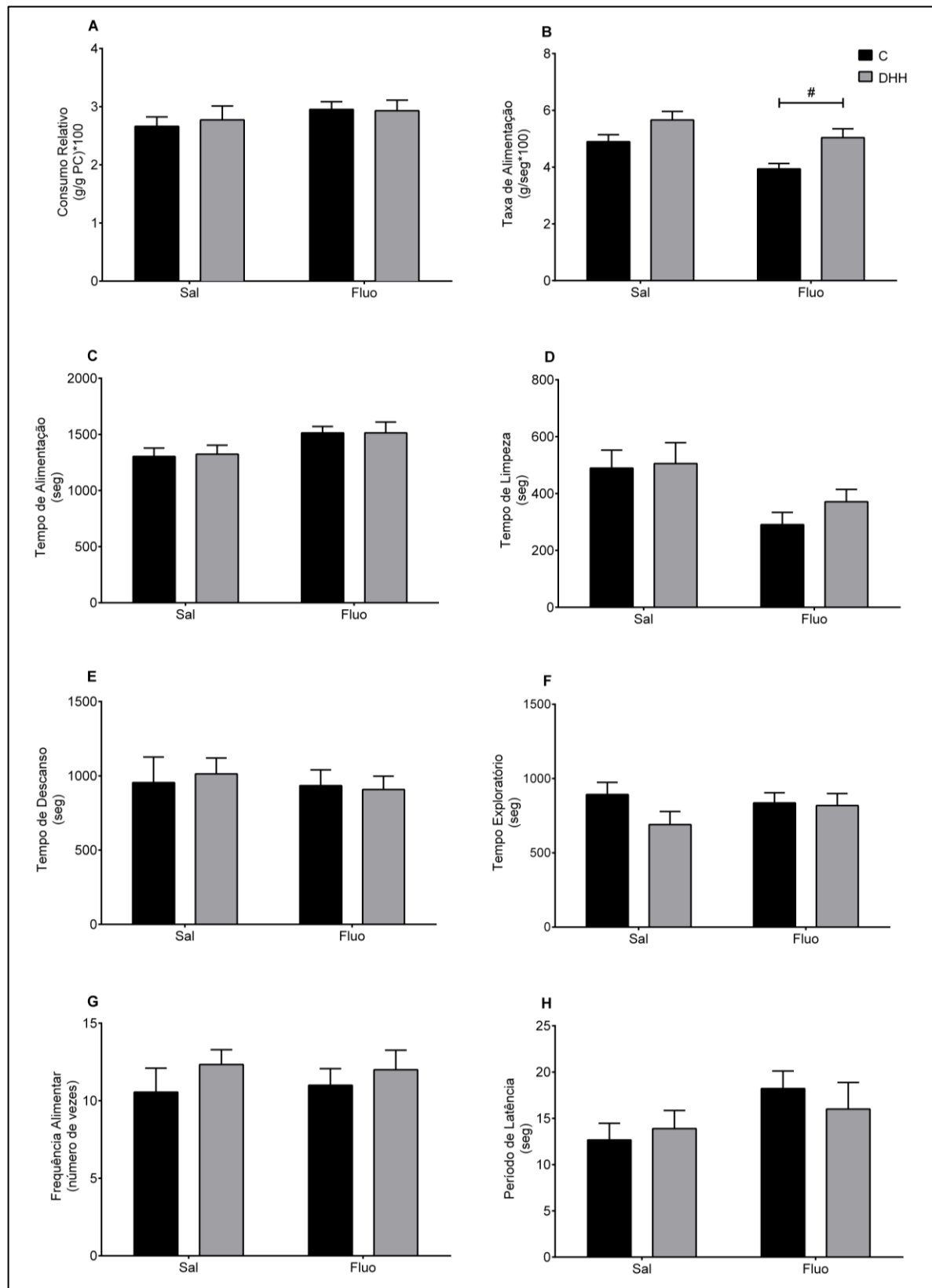
Ratas Wistar foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g). No 1º DPN, cada ninhada foi ajustada para 8 filhotes, onde metade deles foi tratado com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg, 10µl/g, n=4/ninhada) até o 21º DPN, constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); DHH + Salina (DHH-S) e DHH + Fluoxetina (DHH-F). No 60º DPN, um conjunto de animais realizou a SCS e, em seguida, foi submetido à perfusão transcardíaca para retirada do encéfalo. O ponto de saciedade representa o ponto de intersecção entre o tempo de alimentação e o tempo de repouso. Grupos: C-S (n=10); C-F (n=10); DHH-S (n=10); DHH-F (n=10). Dados expressos em SEM±EP. O n representa o número de ninhadas. Em caso de mais de uma unidade experimental advir da mesma ninhada para determinado experimento, foi realizada a média que representou o n da ninhada.

Em relação ao consumo relativo (g) na SCS, não houve interação do fármaco [$F(1,32) = 1,516$; $p=0,23$] e da dieta [$F(1,32)=0,059$; $p=0,81$] (Figura 10A). A análise da microestrutura da SCS verificou interação farmacológica [$F(1,32) = 8,751$; $p<0,01$] e nutricional [$F(1,32)=12,15$; $p=0,001$] quanto à taxa de alimentação. O pós-teste de Tukey identificou apenas que o grupo DHH-F apresentou maior taxa de alimentação que seu controle (C-F = $3,94 \pm 0,19$; DHH-F = $5,04 \pm 0,31$; $p<0,05$) (Figura 11B).

No que se refere ao tempo de alimentação, observou-se apenas interação do fármaco [$F(1,32) = 6,443$; $p=0,02$], entretanto, não foram observadas diferenças entre os grupos

experimentais (Figura 11C). A análise do tempo de limpeza identificou a interação farmacológica [$F(1,32) = 8,457$; $p < 0,01$], porém não houve diferenças entre os grupos experimentais (Figura 11D). Não foi verificado efeito do fármaco nem da dieta sobre os tempos de descanso (Figura 11E) e exploratório (Figura 11F), bem como sobre a frequência alimentar (Figura 11G) e o período de latência alimentar (Figura 11H).

Figura 11 - Consumo relativo e microestrutura da SCS.



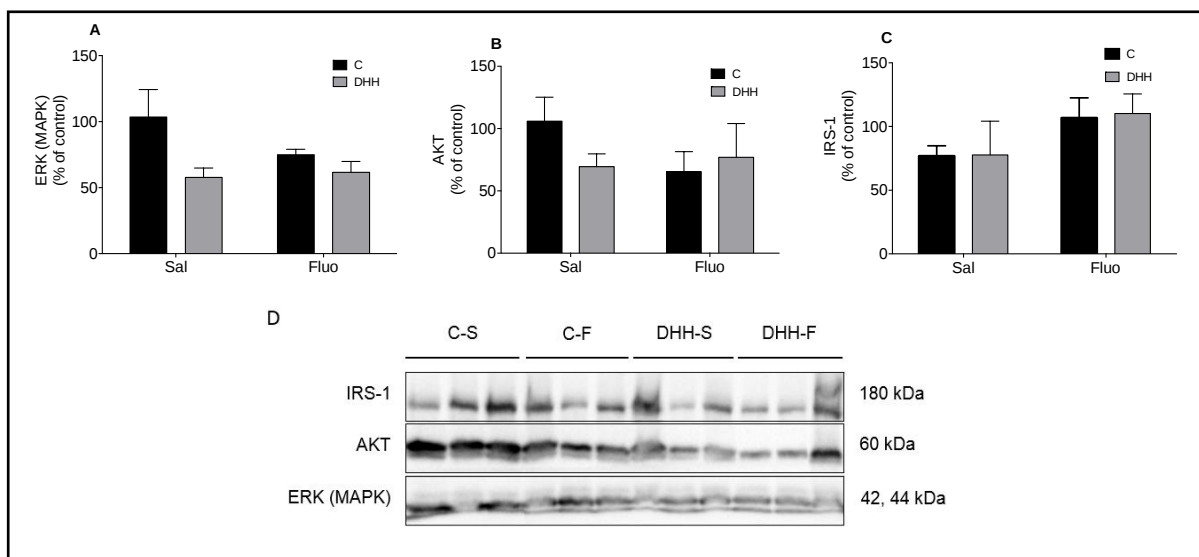
Consumo relativo (A), Taxa de Alimentação (B), Tempo de Alimentação (C), Tempo de Limpeza (D), Tempo de Descanso (E), Tempo Exploratório (F), Frequência Alimentar (G) e Período de Latência (H). Ratas *Wistar* foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C, 3,11 kcal/g) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g). No 1° DPN, cada ninhada foi ajustada para 8 filhotes, onde

metade deles foi tratado com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/kg, 10µl/g, n=4/ninhada) até o 21º DPN, constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); DHH + Salina (DHH-S) e DHH + Fluoxetina (DHH-F). No 60º DPN, um conjunto de animais realizou a SCS e, em seguida, foi submetido à perfusão transcardíaca para retirada do encéfalo. A fórmula usada para calcular o consumo alimentar relativo foi $[(\text{consumo (g)} / \text{peso corporal (g)}) * 100]$ e para a taxa de alimentação foi $[(\text{consumo (g)} / \text{tempo de alimentação (seg)}) * 100]$. Grupos: C-S (n=10); C-F (n=10); DHH-S (n=10); DHH-F (n=10). Dados expressos em SEM±EP. *Two Way ANOVA*, Tukey Pós-Teste. # representa as diferenças entre C-F e DHH-F. O n representa o número de ninhadas. Em caso de mais de uma unidade experimental advir da mesma ninhada para determinado experimento, foi realizada a média que representou o n da ninhada.

6.5 Expressão proteica de ERK1/2, AKT e IRS-1 no hipotálamo

As amostras de hipotálamos de animais com 60 dias de vida foram usadas para avaliar a expressão proteica de ERK1/2 (MAPK), AKT e IRS-1, representados na Figura 11. Em relação aos níveis de ERK1/2 (MAPK), observou-se apenas efeito da dieta [$F(1,17) = 6,679$; $p=0,02$]. No entanto, não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais (Figura 12A). Não foi encontrada interação do fármaco nem da dieta sobre os níveis de AKT (Figura 12B). Adicionalmente, a ANOVA *Two Way* demonstrou tendência aos efeitos da intervenção farmacológica sobre a expressão de IRS-1 [$F(1, 12) = 3.542$; $p = 0.0843$] (Figura 12C).

Figura 12 - Expressão proteica no hipotálamo.



A) ERK1/2 (MAPK), B) AKT, C) IRS-1, D) Representação da intensidade das bandas de *Western Blotting*. Os conteúdos foram normalizados pelo valor obtido da quantidade total de proteínas, conforme quantificado pela coloração de Ponceau. Grupos: C-S (n=5); C-F (n=6); DHH-S (n=5); DHH-F (n=5). Dados expressos em SEM±EP. *Two Way ANOVA*, Tukey Pós-Teste. O n representa o número de ninhadas (1 animal de 5-6 ninhadas diferentes).

7 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a prole submetida à inibição neonatal da recaptação da serotonina (INRS), apresentou menor peso corporal a partir do 10º dia de lactação e esse fenótipo persistiu até a vida adulta. O peso relativo do encéfalo foi maior entre os animais controle tratados com fluoxetina do que entre aqueles que não foram submetidos à manipulação farmacológica. Por outro lado, o grupo controle tratado com fluoxetina exibiu maior consumo calórico relativo comparado aos animais do mesmo grupo tratados com solução salina. Adicionalmente, o consumo calórico foi menor na prole que recebeu DHH associada à fluoxetina que nos animais alimentados com dieta controle associada à ISRS. Na SCS, os grupos controle e DHH tratados com fluoxetina apresentaram atraso no ponto de saciedade comparados aos seus controles. Já a taxa de alimentação foi maior nos grupos submetidos à ISRS. Adicionalmente, o uso neonatal de ISRS associado ou não ao maior aporte lipídico e calórico não foi relacionado a diferenças na ativação de ERK1/2 total, bem como da via IRS-1/AKT.

A prole alimentada com DHH no começo da vida apresentou maior peso corporal que os animais que consumiram dieta controle, do 19º DPN até o final da lactação. Ademais, os animais que foram submetidos à intervenção farmacológica durante a lactação apresentaram menor peso corporal, do 10º ao 21º DPN. O mesmo foi observado em estudo que utilizou prole de ratos *Sprague-Dawley*, alimentada por nutrizes que consumiram a dieta hiperlipídica (43% de gordura) durante a gestação e lactação, já que os mesmos também apresentaram maior peso corporal na terceira semana de lactação (CHOI, 2018). Ao contrário, filhotes advindos de nutrizes alimentadas com dieta hiperlipídica (52% de gordura) na gestação ou lactação apresentaram menor peso corporal do 7º ao 21º dia pós-natal, em comparação com os controles (MENDES-DA-SILVA *et al.*, 2014). Adicionalmente, ratos *Wistar* que utilizaram um o ISRS fluoxetina (10mg/kg) durante a lactação, também apresentaram redução no peso corporal do 8º ao 21º DPN (GALINDO *et al.*, 2015) e a partir do 9º DPN (MENDES-DA-SILVA *et al.*, 2002). Dessa forma, o delineamento do peso corporal no presente estudo aponta para a influência da inibição neonatal da recaptação da serotonina, via fluoxetina, sobre a redução do peso corporal durante a lactação, mesmo quando os animais foram submetidos ao maior aporte lipídico e calórico perinatal.

A INRS também foi associada ao menor peso corporal na prole com 30 dias de vida tenham estes animais sido submetidos à dieta controle ou DHH durante a gestação e lactação.

Cadena-Burbano e colaboradores (2017) não encontraram diferença de peso corporal em prole alimentada por nutrízes consumidoras de DHH (51% kcal de lipídeos) durante gestação e lactação aos 30 dias de vida. Cabe destacar que no estudo de Cadena-Burbano e colaboradores (2017), a dieta controle divergiu da utilizada no presente estudo, o que pode explicar a diferença nos resultados encontrados (CADENA-BURBANO *et al.*, 2017). Diversos estudos relataram um maior peso corporal na prole jovem exposta a dieta hiperlipídica que variou entre 46,0% a 49% kcal de lipídeos, durante gestação e lactação (MELO *et al.*, 2014; FANTE *et al.*, 2016; ORNELLAS *et al.*, 2016; LEMES *et al.*, 2017; DESAI *et al.*, 2020). Esse aumento no peso corporal persistiu até a vida adulta (FANTE *et al.*, 2016; ORNELLAS *et al.*, 2016; DESAI *et al.*, 2020). Em termos de intervenção farmacológica, Lee e Lee (2012) não encontraram diferenças no peso corporal aos 30 dias de vida em ratos que receberam o tratamento com cloridrato de fluoxetina (20 mg/kg) na lactação. No entanto, vale ressaltar que a administração farmacológica foi aguda e ocorreu do dia 0 ao 4º DPN.

A diferença de peso corporal persistiu, sendo este menor na prole com 60 dias de vida submetida à INRS associada ou não ao maior aporte lipídico e calórico. O estudo de DIAS-ROCHA *et al.*, 2017 verificou que ratos *Wistar* provenientes de mães que consumiram dieta hiperlipídica (28,6% de gordura) durante a gestação e lactação tiveram maior peso corporal na vida adulta (DIAS-ROCHA *et al.*, 2017). A redução de peso corporal também ocorreu em roedores que receberam tratamento com fluoxetina (14,2 mg/kg) dos 60 aos 81 dias de vida (SCABIA *et al.*, 2018). Scabia e colaboradores (2018) ainda verificaram que camundongos que consumiram dieta hiperlipídica por 9 semanas, a partir da 3ª semana de vida, e receberam tratamento com fluoxetina (10,8 mg/kg), da 7ª a 9ª semana de manipulação dietética, exibiram menor peso que o grupo controle (SCABIA *et al.*, 2018). Estudos do nosso grupo de pesquisa também revelaram que a INRS em prole de ratos promoveu redução no peso corporal (GALINDO *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2015) e nos índices murinométricos (SILVA *et al.*, 2019) a longo prazo, mesmo na presença de dietas com alto teor energético ou em modelo de superalimentação por redução de ninhada, respectivamente. Talvez este fato reforce a associação entre a INRS e um “fenótipo magro”, por exemplo, devido a maior capacidade termogênica e consumo de oxigênio nos principais tecidos metabólicos (BARROS *et al.*, 2018).

Em se tratando do peso de órgãos, o presente estudo identificou que apenas o peso relativo do encéfalo foi maior na prole que consumiu dieta padrão e foi submetida à INRS em relação ao seu grupo controle. Apesar de ainda serem escassos os estudos que tratem especificamente do peso do encéfalo e sua associação com a fluoxetina, foi demonstrado que a

prole jovem de ratos submetida à desnutrição precoce e tratada com fluoxetina (10 mg/kg; 2º ao 24ºDPN) apresentou menor peso úmido e seco do encéfalo (SANTOS *et al.*, 2006). Os autores verificaram que o tratamento farmacológico não afetou o peso encefálico em animais nutridos (SANTOS *et al.*, 2006). Adicionalmente, o consumo de dieta rica em ácidos graxos poli-insaturados (43% de calorias de lipídeos) na gestação contribuiu para um menor peso encefálico absoluto na prole feminina (RAYGADA *et al.*, 1998). No entanto não foram observadas diferenças no peso relativo do encéfalo em camundongos de ambos os sexos (RAYGADA *et al.*, 1998). De maneira semelhante ao estudo de Raygada e colaboradores (1998), o consumo materno de gordura saturada (65% de calorias de lipídeos) durante a gestação não revelou diferenças no peso relativo do encéfalo em ratos machos (CAN *et al.*, 2012). As alterações no peso dos órgãos são consideradas como um indicador dos possíveis efeitos provocados por fármacos (LAZIC *et al.*, 2020). Isso ocorre pelo fato de determinados fármacos afetarem o peso corporal e, conseqüentemente, o tamanho e o peso dos órgãos (LAZIC *et al.*, 2020). Por isso, calcula-se o peso relativo do órgão através da razão do peso do órgão pelo peso corporal (LAZIC *et al.*, 2020). No entanto, nenhum estudo avaliou o efeito da fluoxetina sobre o peso do encéfalo. Talvez as análises celulares de estruturas encefálicas que realizaremos em breve nos ajudem a compreender melhor os resultados referentes ao peso encefálico.

No presente estudo, apesar de exibir menor peso corporal, a prole que consumiu dieta padrão associada à INRS apresentou maior consumo calórico que o grupo sem o tratamento farmacológico. Vale destacar que a avaliação do consumo alimentar diário foi aferido no nível basal, diferentemente da SCS que houve uma condição de jejum. Corroborando este achado, foi demonstrado que ratos *Wistar* tratados com fluoxetina (10mg/kg) durante a lactação também apresentaram menor peso corporal que o grupo controle, entretanto, a ingestão alimentar não foi diferente entre os grupos (SILVA *et al.*, 2014; PINHEIRO *et al.*, 2017). Os ISRS estão relacionados com a redução da ingestão alimentar e do peso corporal (GARFIELD e HEISLER, 2009; GALINDO *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2019). No entanto, o período de aplicação do fármaco e a forma de administração (aguda ou crônica) pode interferir nos resultados (BARROS *et al.*, 2018). Nossos achados também demonstraram que a prole de ratas que consumiram a DHH associada à intervenção farmacológica apresentou menor consumo calórico relativo comparados aos animais que consumiram dieta controle e tiveram tratamento com fluoxetina, mesmo sem haver diferenças no peso corporal. No mesmo sentido dos achados do presente trabalho, outro estudo verificou que a intervenção farmacológica com fluoxetina

reduziu o peso corporal, mas não alterou a ingestão alimentar, entretanto promoveu maior gasto energético em camundongos que consumiram dieta hiperlipídica a partir da 3ª semana de vida (SCABIA *et al.*, 2018).

Kummet *et al.* (2012) sugerem que ratos tratados com fluoxetina do 8º ao 21º DPN exibem um estado hipermetabólico caracterizado pela manutenção do peso corporal associada a maiores consumo alimentar e consumo de oxigênio (VO_2). Ratos submetidos à INRS também apresentaram maior capacidade termogênica, maior consumo de oxigênio mitocondrial no tecido adiposo marrom e músculo esquelético, além de maior expressão da proteína desacopladora mitocondrial 1 (UCP-1) no tecido adiposo marrom na vida adulta (SILVA *et al.*, 2015). Esses resultados sugerem que a diferença no peso corporal não está relacionada apenas à ingestão alimentar (SILVA *et al.*, 2014), mas pode ser parcialmente explicada pelo aumento do gasto energético total (SCABIA *et al.*, 2018). No entanto, vale ressaltar que a avaliação do gasto energético não foi objetivo deste trabalho.

No presente estudo, houve um atraso no ponto de saciedade da prole ainda em período de desenvolvimento que recebeu DHH durante a gestação e lactação em relação à prole submetida à dieta controle. Além disso, os animais adultos submetidos à INRS apresentaram um atraso no ponto de saciedade em relação aos seus grupos controles. Um estudo observou que animais adultos expostos à dieta hiperlipídica (45% de gordura) por 10 dias tiveram um atraso no ponto de saciedade (DÍAZ-URBINA *et al.*, 2018). Entretanto, no decorrer dos dias, houve uma antecipação da saciedade (DÍAZ-URBINA *et al.*, 2018). Vale observar que o estímulo da dieta hiperlipídica foi agudo, visto que a SCS ocorreu no primeiro dia de exposição à dieta experimental (DÍAZ-URBINA *et al.*, 2018). Assim, a introdução de novos alimentos pode gerar uma resposta comportamental de neofobia alimentar, caracterizada por evitar o novo estímulo dietético até que ocorra adaptação (MODLINSKA e STRYJEK, 2016). Portanto, o que chama a atenção neste estudo é que os efeitos observados em ratos adultos jovens estão associados ao estímulo nutricional e/ou farmacológico no período perinatal. Em relação à manipulação farmacológica, é conhecido que a administração de fluoxetina (10mg/kg, i.p.) (HALFORD e BLUNDELL, 1996), do agonista do receptor 5-HT_{1B} (CP-94253; 5,0 mg/kg, i.p.) (HALFORD e BLUNDELL, 1996b) e do agonista do receptor 5-HT_{2C} (R0-4590334) (CLIFTON *et al.*, 2005) promoveram inibição da ingestão alimentar e antecipação do ponto de saciedade em ratos adultos. Já no presente estudo, a condição de jejum promoveu atraso no ponto de saciedade de saciedade em todos os grupos em relação ao controle e a utilização neonatal de fluoxetina não antecipou a saciedade em ratos adultos.

Quanto ao consumo alimentar na SCS, não foi observada diferença entre os grupos estudados. Por outro lado, Díaz-Urbina e colaboradores (2018) verificaram que os animais expostos à dieta hiperlipídica apresentaram maior consumo calórico apesar da menor ingestão de alimentos. Os autores sugeriram que o aumento do consumo calórico de forma aguda pode ter intensificado os sinais de saciedade e, com isso, houve a diminuição da ingestão alimentar no decorrer dos dias para impedir o ganho de peso (DÍAZ-URBINA *et al.* 2018). Esses dados contrapõem-se aos outros estudos que sugeriram que a dieta materna hiperlipídica crônica pode programar mudanças permanentes no controle do apetite da prole (ORNELLAS *et al.*, 2016) e, consequentemente, resultar em maior risco de obesidade na vida adulta (VOLPATO *et al.*, 2012; DESAI *et al.*, 2014).

De fato, os neurônios hipotalâmicos responsáveis pela regulação do balanço energético são susceptíveis a mudanças associadas à plasticidade (CHEN *et al.*, 2009). Assim, a dieta hiperlipídica pode alterar os circuitos neuronais hipotalâmicos e promover um aumento da expressão de neuropeptídeos relacionados com a fome, como NPY (ORNELLAS *et al.*, 2016; CHOI, 2018) e AgRP (WEI *et al.*, 2015; DESAI *et al.*, 2016; CHOI, 2018) no núcleo arqueado (ORNELLAS *et al.*, 2016), bem como uma diminuição de neuropeptídeos envolvidos no processo de saciedade, como POMC/CART (ORNELLAS *et al.*, 2016; CHOI, 2018). Em contrapartida, ao agir sobre os receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, a serotonina inibe os neurônios AgRP e ativa os neurônios POMC no núcleo arqueado, respectivamente, sinalizando para a saciedade (HEISLER *et al.*, 2006). Nosso grupo de pesquisa verificou que a intervenção farmacológica neonatal com fluoxetina promoveu aumento na expressão do receptor 5-HT_{2C} e redução do peptídeo NPY no hipotálamo em ratos expostos à dieta com alto teor energético durante 3 semanas a partir da idade de 180 dias (GALINDO *et al.*, 2015). Estes resultados sugerem que o uso neonatal de fluoxetina pode estar associado a um efeito tardio de *downregulation* hipotalâmica sobre a ingestão crônica de DHH na vida adulta frente ao maior aporte nutricional.

No que se refere aos componentes de microestruturas da SCS, foi observado que a utilização de fluoxetina neonatal foi capaz de aumentar a taxa de alimentação no grupo submetido à DHH perinatal em relação ao grupo controle que recebeu o mesmo estímulo farmacológico. Entretanto, não foram identificadas diferenças quando analisados os demais parâmetros que compõem a microestrutura da SCS. Um estudo verificou que animais expostos à dieta hiperlipídica apresentaram menor tempo de alimentação no 5º dia de SCS e maior tempo de limpeza no 10º dia, sem diferenças no tempo de repouso e atividades locomotoras (DÍAZ-

URBINA *et al.*, 2018). Ao contrário do que observamos, os animais que receberam apenas a intervenção farmacológica aguda com fluoxetina apresentaram uma diminuição na taxa de alimentação (HALFORD e BLUNDELL, 1996). Adicionalmente, Lee e Clifton (1992) demonstraram que os animais adultos submetidos à administração aguda de fluoxetina (5mg/kg) apresentaram maior latência para se alimentar, redução no tamanho da refeição, sem diferença no número de refeições. Os receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} medeiam os efeitos de saciedade através da redução do consumo alimentar, bem como da duração do comportamento de alimentação (LEE *et al.*, 2002; HALFORD *et al.*, 2005; SOMERVILLE *et al.*, 2007). No entanto, o tamanho reduzido da refeição parece ser dependente da ativação dos receptores 5-HT_{1B}, enquanto a redução da taxa de alimentação parece ser resultante da estimulação seletiva dos receptores 5-HT_{2C} (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Dessa forma, neste trabalho, os estímulos nutricional e farmacológico precoces podem ter alterado componentes hipotalâmicos do controle do comportamento alimentar.

As investigações acerca da expressão proteica hipotalâmica demonstraram que a INRS associada ou não ao maior aporte lipídico e calórico não foi relacionada a diferenças na ativação de ERK1/2 total, bem como da via IRS-1/AKT. Tanto a via de sinalização PI3K, inserida na via PI3K/AKT (DONATO-JUNIOR *et al.*, 2010), quanto a ERK1/2 participam da homeostase energética (DONATO-JUNIOR *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2015). Verificamos a expressão de AKT no hipotálamo, um mensageiro a jusante de PI3K. Adicionalmente, foi investigada a expressão do substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1), inserida na via IRS/PI3K/AKT (DONATO-JUNIOR *et al.*, 2010). Primeiramente, UHEYAMA *et al.*, 2004 demonstraram que a ERK é sensível ao estado de alimentação tendo sido ativada no ARC e NPV durante estado de jejum. Por outro lado, vários sinais periféricos relacionados ao balanço energético atuam no hipotálamo (TIMPER e BRÜNING, 2017). A insulina, por exemplo, ativa os neurônios POMC/CART e inibe os neurônios NPY/AgRP (TIMPER e BRÜNING, 2017), via IRS/PI3K/AKT (CASTRO *et al.*, 2013), promovendo uma diminuição da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (TIMPER e BRÜNING, 2017). Um estudo encontrou uma menor razão pERK/ERK e maior razão pAKT/AKT em hipotálamos de camundongos com 21 dias de vida alimentados por mães que consumiram dieta hiperlipídica (60% de calorias de lipídeos) durante a gestação e lactação (BAE-GARTZ *et al.*, 2019). Camundongos adultos submetidos expostos à dieta hiperlipídica por 12 semanas também apresentaram redução na razão pERK/ERK e IRS-1, sem diferenças na expressão de AKT (LIU *et al.*, 2015). Dearden e colaboradores (2020) verificaram um aumento de AKT total no hipotálamo fetal (13º

embrionário), sem diferenças nos valores de p-AKT entre camundongos expostos ou não a dieta materna hiperlipídica. Os autores ainda demonstraram redução na expressão de IRS-1, p-IRS-1 e p-ERK, entretanto, também não evidenciaram diferenças nos níveis de ERK total hipotalâmico (DEARDEN *et al.*, 2020).

A administração de fluoxetina também está associada na regulação da via ERK e AKT. A ligação da serotonina ao seu receptor 5-HT_{2C} ativa uma cascata de sinalização intracelular (STAMM *et al.*, 2017). Após ativação de ERK ocorre uma fosforilação de c-Fos e, consequentemente, síntese de POMC (STAMM *et al.*, 2017). Ao avaliar o efeito de um ISRS nos aspectos celulares e moleculares, estudo relatou uma ativação da via ERK (pERK/ERK) em ratos adultos tratados com fluoxetina durante 3 semanas (BARONE *et al.*, 2018). Huang e colaboradores (2012) evidenciaram um aumento de p-AKT e p-ERK 1/2 em tecidos cerebrais de ratos *Wistar* (E15-16) tratados com fluoxetina. Mudanças limitadas foram observadas na ERK total, sugerindo que o tratamento crônico com fluoxetina afeta a ERK na sua forma fosforilada (p-ERK) (FUMAGALLI *et al.*, 2005). No entanto, o presente estudo avaliou apenas a ERK total, o que pode representar uma limitação do estudo.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a intervenção farmacológica neonatal foi capaz de promover menor peso corporal desde a lactação até a vida adulta, mesmo diante de dieta com alto teor energético. Entretanto, o consumo materno de DHH foi associado ao atrasar no ponto de saciedade da prole e a INRS não foi capaz de reverter essa alteração.

Em termos moleculares, houve efeito da dieta materna sobre a expressão de ERK1/2 (MAPK), bem como observou-se tendência de efeito da intervenção farmacológica neonatal sobre a expressão de IRS-1 da prole. Sendo assim, os estímulos farmacológico e nutricional durante o período crítico de desenvolvimento parecem interferir na expressão do peso corporal, no comportamento alimentar e na expressão de proteínas hipotalâmicas relacionadas ao balanço energético da prole adulta jovem.

REFERÊNCIAS

- BAE-GARTZ, I.; JANOSCHEK, R.; BREUER, S.; SCHMITZ, L.; HOFFMANN, T.; FERRARI, N.; BRANIK, L.; OBERTHUER, A.; KLOPPE, CS.; APPEL, S.; VOHLEN, C.; DÖTSCH, J.; HUCKLENBRUCH-ROTHER, E. Maternal Obesity Alters Neurotrophin-Associated MAPK Signaling in the Hypothalamus of Male Mouse Offspring. **Front Neurosci**, Lausanne, v. 13, p. 962, 2019.
- BAGNOL, D.; AL-SHAMMA, H. A.; BEHAN, D.; WHELAN, K.; GROTTICK, A. J. Diet-Induced Models of Obesity (DIO) in Rodents. **Current Protocols Neuroscience**, New York, v. 59, n. 1, p. 1-13, 2012.
- BALTHASAR, N., DALGAARD, L. T., LEE, C.E., YU, J., FUNAHASHI, H., WILLIAMS, T., FERREIRA, M., TANG, V., MCGOVERN, R. A., KENNY, C. D., CHRISTIANSEN, L. M., EDELSTEIN, E., CHOI, B., BOSS, O., ASCHKENASI, C., ZHANG, C. Y., MOUNTJOY, K., KISHI, T., ELMQUIST, J. K., LOWELL, B. B. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. **Cell**, Cambridge, v. 123, n. 3, p. 493-505, 2005.
- BARKER, D. J. Fetal origins of coronary heart disease. **British Medical Journal**, London, v. 311, n. 6998, p. 171-174, 1995.
- BARKER, D. J. P., OSMOND, C., WINTER, P.D., MARGETTS, B., SIMMONDS, S. J. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. **The Lancet**, London, v. 2, n. 8663, p.577-580, 1989.
- BARONE, I.; MELANI, R.; MAINARDI, M.; SCABIA, G.; SCALI, M.; DATTILO, A.; CECCARINI, G.; VITTI, P.; SANTINI, F.; MAFFEI, L.; PIZZORUSSO, T.; MAFFEI, M. Fluoxetine Modulates the Activity of Hypothalamic POMC Neurons via mTOR Signaling. **Mol Neurobiol**, Clifton, v.55, n.12, p.9267-9279, 2018.
- BARROS, M. DA L.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; ALVES, D. T.; QUEVEDO, O. G.; TOSCANO, A. E.; ⁴, BONNIN, A.; GALINDO, L. Long term effects of neonatal exposure to fluoxetine on energy balance: A systematic review of experimental studies. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam, v. 833, p. 298-306, 2018.
- BERLE, J. O.; SPIGSET, O. Antidepressant Use During Breastfeeding. **Curr Womens Health Rev.**, San Francisco, v.7, n.1, p.28-34, 2011.
- BHASKAR, P. T.; HAY, N. The Two TORCs and Akt. **Developmental Cell**, Cambridge, v. 12, n. 4, p. 487–502, 2007.
- BORUE, X.; CHEN, J.; CONDRON, B. G. Developmental Effects of SSRI's – Lessons learned from Animal Studies. **Int J Dev Neurosci**, Hoboken, v. 25, n. 6, p. 341–347, 2007.
- BOSCHMANN, M.; FRENZ, U.; MURPHY, C.M.; NOACK, R. Changes in energy metabolism and metabolite patterns of obese rats after application of dexfenfluramine. **Pharmacol Biochem Behav**, Tarrytown, v. 53, p. 549 –558, 1996.

BOURET, S. G. Nutritional programming of hypothalamic development: critical periods and windows of opportunity. **International Journal of Obesity Supplements**, London, v. 2, supl. 2, p. S19–24, 2012.

BOURET, S. G.; DRAPER, S. J.; SIMERLY, R. B. Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. **Journal of Neuroscience**, Washington, v. 24, n. 11, p. 2797-805, 2004.

BLOUET, C.; ONO, H.; SCHWARTZ, G. J. Mediobasal hypothalamic p70 S6 kinase 1 modulates the control of energy homeostasis. **Cell Metab**, Cambridge, v. 8, n. 6, p. 459–467, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 7, n. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigitel Brasil 2006 - 2016**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BREISCH, S.T.; ZEMLAN, F.P.; HOEBEL, B.G. Hyperphagia and obesity following serotonin depletion by intraventricular p-chlorophenylalanine. **Science**, Washington, v. 192, p. 382-385, 1976.

BRETT, K. E.; FERRARO, Z. M.; YOCKELL-LELIEVRE, J.; GRUSLIN, A.; ADAMO, K. B. Maternal-fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: the role of the placenta. **International Journal of Molecular Science**, Basel, Switzerland, v. 15, n. 9, p. 16153-16185, 2014.

BRIAUD, I.; KELPE, C. L.; JOHNSON, L. M.; TRAN, P. O. T.; POITOUT, V. Differential Effects of Hyperlipidemia on Insulin Secretion in Islets of Langerhans From Hyperglycemic Versus Normoglycemic Rats. **Diabetes**, Alexandria, v. 51, n. 3, p. 662-668, 2002.

BURKE, J. P.; FORSGREN, J.; PALUMBO, P. J.; BAILEY, K. R.; DESAI, J. D.; DEVLIN, H.; LEIBSON, C. L. Association of birth weight and type 2 diabetes in Rochester, Minnesota. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 27, n. 10, p. 2512-2513, 2004.

CADENA-BURBANO, E. V.; CAVALCANTI, C. C. L.; LAGO, A. B.; BENJAMIM, R. DE A. C.; OLIVEIRA, T. R. DOS P.; SILVA, J. M.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; ARAGÃO, R. DA S. A maternal high-fat/high-caloric diet delays reflex ontogeny during lactation but enhances locomotor performance during late adolescence in rats. **Nutritional Neuroscience**, Abingdon, v. 22, n. 2, p. 98-109, 2019.

CAN, O. D.; ULUPINAR, E.; OZKAY, U. D.; BENGI YEGIN, B.; OZTURK, Y. The effect of simvastatin treatment on behavioral parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. **Behavioural Pharmacology**, London, v. 23, n. 5-6, p. 582-592, 2012.

- CASTRO, G.; AREIASA, M. F. C.; WEISSMANNA, L.; QUARESMAA, P. G. F.; KATASHIMAA, C. K.; SAADA, M. J. A.; PRADA, P. O. Diet-induced obesity induces endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the amygdala of rats. **FEBS Open Bio**, Amsterdam, v.3, p. 443-449, 2013.
- CHADHA, A.; SUR, C.; ATACK, J.; DUTY, S. The 5HT(1B) receptor agonist, CP-93129, inhibits [(3)H]-GABA release from rat globus pallidus slices and reverses akinesia following intrapallidal injection in the reserpine-treated rat. **Br. J. Pharmacol.**, London, v. 130, p. 1927-1932, 2000.
- CHAGRAOUI, A.; THIBAUT, F.; SKIBA, M.; THUILLEZ, C.; BOURIN, M. 5-HT_{2C} receptors in psychiatric disorders: A review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, Oxford, v. 66, p. 120–135, 2016.
- CHEN, H.; SIMAR, D.; MORRIS, M. J. Hypothalamic Neuroendocrine Circuitry is Programmed by Maternal Obesity: Interaction with Postnatal Nutritional Environment. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 4, n. 7, p. 1-10, 2009.
- CHOI, J. S. Effects of Maternal and Post-Weaning High-Fat Diet on Leptin Resistance and Hypothalamic Appetite Genes in Sprague Dawley Rat Offspring. **Clinical Nutrition Research**, Seoul, v. 7, n. 4, p. 276-290, 2018.
- CLIFTON, P. G.; KENNETT, G. A.; THORNTON-JONES, Z. D.; SOMERVILLE, E. M. RO-4590334 (VER23779) is a selective 5-HT_{2C} receptor agonist that induces hypophagia via an enhancement in satiety and activates brain regions implicated in feeding behaviour. **Behav Pharmacol**, Utrecht, The Netherlands, v. 16, Supl. B4, p. S66, 2005.
- CONE, R. D. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. **Nature Neuroscience**, New York, v. 8, n. 5, p. 571-578, 2005.
- COTA, D.; PROULX, K.; SMITH, K. A. B.; KOZMA, S. C.; THOMAS, G.; WOODS, S. C.; SEELEY, R. J. Hypothalamic mTOR Signaling Regulates Food Intake. **Science**, London, v. 312, n. 5775, p. 927–930, 2006.
- COTA, D.; MATTER, E.K.; WOODS, S.C.; SEELEY, R.J. The role of hypothalamic mammalian target of rapamycin complex 1 signaling in diet-induced obesity. **J. Neurosci**, Washington, v. 28, p. 7202–7208, 2008.
- CRUZ, C. D.; CRUZ, F. The ERK 1 and 2 Pathway in the Nervous System: From Basic Aspects to Possible Clinical Applications in Pain and Visceral Dysfunction. **Curr Neuroparmacol**, San Francisco, v. 5, n. 4, p. 244–252, 2007.
- DEARDEN, L.; BULLER, S.; FURIGO, I. C., FERNANDEZ-TWINN, D. S.; OZANNE, S. E. Maternal obesity causes fetal hypothalamic insulin resistance and disrupts development of hypothalamic feeding pathways. **J Adv Res**, München, Germany, v. 8, n. 6, p. 743–752, 2020.
- DESAI, M.; FERRINI, M. G.; HAN, G.; NARWANI, K.; ROSS, M. G. Maternal high fat diet programs male mice offspring hyperphagia and obesity: Mechanism of increased appetite

neurons via altered neurogenic factors and nutrient sensor ampk. **Nutrients**, Basel, Switzerland, v. 12, n. 11, p. 3326, 2020.

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**, London, v. 1, n. 99, p. 193–199, 2016.

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**, New York, v. 211, n. 3, p. e1-237.e13, 2014.

DIAS, P. C.; HENRIQUES, P.; ANJOS, L. A.; BURLANDY, L. Obesity and public policies: the Brazilian government's definitions and strategies. **Cadernos Saúde Pública**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1-11, 2017.

DIAS-ROCHA, CAMILLA P.; ALMEIDA, MARIANA M.; SANTANA, ERIKA M.; COSTA, JULIA C.B.; FRANCO, JULIANA G.; PAZOS-MOURA, CARMEN C.; TREVENZOL, ISIS H. Maternal high-fat diet induces sex-specific endocannabinoid system changes in newborn rats and programs adiposity, energy expenditure and food preference in adulthood. **J Nutr Biochem**, Stoneham, USA, n. 51, p. 56–68, 2017.

DIAZ-URBINA, D.; ESCARTIN-PEREZ, R. E.; LOPEZ-ALONSO, V. E.; MANCILLA-DIAZ, J. M. Effects of a high-fat diet on behavioral eating patterns. **Act Colomb Psicol**, Bogotá, v. 21, n. 1, p. 95-115, 2018.

DODD, G. T.; KIM, S. J.; MÉQUINION, M.; XIROUCHAKI, C. E.; BRÜNING, J. C.; ANDREWS, Z. B.; TIGANIS, T. Insulin signaling in AgRP neurons regulates meal size to limit glucose excursions and insulin resistance. **Science Advances**, Washington, v. 7, n. 9, p. eabf4100, 2021.

DONAVAN, M. H.; TECOTT, L. H. Serotonin and the regulation of mammalian energy balance. **Frontiers in Neuroscience**, Lausanne, v. 7, n. 36, p. 1-15, 2013.

DONATO-JUNIOR, J.; FRAZÃO, R.; FUZETI ELIAS, C. F. The PI3K signaling pathway mediates the biological effects of leptina. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 54, n. 7, p. 591-602, 2010.

DREHER, M. L. Role of fiber and healthy dietary patterns in body weight regulation and weight loss. **Advances in Obesity, Weight Management & Control**, Budapest, v. 3, n. 5, p. 244–255, 2015.

FANTE, T.; SIMINO, L. A.; REGINATO, A.; PAYOLLA, T. B.; VITORELI, D. C. G.; MONIQUE, DE S.; TORSONI, M. A.; MILANSKI, M.; TORSONI, A. S. Diet-induced maternal obesity alters insulin signaling in male mice offspring rechallenged with a high-fat diet in adulthood. **PloS One**, San Francisco, v. 11, n. 8, p. e0160184, 2016.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; CONSTÂNCIA, M.; OZANNE, S. E. Intergenerational epigenetic inheritance in models of developmental programming of adult disease. **Semin Cell Dev Biol**, London, v. 43, p. 85–95, 2015.

FUMAGALLI, F.; MOLTENI, R.; CALABRESE, F.; FRASCA, A.; RACAGNI, G.; RIVA, M. A. Chronic fluoxetine administration inhibits extracellular signal-regulated kinase 1/2 phosphorylation in rat brain. **J Neurochem**, Oxford, v. 93, n. 6, p. 1551-60, 2005.

GALINDO, L. C. M.; BARROS, M. DA L. D.; PINHEIRO, I. L.; SANTANA, R. V.; DE MATOS, R. J.; LEANDRO, C. G.; DE SOUZA, S. L. DE.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Neonatal serotonin reuptake inhibition reduces hypercaloric diet effects on fat mass and hypothalamic gene expression in adult rats. **Int J Dev Neurosci**, Hoboken, v. 46, p. 76-81, 2015.

GARFIELD, A. S.; HESLER, L. K. Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. **Journal Physiological**, Oxford, v. 587, pt. 1, p. 49-60, 2009.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; COOPER, C.; THORNBURG, K. L. Effect of In Utero and Early-Life Conditions on Adult Health and Disease. **N Engl J Med**, Boston, v. 359, n. 1, p. 61-73, 2008.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BATESON, P.; BEEDLE, A. S.; LAW, C. M.; BHUTTA, Z. A.; ANOKHIN, K. V.; BOUGNERES, P.; CHANDAK, G. R.; DASGUPTA, P.; SMITH, G. D.; ELLISON, P. T.; FORRESTER, T. E.; GILBERT, S. F.; JABLONKA, E.; KAPLAN, H.; PRENTICE, A. M.; SIMPSON, S. J.; UAUY, R.; WEST-EBERHARD, M. J. Towards a new developmental synthesis: adaptive developmental plasticity and human disease. **Lancet**, London, v. 373, p. 1654-1657, 2009.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; SPENCER, H. G. Predictive adaptive responses and human evolution. **Trends Ecol Evol**, Barking, v. 20, n. 10, p. 527-533, 2005.

GLYNN, L. M.; SANDMAN, C. A. Prenatal Origins of Neurological Development: A Critical Period for Fetus and Mother. **Current Directions in Psychological Science**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 384-389, 2011.

GRAYSON, B. E.; ALLEN, S. E.; BILLES, S. K.; WILLIAMS, S. M.; SMITH, M. S.; GROVE, K. L. Prenatal development of hypothalamic neuropeptide systems in the nonhuman primate. **Neuroscience**, New York, v. 143, p. 975-986, 2006.

GUPTA, A.; SRINIVASAN, M.; THAMADILOK, S.; PATEL, M. S. Hypothalamic alterations in fetuses of high fat diet-fed obese female rats. **J Endocrinol**, Bristol, UK, n. 200, p. 293-300, 2009.

HAGAN, C. E.; MCDEVITT, R.A.; LIU, Y.; FURAY, A. R.; NEUMAIER, J. F. 5-HT(1B) autoreceptor regulation of serotonin transporter activity in synaptosomes. **Synapse**, Hoboken, v. 66, n. 12, p. 1024-34, 2012.

HALEEM, D. J.; MAHMOOD, K. Brain serotonin in high-fat diet-induced weight gain, anxiety and spatial memory in rats. **Nutr Neurosci**, Abingdon, v. 22, p. 1-10, 2019.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, Berlin, v. 35, n. 7, p. 595-601, 1992.

HALFORD, J. C.; BLUNDELL J. E. Metergoline antagonizes fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. **Pharmacol Biochem Behav**, Tarrytown, v. 54, n. 4, p. 745-751, 1996.

HALFORD, J. C.; BLUNDELL, J. E. The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. **Physiol Behav**, New York, v. 60, n. 3, p. 933–939. 1996b.

HALFORD, J.; HARROLD, J.; LAWTON, C.; BLUNDELL, J. Serotonin (5-HT) Drugs: Effects on Appetite Expression and Use for the Treatment of Obesity. **Curr Drug Targets**, Saif Zone, Sharjah, UAE, v. 6, n. 2, p. 201–213, 2005.

HALFORD, J. C.; WANNINAYAKE, S. C.; BLUNDELL, J. E. Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **Pharmacol Biochem Behav**, Tarrytown, v. 61, n. 2, p. 159-168, 1998.

HEISLER, L. K.; JOBST, E. E.; SUTTON, G. M.; ZHOU, L.; BOROK, E.; THORNTON-JONES, Z.; LIU, H. Y.; ZIGMAN, J. M.; BALTHASAR, N.; KISHI, T.; LEE, C. E.; ASCHKENASI, C. J.; ZHANG, C. Y.; YU, J.; BOSS, O.; MOUNTJOY, K. G.; CLIFTON, P. G.; LOWELL, B. B.; FRIEDMAN, J. M.; HORVATH, T.; BUTLER, A. A.; ELMQUIST, J. K.; COWLEY, M. A. Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. **Neuron.**, Cambridge, v. 51, n. 2, p. 239-249, 2006.

HENDRICK, V.; STOWE, Z. N.; ALTSHULER, L. L.; HWANG, S.; LEE, E.; HAYNES, D. Placental Passage of Antidepressant Medications. **American Journal of Psychiatry**, Arlington, EUA, v. 160, n. 5, p. 993–996, 2003.

HERRERA, E.; RAMOS, M. P. Long-term effects of trans fatty acid intake during pregnancy and lactation: does it have deleterious consequences? **Future Lipidology**, London, v. 3, n. 5, p. 489-494, 2008.

HOPKINS, M.; BLUNDELL, J. E. Energy balance, body composition, sedentariness and appetite regulation: pathways to obesity. **Clin Sci.**, London, v. 130, n. 18, p. 1615-1628, 2016.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacol Biochem Behav**, Tarrytown, v. 71, p. 533-554, 2002.

HU, F. B. **Obesity epidemiology**. USA: Oxford University Press, 2008.

HUANG, W.; ZHAO, Y.; ZHU, X.; CAI, Z.; WANG, S.; YAO, S.; QI, Z.; XIE, P. Fluoxetine Upregulates Phosphorylated-AKT and Phosphorylated-ERK1/2 Proteins in Neural Stem Cells: Evidence for a Crosstalk between AKT and ERK1/2 Pathways. **J Mol Neurosci**, Totowa, EUA, v. 49, n. 2, p. 244–249, 2012.

INNIS, S. M. Essential fatty acid transfer and fetal development. **Placenta**, Amsterdam, v. 26, p. S70–S75, 2005.

IQBAL, M. P. Trans fatty acids - A risk factor for cardiovascular disease. **Pak J Med Sci**, Karachi, Pakistan, v. 30, n. 1, p. 194-7, 2014.

- JHANWAR-UNIYAL, M.; WAINWRIGHT, J. V.; MOHAN, A. L.; TOBIAS, M. E.; MURALI, R.; GANDHI, C. D.; SCHMIDT, M. H. Diverse signaling mechanisms of mTOR complexes: mTORC1 and mTORC2 in forming a formidable relationship. **Advances in Biological Regulation**, United Kingdom, v. 72, p. 51-62, 2019.
- JORNAYVAZ, F. R.; VOLLENWEIDER, P.; BOCHUD, M.; MOOSER, V.; WAEBER, G.; MARQUES-VIDAL, P. Low birth weight leads to obesity, diabetes and increased leptin levels in adults: the Cola study. **Cardiovasc Diabetol**, London, v. 15, n. 73, p. 1-10, 2016.
- KABARAN, S.; BESLER, H. T. Do fatty acids affect fetal programming? **Journal of Health, Population and Nutrition**, London, v. 33, n. 14, p. 1-9, 2015.
- KAWAI, S.; TAKAGI, Y.; KANEKO, S.; KUROSAWA, T. Effect of Three Types of Mixed Anesthetic Agents Alternate to Ketamine in Mice. **Exp Anim**, Tokyo, v.60, n.5, p.481-487, 2011.
- KIM, M.; BAE, S. J.; LIM, K-M. Impact of High Fat Diet-induced Obesity on the Plasma Levels of Monoamine Neurotransmitters in C57BL/6 Mice. **Biomolecules & Therapeutics**, Republic of Korea, v.21, n.6, p.476-480, 2013.
- KISHI, T.; ASCHKENASI, C. J.; LEE, C.E.; MOUNTJOY, K. G.; SAPER, C.B., ELMQUIST, J.K. Expression of melanocortin 4 receptor mRNA in the central nervous system of the rat. **J Comp Neurol**, New Jersey, v.457, n.3, p.213-35, 2003.
- KITAGISHI, Y.; KOBAYASHI, M.; KIKUTA, K.; MATSUDA, S. Roles of PI3K/AKT/GSK3/mTOR Pathway in Cell Signaling of Mental Illnesses. **Depression Research and Treatment**, London, v.2012, p.1-9, 2012.
- KOE, B. K.; NIELSEN, J. A.; MACOR, J. E.; HEYM, J. Biochemical and Behavioral Studies of the 5-HT₂ Receptor Agonist, CP-94,253. **Drug Development Research**, New Jersey, v. 26, n.3, p.241-250, 1992.
- KRAUS, C.; CASTRÉN, E.; KASPER, S.; LANZENBERGER, R. Serotonin and neuroplasticity – Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v.77, p.317–326, 2017.
- KUMMET, G. J.; HASKELL, S. E.; HERMANN, G. M.; NI, C.; VOLK, K. A.; YOUNES, A. K.; MILLER, A. K.; ROGHAIR, R. D. Neonatal SSRI Exposure Programs a Hypermetabolic State in Adult Mice. **Journal of Nutrition and Metabolism**, London, v.2012, n.431574, p.1-9, 2012.
- KUH, D.; BEN-SHLOMO, Y.; LYNCH, J.; HALLQVIST, J.; POWER, C. Life course epidemiology. **Journal of Epidemiology & Community Health**, London, v.57, p.778–783, 2003.
- LABASQUE, M.; MEFFRE, J.; CARRAT, G.; BECAMEL, C.; BOCKAERT, J.; MARIN, P. Constitutive activity of Serotonin_{2C} receptors at G protein-independent signaling: modulation by RNA editing and antidepressants. **Mol Pharmacol**, Washington, v.78, p.818–826, 2010.

LAM, D. D.; PRZYDZIAL, M. J.; RIDLEY, S.H.; YEO, G. S. H.; ROCHFORD, J. J.; O'RAHILLY, S.; HEISLER, L. K. Serotonin 5-HT_{2C} Receptor Agonist Promotes Hypophagia via Downstream Activation of Melanocortin 4 Receptors. **Endocrinology**, Oxford, v.149, n.3, p.1323–1328, 2008.

LAPLANTE, M.; SABATINI, D. M. mTOR signaling in growth control and disease. **Cell**, London, v.149, n.2, p.274–293, 2012.

LAWLOR, D. A.; SMITH, G. D.; O'CALLAGHAN, M.; ALATI, R.; MAMUN, A. A.; WILLIAMS, G. M.; NAJMAN, J. M. Epidemiologic evidence for the fetal overnutrition hypothesis: findings from the mater-university study of pregnancy and its outcomes. **American Journal Epidemiology**, Oxford, v.165, n.4, p.418-24, 2007.

LAZIC, S. E.; SEMENOVA, E.; WILLIAMS, D. P. Determining organ weight toxicity with Bayesian causal models: Improving on the analysis of relative organ weights. **Scientific Reports**, London, v.10, n.6625, 2020.

LEE, M. D.; CLIFTON, P. G. Partial reversal of fluoxetine anorexia by the 5-HT antagonist metergoline. **Psychopharmacology**, New York, v.107, n.2-3, p.359–364, 1992.

LEE, M. D.; KENNETT, G. A.; DOURISH, C. T.; CLIFTON, P. G. 5-HT_{1B} receptors modulate components of satiety in the rat: behavioural and pharmacological analyses of the selective serotonin _{1B} agonist CP-94,253. **Psychopharmacology**, New York, v.164, n.1, p.49-60, 2002.

LEE, L. J.; LEE, L. J. Neonatal fluoxetine exposure alters motor performances of adolescent rats. **Dev Neurobiol**, New Jersey, v.72, n.8, p.1122-1132, 2012.

LEIBOWITZ, S. F., ALEXANDER, J. T. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. **Biological Psychiatry**, Amsterdam, v.44, n.9, p.851-864, 1998.

LEMES, S. F.; DE SOUZA, C. P.; PAYOLLA, T. B.; VERSUTTI, M. D.; RAMALHO, A. F. S.; MENDES-DA-SILVA, C.; SOUZA, C. M.; MILANSKI, M.; TORSONI, A. S.; TORSONI, M. A. Maternal Consumption of High-Fat Diet in Mice Alters Hypothalamic Notch Pathway, NPY Cell Population and Food Intake in Offspring, **Neuroscience**, New York, v.371, p.1-15, 2017.

LEYSEN, J. E. 5-HT₂ receptors. **Curr Drug Targets-CNS Neurol Disord**, Sharjah, United Arab Emirates, v.3, p.11-26, 2004.

LIU, Y.; FANBURG, B. L. Serotonin-induced Growth of Pulmonary Artery Smooth Muscle Requires Activation of Phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine Protein Kinase B/mammalian Target of rapamycin/p70 Ribosomal S6 Kinase 1. **Am J Respir Cell Mol Biol**, New York, v.34, n.2, p.182-191, 2006.

LIU, Z.; PATIL, I. Y.; JIANG, T.; SANCHETI, H.; WALSH, J. P.; STILES, B. L.; YIN, F.I; CADENAS, E.; LUQUE, R. M. High-Fat Diet Induces Hepatic Insulin Resistance and Impairment of Synaptic Plasticity. **PLoS One**, San Francisco, v.10, n.5, e0128274, 2015.

MACEDO, I. C.; MEDEIROS, L. F.; OLIVEIRA, C.; OLIVEIRA, C. M.; ROZISKY, J. R.; SCARABELOT, V. L.; SOUZA, A.; SILVA, F. R.; SANTOS, V. S.; CIOATO, S. G.; CAUMO, W.; TORRES, I. L. S. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, Amsterdam, v.38, n.1, p.189-196, 2012.

MAGNUSON, B.; EKIM, B.; FINGAR, D. C. Regulação e função da proteína ribossômica S6 quinase (S6K) nas redes de sinalização mTOR. **Biochemical Journal**, London, v.441, n.1, p.1-21, 2012.

MASSON, J.; EMERIT, M. B.; HAMON, M.; DARMON, M. Serotonergic signaling: multiple effectors and pleiotropic effects. **WIREs Membr Transp Signal**, New Jersey, v.1, p.685–713, 2012.

MATEOS, S. S.; SÁNCHEZ, C. L.; PAREDES, S. D.; BARRIGA, C.; RODRÍGUEZ, A. B. Circadian levels of serotonin in plasma and brain after oral administration of tryptophan in rats. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, New Jersey, v.104, n.1, p.52- 59, 2009.

MATTHES, S.; MOSIENKO, V.; POPOVA, E.; RIVALAN, M.; BADER, M.; ALENINA, N. Targeted Manipulation of Brain Serotonin: RNAi-Mediated Knockdown of Tryptophan Hydroxylase 2 in Rats. **ACS Chemical Neuroscience**, Washington, p.1-28, 2019.

MELO, A. M.; BENATTI, R. O.; IGNACIO-SOUZA, L. M.; OKINO, C.; TORSONI, A. S.; MILANSKI, M.; VELLOSO, L. A.; TORSONI, M. A. Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. **Metabolism**, Amsterdam, v.63, n.5, p.682-92, 2014.

MENDES-DA-SILVA, C.; GIRIKO, C. Á.; MENNITTI, L. V.; HOSOUME, L. F.; SOUTO, T. S.; SILVA, A. V. Maternal high-fat diet during pregnancy or lactation changes the somatic and neurological development of the offspring. **Arq Neuropsiquiatr**, São Paulo, v.72, n.2, p.136-144, 2014.

MENDES-DA-SILVA, C.; SOUZA, S. L.; BARRETO-MEDEIROS, J. M.; FREITAS-SILVA, S. R.; ANTUNES, D. E. C.; CUNHA, A. D. U.; RIBAS, V. R.; FRANÇA, M. F. S.; NOGUEIRA, M. I.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Neonatal treatment with fluoxetine reduces depressive behavior induced by forced swim in adult rats. **Arq Neuropsiquiatr**, São Paulo, v.60, n.4, p.928-931, 2002.

MI, D.; FANG, H.; ZHAO, Y.; ZHONG, L. Birth weight and type 2 diabetes: A meta-analysis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, Athens, v. 14, p.5313-5320, 2017.

MILLAN, M. J.; MARIN, P.; BOCKAERT J. I.; LA COUR, C. M. Signaling at G-protein-coupled serotonin receptors: recent advances and future research directions. **Trends in Pharmacological Sciences**, Amsterdam, v.29, n.9, p.454-464, 2008.

MODLINSKA, K.; STRYJEK, R. Food Neophobia in Wild Rats (*Rattus norvegicus*) Inhabiting a Changeable Environment—A Field Study. **PLoS One**, San Francisco, v.11, n.6, p.1-12, 2016.

- MOHAMMADI, Z.; AZARNIA, M.; MIRABOLGHAEMI, G.; SHIRAVI, A.; MOHAMMADI, Z. Histological changes in the liver of fetuses of pregnant rats following citalopram administration. **Indian J Pharmacol**, India, v.45, n.5, p.517-521, 2013.
- MORENGA, L. T.; MONTEZ, J. M. Health effects of saturated and trans-fatty acid intake in children and adolescents: Systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, San Francisco, v.12, n.11, p.1-20, 2017.
- MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v.26, n.4, p. 471–483, 2002.
- MORGANE, P. J.; MILLER, M.; KEMPER, T.; STERN, W.; FORBES, W.; HALL, R.; BRONZINO, J.; KISSANE, J.; HAWRYLEWICZ E.; RESNICK, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rats. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v. 2, p. 137 - 230, 1978.
- MOSCHETTA, M.; REALE, A.; MARASCO, C.; VACCA, A.; CARRATÙ, M. R. Therapeutic targeting of the mTOR-signalling pathway in cancer: benefits and limitations. **British Journal of Pharmacology**, London, v.171, n.16, p.3801–3813, 2014.
- MURPHY, B. A., FIORAMONTI, X., JOCHNOWITZ, N., FAKIRA, K., GAGEN, K., CONTIE, S., LORSIGNOL, A., PENICAUD, L., MARTIN, W. J., ROUTH, V. H. Fasting enhances the response of arcuate neuropeptide Y-glucose-inhibited neurons to decreased extracellular glucose. **Am J Physiol Cell Physiol**, Washington, v.296, n.4, p.C746–C756, 2009.
- MYERS-JUNIOR, M. G.; BACKER, J. M.; SUN, X. J.; SHOELSON, S.; HU, P.; SCHLESSINGER, J.; YOAKIM, M.; SCHAFFHAUSEN, B.; WHITE, M. F. IRS-1 activates phosphatidylinositol 3'-kinase by associating with src homology 2 domains of p85. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v.89, n.21, p. 10350-10354, 1992.
- MYERS-JUNIOR, M. G.; MENDEZ, R.; SHI, P.; PIERCE, J. H.; RHOADS, R.; WHITE, M. F. The COOH-terminal tyrosine phosphorylation sites on IRS-1 bind SHP-2 and negatively regulate insulin signaling. **J Biol Chem**, Washington, v.273, n.41, p.26908-14, 1998.
- MYERS-JUNIOR, M. G.; OLSON, D. P. Central nervous system control of metabolism. **Nature**, London, v.491, p.357-363, 2012.
- NOORLANDER, C. W.; VERVERS, F. F. T.; NIKKELS, P. G. J.; VAN ECHTELD, C. J. A.; VISSER, G. H. A.; SMIDT, M. P. Modulation of Serotonin Transporter Function during Fetal Development Causes Dilated Heart Cardiomyopathy and Lifelong Behavioral Abnormalities. **PLoS One**, San Francisco, v.3, n.7, p.e2782, 2008.
- NURWANTI, E.; UDDIN, M.; CHANG, J. S.; HADI, H.; SYED-ABDUL, S.; SU, E. C. Y.; NURSETYO, A. A.; MASUD, J. H. B.; BAI, C. H. Roles of Sedentary Behaviors and Unhealthy Foods in Increasing the Obesity Risk in Adult Men and Women: A Cross-Sectional National Study. **Nutrients**, Basel, Switzerland, v.10, n.6, p.704, 2018.

OH, C. M.; PARK, S.; KIM, H. Serotonin as a New Therapeutic Target for Diabetes Mellitus and Obesity. **Diabetes & Metabolism Journal**, Korea, v.40, n.2, p.89-98, 2016.

OLIVEIRA, T. W. S.; LEANDRO, C. G.; DEIRO, T. C. B. J.; PEREZ, G. P.; SILVA, D. F.; DRUZIAN, J. I.; COUTO, R. D., BARRETO-MEDEIROS, J. M. A perinatal palatable high-fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adults rats. **Lipids**, New York, v.46, p.1071-74. 2011.

OLIVEIRA, L. D.; SOUZA, S. L.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Behavioral satiety sequence: an experimental model for studying feeding behavior. **Rev Nutr**, Campinas, v.24, n.4, p.1-10, 2011.

ORNELLAS, F.; SOUZA-MELLO, V., MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; AGUILA, M. B. Combined parental obesity augments single-parent obesity effects on hypothalamus inflammation, leptin signaling (JAK/STAT), hyperphagia, and obesity in the adult mice offspring. **Physiology & Behavior**, Amsterdam, n.153, p.47-55, 2016.

PICONE, O.; LAIGRE, P.; FORTUN-LAMOTHE, L.; ARCHILLA, C.; PEYNOT, N.; PONTER, A. A.; BERTHELOT, V.; CORDIER, A. G.; DURANTHON, V.; CHAVATTE-PALMER, P. Hyperlipidic hypercholesterolemic diet in prepubertal rabbits affects gene expression in the embryo, restricts fetal growth and increases offspring susceptibility to obesity. **Theriogenology**, Amsterdam, v.75, n.2, p.287-99, 2011.

PINHEIRO, I. L.; SILVA, A. I.; REGINATO, A.; FILHO, R. C. S.; GALINDO, L. C. M.; MATOS, R. J. B.; FERRAZ-JUNIOR, J. C. S.; CASTRO, A. E. T. M. S.; FERREIRA, M. M.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; SOUZA, S. L. Neonatal Fluoxetine Exposure Modulates Serotonergic Neurotransmission and Disturb Inhibitory Action of Serotonin on Food Intake. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, p.65-70, 2017.

QIU, J., XUE, C., BOSCH, M. A., MURPHY, J. G., FAN, W., RONNEKLEIV, O. K., KELLY, M. J. Serotonin 5-Hydroxytryptamine_{2C} Receptor Signaling in Hypothalamic Proopiomelanocortin Neurons: Role in Energy Homeostasis in Females. **Molecular Pharmacology**, Washington, v.72, n.4, p.885-896, 2007.

RABASA, C.; WINSA-JÖRNULF, J.; VOGEL, H.; BABAEI, C. S.; ASKEVIK, K.; DICKSON, S. L.. Behavioral consequences of exposure to a high fat diet during the post-weaning period in rats. **Hormones and Behavior**, Amsterdam, v.85, p.56-66, 2016.

RAYGADA, M.; ELIZABETH CHO, E.; HILAKIVI-CLARKE, L. High Maternal Intake of Polyunsaturated Fatty Acids During Pregnancy in Mice Alters Offsprings' Aggressive Behavior, Immobility in the Swim Test, Locomotor Activity and Brain Protein Kinase C Activity. **The Journal of Nutrition**, Oxford, v.128, n.12, p.2505-2511, 1998.

RICE, D., BARONE JUNIOR, S. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. **Environmental Health Perspectives**, Washington, v.108, Suppl.3, p.511-533, 2000.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr**, Oxford, v.123, n.11, p.1939-1951, 1993.

ROH, E., SONG, K. D., KIM, M. S. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. **Experimental & Molecular Medicine**, South Korea, v.48, e216, p.1-12, 2016.

SABATINI, D. M. mTOR and Cancer: Insights Into a Complex Relationship. **Nat Rev Cancer**, London, v.6, n.9, p.729-734, 2006.

SAKAGUCHI, T.; BRAY, G.A. Effect of norepinephrine, serotonin and tryptophan on the firing rate of sympathetic nerves. **Brain Research**, Amsterdam, v.492, p.271–280, 1989.

SANTOS, A. A.; PINHEIRO, P. C. F.; DE LIMA, D. S. C.; OZIAS, M. G.; DE OLIVEIRA, M. B.; GUIMARÃES, N. X.; GUEDES, R. C. A. Fluoxetine inhibits cortical spreading depression in weaned and adult rats suckled under favorable and unfavorable lactation conditions. **Experimental Neurology**, Baltimore, Maryland, v.200, p.275–282, 2006.

SOMERVILLE, E. M.; HORWOOD, J. M.; LEE, M. D.; KENNETT, G. A.; CLIFTON, P. G. 5-HT(2C) receptor activation inhibits appetitive and consummatory components of feeding and increases brain c-fos immunoreactivity in mice. **Eur J Neurosci**, New Jersey, v.25, n.10, p.3115-3124, 2007.

SCABIA, G.; BARONE, I.; MAINARDI, M.; CECCARINI, G.; SCALI, M.; BUZZIGOLI, E.; DATILLO, A.; VITTI, P.; GASTALDELLI, A.; SANTINI, F.; PIZZORUSSO, T.; MAFEI, L.; MAFEI, M. The antidepressant fluoxetine acts on energy balance and leptin sensitivity via BDNF. **Scientific Reports**, London, v.8, n.1781, p.1-12, 2018.

SCHACK-NIELSEN, L., MICHAELSEN, K. F., GAMBORG, M., MORTENSEN, E. L., SORENSEN, T. I. A. Gestational weight gain in relation to offspring body mass index and obesity from infancy through adulthood. **International Journal of Obesity**, London, v.34, p.67–74, 2010.

SCHWARTZ, G. J.; ZELTSER, L. M. Functional organization of neuronal and humoral signals regulating feeding behavior. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, USA, v. 33, p. 1–21, 2013.

SCHWARTZ, M. W., WOODS, S. C., PORTE, D. J., SEELEY, R. J., BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. **Nature**, London, v.404, p.661-671, 2000.

SHARMA, S., SHARMA, J. Regulation of appetite: role of serotonin and hypothalamus. **Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics**, Iran, v.11, n.2, p.73-79, 2012.

SILVA, A. I.; BRAZ, G. R. F.; SILVA, S. C. de A.; PEDROZA, A. A. da S.; LIMA-JÚNIOR, N. C. de; SILVA, T. L. de A.; LAGRANHA, C. J. Body composition, biochemical, behavioral and molecular alterations in overfed rats after chronic exposure to SSRI. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v.356, p.62-70, 2019.

SILVA, A. I.; BRAZ, G. R. F.; PEDROZA, A. A.; NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; FERREIRA, D. J. S.; MANHÃES DE CASTRO, R.; LAGRANHA, C. J. Fluoxetine Induces Lean Phenotype in Rat by Increasing the Brown/White Adipose Tissue Ratio and UCP1 Expression. **J Bioenerg Biomembr**, New York, v.47, n.4, p.309-18, 2015.

SILVA, A. I.; GALINDO, L. C. M.; NASCIMENTO, L.; FREITAS, C. M.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; LAGRANHA, C. J.; SOUZA, S. L. Fluoxetine Treatment of Rat Neonates Significantly Reduces Oxidative Stress in the Hippocampus and in Behavioral Indicators of Anxiety Later in Postnatal Life Can. **J Physiol Pharmacol**, Kraków, Poland, v.92, n.4, p.330-337, 2014.

SILVA, C. M.; GONÇALVES, L.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; NOGUEIRA, M. I. Postnatal fluoxetine treatment affects the development of serotonergic neurons in rats. **Neurosci Lett**, Amsterdam, v.483, n.3, p.179-183, 2010.

SIMPSON, K. A.; MARTIN, N. M.; BLOOM, S. R. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v.53, n.2, p.120-128, 2009.

SMITH, M. A., KATSOURI, L., IRVINE, E. E., HANKIR, M. K., PEDRONI, S. M. A., VOSHOL, P. J., GORDON, M. W.; CHOUDHURY, A. I.; WOODS, A.; PUIG-VIDAL, A.; CARLING, D.; WITHERS, D. J. Ribosomal S6K1 in POMC and AgRP Neurons Regulates Glucose Homeostasis but Not Feeding Behavior in Mice. **Cell Reports**, London, v.11, n.3, p.335–343, 2015.

STAMM, S.; GRUBER, S. B.; RABCHEVSKY, A. G.; EMESON, R. B. The activity of the serotonin receptor 2C is regulated by alternative splicing. **Hum Genet**, Berlin, v.136, n.9, p.1079–1091, 2017.

STEARNS, S.; G. DE JONG.; NEWMAN, B. The effects of phenotypic plasticity on genetic correlations. **Trends in Ecology & Evolution**, Barking, v.6, n.4, p.122-126, 1991.

STEIN, A. D., ZYBERT, P. A., VAN DER PAL, B. K., LUMEY, L. H. Exposure to famine during gestation, size at birth, and blood pressure at age 59 y: evidence from the Dutch Famine. **Eur J Epidemiol**, Dordrecht, Netherlands, v.21, n.10, p.759-65, 2006

TANIGUCHI, C. M.; EMANUELLI, B.; KAHN, C. R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. **Nat Rev Mol Cell Biol**, London, v.7, n.2, p.85-96, 2006.

TAVARES, M. R.; LEMES, S. F.; FANTE, T. de; MIERA, C. S. de; PAVAN, I. C. B.; BEZERRA, R. M. N.; PRADA, P. O.; TORSONI, M. A.; ELIAS, C. F.; SIMABUCO, F. M. Modulation of hypothalamic S6K1 and S6K2 alters feeding behavior and systemic glucose metabolism. **J Endocrinol**, Bristol, UK, v.244, n.1, p.71-82, 2020.

TECOTT, L. H. Serotonin and the orchestration of energy balance. **Cell Metabolism**, Cambridge, v.6, n.5, p.352-361, 2007.

THOMPSON, J. R.; VALLEAU, J. C.; BARLING, A. N.; FRANCO, J. G.; DECAPO, M.; BAGLEY, J. L.; SULLIVAN, E. L. Exposure to a High-Fat Diet during Early Development Programs Behavior and Impairs the Central Serotonergic System in Juvenile Non-Human Primates. **Frontier Endocrinology**, Lausanne, Switzerland, v.8, n.164, p.1-19, 2017.

TIMPER, K.; BRÜNING, J. C. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. **Disease Models & Mechanisms**, Cambridge, v.10, p.679-689, 2017.

TODA, C.; SANTORO, A.; KIM, J. D.; DIANO, S. POMC Neurons: From Birth to Death. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, USA, v. 79, p.209-236, 2017.

UEYAMA, E.; MORIKAWA, Y.; YASUDA, T.; SENBA, E. Attenuation of fasting-induced phosphorylation of mitogen-activated protein kinases (ERK/p38) in the mouse hypothalamus in response to refeeding. **Neurosci Lett**, Limerick, Ireland, v.371, n.1, p.40-44, 2004.

VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, Amsterdam, v.18, p.158-168, 2008.

VAN DER KLAUW, A. A. Neuropeptides in Obesity and Metabolic Disease. **Clinical Chemistry**, Oxford, v.64, n.1, p.1-10, 2018.

VARELA, L.; HORVATH, T. L. Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. **EMBO Reports**, London, v.13, n.12, p.1079-1086, 2012.

VELASQUEZ, J. C.; ZHAO, Q.; CHAN, Y.; GALINDO, L. C. M.; SIMASOTCHI, C.; WU, D.; HOU, Z.; HEROD S. M.; OBERLANDER, T. F.; GIL, S.; FOURNIER, T.; BURD, I.; ANDREWS, A. M.; BONNIN, A. In Utero Exposure to Citalopram Mitigates Maternal Stress Effects on Fetal Brain Development. **ACS Chem Neurosci**, Washington, v.10, n.7, p.3307-3317, 2019.

VOLPATO, A.M.; SCHULTZ, A.; MAGALHÃES-DA-COSTA, E.; CORREIA, M. L. G.; ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Maternal High-Fat Diet Programs for Metabolic Disturbances in Offspring despite Leptin Sensitivity. **Neuroendocrinology**, Basel Switzerland, v.96, p.272–284, 2012.

WATERSON, M. J.; HORVATH, T. L. Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. **Cell Metabolism**, Cambridge, v.22, p.962-970, 2015.

WEI, W.; PHAM, K.; GAMMONS, J. W.; SUTHERLAND, D.; LIU, Y.; SMITH, A.; KACZOROWSKI, C. C.; O'CONNELL, K. M. S. Diet composition, not calorie intake, rapidly alters intrinsic excitability of hypothalamic AgRP/NPY neurons in mice. **Scientific Reports**, London, v.5, n.16810, p.1-10, 2015.

WELLS, J. C. K. Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity Implications for the programming of obesity. **Evolution, Medicine & Public Health**, Oxford, v.2014, n.1, p.109-121, 2014.

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic Accommodation: Adaptive Innovation Due to Developmental Plasticity. **J Exp Zool B Mol Dev Evol**, Hoboken, USA, n.304b, p.610–618, 2005.

WEST-EBERHARD, M. J. Alternative adaptations, speciation, and phylogeny (A Review). **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, USA, v.83, n.5, p.1388-92, 1986.

WOODS, S. C.; SEELEY, R.J.; PORTE, D. J.; SCHWARTZ, M. W. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. **Science**, London, v.280, p.1378-1382, 1998.

XU, Y.; JONES, J. E.; KOHNO, D.; WILLIAMS, K. W.; LEE, C. E.; CHOI, M. J.; ANDERSON, J. G.; HEISLER, L. K.; ZIGMAN, J. M.; LOWELL, B. B.; ELMQUIST, J. K. 5-HT₂CRs Expressed by Pro-Opiomelanocortin Neurons Regulate Energy Homeostasis. **Neuron**, Cambridge, v.60, n.4-2, p.582–589, 2008.

YORK, D. A. Peripheral and central mechanisms regulating food intake and macronutrient selection. **Obes Surg**, New York, v.9, n.5, p.471-479, 1999.

ZEMDEGS, J.; QUESSEVEUR, G.; JARRIAULT, D.; PÉNICAUD, L.; FIORAMONTI, X.; GUIARD, B. P. High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice. **Br J Pharmacol**, London, v.173, n.13, p.2095-110, 2016.

ZHANG, J.; ZHOU, Y.; CHEN, C.; YU, F.; WANG, Y.; GU, J.; MA, L.; HO, G. ERK1/2 mediates glucose-regulated POMC gene expression in hypothalamic neurons. **J Mol Endocrinol**, Bristol, UK, v.54, n.2, p.125–135, 2015.

ANEXO A - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA PARA USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS – CEUA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biotecnologia

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50470-430 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8640 / 2126 8351
www.ccb.ufpe.br

Recife, 19 de junho de 2018.

Ofício nº 43/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Ligia Cristina Monteiro Galindo**
Departamento de Anatomia
Centro de Biotecnologia
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0029/2018

Certificamos que a proposta intitulada "Uso perinatal de Dieta Hiperlipídica Inibição Neonatal da Recaptação da Serotonina: investigações sobre compartimento semelhante à ansiedade, estrutural de neurônios serotoninérgicos e adiposidade em prole de ratos.", Registrada com o nº 0029/2018 sob a responsabilidade de **Prof.ª Ligia Cristina Monteiro Galindo** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 06/06/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/08/2018 a 28/02/2020
Espécie/inhagem/raça	Ratos heterogênicos
Nº de animais	180
Peso/idade	220g/ 90-120 dias
Sexo	Macho (130) fêmea (30)
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE

Atenciosamente,

Pedro V. Carelli
Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SUAPE 1901584

ANEXO B - ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

TÍTULO: Efeitos da dieta hiperlipídica materna sobre os componentes hipotalâmicos relacionados à ingestão de alimentos e gasto de energia na prole: revisão sistemática pré-clínica.

TITLE: Effects of maternal high-fat diet on hypothalamic components related to food intake and energy expenditure of offspring: preclinical systematic review.

AUTORES: Regina Katiuska Bezerra da Silva^a, Diogo Antônio Alves de Vasconcelos^{a,b,g}, Adriano Vinícios Emídio da Silva^c, Olavo Barbosa de Oliveira Neto^d, Isabeli Lins Pinheiro^{a,e,g}, Lígia Cristina Monteiro Galindo^{a,f,g}.

AFILIAÇÕES:

^aPrograma de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil.

^bDepartamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife – PE, Brasil.

^cGraduação em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife – PE, Brasil.

^dInstituto de Ciências Biológicas e da Saúde; Universidade Federal de Alagoas, CEP, Maceió – AL, Brasil.

^eNúcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil.

^fDepartamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brasil.

^gUnidade de Estudos em Nutrição e Plasticidade Fenotípica, Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brasil.

RESUMO

O consumo de dieta hiperlipídica (DH) durante os estágios iniciais do desenvolvimento (gestação e lactação) está associado a alterações metabólicas e mudanças em circuitos hipotalâmicos envolvidos no controle da ingestão alimentar. O objetivo desta revisão sistemática foi investigar os efeitos do consumo de dieta rica em gordura durante a pré-gestação, gestação e/ou lactação na ingestão de alimentos, peso corporal, bem como nos aspectos celulares ou moleculares de peptídeos e receptores hipotalâmicos envolvidos na regulação do balanço energético em camundongos. As bases de dados utilizadas para busca bibliográfica foram PubMed, LILACS, Scopus, *Web of Science*, EMBASE e *Sigle via open gray*. Foram elegíveis estudos experimentais com camundongos, de ambos os sexos, submetidos à DH

durante gestação e/ou lactação, bem como a dieta controle durante o mesmo período. O protocolo desta revisão sistemática foi publicado na plataforma PROSPERO. A validade interna do estudo foi verificada através da ferramenta SYRCLE para risco de viés. Onze estudos foram selecionados para esta revisão sistemática. Os principais resultados dos artigos analisados descrevem aumento no peso corporal, gordura corporal, ingestão alimentar e expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos em prole de mães que consumiram a DH durante gestação e/ou lactação.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica, ingestão alimentar, gasto energético, plasticidade fenotípica.

Key-words: high-fat diet, food intake, energy expenditure, phenotypic plasticity.

Abreviações:

α -MSH: hormônio α - estimulante de melanócitos

AgRP: proteína relacionada ao Agouti

AKT: proteína quinase B

ARC: núcleo arqueado

DH: dieta hiperlipídica

DPN: dia pós-natal

ERK 1/2: proteína quinase regulada por sinal extracelular 1/2

JAK/STAT: Janus Quinase/Transdutores de Sinal e Ativadores da Transcrição

MC4R: receptor de melanocortina-4

NPY: neuropeptídeo Y

POMC: pro-opiomelanocortina

RER: razão de troca respiratória

RT-PCR: Reação em Cadeia de Polimerase em tempo real

SOCS3: supressor de sinalização de citocina 3

UCP-1: proteína desacopladora mitocondrial-1

VCO₂: produção de dióxido de carbono

VO₂: consumo de oxigênio.

1. Introdução

A Plasticidade do Desenvolvimento compreende um ajuste adaptativo durante o início da vida – período em que o indivíduo está mais sensível às variações ambientais (West-Eberhard, 2005). O ambiente nutricional intrauterino programa alterações no metabolismo (Koletzko et al. 2019), nos processos fisiológicos e comportamentais dos descendentes, com repercussões tardias (Barker, 1995; Bateson et al. 2004; Gluckman et al. 2005). No entanto, vários fatores podem influenciar a programação fetal como o tipo de espécie, sexo, período e tempo de manipulação nutricional, além da composição da dieta (Howie et al. 2009). Assim, o consumo excessivo de gorduras e açúcares durante o início da vida representa uma desvantagem (Bateson et al. 2004) e, consequentemente, contribui com o risco de obesidade e doenças metabólicas a longo prazo (Rabasa et al. 2016).

Além de alterações metabólicas, a exposição a dieta hiperlipídica durante os estágios iniciais do desenvolvimento está associada com alterações de circuitos hipotalâmicos envolvidos no controle da ingestão alimentar (Bouret 2009; Sullivan et al. 2014). Os principais reguladores de apetite produzidos predominantemente no núcleo arqueado (Arc) são o neuropeptídeo Y (NPY) e a proopiomelanocortina (POMC), responsável pela modulação da ingestão alimentar e gasto energético (Chen et al. 2009). Adicionalmente, o circuito hipotalâmico da melanocortina também é responsável pela regulação do balanço energético (Ghamari-Langroudi et al. 2011; Sullivan et al. 2017). O hormônio α -estimulante de melanócitos (α -MSH), produto da clivagem de POMC, (Simpson et al. 2009), ao atuar no receptor de melanocortina-4 (MC4R) promove o aumento do gasto energético, bem como a diminuição da ingestão de alimentos e reservas de gordura corporal (Balthasar et al. 2005; Cone 2005; Myers-Junior e Olson 2012). Por outro lado, proteína relacionada ao Agouti (AgRP) inibe o MC4R, contribuindo com o aumento na ingestão alimentar (Cone 2005; Myers-Junior e Olson 2012).

Estudos prévios têm demonstrado os efeitos da manipulação nutricional sobre os mecanismos envolvidos no ganho de peso excessivo (Bagnol et al. 2012). Em roedores, a DH materna durante a gestação e lactação resultou em mudanças no peso corporal, consumo alimentar e adiposidade corporal (Oliveira et al. 2011). Além disso, promoveu alterações na expressão de NPY, AgRP e POMC (Choi, 2018), o que sugere uma possível ativação das vias orexigênicas hipotalâmicas. Assim, o objetivo desta revisão sistemática foi investigar os efeitos do consumo de dieta rica em gordura durante a pré-gestação, gestação e/ou lactação na ingestão

de alimentos, peso corporal, bem como nos aspectos celulares ou moleculares de peptídeos e receptores hipotalâmicos envolvidos na regulação do balanço energético em camundongos.

2. Material e Métodos

2.1 Registro de Protocolo e Relatório de Dados

O protocolo desta revisão sistemática foi publicado online em (<http://www.dcn.ed.ac.uk/camarades/>) na plataforma *online International Prospective Register of Systematic Review* (PROSPERO), de acordo com o SYRCLE (*Systematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation*) (de Vries et al. 2015). Os autores seguiram as recomendações encontradas em PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) para relatórios de dados (Liberati et al. 2009).

2.2 Critérios de Elegibilidade

Estudos experimentais com camundongos, de ambos os sexos, submetidos a DH durante gestação e/ou lactação, bem como à dieta controle durante o mesmo período. Foram admitidos estudos que ofereceram a dieta experimental às ratas antes do acasalamento. Não houve limitações de ano e idioma para a inclusão dos estudos. Os artigos que não se enquadraram nos critérios de elegibilidade da população, intervenção, comparação e desfechos foram excluídos (Tabela 1).

Tabela 1. Critérios de elegibilidade aplicados neste estudo.

	Critério de inclusão	Critério de exclusão
População	Camundongos	Estudos com outros roedores e camundongos <i>knockout</i> .
Intervenção	Animais expostos a DH durante a gestação e/ou lactação e ração durante o mesmo período. Foram admitidos estudos que ofereceram a dieta experimental às ratas antes do acasalamento	Estudos realizados em diferentes espécies de roedores que não usaram dieta rica em gordura ou que combinaram DH com outras estratégias experimentais (por exemplo, drogas, estresse, separação materna, etc).
Comparação	Exposição materna à dieta Controle, com conteúdo normal de macronutrientes.	Diferentes conteúdos calóricos entre as dietas experimental e controle.
Desfechos	Primários: ingestão de alimentos; peso corporal. Secundários: comportamento alimentar, massa gorda, temperatura corporal, consumo de VO ₂ , quaisquer outros compostos das vias hipotalâmicas que controlam a ingestão de alimentos (MC4R, ERK1, ERK2), aspectos celulares e moleculares de peptídeos e receptores hipotalâmicos relacionados às vias orexigênicas e anorexigênicas.	Não houve.
Parâmetros de Publicação	Não houve restrição de artigos data e idiomas.	Não houve.

2.3 Aquisição de Dados e Seleção de Estudos

A busca e seleção dos artigos foi realizada entre outubro e dezembro de 2020 por dois revisores independentes (R.K.B.S. e A.V.E.S.). Os termos "*high-fat diet*", "*eating*", "*eating behavior*", "*obesity*", "*hypothalamus*", "*pregnancy*" e "*serotonina*" foram usados no DeCS (*Health Sciences Descriptors*) e MESH (*Medical Subject Headings*) para criar estratégias de busca específicas nas bases de dados. Além disso, foram usados como *ENTRY terms* "*high fat diet*"; "*food intake*"; "*eating behavior*"; "*maternal obesity*"; "*arcuate nucleus*" e como termos independentes "*obese*"; "*parental obesity*", "*serotonin receptors*", como segue:

PubMed: (((((((("high-fat diet") OR ("high fat diet")) AND (eating)) OR ("eating behavior")) OR ("food intake")) AND (obesity)) OR (obese)) OR ("maternal obesity")) OR ("parental obesity")) AND (hypothalamus)) OR ("arcuate nucleus")) AND (pregnancy)

LILACS: (tw:("high-fat diet")) OR (tw:("high fat diet")) AND (tw:("eating")) OR (tw:("food intake")) AND (tw:("obesity")) OR (tw:("maternal obesity")) OR (tw:("body weight")) AND (tw:("serotonin")) OR (tw:("serotonin receptors"))

Web of Science (via periódicos CAPES): TS="high-fat diet" OR TS="high fat diet" AND TS="food intake" OR TS="eating behavior" OR TS="eating" AND TS=obesity OR TS=obese OR TS="maternal obesity" OR TS="parental obesity" AND TS=hypothalamus OR TS="arcuate nucleus"

EMBASE: (((('lipid diet' AND eating OR 'feeding behavior' OR 'food intake') AND ('obesity'/exp OR obesity) OR 'maternal obesity'/exp OR 'maternal obesity' OR 'parental obesity'/exp OR 'parental obesity') AND ('hypothalamus'/exp OR hypothalamus) OR 'arcuate nucleus'/exp OR 'arcuate nucleus') AND ('pregnancy'/exp OR pregnancy)

Scopus: "high-fat diet" OR "high fat diet" AND eating OR "eating behavior" OR "food intake" AND obesity OR obese OR "maternal obesity" OR "parental obesity" AND hypothalamus OR "arcuate nucleus" AND pregnancy

Sigle via open gray: "high-fat diet" OR "high fat diet" AND eating OR "eating behavior" OR "food intake" AND obesity OR obese OR "maternal obesity" OR "parental obesity" AND hypothalamus OR "arcuate nucleus" AND pregnancy.

A pesquisa e a seleção dos artigos foram realizadas em duas etapas. Na primeira fase desta revisão, que corresponde às buscas nas bases de dados eletrônicas, os estudos foram selecionados por meio de seus títulos e resumos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Em seguida, os revisores (Silva, RKB e Silva, AVE) compararam os artigos selecionados, consultando o terceiro revisor (Galindo, LCM) em caso de discordância. Na segunda fase, os textos completos previamente selecionados foram lidos para inclusão ou exclusão definitiva da revisão sistemática. Novamente, os revisores compararam os artigos selecionados consultando o terceiro revisor quando necessário.

A extração dos dados ocorreu após a leitura completa dos estudos. Os dados coletados foram: nome do primeiro autor, ano de publicação, espécie e sexo dos animais. Em relação às características da intervenção, foram extraídos os seguintes dados: período de intervenção em que as mães foram alimentados com as dietas experimentais, tipos de dietas, composição das dietas (% de caloria de proteínas, gorduras, carboidratos), tamanho da ninhada e dieta pós-desmame. Além dos principais resultados na prole relacionados às alterações no peso corporal e na ingestão alimentar (desfechos primários), foram coletados dados relacionados a ingestão alimentar, adiposidade corporal, consumo de oxigênio, temperatura corporal e outros componentes das vias hipotalâmicas que controlam o balanço energético (MC4R, ERK1/2), bem como aspectos celulares e moleculares de peptídeos e receptores hipotalâmicos relacionados às vias orexigênicas e anorexigênicas (desfechos secundários).

2.4 Tratamento Estatístico

Os dados coletados dos estudos incluídos foram organizados em tabelas do Microsoft Excel. A qualidade dos estudos selecionados para revisão foi avaliada considerando componentes individuais que podem ter interferido na validade interna de estudos experimentais em animais, de acordo com as recomendações da ferramenta SYRCLE de risco de viés como “alto”, “baixo” ou “incerto” (Hooijmans et al. 2014). Os seguintes itens foram avaliados: geração de sequência aleatória, características de linha de base, ocultação de alocação, alojamento aleatório, cegamento de participantes e pessoal, avaliação de resultado aleatório, cegamento de avaliação de resultado, dados de resultado incompletos, relatório de resultado seletivo e outras fontes de viés. Por fim, para analisar o grau de concordância entre o primeiro e o segundo revisor, além do que seria esperado ao acaso, foi utilizada a medida Kappa para risco de viés. As informações nessas etapas foram sintetizadas por meio do software Review Manager® versão 5.3. Serão considerados para meta-análise todos os estudos que expressam os resultados como variáveis quantitativas contínuas. Os resultados finais de cada estudo serão expressos como medida padronizada, denominada tamanho do efeito. O objetivo é considerar todas as comparações possíveis para verificar os efeitos da DH perinatal nos aspectos somáticos, celulares e moleculares relacionados ao balanço energético.

3. Resultados

A pesquisa nas bases de dados eletrônicas identificou 4573 estudos no Medline/PubMed, LILACS, Web of Science, EMBASE, SCOPUS e Sigle via Open Gray. Destes, 86 foram selecionados pela leitura do título e resumo. Posteriormente, 25 estudos atenderam aos critérios de inclusão após a leitura dos artigos na íntegra. No entanto, 14 foram excluídos por duplicidade e 11 foram incluídos nesta revisão e meta-análise, conforme sumarizado na figura 1. (Kappa = 1,00).

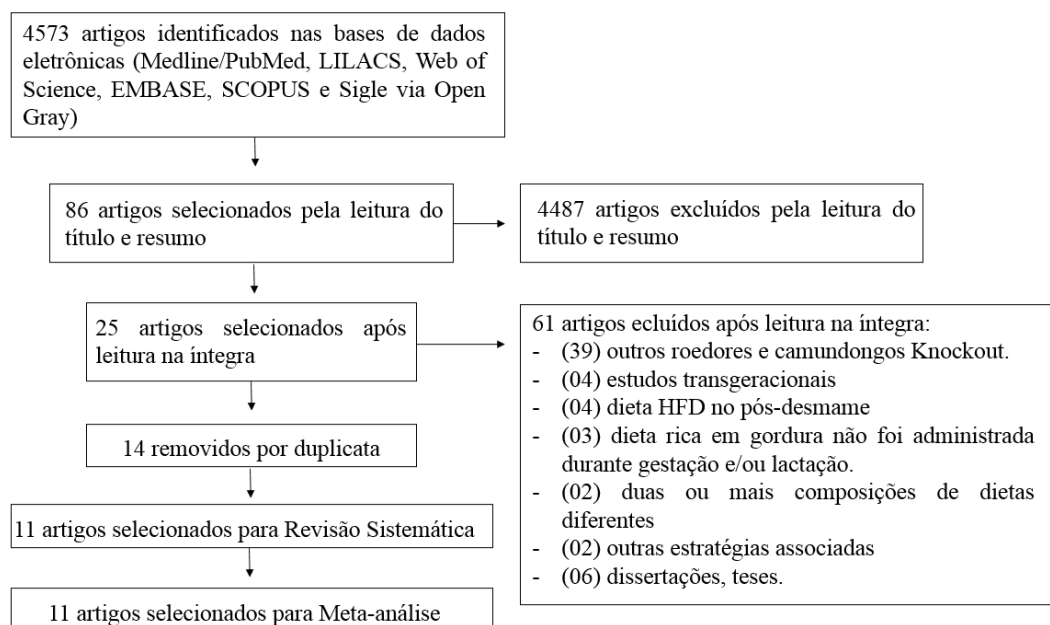


Figura 1. Fluxograma do processo de seleção de estudos aplicado no presente estudo.

Principais características dos estudos

As principais características avaliadas nesta revisão estão descritas na Tabela 2. Dos onze artigos selecionados, a maioria utilizou apenas camundongos machos (Melo et al. 2014; Fante et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020; Dearden et al. 2020) e quatro avaliaram camundongos de ambos os sexos (Khalyfa et al. 2013; Vogt et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Ornellas et al. 2016). A maioria dos estudos iniciaram a manipulação nutricional entre a 3ª e 10ª semana anterior à concepção (Melo et al. 2014; Vogt et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020; Dearden et al.

2020) e apenas iniciou a oferta de DH após o 12º dia de gestação (Khalyfa et al. 2013). No entanto, todos os estudos incluídos mantiveram a dieta materna durante a gestação e lactação.

A composição das dietas foi heterogênea, uma vez que a manipulação dietética contribuiu com um percentual calórico proveniente de gordura que variou entre 7,4% a 17% na dieta controle e entre 40% a 62% na dieta hiperlipídica. O conteúdo energético de carboidratos variou entre 62,8% a 75,1% na dieta controle e entre 32% a 43% na dieta hiperlipídica. Cinco estudos não mencionaram as calorias provenientes de carboidratos na dieta controle e na dieta experimental (Khalyfa et al. 2013; Vogt et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Bae-Gartz et al. 2019; Dearden et al. 2020). Adicionalmente, Dearden et al (2020) também não mencionaram a contribuição calórica de gordura na dieta controle.

Os estudos incluídos ajustaram o tamanho da ninhada para 6-7 (Khalyfa et al. 2013; Melo et al. 2014; Vogt et al. 2014; Ornellas et al. 2016; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020; Dearden et al. 2020), 8 (Fante et al. 2016; Lemes et al. 2017) ou 9 filhotes (Masuyama e Hiramatsu, 2014). A idade do desmame variou entre o 18º (Fante et al. 2016) e o 21º dia pós-natal (Khalyfa et al. 2013; Ornellas et al. 2016; Desai et al. 2020). Cleal et al. 2019 realizaram o desmame com 3 semanas, sem informarem o dia exato. Dois estudos selecionados não relataram o dia em que foi realizado o desmame (Melo et al. 2014; Lemes et al. 2017). O tipo de dieta oferecida no pós-desmame pode ampliar os efeitos no peso corporal, consumo energético e na adiposidade corporal (Rabasa et al. 2016). Alguns dos estudos fizeram uso da DH na prole após o desmame ou na vida adulta. No entanto, esses dados não foram incluídos na revisão, visto que podem interferir nos resultados.

Avaliação da qualidade de estudos

Os dados referentes à avaliação do risco de viés dos artigos selecionados estão ilustrados na figura 2. A maioria dos estudos randomizaram os animais para distribuição dos grupos experimentais (Melo et al. 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020 e Dearden et al. 2020). Dez autores relataram as características da linha de base (Khalyfa et al. 2013; Melo et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020 e Dearden et al. 2020). Nenhum dos estudos informou sobre o sigilo de alocação dos animais, bem como não foram claros quanto à randomização na acomodação ou seleção de animais para coleta de resultados. Apenas Khalyfa et al. (2013) e Dearden et al. (2020)

relataram o cegamento do investigador durante realização de alguns procedimentos. A maioria dos estudos selecionados não relatou avaliação dos resultados por cegamento (Khalyfa et al. 2013; Vogt et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020 e Dearden et al. 2020). Todos os estudos apresentaram resultados descritos de forma completa e nenhum relatou critérios de exclusão de animais na avaliação dos resultados. Por fim, outros tipos de riscos de viés foram identificados em alguns artigos por falta de informação sobre ambiente do biotério, período de adaptação às dietas e procedimentos de acasalamento (Vogt et al. 2014; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020 e Dearden et al. 2020).

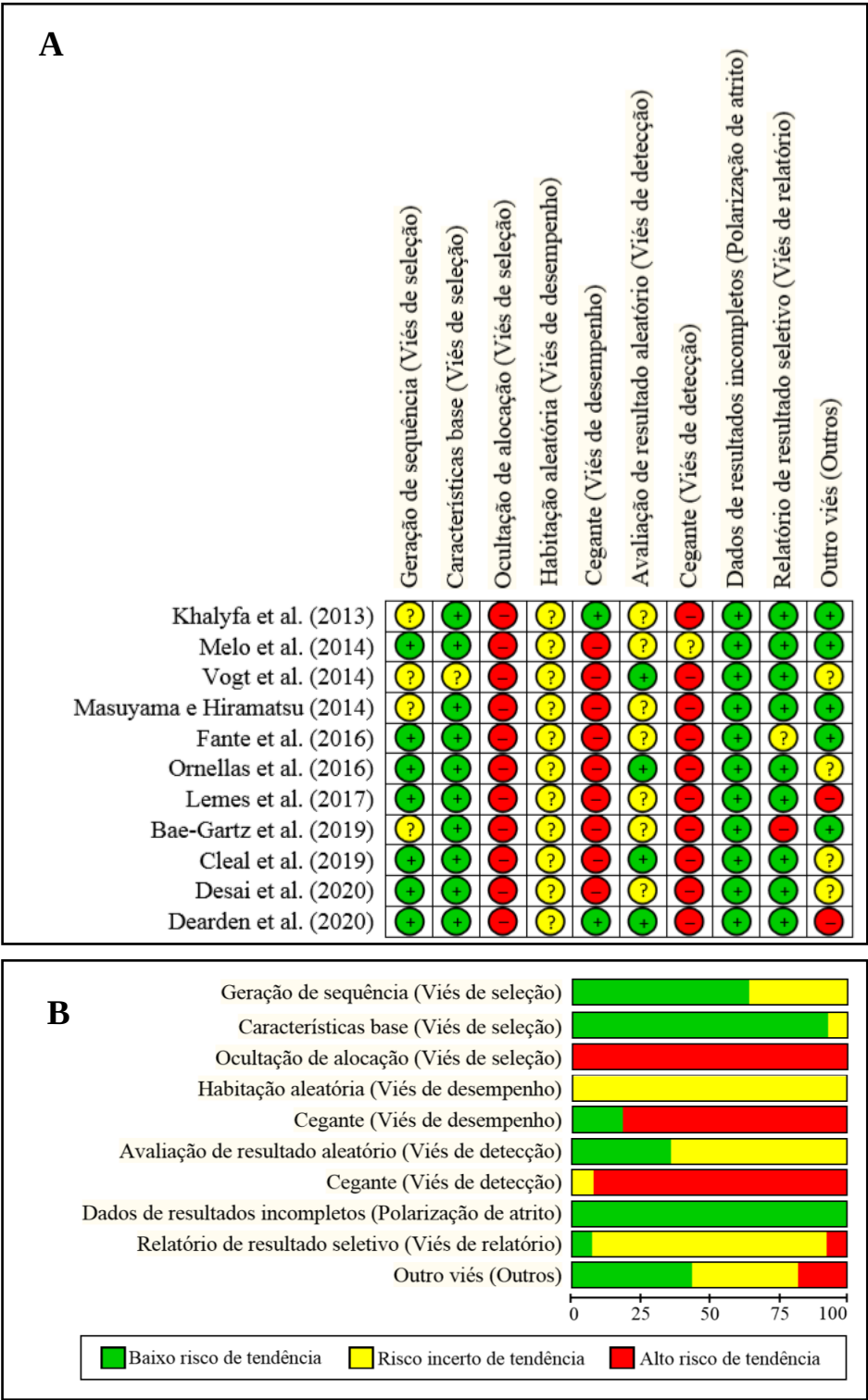


Figura 2. Avaliação do risco de viés, seguindo as recomendações da ferramenta SYRCLE. A) Risco de viés dos estudos com seus respectivos resultados em cada item da avaliação. B) Risco de viés de todos os estudos incluídos na revisão e suas respectivas porcentagens em cada item da avaliação.

Principais resultados no peso corporal, ingestão alimentar e adiposidade corporal

Os resultados dos desfechos relacionados à constituição corporal, ingestão alimentar e gasto energético da prole estão descritos na Tabela 2. Sete dos estudos incluídos avaliaram os efeitos da exposição materna à DH sobre o peso corporal ao nascer (Khalyfa et al. 2013; Melo et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Desai et al. 2020). Destes, três artigos encontraram um menor peso ao nascer na prole masculina de mães alimentadas com DH (Melo et al. 2014; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019), dois estudos encontraram aumento do peso ao nascer em machos (Desai et al. 2020) e em ambos os sexos (Masuyama e Hiramatsu, 2014). Khalyfa et al. (2013) e Ornellas et al. (2016) não encontraram diferença no peso ao nascer em machos e fêmeas.

Durante o período de lactação observou-se um maior peso corporal a partir do DPN1 (Desai et al. 2020), DPN14 (Melo et al. 2014) e DPN15 (Bae-Gartz et al. 2019). Ornellas et al. 2016 avaliaram o peso corporal na 2ª semana de lactação e também encontraram um maior peso corporal na prole de mães DH (Ornellas et al. 2016). Lemes et al. (2017) identificaram um maior peso corporal a partir do DPN18. No entanto, como os autores desse estudo não citaram o dia de desmame da prole, não foi possível identificar se o aumento do peso ocorreu durante o período de lactação ou após o desmame. Fante et al. (2016) não encontraram diferenças no peso corporal entre a prole de mães alimentadas com DH ou dieta controle, durante a lactação. Os estudos incluídos avaliaram os efeitos da dieta materna no peso corporal em prole jovem (Khalyfa et al. 2013; Melo et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Vogt et al. 2014; Fante et al. 2016; Lemes et al. 2017; Ornellas et al. 2016; Desai et al. 2020) e adulta (Khalyfa et al. 2013; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Vogt et al. 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020; Dearden et al. 2020). Apenas um artigo avaliou o peso corporal apenas no período de lactação (Bae-Gartz et al. 2019). Alguns dos estudos relataram um maior peso corporal na prole jovem (Melo et al. 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Desai et al. 2020) que persistiu ao longo da vida (Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Desai et al. 2020). Outros artigos também demonstraram maior peso corporal na prole adulta masculina (Cleal et al. 2019) e em ambos os sexos (Masuyama e Hiramatsu, 2014). Vogt et al. (2014) verificaram que apenas a prole adulta exposta à DH durante a lactação apresentou aumento no peso corporal. Apenas um estudo que avaliou em animais machos com 6 e 8 semanas de vida, não encontrou diferenças no peso corporal (Dearden et al. 2020).

Esta revisão investigou as repercussões da exposição materna à DH na adiposidade corporal da prole a curto e longo prazo. Três estudos selecionados relataram maior adiposidade corporal nas áreas epididimal e retroperitoneal em camundongos jovens (Melo et al. 2014; Fante et al. 2016; Lemes et al. 2017). Fante et al. (2016) também encontraram resultados semelhantes na prole adulta aos 82 dias de vida. Khalyfa et al. (2013) verificaram um aumento de tecido adiposo visceral e subcutâneo, em ambos os sexos, na 20ª semana de idade. Desai et al. (2020) observaram um aumento do percentual de gordura corporal, além de redução no percentual de massa magra na prole adulta. Vogt et al. (2014) encontraram um maior percentual de gordura corporal em camundongos machos expostos à DH durante a lactação. Ao contrário, Dearden et al. (2020) não identificaram diferenças na adiposidade corporal em camundongos machos.

Em termos de ingestão alimentar, estudos demonstraram um aumento na ingestão alimentar em prole jovem e/ou adulta (Masuyama e Hiramatsu, 2014; Melo et al. 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Desai et al. 2020), bem como um maior consumo calórico em jovens e adultos de ambos sexos (Masuyama e Hiramatsu, 2014; Ornellas et al. 2016). Um dos estudos avaliou a ingestão alimentar de camundongos adultos durante 24 horas, sob um ciclo claro-escuro de 12/12 horas (Cleal et al. 2019). Os dados foram registrados em seis períodos com duração de 4 horas cada (Cleal et al. 2019). Os autores observaram uma maior ingestão alimentar diurna, na 15ª semanas de vida, em prole de mães alimentadas com DH. No entanto, esse estudo não identificou diferenças na ingestão alimentar noturna (Cleal et al. 2019). Dearden et al. (2020) e Fante et al. (2016) não relataram diferenças na ingestão alimentar em camundongos machos jovens e/ou adultos.

Para compreender o impacto do peso corporal e da adiposidade corporal no gasto energético, esta revisão investigou alguns dados relacionados a temperatura corporal, consumo de oxigênio (VO_2) e atividade física. Dos onze artigos incluídos, apenas um utilizou calorimetria indireta para avaliar o VO_2 , produção de dióxido de carbono (VCO_2), bem como a razão de troca respiratória (RER) (Lemes et al. 2017) e um utilizou sistema de gaiola fisiológica com um transdutor de peso extensiométrico para avaliar a atividade locomotora dos camundongos (Cleal et al. 2019). Assim, Lemes et al. (2017) relataram uma redução de VO_2 na prole jovem e não encontraram diferenças no VCO_2 e RER entre a prole exposta ou não à DH durante a gestação e lactação. Por outro lado, Cleal et al. (2019) relataram um aumento da atividade locomotora diurna e redução da mesma no período noturno. Nenhum artigo estudou os efeitos da exposição materna à DH na temperatura corporal dos descendentes.

Principais resultados nos componentes hipotalâmicos

Para esclarecer os efeitos da DH materna nos componentes hipotalâmicos da prole, esta revisão investigou a expressão gênica e/ou proteica de neuropeptídeos ou outros compostos das vias hipotalâmicas que controlam a ingestão alimentar. Seis dos onze estudos utilizaram a Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) para avaliar expressão gênica de neuropeptídeos hipotalâmicos (Vogt et al. 2014; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Dearden et al. 2020), quatro utilizaram *Western blotting* para avaliar a expressão proteica de neuropeptídeos ou outros compostos hipotalâmicos (Ornellas et al. 2016; Bae-Gartz et al. 2019; Desai et al. 2020; Dearden et al. 2020) e cinco utilizaram imunohistoquímica para avaliar a imunorreatividade hipotalâmica ou realizaram a contagem de células neuronais (Vogt et al. 2014; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Desai et al. 2020; Dearden et al. 2020).

Em relação à expressão gênica, um estudo encontrou um aumento na expressão de AgRP no hipotálamo de camundongos no início da vida (Lemes et al. 2017). Quatro artigos avaliaram esses parâmetros a longo prazo (Vogt et al. 2014; Ornellas et al. 2016; Cleal et al. 2019; Dearden et al. 2020). Destes, dois estudos demonstraram aumento na expressão de NPY e diminuição na expressão de POMC em ambos os sexos, (Ornellas et al. 2016) e em machos (Dearden et al. 2020). Um estudo relatou uma redução de NPY e POMC no período diurno e noturno, respectivamente, em camundongos com 15 semanas de idade (Cleal et al. 2019). Dois artigos não encontraram diferenças na expressão gênica de NPY, POMC (Vogt et al. 2014; Bae-Gartz et al. 2019) e AgRP no ARC (Vogt et al. 2014) em camundongos machos.

Em termos de expressão proteica, Ornellas et al. (2016) relataram um aumento na expressão do neuropeptídeo orexigênico NPY, bem como uma diminuição na expressão de POMC e α -MSH, em ambos os sexos. Desai et al. (2020) também encontrou uma redução na expressão de POMC no núcleo arqueado, além de maior expressão de AgRP em neonatos (DPN1) e em animais adultos (12 meses). Quanto as vias de sinalização celular, dois estudos relataram uma diminuição na razão p-ERK1/2 / ERK1/2 no 13º dia embrionário (Dearden et al. 2020) e aos 21 dias de idade (Bae-Gartz et al. 2019). Além disso, Bae-Gartz et al. (2019) encontraram um aumento na expressão da p-AKT. Dearden et al. (2020) não relataram diferenças na p-AKT, razão p-AKT / AKT e ERK1/2 total. No entanto, os autores verificaram uma redução na expressão de p-ERK1/2 (Dearden et al. 2020).

Quanto à imunorreatividade hipotalâmica, Vogt et al. (2014) demonstraram uma menor imunorreatividade de AgRP e α -MSH nas fibras neuronais do ARC para seus locais alvos, em descendentes de mães que consumiram a HFD na lactação. Os autores não encontraram diferenças na contagem de neurônios POMC e AgRP no ARC em prole masculina (Vogt et al. 2014). Por outro lado, Ornellas et al. (2016) relataram maior imunorreatividade de NPY e menor imunorreatividade de POMC nas fibras neuronais do ARC ao núcleo periventricular e próximo ao terceiro ventrículo, em ambos os sexos. Dois estudos evidenciaram um aumento nos neurônios NPY no 28º e 82º dias de vida (Lemes et al. 2016), e aos 12 meses de vida (Desai et al. 2020), enquanto Dearden et al. (2020) verificaram uma redução de neurônios POMC. Lemes et al. (2016) não encontraram diferenças na quantidade de neurônios α -MSH em camundongos jovens expostos à DH durante gestação e lactação.

4. Discussão

A presente revisão sistemática avaliou 11 artigos buscando elucidar se o consumo de DH durante a pré-gestação, gestação e/ou lactação modifica o peso corporal, ingestão alimentar, bem como aspectos celulares ou moleculares de peptídeos hipotalâmicos e outros componentes relacionados às vias que controlam a ingestão e gasto energéticos em camundongos. Os principais resultados dos estudos incluídos neste trabalho descrevem mudanças no peso corporal, gordura corporal, ingestão alimentar e expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos em prole de mães que consumiram a DH durante gestação e/ou lactação.

Quanto ao desenho metodológico, a maioria dos estudos utilizaram a DH desde o período pré-concepção até a lactação. Além disso, todas as ninhadas foram ajustadas para o tamanho padrão. Ademais, a contribuição calórica provinda de lipídeos variou entre 7,4 a 17,0% nas dietas controles e entre 45 e 62% na DH. De fato, existe a preocupação em fornecer uma dieta experimental que se assemelhe às dietas ingeridas em estudos com humanos (Speakman, 2019). No entanto, a alta variabilidade na composição das dietas contribui com a variação fenotípica, além de comprometer a reprodutibilidade dos dados (Pellizzon e Ricci, 2020). Foi confirmado que dietas com 45% kcal de gordura repercutem no peso corporal e adiposidade da prole (Cleal et al. 2019; Desai et al. 2019). Desta forma, sugere-se que fornecer 60% kcal de gordura não seria eficaz, visto que representaria uma distorção exacerbada do conteúdo lipídico de uma dieta normal para roedores (10% kcal de gordura) (Speakman, 2019). Por outro lado, também é importante avaliar a composição nutricional das dietas controles (Pellizzon e Ricci,

2020). Foi observado que as dietas fornecidas aos grupos controles se enquadram como dietas ricas em carboidratos (Marques et al. 2020) ($\geq 45\%$ de carboidratos), na maioria dos estudos. Esses desequilíbrios de macronutrientes podem influenciar as comparações dos resultados (Marques et al. 2020).

A administração da DH durante o início do desenvolvimento está associada ao maior peso e adiposidade corporal na prole (Khalyfa et al. 2013; Melo et al. 2014; Vogt et al. 2014; Masuyama e Hiramatsu, 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020; Dearden et al. 2020). De fato, as modificações no ambiente nutricional durante períodos críticos de desenvolvimento são capazes de programar alterações na homeostase energética (Orozco-Solís et al. 2010) e, assim, influenciar o fenótipo metabólico da prole (Chang et al. 2019). Mesmo que a exposição materna à DH seja realizada por um período relativamente curto e que os descendentes se alimentem com dieta padrão após o desmame, é possível observar prejuízos permanentes na composição corporal e no metabolismo da prole a longo prazo (Khalyfa et al. 2013). Animais experimentais expostos à dieta rica em gordura apresentam uma resposta inflamatória sistêmica de baixa intensidade que atinge o Sistema Nervoso Central (SNC) (Dias et al. 2020), incluindo o hipotálamo (De Souza et al. 2005). A ativação das vias inflamatórias ocorre devido ao aumento de citocinas TNF- α , IL-6 e IL-1 β (Milanski et al. 2009). As citocinas pró-inflamatórias podem ser secretadas pelos adipócitos ou podem estar relacionadas ao aumento da adiposidade corporal que geram maior produção das mesmas (Labban et al. 2020). Adicionalmente, o aumento na expressão de marcadores inflamatórios no hipotálamo em prole de mães que consumiram DH está associada à expressão elevada do supressor de sinalização de citocina 3 (SOCS3) no núcleo arqueado (Münzberg et al. 2004; Ornellas et al. 2016), o que caracteriza uma relação entre inflamação hipotalâmica e resistência à leptina e insulina (Zhang et al. 2008; Ornellas et al. 2016). Esse prejuízo ocorre por meio da via Janus Quinase/Transdutores de Sinal e Ativadores da Transcrição (JAK/STAT) (Ornellas et al. 2016). Além disso, alterações na via de sinalização de leptina em prole de mães alimentadas com DH são capazes de promover mudanças nos neuropeptídeos hipotalâmicos que regulam o apetite e, consequentemente, contribui para o aumento da ingestão alimentar (Ornellas et al. 2016).

A maioria dos estudos revisados neste trabalho associaram o consumo materno de DH ao aumento na ingestão alimentar (Melo et al. 2014; Fante et al. 2016; Ornellas et al. 2016; Lemes et al. 2017; Cleal et al. 2019; Desai et al. 2020) e redução do gasto energético (Lemes et al. 2017; Cleal et al. 2019), principalmente no ciclo escuro (Cleal et al. 2019). Esses dados

sugerem possíveis alterações na regulação da homeostase energética, o que reflete em mudança no comportamento alimentar da prole (Cleal et al. 2019). A manipulação nutricional com DH contribui para redução de sinapses nos neurônios POMC e NPY (Horvath et al. 2010). No entanto, a perda de sinapses em POMC afeta, principalmente, os contatos inibitórios, enquanto que em NPY está relacionado aos contatos excitatórios (Horvath et al. 2010). Já é conhecido que as duas populações neuronais no hipotálamo expressam receptores de hormônios como leptina e insulina e, portanto, detectam mudanças sutis ou crônicas nos níveis de hormônios e nutrientes presentes na corrente sanguínea (Schwartz et al. 2000). Assim, a ligação da leptina ao seu receptor leva à fosforilação do transdutor de sinal e ativador da transcrição-3 (STAT-3) (Park e Ahima 2014) que inibe a expressão do NPY/AgRP (Mesaros et al. 2008; Park e Ahima 2014) e induz a expressão de POMC/CART para reduzir a ingestão de alimentos (Ernst et al. 2009; Park e Ahima 2014). No entanto, altos níveis circulantes de leptina proporcionais a adiposidade corporal (Murphy e Bloom, 2006) não cumprem seus efeitos metabólicos devido resistência à leptina (Schwartz et al. 2000). Um dos mecanismos subjacentes a essas alterações pode ser explicado pelo estado inflamatório e aumento da expressão de SOCS3 que compromete os efeitos anorexigênicos da leptina (Rajia et al. 2010; Arruda et al. 2011). Desta forma, a SOCS3 regula positivamente os neurônios AgRP (Jais e Brüning 2017), bem como altera a expressão de NPY e POMC (Arruda et al. 2011), o que contribui para hiperfagia e desequilíbrio energético (Jais e Brüning 2017). Por outro lado, além de alterar a expressão de neurotransmissores envolvidos no controle da ingestão alimentar, a indução de inflamação hipotalâmica, através da administração intracerebroventricular de ácido esteárico, está associada à redução no consumo de oxigênio e na produção de dióxido de carbono, bem como em expressão reduzida de proteína desacopladora-1 (UCP-1) no tecido adiposo marrom (Arruda et al. 2011).

No presente estudo, a manipulação nutricional de DH contendo 45–49% kcal de lipídios foi mais eficaz em promover alterações na expressão gênica de neuropeptídeos hipotalâmicos NPY e POMC (Ornellas et al. 2016; Cleal et al. 2019; Dearden et al. 2020) em prole adulta. Além disso, também contribuiu para alterações na expressão proteica de NPY, AgRP, POMC e α -MSH (Ornellas et al. 2016; Desai et al. 2020). Por outro lado, os protocolos nutricionais contendo 46–60% kcal de lipídios não promoveram alterações na expressão gênica de neuropeptídeos hipotalâmicos (Vogt et al. 2014; Lemes et al. 2017; Bae-Gartz et al. 2019) na prole jovem. Em contrapartida, a dieta materna com 60% kcal de lipídios alterou precocemente a expressão proteica das vias de sinalização ERK e AKT (Bae-Gartz et al. 2019). Vale

considerar que tanto a quantidade quanto o tipo de ácidos graxos da dieta podem alterar a expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos (Wang et al. 2002). No entanto, poucos estudos relataram o perfil de ácidos graxos administrados durante os experimentos.

A expressão de neuropeptídeo pode não corresponder à quantidade de neurônios, visto que pode ocorrer uma super ou subexpressão de neuropeptídeos dentro de neurônios individuais (Desai et al. 2020). A alimentação materna contendo 45-55,2% kcal de lípidos favoreceu a via orexigênica com o aumento na imunorreatividade de NPY (Ornellas et al. 2016) e na proliferação de neurônios NPY (Lemes et al. 2017; Desai et al. 2020), bem como comprometeu a via anorexigênica com a redução na imunorreatividade de POMC e α -MSH (Vogt et al. 2014; Ornellas et al. 2016) e na proliferação de neurônios POMC (Dearden et al. 2020). Esses dados sugerem que a programação induzida pela dieta materna interfere nas duas subpopulações de neurônios simultaneamente (Ornellas et al. 2016).

Adicionalmente, o desenvolvimento dos neurocircuitos hipotalâmicos perdura até a terceira semana de vida pós-natal em roedores (Vogt et al. 2019). Além disso, a formação de redes neuronais com a ontogenia de projeções axonais e conexões sinápticas, ocorre durante a fase de lactação (Grayson et al. 2006). Desta forma, como o período de lactação é mais responsivo às mudanças ambientais, a exposição a DH durante essa fase é suficiente para programar distúrbios metabólicos na prole (Vogt et al. 2019). No mesmo sentido, a supernutrição induzida pela mudança no tamanho da ninhada predispõe os animais a uma maior utilização de energia e armazenamento dos nutrientes em depósito de gordura na vida adulta (Mozes et al. 2014). Apenas um estudo utilizou a DH durante a lactação e demonstrou que o metabolismo materno interrompeu a homeostase metabólica na prole, o que resultou em prejuízo nas projeções neuronais (Vogt et al. 2019).

Conclusão

A exposição materna a DH durante a pré-gestação, gestação e / ou lactação promoveu um aumento no peso corporal, ingestão alimentar e adiposidade corporal na prole jovem e adulta. Além disso, foram demonstradas alterações na expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos e nas vias de sinalização relacionadas com o controle da homeostase energética. Os dados desta revisão sugerem que a dieta hiperlipídica materna resultou em prejuízos nos circuitos hipotalâmicos com uma ativação das vias orexigênicas na prole. Por fim, os efeitos da

dieta materna sobre o fenótipo e metabolismo da prole não foram revertidos mesmo diante de uma dieta controle no pós-desmame.

Tabela 2. Características dos estudos selecionados.

Autor, ano	População	Nº de filhotes por ninhada	Período de consumo de HFD	Composição da Dieta Controle			Composição da HFD			Dieta após o desmame
				Kcal de LIP	Kcal de CHO	Kcal de PTN	Kcal de LIP	Kcal de CHO	Kcal de PTN	
Khalyfa et al. (2013)	Camundongos C57BL/6J (Machos e fêmeas)	6 filhotes	Após o 12º dia de gestação até a lactação	10%	-	-	60%	-	-	Dieta controle
Melo et al. (2014)	Camundongo suíço (Machos)	6 filhotes	3 semanas antes da concepção, durante acasalamento, gestação e lactação	11,6%	62,8%	25,7%	46,1%	35,8%	18,1%	Dieta controle
Vogt et al. (2014)	Camundongos C57BL/6 (Machos e fêmeas)	6-7 filhotes	8 semanas antes da concepção, durante gestação e/ou lactação	12%	53,5%	18,5%	55,2%	-	-	Dieta controle
Masuyama e Hiramatsu (2014)	Camundongos ICR (Machos e fêmeas)	9 filhotes	4 semanas antes da concepção, durante acasalamento, gestação e lactação	12%	-	-	62%	-	-	Dieta controle
Fante et al. (2016)	Camundongo suíço (Machos)	8 filhotes	3 semanas antes da concepção, durante acasalamento, gestação e lactação	11,6%	62,8%	25,7%	46,1%	35,8%	18,1%	Dieta controle

Ornellas et al. (2016)	Camundongos C57BL/6 (Machos e fêmeas)	6 filhotes	8 semanas antes da concepção, durante gestação e lactação	17,0% (óleo de soja)	64,0%	19,0%	49,0% (17,0% de óleo de soja e 32% de banha)	32,0%	19,0%	Dieta controle
Lemes et al. (2017)	Camundongo suíço (Machos)	8 filhotes	3 semanas antes da concepção, durante acasalamento, gestação e lactação	11,0%	63,0%	26,0%	46,0%	36,0%	18,0%	Dieta controle
Bae-Gartz et al. (2019)	Camundongo C57BL/6N (Machos)	6 filhotes	9–10 semanas antes da concepção, durante gestação e lactação	9,0%	41,2%	19,0%	60,0%	-	-	Os animais foram sacrificados com 21 dias.
Cleal et al. (2019)	Camundongo C57/BL6J (Machos)	6 filhotes	8 semanas antes da concepção, durante gestação e lactação	7,4%	75,1%	17,5%	45,0%	35,0%	20,0%	Dieta controle
Desai et al. (2020)	Camundongo C57BL/6 (Machos)	6 filhotes	8 semanas antes da concepção, durante gestação e lactação	10,0% (óleo de soja)	70,0%	20,00%	45,0% (óleo de soja) 4,70 kcal/g	35,0%	20,0%	Dieta controle
Dearden et al. (2020)	Camundongo C57BL/6J (Machos)	6 filhotes	6-8 semanas antes da concepção, durante gestação e lactação	-	-	-	45,0% + leite condensado (3,26 kcal/g)	-	-	Dieta controle

(-) = Não informado

Tabela 3. Efeitos da dieta hiperlipídica materna na constituição corporal, ingestão alimentar e gasto energético da prole.

Autor, ano	Idade dos animais durante análise	Desfechos analisados	Resultados nos grupos que receberam HFD
CONSTITUIÇÃO CORPORAL			
Khalyfa et al. (2013)	Ao nascer	Peso corporal	ND em ambos os sexos
	Do nascimento até 20ª semana de vida		Machos: ↑ a partir da 6ª semana. Fêmeas: ↑ a partir da 8ª semana.
	20ª semana de vida	Tecido adiposo	↑ do tecido adiposo visceral e subcutâneo ambos os sexos
Melo et al. (2014)	Ao nascer	Peso corporal	↓
	DPN7 a 28		↑ a partir do DPN14.
	28 dias de vida	Tecido adiposo branco	↑ de peso do tecido adiposo epididimal e retroperitoneal.
Vogt et al. (2014)	Semanalmente da 2ª até 20ª semana de vida	Peso corporal	Machos: ↑ na prole de mães que consumiram HFD durante a lactação, após 8ª semanas de vida. Fêmeas: ↑ na prole de mães que consumiram HFD durante a lactação, após 8ª semanas de vida.
	20ª semana de vida	Gordura corporal (%)	Machos: ↑ na prole de mães que consumiram HFD durante a lactação. Fêmeas: ND
	20ª semana de vida	Peso da gordura perigonadal	Machos: ↑ na prole de mães que consumiram HFD durante a gestação + lactação ou apenas na lactação. Fêmeas: ND

Masuyama e Hiramatsu (2014)	Ao nascer	Peso corporal	↑ de peso na prole de mães alimentadas com HFD durante a gestação, em ambos os sexos.
	2ª a 24ª semana de vida		Machos: ↑ a partir da 10ª semana de vida. Fêmeas: ↑ a partir da 12ª semana de vida.
	4ª a 24ª semana de vida	Gordura corporal (g)	Machos: ↑ a partir da 8ª semana de vida. Fêmeas: ↑ a partir da 12ª semana de vida.
Fante et al. (2016)	DPN7 a DPPN77 (os ratos foram pesados no DPN7 e semanalmente até DPN77).	Peso corporal	↑ a partir do DPN28
	28 dias de vida	Tecido adiposo branco	↑ da massa de gordura epididimal e retroperitoneal.
	82 dias de vida		↑ da massa de gordura epididimal e retroperitoneal.
Ornellas et al. (2016)	Ao nascer	Peso corporal	ND em ambos os sexos.
	2ª, 4ª, 6ª, 8ª, 10ª, 12ª semanas de vida		↑ em ambos os sexos.
Lemes et al. (2017)	Ao nascer	Peso corporal	↓
	DPN18 a 28		↑
	28 dias de vida	Tecido adiposo branco	↑ de peso do tecido adiposo epididimal e retroperitoneal
Bae-Gartz et al. (2019)	DPN1	Peso corporal	↓
	15 a 21 dias de vida		↑
	21 dias de vida	Tecido adiposo	↑ de peso da gordura epigonadal
Cleal et al. (2019)	15 semanas de vida	Peso corporal	↑
Desai et al. (2020)	DPN1 até 12 meses de idade	Peso corporal	↑

	12 meses de idade	Gordura corporal (g)	↑
		Gordura corporal (%)	↑
		Massa magra (g)	ND
		Massa magra (%)	↓
Dearden et al. (2020)	6ª e 8ª semana de vida	Peso corporal	ND
	6ª e 8ª semana de vida	Peso corporal total (%)	ND
INGESTÃO ALIMENTAR			
Melo et al. (2014)	28 dias de vida	Ingestão alimentar	↑
Masuyama e Hiramatsu (2014)	4ª a 24ª semana de vida	Consumo de energia	Machos: ↑ a partir da 8ª semana Fêmeas: ↑ a partir da 8ª semana
Fante et al. (2016)	28 dias de vida	Ingestão alimentar	↑
	82 dias de vida		ND
Ornellas et al. (2016)	Diariamente até 12 semanas de vida	Ingestão alimentar	↑ em ambos os sexos.
		Consumo de energia	↑ em ambos os sexos.
Lemes et al. (2017)	28 dias de vida	Ingestão alimentar	↑
Cleal et al. (2019)	15 semanas de vida	Ingestão alimentar	↑ na alimentação diurna ND na alimentação noturna
Desai et al. (2020)	4 a 48 semanas de idade	Ingestão alimentar	↑
Dearden et al. (2020)	6ª e 8ª semana de vida	Ingestão alimentar	ND
GASTO ENERGETICO			

Lemes et al. (2017)	28 dias de vida	Consumo de oxigênio	↓ no ciclo claro-escuro.
		Produção de VCO ₂	ND.
		Relação de troca respiratória	ND
Cleal et al. (2019)	15 semanas	Atividade locomotora	↑ na atividade diurna.
			↓ na atividade noturna

DPN = dia pós-natal; ND = nenhuma diferença.

Tabela 4. Efeitos da dieta hiperlipídica materna nos componentes hipotalâmicos relacionados ao balanço energético.

Autor, ano	Idade dos animais durante análise	Desfechos analisados	Resultados
EXPRESSÃO GÊNICA			
Vogt et al. (2014)	3ª e 20ª semana de vida	NPY	ND (avaliado apenas na prole masculina de mães que controle e que consumiram HFD na lactação).
		POMC	ND (avaliado apenas na prole masculina de mães que controle e que consumiram HFD na lactação).
		AgRP	ND (avaliado apenas na prole masculina de mães que controle e que consumiram HFD na lactação).
Ornellas et al. (2016)	12 semanas de vida	NPY	↑ em ambos os sexos.
	12 semanas de vida	POMC	↓ em ambos os sexos.
Lemes et al. (2017)	Ao nascer	AgRP	↑
	28 dias de vida		ND
	Ao nascer	NPY	ND
	28 dias de vida		ND
	Ao nascer	POMC	ND
	28 dias de vida		ND
Bae-Gartz et al. (2019)	21 dias de vida	NPY	ND
		POMC	ND
Cleal et al. (2019)	15 semanas de vida (Os tecidos hipotalâmicos foram coletados a cada 4 horas, com início às 7h e, designados como ZT0, ZT4, ZT8, ZT12, ZT16, ZT20 e ZT24)	NPY	↓ em ZT16 (período noturno).

		POMC	↓ em ZT8 (período diurno).
Dearden et al. (2020)	8ª semana de vida	NPY	↑
		POMC	↓
EXPRESSÃO PROTEICA			
Ornellas et al. (2016)	12 semanas de vida	NPY	↑ em ambos os sexos.
		POMC	↓ em ambos os sexos.
		α -MSH	↓
Bae-Gartz et al. (2019)	21 dias de vida	pERK1/2 ÷ ERK1/2 total	↓
		pAKT	↑
Desai et al. (2020)	DPN1	POMC	↓
	12 meses de vida		↓
	DPN1	AgRP	↑
	12 meses de vida		↑
Dearden et al. (2020)	E13	AKT total	↑
		p-AKT	ND
		p-AKT ÷ AKT total	ND
		ERK total	ND
		p-ERK	↓
		p-ERK ÷ ERK total	↓
IMUNORREATIVIDADE			
Vogt et al. (2014)	8ª semana de vida	AgRP	↓

		α -MSH	↓
		Neurônios POMC	ND (avaliado apenas na prole masculina).
		Neurônios AgRP	ND (avaliado apenas na prole masculina).
Ornellas et al. (2016)	12 semanas de vida	NPY	↑ em ambos os sexos
		POMC	↓ em ambos os sexos
Lemes et al. (2017)	28 dias de vida	Neurônios NPY	↑
	82 dias de vida		↑
	28 dias de vida	Neurônios α -MSH	ND
Desai et al. (2020)	12 meses de vida	Neurônios NPY	↑
Dearden et al. (2020)	8ª semana	Neurônios POMC	↓

DPN = dia pós-natal; ZT = escala Zeitgeber (descreve variáveis rítmicas ambientais); ND = nenhuma diferença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arruda, A.P.; Milanski, M.; Coope, A.; Torsoni, A.S.; Ropelle, E.; Carvalho, D.P.; Carvalheira, J.B.; Velloso, L.A. (2011). Low-Grade Hypothalamic Inflammation Leads to Defective Thermogenesis, Insulin Resistance, and Impaired Insulin Secretion. *Endocrinology* 152(4):1314-1326.
- Bae-Gartz, I.; Janoschek, R.; Breuer, S.; Schmitz, L.; Hoffmann, T.; Ferrari, N.; Branik, L.; Oberthuer, A.; Kloppe, C.S.; Appel, S.; Vohlen, C.; Dötsch, J.; Hucklenbruch-Rother, E. (2019). Maternal Obesity Alters Neurotrophin-Associated MAPK Signaling in the Hypothalamus of Male Mouse Offspring. *Front Neurosci* 13:962.
- Bagnol, D.; Al-Shamma, H.A.; Behan, D.; Whelan, K.; Grottick, A.J. Diet-Induced Models of Obesity (DIO) in Rodents. (2012). *Current Protocols Neuroscience* 59:9.38.1-13.
- Balthasar, N.; Dalgaard, L.T.; Lee, C.E.; Yu, J.; Funahashi, H.; Williams, T.; Ferreira, M.; Tang, V.; Mcgovern, R.A.; Kenny, C.D.; Christiansen, L.M.; Edelstein, E.; Choi, B.; Boss, O.; Aschkenasi, C.; Zhang, C.Y.; Mountjoy, K.; Kishi, T.; Elmquist, J. K.; Lowell, B.B. (2005). Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell* 123(3):493-505.
- Barker, D.J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *British Medical Journal* 311(6998):171-174.
- Bateson, P.; Barker, D.; Clutton-Brock, T.; Deb, D.; D'udine, B.; Foley, R.A.; Gluckman, P.; Godfrey, K.; Kirkwood, T.; Lahr, M.M.; Mcnamara, J.; Metcalfe, N.B.; Monaghan, P.; Spencer, H.G.; Sultan, S.E. (2004). Developmental plasticity and human health. *Nature* 430(6998):419-421.
- Bouret, S.G. (2009). Early life origins of obesity: role of hypothalamic programming. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 48(Suppl 1):S31-8.
- Chang, E.; Hafner, H.; Varghese, M.; Griffin, C.; Clemente, J.; Islam, M.; Carlson, Z.; Zhu, A.; Hak, L.; Abrishami, S.; Gregg, B.; Singer, K. (2019). Programming effects of maternal and gestational obesity on offspring metabolism and metabolic inflammation. *Scientific Reports* 9(16027).
- Chen, H.; Simar, D.; Margaret J.; Morris, M. J. (2009). Hypothalamic Neuroendocrine Circuitry is Programmed by Maternal Obesity: Interaction with Postnatal Nutritional Environment. *PLoS One* 4(7):e6259.
- Choi, J.S. (2018). Effects of Maternal and Post-Weaning High-Fat Diet on Leptin Resistance and Hypothalamic Appetite Genes in Sprague Dawley Rat Offspring. *Clinical Nutrition Research* 7(4):276-290.
- Cleal, J.K.; Bruce, K.D.; Shearer, J.L.; Thomas, H.; Plume, J.; Gregory, L.; Shepard, J. N.; Spiers-Fitzgerald, K.L.; Mani, R.; Lewis, R.M.; Lillycrop, K.A.; Hanson, M.A.; Byrne, C.D.; Cagampang, F.R. (2019). Maternal Obesity during Pregnancy Alters Daily Activity and

Feeding Cycles, and Hypothalamic Clock Gene Expression in Adult Male Mouse Offspring. *Int J Mol Sci* 20(21):5408.

Cone, R.D. (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature Neuroscience* 8(5):571-578.

Dearden, L.; Buller, S.; Furigo, I.C.; Fernandez-Twinn, D.S.; Ozanne, S.E. (2020). Maternal obesity causes fetal hypothalamic insulin resistance and disrupts development of hypothalamic feeding pathways. *Mol Metab* 42(101079).

Desai, M.; Ferrini, M.G.; Han, G.; Narwani, K.; Ross, M.G. (2020). Maternal high fat diet programs male mice offspring hyperphagia and obesity: Mechanism of increased appetite neurons via altered neurogenic factors and nutrient sensor AMPK. *Nutrients* 12(11):3326.

Desai, M.; Jellyman, J.K.J.; Han, G.; Beall, M.; Lane, R.H.; Ross, M.G. (2014). Maternal Obesity and High Fat Diet Program Offspring Metabolic Syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 211(3): 237.e1-237.e13.

De Souza, C.T.; Araujo, E.P.; Bordin, S.; Ashimine, R.; Zollner, R.L.; Boschero, A.C.; Saad, M.J.A.; Velloso, L.A. (2005). Consumption of a Fat-Rich Diet Activates a Proinflammatory Response and Induces Insulin Resistance in the Hypothalamus. *Endocrinology* 146(10):4192-4199.

De Vries, R.B.M.; Hooijmans, C.R.; Langendam, M.W.; Luyk, J.V.; Leenaars, M.; Ritskes-Hoitinga, M.; Wever, K.E. (2015). A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. *Evidence-based Preclinical Medicine* 2(1):1-9.

Dias, C.T.; Curi, H.T.; Payolla, T.B.; Lemes, S.F.; Pavan, I.C.B.; Torsoni, M.A.; Simabuco, F.M.; Lambertucci, R.H.; Mendes-da-Silva, C. (2020). Maternal high-fat diet stimulates proinflammatory pathway and increases the expression of Tryptophan Hydroxylase 2 (TPH2) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in adolescent mice hippocampus. *Neurochemistry International* 139(104781).

Ernst, M.B.; Wunderlich, C.M.; Hess, S.; Paehler, M.; Mesaros, A.; Koralov, S.B.; Kleinridders, A.; Husch, A.; Münzberg, H.; Hampel, B.; Alber, J.; Kloppenburg, P.; Brüning, J.C.; Wunderlich, F.T. (2009). Enhanced Stat3 activation in POMC neurons provokes negative feedback inhibition of leptin and insulin signaling in obesity. *Neurosci J* 29: 11582-11593.

Fante, T. de; Simino, L.A.; Reginato, A.; Payolla, T.B.; Vitoréli, D.C.G.; de Souza, M.; Torsoni, M.A.; Milanski, M.; Torsoni, A.S. (2016). Diet-induced maternal obesity alters insulin signaling in male mice offspring rechallenged with a high-fat diet in adulthood. *PloS One* 11(8):e0160184.

Ghamari-Langroudi, M.; Srisai, D.; Cone, R.D. (2011). Multinodal regulation of the arcuate/paraventricular nucleus circuit by leptin. *Proc Natl Acad Sci USA* 108(1):355–360.

Gluckman, P.D.; Hanson, M.A.; Spencer, H.G. (2005). Predictive adaptive responses and human evolution. *TRENDS in Ecology and Evolution* 20(10):527-533.

Grayson, B.E.; Allen, S.E.; Billes, S.K.; Williams, S.M.; Smith, M.S.; Grove, K.L. (2006). Prenatal development of hypothalamic neuropeptide systems in the nonhuman primate. *Neuroscience* 143:975–986.

Hooijmans, C.R.; Rovers, M.M.; de Vries, R.B.M.; Leenaars, M.; Ritskes-Hoitinga, M.; Langendam, M.W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol* 14(43):1-9.

Horvath, T.L.; Sarman, B.; García-Cáceres, C.; Enriori, P.J.; Sotonyi, P.; Shanabrough, M.; Borok, E.; Argente, J.; Chowen, J. A.; Perez-Tilve, D.; Pfluger, P.T.; Brönneke, H.S.; Levin, B.E.; Diano, S.; Cowley, M.A.; Tschöp M.H. (2010). Synaptic input organization of the melanocortin system predicts diet-induced hypothalamic reactive gliosis and obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(33):14875-14880.

Howie, G.J.; Sloboda, D.M.; Kamal, T.; Vickers, M.H. (2009). Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *J Physiol* 587(4):905–915.

Jais, A.; Bruning, J.C. (2017). Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 127(1):24–32.

Khalyfa, A.; Carreras, A.; Hakim, F.; Cunningham, J.M.; Wang, Y.; Gozal D. (2013). Effects of Late Gestational High Fat Diet on Body Weight, Metabolic Regulation and Adipokine Expression in Offspring. *Int J Obes (Lond)* 37(11):1481–1489.

Koletzko, B.; Godfrey, K.M.; Poston, L.; Szajewska, H.; Van Goudoever, J.B.; de Waard, M.; Brands, B.; Grivell, R.M.; Deussen, A.R.; Dodd, J.M.; Patro-Golab, B.; Zalewski, B.M. (2019). Nutrition During Pregnancy, Lactation and Early Childhood and its Implications for Maternal and Long-Term Child Health: The Early Nutrition Project Recommendations. *Ann Nutr Metab* 74:93-106.

Labban, R.S.M.; Alfawaz, H.; Almnaizel, A.T.; Hassan, W.M.; Bhat, R.S.; Moubayed, N.M.S.; Bjorklund, G.; El-Ansary, A. (2020). High-fat diet-induced obesity and impairment of brain neurotransmitter pool. *Translational Neuroscience* 11(1):147-160.

Lemes, S.F.; de Souza, A.C.P.; Payolla, T.B.; Versutti, M.D.; Ramalho, A.F.S.; Mendes-Da-Silva, C.; Souza, C.M.; Milanski, M.; Torsoni, A.S.; Torsoni, M.A. (2017). Maternal Consumption of High-Fat Diet in Mice Alters Hypothalamic Notch Pathway, NPY Cell Population and Food Intake in Offspring. *Neuroscience* 371:1-15.

Liberati, A.; Altman, D.G.; Tetzlaff, J.; Mulrow, C.; Gotzsche, P.C.; Ioannidis, J.P.A.; Clarke, M.; Devereaux, P.J.; Kleijnen, J.; Moher, D. (2009). The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol* 62(10):e1-34.

Marques, A.M.; Linhares, B.S.; Novaes, R.D.; Freitas, M.B.; Sarandy, M.M.; Gonçalves, R.V. (2020). Effects of the amount and type of carbohydrates used in type 2 diabetes diets in animal models: A systematic review. *Plos One* 15(6):e0233364.

Masuyama, H.; Hiramatsu, Y. (2014). Additive Effects of Maternal High Fat Diet during Lactation on Mouse Offspring. *Plos One*, 9(3):e92805.

Melo, A.M.; Benatti, R.O.; Ignacio-Souza, L.M.; Okino, C.; Torsoni, A.S. Milanski, M.; Velloso, L.A.; Torsoni, M.A. (2014). Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. *Metabolism* 63(5):682-92.

Mesaros, A.; Koraloy, S.B.; Rother, E.; Wunderlich, F.T.; Ernst, M.B.; Barsh, G.S.; Rajewsky, K.; Bruning, J.C. (2008). Activation of Stat3 signaling in AgRP neurons promotes locomotor activity. *Cell Metab* 7:236–248.

Milanski, M.; Degasperi, G.; Coope, A.; Morari, J.; Denis, R.; Cintra, D.E.; Tsukumo, D.M.L.; Anhe, G.; Amaral, M.E.; Takahashi, H.K.; Curi, R.; Oliveira, H.C.; Carvalheira, J.B. C.; Bordin, S. Saad, M.J.; Velloso, L.A. (2009). Saturated Fatty Acids Produce an Inflammatory Response Predominantly through the Activation of TLR4 Signaling in Hypothalamus: Implications for the Pathogenesis of Obesity. *J Neurosci* 29(2):359-370.

Mozes, S.; Sefcikova, Z.; Racek, L. (2014). Long-term effect of altered nutrition induced by litter size manipulation and cross-fostering in suckling male rats on development of obesity risk and health complications, *Eur J Nutr* 53(5):1273-1280.

Münzberg H, Flier J.S, Bjorbaek C. (2004). Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology* 145(11):4880-4889.

Murphy, K.G.; Bloom, S.R. (2006). Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature* 444(7121):854-859.

Myers-Junior, M.G.; Olson, D.P. (2012). Central nervous system control of metabolism. *Nature* 491:357-363.

Oliveira, T.W.S.; Leandro, C.G.; Deiro, T.C.B.J.; Perez, G.P.; Silva, D.F.; Druzian, J.I.; Couto, R.D., Barreto-Medeiros, J.M. (2011). A perinatal palatable high-fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adults rats. *Lipids* 46:1071-1074.

Ornellas, F.; Souza-Mello, V.; Mandarim-De-Lacerda, C.A.; Aguila, M.B. (2016). Combined parental obesity augments single-parent obesity effects on hypothalamus inflammation, leptin signaling (JAK/STAT), hyperphagia, and obesity in the adult mice offspring. *Physiology & Behavior* 153:47–55.

Orozco-Solís, R.; Matos, R.J.B.; Guzmán-Quevedo, O.; Souza, S.L. Bihouée, A. Houlgatte, R.; Manhães-De-Castro, R.M.; Bolaños-Jiménez, F. (2010). Nutritional Programming in the Rat Is Linked to Long-Lasting Changes in Nutrient Sensing and Energy Homeostasis in the Hypothalamus. *PLoS One* 5(10):e13537.

Park, H.K.; Ahima, R.S. (2014). Leptin signaling. *F1000Prime Rep* 6:73-80.

Pellizzon, M.A.; Ricci, M.R. (2020). Choice of Laboratory Rodent Diet May Confound Data Interpretation and Reproducibility. *Current Developments in Nutrition* 4(4).

Rabasa, C.; Winsa-Jörnulf, J.; Vogel, H.; Babaei, C.S.; Askevik, K.; Dickson, S.L. (2016). Behavioral consequences of exposure to a high fat diet during the post-weaning period in rats. *Hormones and Behavior* 85:56-66.

Rajia, S.; Chen, H.; Morris, M.J. (2010). Maternal Overnutrition Impacts Offspring Adiposity and Brain Appetite Markers-Modulation by Postweaning Diet. *Journal of Neuroendocrinology* 22(8):905-914.

Schwartz, M.W.; Woods, S.C.; Porte-Jr, D.; Seeley, R.J.; Baskin, D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature* 404(6778):661-671.

Simpson, K.A.; Martin, N.M.; Bloom, S.R. (2009). Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arq Bras Endocrinol Metab* 53(2):120-128.

Speakman, J.R. (2019). Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. *International Journal of Obesity* 43:1491-1492.

Sullivan, E.L.; Nousen, E.K.; Chamlou, K.A. (2014). Maternal high fat diet consumption during the perinatal period programs offspring behavior. *Physiol. Behav* 123:236-242.

Sullivan, E.L.; Rivera, H.M.; True, C.A.; Franco, J.G.; Baquero, K.; Dean, T.A.; Valleau, J.C.; Takahashi, D.L.; Frazee, T.; Hanna, G.; Kirigiti, M.A.; Bauman, L.A.; Grove, K.L.; Kievit, P. (2017). Maternal and postnatal high-fat diet consumption programs energy balance and hypothalamic melanocortin signaling in nonhuman primate offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 313(2):R169-R179.

Vogt, M.C.; Paeger, L.; Hess, S.; Steculorum, S.M.; Awazawa, M.; Hampel, B.; Neupert, S.; Nicholls, H.T.; Mauer, J.; Hausen, A.C.; Predel, R.; Kloppenburg, P.; Horvath, T.L.; Brüning, J.C. (2014). Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high fat feeding. *Cell* 156(3):495-509.

Wang, H.; Storlien, L.H.; Huang, X.F. (2002). Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 282(6):E1352-E1359.

West-Eberhard, M.J. (2005). Phenotypic Accommodation: Adaptive Innovation Due to Developmental Plasticity. *Journal of Experimental Zoology Mol Dev Evol* 304(6):610-618.

Zhang, X.; Zhang, G.; Zhang H.; Karin M.; Bai H.; Cai D. (2008). Hypothalamic IKK β /NF- κ B and ER stress link overnutrition to energy imbalance and obesity. *Cell* 135(1):61-73.