

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DAYANE SILVA DO NASCIMENTO

**EXPOSIÇÃO MATERNA À DIETA CAFETERIA NA LACTAÇÃO:
EFEITOS SOBRE EXPRESSÃO NEURONAL DE
TRANSPORTADOR DE SEROTONINA EM PROLE DE RATOS
WISTAR.**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO, 2024

DAYANE SILVA DO NASCIMENTO

**EXPOSIÇÃO MATERNA À DIETA CAFETERIA NA LACTAÇÃO:
EFEITOS SOBRE EXPRESSÃO NEURONAL DE
TRANSPORTADOR DE SEROTONINA EM PROLE DE RATOS
WISTAR.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Bases experimentais e clínicas da plasticidade fenotípica

Orientador(a): Profa. Dra. Lígia Cristina Monteiro Galindo

Co-orientador(a): Profa. Dra. Isabeli Lins Pinheiro

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO, 2024

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, dedico este trabalho a Deus. Sem Ele e a Sua permissão, nada disso seria possível. Por me permitir viver esse sonho, por estar ao meu lado e acalmar meu coração nessa caminhada, por não me fazer desistir. A cada descoberta científica, ao invés de me engrandecer pelos meus achados, eu exalto o Grandíssimo Criador por toda a minuciosidade e amor ao fazer cada detalhe existente neste universo.

Aos meus pais, Edilene Ana da Silva e Denis Silva do Nascimento por todo incentivo financeiro, por acreditarem em meu potencial, por sempre me incentivarem ao aprendizado, leitura e descobertas. Mesmo em meio à uma vida simples e em uma localidade conhecida pelos piores destinos aos mais jovens, eu aprendi com eles que a educação sempre valerá a pena e nos levará aos melhores caminhos.

À orientadora Prof^a Dr^a Lígia Cristina Monteiro Galindo, por todo conhecimento compartilhado e confiança em meu trabalho.

À co-orientadora Prof^a Dr^a Isabeli Lins Pinheiro, por todo acolhimento e empatia.

À todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica (UFPE) por todo o conhecimento e correções valiosas para a minha jornada no meio acadêmico e científico da Nutrição.

À minha orientadora de estágio em docência, Prof^a Dr^a Jailma Santos Monteiro, por todo ensino imersivo na disciplina de Educação Alimentar e Nutricional (EAN), por me apresentar projetos inspiradores incríveis para a promoção de alimentação saudável, além de toda compreensão e leveza em seu processo de ensino.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) por viabilizarem a execução desta pesquisa científica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) por me conceder a bolsa de estudos nos últimos 7 meses de mestrado, além da bolsa-auxílio de

3 meses em um momento delicado no financeiro familiar. Esse auxílio me permitiu dedicação total aos estudos e pesquisa neste período, especialmente às viagens de Olinda à Vitória de Santo Antão para assistir às aulas obrigatórias.

Às minhas amigas do coração as quais pude dividir dores e alegria da minha rotina como mestranda e pesquisadora, Mylena, Larissa e Bianca. Com vocês, esses 2 anos foram mais leves pois pude ter seu apoio, incentivo, orações e conselhos.

À todos os estudantes de graduação em iniciação científica que participaram do projeto e atividades em laboratório: vocês me inspiraram e me ensinaram muito.

Aos colegas em biotério de 2022 a 2024, que mesmo em outros grupos, nos deram toda a troca de saberes e apoio.

À todos os funcionários do laboratório do Departamento de Anatomia pela receptividade e cuidado com os alunos em meio à rotina árdua e cansativa de pesquisa científica.

Aos meus pacientes, os quais torceram comigo desde o início e me deram ânimo para acreditar numa nutrição real, empática e que gere conhecimentos construtivos na vida da população.

Aos animais experimentais, por cederem suas preciosas vidas para este estudo acontecer.

A todos que indiretamente contribuíram, participaram, viabilizaram e torceram pelo sucesso em minha pesquisa e carreira.

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Nascimento, Dayane Silva do.

Exposição materna à dieta cafeteria na lactação: efeitos sobre expressão neuronal de transportador de serotonina em prole de ratos Wistar / Dayane Silva do Nascimento. - Recife, 2025. 60f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2024.

Orientação: Lígia Cristina Monteiro Galindo.

Coorientação: Isabeli Lins Pinheiro.

Inclui referências e anexos.

1. Obesidade; 2. Dieta cafeteria; 3. Proteínas da membrana plasmática de transportador de serotonina; 4. Plasticidade fenotípica. I. Galindo, Lígia Cristina Monteiro. II. Pinheiro, Isabeli Lins. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

 Portal do Coordenador Stricto	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO SISTEMA INTEGRADO DE GESTÃO DE ATIVIDADES ACADÊMICAS EMITIDO EM 05/11/2024 12:17
---	---

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o(a) discente **DAYANE SILVA DO NASCIMENTO** foi aprovado(a) na DEFESA de DISSERTAÇÃO em NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA/PPGNAPFN CAV - VITÓRIA DE SANTO ANTÃO do Curso de MESTRADO, no dia 29 de Outubro de 2024 às 14:00, no(a) Videoconferência, UFPE, cuja banca examinadora fora constituída pelos professores:

Doutora LIGIA CRISTINA MONTEIRO GALINDO
(Presidente)

Doutora TASSIA KARIN FERREIRA BORBA
(Externa ao Programa)

Doutora THAYNAN RAQUEL DOS PRAZERES OLIVEIRA
(Externa ao Programa)

A sua DISSERTAÇÃO intitulou-se:

EXPOSIÇÃO MATERNA À DIETA CAFETERIA NA LACTAÇÃO: EFEITOS SOBRE EXPRESSÃO NEURONAL DE TRANSPORTADOR DE SEROTONINA EM PROLE DE RATOS WISTAR.

Esta declaração não exime o(a) discente de efetuar as mudanças sugeridas pela banca examinadora como também não tem validade de outorga de grau de MESTRADO, de acordo com o definido na Resolução 19/2020-CEPE.

Recife, 5 de Novembro de 2024.

MARIANA PINHEIRO FERNANDES
COORDENADOR(A) PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA - CAV

SIGAA | Superintendência de Tecnologia da Informação (STI-UFPE) - (81) 2126-7777 | Copyright © 2006-2024 - UFPE
- sigaa10.ufpe.br.sigaa10

"Rendam graças ao Senhor,
pois ele é bom;
o seu amor dura para sempre.
1 Crônicas 16:34

RESUMO

Introdução: A obesidade é uma doença crônica não-transmissível de nível mundial. Em especial durante períodos críticos para o desenvolvimento do sistema nervoso, o maior aporte energético calórico pode gerar alterações morfofuncionais, fisiológicas e metabólicas em organismos. Dietas hiperlipídicas e hipercalóricas, como as dietas de cafeteria podem alterar sistemas de neurotransmissão como o serotoninérgico. O transportador de serotonina (SERT) realiza a recaptação serotoninérgica e controla funções pertinentes ao controle de peso, como comportamento alimentar e metabolismo adiposo. **Objetivo:** Avaliar o peso corporal e a expressão neuronal do SERT em núcleos hipotalâmicos e do tronco encefálico em prole jovem de ratos submetidos à dieta cafeteria na lactação. **Materiais e métodos:** Ratos Wistar foram randomizados em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C; n=10), que recebeu dieta padrão de biotério desde a lactação até o fim dos experimentos, e Grupo Dieta Cafeteria (CAF; n=10), que recebeu dieta com dieta padrão de biotério juntamente com alimentos industrializados, ultraprocessados e hipercalóricos durante a lactação. Foram avaliados nos filhotes o peso corporal durante a lactação, aos 25º e 31º DPN. Adicionalmente, foram quantificados os neurônios SERT-IR do tronco encefálico e hipotálamo da prole ao 31º DPN. A análise dos dados foi realizada através dos testes de ANOVA Two Way e teste T de Student com nível de significância em $p \leq 0,05$. **Resultados:** Os animais do grupo dieta CAF apresentaram maior peso corporal no 14º e 21º DPN (14º DPN, C: 27,29±4,00; n= 10 vs CAF: 34,51±3,15; n=10, $p < 0,0020$; 21º DPN, C: 43,63±3,67; n=10 vs CAF: 52,55±4,63; n=10, $p < 0,0010$). Não foram observadas diferenças no 25º e 30º DPN. A dieta não foi associada a diferenças significativas na expressão da quantidade total de neurônios SERT-IR entre os grupos C e CAF, no núcleo arqueado (Arc) total, e subnúcleos dorsal, medial e medial posterior. O subnúcleo Arc lateral apresentou redução do SERT-IR no grupo CAF (C: mediana 49,50 ± IIQ 48,50-54,50; n=3 versus CAF: mediana 43,50 ± IIQ 42,50-46,00; n=3; $p < 0,03$). O núcleo dorsal da rafe e porções dorsal e ventral não apresentaram diferenças significativas entre os grupos C e CAF, porém a porção lateral apresentou redução do SERT-IR no grupo CAF (C: mediana 42,00 ± IIQ 38,13 - 48,13; n=4 versus CAF: mediana 28,25 ± IIQ 21,63 - 36,38; n=4; $p < 0,028$). O núcleo mediano da rafe apresentou diferenças significativas entre os dois

grupos experimentais aos 31 dias de vida, sendo maior no grupo CAF (C: 90; IIQ 68-110,9; n=4 versus CAF: 132; IIQ 123,5-137,5; n=3, $p \leq 0,02$)

Conclusão: A dieta cafeteria durante a lactação promoveu o ganho de peso excessivo em prole de roedores e as diferenças não se perpetuam para períodos posteriores à lactação. Houve redução da quantidade de neurônios imunorreativos aos SERT em núcleos isolados da rafe e do hipotálamo (porção lateral) e aumento no grupo CAF do núcleo mediano da rafe. Entretanto, esta redução pode estar associada ao aumento ponderal do peso durante a lactação.

Palavras-chave: Obesidade; Dieta Cafeteria; Proteínas da membrana plasmática de transportador de serotonina; Plasticidade Fenotípica.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is a chronic non-communicable disease that affects the world. Especially during critical periods for the development of the nervous system, the increased caloric energy intake can generate morphofunctional, physiological and metabolic changes in organisms. High-fat and high-calorie diets, such as cafeteria diets, can alter neurotransmission systems such as the serotonergic system. The serotonin transporter (SERT) performs serotonergic reuptake and controls functions relevant to weight control, such as eating behavior and adipose metabolism. **Objective:** To evaluate the neuronal expression of SERT in hypothalamic and brainstem nuclei in young offspring of rats subjected to a cafeteria diet during lactation. **Materials and methods:** Wistar rats were randomized into two experimental groups: Control Diet Group (C; n=10), which received a standard vivarium diet from lactation until the end of the experiments, and Cafeteria Diet Group (CAF; n=10), which received a standard vivarium diet along with industrialized, ultra-processed and hypercaloric foods during lactation. The body weight of the pups was evaluated during lactation, at 25th and 31st PND. Additionally, the SERT-IR neurons of the brainstem and hypothalamus of the offspring were quantified at 31st PND. Data analysis was performed using Two-Way ANOVA and Student's t-test with significance level at $p \leq 0.05$. **Results:** Animals in the CAF diet group showed higher body weight on the 14th and 21st DPN (14th DPN, C: 27.29 ± 4.00 ; n=10 vs CAF: 34.51 ± 3.15 ; n=10, $p < 0.0020$; 21st DPN, C: 43.63 ± 3.67 ; n=10 vs CAF: 52.55 ± 4.63 ; n=10, $p < 0.0010$). No differences were observed on the 25th and 30th DPN. The diet did not cause significant differences in the expression of the total number of SERT-IR neurons between the C and CAF groups, in the total arcuate nucleus (Arc), and dorsal, medial and posterior medial subnuclei. The lateral Arc subnucleus showed a reduction in SERT-IR in the CAF group (C: median $49.50 \pm$ IQR $48.50-54.50$; n=3 versus CAF: median $43.50 \pm$ IQR $42.50-46.00$; n=3; $p < 0.03$). The dorsal raphe nucleus and dorsal and ventral portions did not show significant differences between the C and CAF groups, however the lateral portion showed a reduction in SERT-IR in the CAF group (C: median $42.00 \pm$ IQR $38.13 - 48.13$; n=4 versus CAF: median $28.25 \pm$ IQR $21.63 - 36.38$; n=4; $p < 0.028$). The median raphe nucleus showed significant differences between the two experimental groups at 31

days of life, being larger in the CAF group (C: 90; IIQ 68-110.9; n=4 versus CAF: 132; IIQ 123.5-137.5; n=3, $p \leq 0.02$)

Conclusion: The diet during lactation promotes excessive weight gain in rodent offspring and the differences do not persist after lactation. There was a reduction in the number of SERT-immunoreactive neurons in isolated raphe and hypothalamic nuclei (lateral portion) and an increase in the median raphe nucleus in the CAF group. However, this reduction may be associated with weight gain during lactation.

Keywords: Obesity; Cafeteria Diet; Serotonin Transporter Plasma Membrane Proteins; Phenotypic Plasticity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Grupos experimentais, linha do tempo da pesquisa e análises 35
- Figura 2:** Lista de alimentos com alto teor calórico da dieta cafeteria. 36
- Figura 3:** Preparação das lâminas. A) Distribuição dos cortes histológicos em lâminas. B) Sequência de banhos nas lâminas com álcool em diferentes concentrações de xilol. 39
- Figura 4:** **A.** Representação esquemática do Atlas de Cérebro de Rato (Bregma -2.28). **B.** Identificação de núcleos celulares de neurônios SERT-IR no Núcleo Arqueado do Hipotálamo utilizando o programa Image J (Bregma -2.28). 41
- Figura 5:** **A.** Representação esquemática do Atlas de Cérebro de Rato (Bregma -7.80). **B.** Identificação do Núcleo Dorsal da Rafe com núcleos celulares de neurônios SERT-IR utilizando o microscópio Primo Star (Bregma -7.80). 41
- Figura 6:** **A.** Representação esquemática do Atlas de Cérebro de Rato (Bregma -7.68). **B.** Identificação de núcleos celulares de neurônios SERT-IR no Núcleo Mediano da Rafe utilizando o programa Image J (Bregma -7.68). 42
- Figura 7:** Peso corporal da prole. Comparação entre os Grupos Dieta Controle (C, n=10) e Dieta Cafeteria (CAF, n=10). Teste ANOVA *two way* medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni. Dados expressos em média \pm desvio padrão. Nível de significância $p < 0,05$. 43
- Figura 8:** Núcleo Arqueado do Hipotálamo (objetiva 4x, objetivas de 40x, bregmas -3.84 e -3.24mm, respectivamente). Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR no Núcleo Arqueado Hipotalâmico em ratos wistar submetidos à dieta controle ou dieta cafeteria na lactação. 44

Grupo Controle (C, Arc n=4; ArcD n=4; ArcL n=3; ArcM n=3; ArcMP n=4) e grupo Cafeteria (CAF, Arc n=4; ArcD n=; ArcL n=3; ArcM n=3; ArcMP n=3). Utilizado o teste T de Student, com dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75). Nível de significância $p < 0,05$.

Figura 9: Núcleo Dorsal da Rafe (objetiva 40x, bregmas -7.68mm e -8.04mm). Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR nos subnúcleos dorsal da rafe do tronco encefálico em prole jovem, submetida à Dieta Controle ou Dieta Cafeteria durante a lactação. Grupo Controle (C: DR n=4 ; DRD n=4; DRV n=4; DRL n=4) e Dieta Cafeteria (CAF: DR n=4; DRD n=4; DRV n=4; DRL n=4). Foi utilizado o teste T de Student, com dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75). Nível de significância $p < 0,05$. 45

Figura 10: Núcleo Mediano da Rafe (objetiva 40x, bregmas 7.62-mm e -7.56). Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR no núcleo mediano da rafe do tronco encefálico em prole jovem, submetida à Dieta Controle ou Dieta Cafeteria durante a lactação. Grupo Controle (C, n=4) e Dieta Cafeteria (CAF, n=3). Foi utilizado o teste T de Student, com dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75). Nível de significância $p < 0,05$. 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição nutricional dos alimentos ultraprocessados da dieta 35
cafeteria

Tabela 2: Bregmas dos núcleos hipotalâmicos e do tronco encefálico. 38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT: Serotonina

5-HT1A: Receptor serotoninérgico 1A

5-HT1B: Receptor serotoninérgico 1B

ABC: Complexo avidina-biotina-peroxidase

AgRP: Proteína relacionada ao Agouti

Arc: Núcleo arqueado do hipotálamo

ArcD: Subnúcleo dorsal do núcleo arqueado do hipotálamo

ArcL: Subnúcleo lateral do núcleo arqueado do hipotálamo

ArcM: Subnúcleo medial do núcleo arqueado do hipotálamo

C: Dieta Controle

CAF: Dieta Cafeteria

DAB: 3,3-diaminobenzidina

DHH: Dieta hiperlipídica-hipercalórica

DPN: Dia pós-natal

DR: Núcleo dorsal da rafe

DRL: Subnúcleo lateral do núcleo dorsal da rafe

DRM: Subnúcleo dorsomedial do núcleo dorsal da rafe

DRV: Subnúcleo ventromedial do núcleo dorsal da rafe

IMC: Índice de massa corporal

MnR: Núcleo mediano da rafe

NGS: Soro normal de cabra

NPY: Neuropeptídeo Y

PBS: Tampão fosfato-salino

POMC: Proopiomelanocortina

SERT: Transportador de serotonina

SERT-IR: Imunoreatividade do transportador de serotonina

SNC: Sistema nervoso central

TPH: Triptofano hidroxilase

TPH1: Triptofano hidroxilase

TPH2: Triptofano hidroxilase 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 Obesidade	20
2.2 Dieta Cafeteria	22
2.3 Influências nutricionais e plasticidade do desenvolvimento	25
2.4 Nutrição e sistema serotoninérgico	29
3 HIPÓTESE	33
4 OBJETIVOS	33
5 MATERIAIS E MÉTODOS	33
5.1 Animais experimentais	34
5.2 Grupos experimentais	34
5.3 Manipulação nutricional	35
5.4 Análises Experimentais	37
5.4.1 <i>Peso corporal da prole</i>	37
5.4.2 <i>Densidade neuronal do transportador de serotonina (SERT)</i>	37
5.4.2.1 <i>Análise da densidade neuronal do transportador de serotonina</i>	38
5.4.2.2 <i>Preparação das lâminas</i>	38
5.4.2.3 <i>Contagem dos neurônios SERT</i>	39
5.5 Análises estatísticas	42
6 RESULTADOS PRELIMINARES	42
6.1 Peso corporal dos filhotes	42

6.2 Quantidade de neurônios SERT-IR no Núcleo Arqueado do Hipotálamo	43
6.3 Quantidade de neurônios SERT-IR no Núcleo Dorsal da Rafe	44
6.4 Quantidade de neurônios SERT-IR no Núcleo Mediano da Rafe	45
7 DISCUSSÃO	46
8 CONCLUSÃO	50
9 REFERÊNCIAS	51
10 ANEXOS	62

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como uma doença crônica com acúmulo de adiposidade em várias partes do corpo, causada pelo desbalanço entre gasto energético em relação à energia corporal (Chandrasekaran e Weiskirchen, 2024). Para isso, é preocupante na saúde pública ao redor do mundo devido à sua prevalência crescente e por ser fator de risco a outras doenças crônicas (Wharton et Al., 2020), e ligada bidirecionalmente à alterações metabólicas e de saúde mental devido à dieta e desequilíbrio neurotransmissor (Kim; Kim; Sang-Wook, 2020). O padrão inadequado de dieta é um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade, pois é um fator ambiental que interfere no balanço energético devido à composição alimentar de gorduras e calorias (DHH) em excesso (Haleem; Mahmood, 2019).

Como exemplo desta dieta temos a Dieta Cafeteria (CAF), cada vez mais utilizada em pesquisas científicas pois tem como característica o seu potencial obesogênico especialmente em modelos animais (Moreton et al., 2019; Haleem; Mahmood, 2019). É composta por alimentos ultraprocessados como chocolates, batata frita, queijo cheddar, geleia de morango, dentre outros (Moreton et Al., 2019). Esta dieta é similar a DHH humana pois são palatáveis, alteram comportamento de ingestão e causam mudanças metabólicas que geram obesidade, pois são compostas de excesso de açúcares, gorduras e carboidratos (Lanza e Snoeren, 2021). Especificando a períodos críticos ao desenvolvimento como a gestação, uma dieta inadequada altera o metabolismo de mãe e filho, mas também a plasticidade e desenvolvimento cerebral do feto, pois ocorrem mudanças neuroquímicas como na expressão do transportador de serotonina (SERT) (Silveira, 2022; Du Bois et al., 2006).

A relação entre obesidade e SERT se dá devido ao papel deste transportador em regular a biodisponibilidade de serotonina no encéfalo, o qual possui relação com o controle da saciedade e ingestão alimentar. Estudos utilizando drogas anorexígenas resultaram em aumento da serotonina na fenda sináptica e inibição do SERT, ocasionando melhor resposta ao controle alimentar e consequente perda de peso corporal e demonstrando essa relação SERT/Obesidade (Griebsch e colaboradores, 2022). Essa relação desempenha papel importante na fisiopatologia da obesidade, como com a resposta individual a alimentos preferidos, estresse e motivação ao apetite (Hesse e colaboradores, 2016). A exposição a fatores prejudiciais ao desenvolvimento em seu

período crítico para o desenvolvimento, como obesidade materna e alimentação hiperlipídica, é fator de suscetibilidade a longo prazo para diversas alterações na saúde (Cruz-Carrillo et Al., 2023).

O aumento de tecido adiposo causa neuroinflamação, atinge núcleos cerebrais importantes como o hipotálamo e dorsal da rafe e reduz níveis de neurotransmissores relacionados ao balanço energético como a serotonina. Este processo causa apoptose de neurônios anorexígenos, alteração na saciedade e maior ganho de peso (Martins et Al., 2019) especialmente em períodos críticos de desenvolvimento com intensa maturação cerebral e organização de circuitos neuroquímicos do indivíduo, como lactação e pré-puberdade (Gogtay et al., 2004). O hipotálamo possui funções no comportamento alimentar, regulação ponderal e metabolismo periférico da glicose relacionadas à atividade de neuropeptídeos como proteína relacionada a agouti (AGRP) e neuropeptídeo Y (NPY) (Borgers et Al., 2014; Wang et Al., 2019; Ullah et Al., 2021). O tronco encefálico, com destaque os núcleos dorsal da rafe e mediano da rafe e seus subnúcleos possuem a maioria dos neurônios serotoninérgicos, e são relacionados com expressão diferenciada de orexina tipos 1 e 2, relacionadas ao equilíbrio energético e metabolismo da glicose (Xiao et al, 2021).

É necessário compreender as consequências do atual cenário obesogênico, o qual inclui práticas alimentares inadequadas e sedentarismo, e como os descendentes respondem aos estímulos maternos a curto e longo prazo, pois ainda existem muitas lacunas sobre este tema no meio científico. Dessa forma, este estudo tem como objetivo investigar os efeitos da expressão neuronal de transportador de serotonina no tronco encefálico e hipotálamo em ratos adultos submetidos à dieta cafeteria durante a lactação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Obesidade

A obesidade é uma doença crônica que vem avançando dramaticamente ao redor do mundo, com casos sendo triplicados desde o ano de 1975. Tal doença leva a riscos de doenças crônicas não-transmissíveis. A principal causa da obesidade é o desbalanço

dietético relacionado às calorias ingeridas e gastas pelo organismo (WHO, 2021). Esse movimento pandêmico já acomete cerca de 670 milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo 124 milhões crianças e adolescentes (FAO, 2019; OPAS, 2017). No Brasil, acomete 19,8% de indivíduos, o que representa um crescimento de 72% em 13 anos. No âmbito da obesidade infantil, acomete 12,9% das crianças brasileiras entre 5 a 9 anos (ABESO, 2024). Em dados recentes do Ministério da Saúde, foi contabilizado que cerca de 6.7 milhões de brasileiros enfrentam a obesidade, sendo 20% da população com obesidade grau I, 7,7% com obesidade grau II e 4% com obesidade grau III (SBCBM, 2023).

A obesidade possui caráter multifatorial em sua fisiopatologia, como fatores genéticos, psicossociais, socioeconômicos, mas a alteração nutricional é um fator ambiental modificável que ainda leva o organismo a um estado de peso excessivo e denota um importante impacto ao seu desenvolvimento (Da Silva, 2014). O mundo tem passado por uma transição nutricional, onde alimentos cada vez mais processados e ultraprocessados têm sido oferecidos, preferidos e normalizados no dia a dia da população, especialmente devido ao baixo custo e facilidade de ingestão (Barros et Al., 2021). O consumo de dietas com perfil obesogênico e palatável se tornaram cada vez mais comuns, causando desregulação na sua ingestão e consequentes efeitos comportamentais e metabólicos (Vucetic; Reyes, 2010).

A deposição de tecido adiposo devido à dieta é um estoque de energia para situações adversas e inesperadas, como escassez alimentar e efeitos das estações, é um mecanismo adaptativo de sobrevivência e adaptações sazonais no modo de vida posterior ao atual o qual provém muito mais disponibilidade de alimentos e menos esforço físico para promover adequado gasto energético, e em determinados contextos históricos da evolução humana se caracterizava como um fator protetor (Shelton; Miller, 2010). Entretanto, o modo de vida e alimentação vêm sendo substituído por um cenário obesogênico e pesquisas atuais têm buscado compreender os mecanismos fisiológicos e moleculares da obesidade para além do desbalanço entre alimentação hipercalórica e reduzido gasto energético em atividades físicas por exemplo (Jiménez, 2013).

A dieta ocidentalizada, rica em calorias, açúcares e gorduras saturadas promove alterações na saúde, dentre elas a redução da expressão do transportador de serotonina encefálica, promovendo consequências como o Índice de Massa Corpórea (IMC)

aumentado. Indivíduos com obesidade apresentam expressão reduzida de Transportador da Serotonina (SERT) no encéfalo e periferia, além de ligação suprimida ao hipotálamo devido à dieta rica em gorduras e calorias (Veniaminova et Al., 2020). Estudos comprovam que a obesidade bem como sua dieta característica rica em gorduras podem causar neuroinflamação, especialmente no hipotálamo, o que marca o desenvolvimento e manutenção da obesidade. Adicionalmente, esta dieta pode reduzir a disponibilidade de serotonina (5-HT) e a expressão de SERT no núcleo dorsal da rafe gerando dificuldade na recaptação desse neurotransmissor (Hersey et Al., 2021).

Em estudos experimentais, a obesidade é simulada com alimentação rica em gorduras e açúcar, à exemplo da dieta de cafeteria (CAF) leva à hiperfagia, similar ao que ocorre no organismo humano (Shafat; Murray; Rumsey, 2009). Em roedores, a obesidade é avaliada com o monitoramento do peso corporal ao longo das semanas, podendo traçar um perfil da alteração de peso de acordo com o animal, o grupo experimental e o curso de tempo (Li et Al., 2020). Em estudos científicos *post-mortem*, a imunorreatividade do SERT foi reduzida no núcleo infundibular de indivíduos com peso elevado em relação ao grupo controle, demonstrando uma relação inversa entre sinalização de 5-HT encefálica e obesidade (Borgers e colaboradores, 2014). Com isso, é notável que o consumo de dietas com perfil obesogênico e palatável se tornou cada vez mais comum, causando desregulação na sua ingestão e consequentes efeitos comportamentais e metabólicos (Vucetic; Reyes, 2010).

2.2 Dieta Cafeteria

Dietas ricas em gorduras e açúcares são amplamente utilizadas no meio científico para indução da obesidade e observância dos seus efeitos sobre a saúde. A alimentação inadequada é um fator ambiental externo, como exemplo da Dieta Hiperlipídica-Hipercalórica (DHH), que promove as alterações homeostáticas e obesogênicas à saúde e contribuem para o contínuo crescimento desse grande desafio na saúde pública atual (Yañes; Vargas; Pérez-Morales, 2017). Diante de um ambiente cada vez mais globalizado, com a predominância da industrialização, a alimentação diária do ser humano segue o mesmo caminho com a presença marcante de produtos

ultraprocessados, ricos em açúcares e gorduras, mas também conservantes, corantes e aromas artificiais (De La Garza et Al., 2023). Além disso, modificações do padrão alimentar frente a um estilo de vida ocidental como a alimentação fora de casa, consumo e preparo rápido dos alimentos favorecem ainda mais a normalização desta dieta no dia a dia (Freitas, 2011).

As dietas DHH são caracterizadas pelo uso de pellets ricos em óleo, gordura, açúcar e outros carboidratos simples, surtindo efeito na hiperinsulinemia, resistência à insulina e ganho de peso adiposo os quais vão pouco a pouco substituindo opções saudáveis como hortaliças, fibras, carboidratos complexos, alimentos *in natura* ou minimamente processados (Small et Al, 2017; Xavier, 2023), os quais são marcadores de uma alimentação saudável. Em uma pesquisa via telefone pelo Ministério da Saúde, foram coletados dados sobre consumo adequado de frutas e hortaliças, ou cinco porções diárias segundo a Organização Mundial da Saúde, onde apenas 21,4% dos brasileiros adultos o faziam. Enquanto isso, o consumo de refrigerante em cinco ou mais dias da semana era de 14,9%, e o consumo de cinco ou mais tipos de alimentos ultraprocessados era de 17,7%, no total (VIGITEL, 2023).

Com o tempo, subtipos da DHH surgiram de forma a se adaptar a novas mudanças alimentares, como exemplo a dieta cafeteria (CAF) que reflete a dieta ocidental humana com os próprios alimentos de sua ingestão usual e alta densidade energético-lipídica (Small et Al, 2017), caracterizada por ração padrão juntamente com alimentos muito energéticos e palatáveis, onde as opções deste último são alteradas periodicamente para manter variedade semelhante à alimentação humana (Akyol; Langley-Evans; McMullen 2009). Pesquisas demonstram que uma dieta com mais de 60% de gordura leva a efeitos semelhantes à dieta hiperlipídica humana (Urbonaite et al., 2022), sendo a dieta cafeteria promotora de ganho de peso ainda maior que a DHH, revelando uma nova visão a esta problemática ao demonstrar a mudança de comportamento alimentar a nível neural nos animais de estudo (Small et Al, 2017).

O gênero biológico faz parte dos fatores que diferenciam os níveis da obesidade em diferentes organismos, sendo também um critério em estudos experimentais sobre a obesidade. Pesquisas apontam que os roedores machos adultos ou filhotes possuem metabolismo mais suscetível a sofrer mudanças pela dieta hiperlipídica em relação às fêmeas. Efeitos como menor gasto energético e tolerância à glicose são observados

(Ullah et Al, 2021). Os modelos experimentais que ingerem *junk food* ou alimentos ultraprocessados mimetizam o consumo dos padrões humanos ocidentais. A lista de alimentos da dieta CAF possui dezenas de opções, sabores (doce e salgado) e texturas (macio e duro), semelhante à alimentação humana variável e atrativa. Características crossensoriais como cheiro, textura e palatabilidade facilitada promovem consumo excessivo, gerando respostas neuronais em diferentes regiões e vias cerebrais (Lalanza et al, 2021).

Suas propriedades organolépticas os transformam em uma alimentação agradável, prejudicando o controle de sua ingestão e favorecendo ainda mais seus efeitos obesogênicos e na saúde (Martire et Al., 2014), tanto que, em comparação com o dieta DHH, a dieta CAF gera maior hiperfagia devido à maior variabilidade de alimentos presente neste modelo (Lalanza; Snoeren, 2021) o que ativa áreas relacionadas a recompensa no cérebro, como o sistema mesolímbico. Isto promove mudanças fisiológicas relacionadas à redução da saciedade, gerando maior ingestão destes alimentos, além do ganho de peso excessivo (Ong; Muhlhausler, 2011; Leigh-Morris, 2018). A hiperfagia, ou comportamento de ingestão alimentar excessiva e crônica, desempenha risco importante em formas de obesidade genéticas ou diante de fatores como alimentação. Com isso, a alimentação hedônica, isto é, alimentos que promovem sensação de prazer ingeridos mesmo sem déficit calórico que justifique tal ato, se torna tão presente em condições como a obesidade (Leigh-Morris, 2018).

Atualmente, é compreendido que a obesidade materna gera efeitos metabólicos e na prole que duram a vida toda. Isso pode ser observado desde a concepção, caracterizada por aumento do peso fetal, um equivalente à macrosomia fetal humana, e passando pelo maior ganho de peso pós-natal, em especial nos filhotes machos (Rodrigo et Al., 2022). Estudos com mães e filhos apontam a relação entre gestantes com alto ganho de peso gestacional ao maior peso ao nascer e risco de IMC elevado na prole, em comparação a grupos com peso adequado (Lau et Al., 2014). Em roedores, os estudos comprovam que um ambiente uterino de supernutrição está associado ao maior peso da prole já adulta, promovendo programação do balanço energético em vias cerebrais sensíveis ao período de desenvolvimento (Poston, 2012). Estas evidências ficam mais claras em estudos humanos a longo prazo, concluindo-se que existe uma

programação de desenvolvimento fetal e de sua saúde frente aos hábitos obesogênicos maternos (Rodrigo et Al., 2022).

2.3 Influências nutricionais e plasticidade do desenvolvimento

O cérebro é um órgão cada vez mais estudado pela neurociência, principalmente devido ao crescimento de inovações científicas. Acreditava-se que possuía maior desenvolvimento apenas na infância, mas hoje se sabe que ele continua se adaptando quantitativamente e qualitativamente devido a influências ambientais externas (Chaudhury et Al., 2016), o que foi demonstrado em estudos experimentais e em humanos com lesões cerebrais. O melhor conceito para isso é o da plasticidade, o qual entende-se sobre ser moldável, mutável, adaptável e flexível. O cérebro possui essa capacidade em três modos: plasticidade no desenvolvimento, com o estabelecimento e modelação de conexões de neuronais no início da vida; plasticidade modulacional, com a eficácia de sinapses com o passar dos anos e exposição ao ambiente; e plasticidade reparadora, onde a regeneração é possível com a neurogênese e compensação de perdas funcionais (Malabou, 2008).

Na plasticidade do desenvolvimento e seleção evolutiva existem dois fatores importantes para esta influência ambiental, os quais são a variação na disponibilidade de substrato energético e estresse. Esta relação é evidenciada como bidirecional, ou seja, efeitos da nutrição na saúde variam em função do estresse e vice-versa (Entringer; Buss; Wadhwa, 2015). No entanto, as respostas adaptativas relacionadas com a exposição a fatores ambientais podem não ser necessariamente expressadas nos pais, e sim em sua descendência. Isso retrata efeitos tanto a curto quanto a longo prazo na fisiologia, metabolismo e comportamento (Bateson et Al., 2004). Com isso, temos a premissa que a plasticidade confere a geração de diferentes fenótipos de acordo com diversos ambientes influenciadores, onde a alteração nutricional durante o desenvolvimento fetal gera respostas exacerbadas e repercussões metabólicas na saúde a longo prazo (Ribeiro et Al., 2015).

A neuroplasticidade atuante na formação do sistema nervoso central (SNC) e crescimento do organismo, denominada plasticidade ontogenética, favorece a neurogênese e atividades nos axônios, dendritos e sinapses; já na fase adulta há a formação de novas sinapses e sua potencialização ou inibição (Dalgalarrodo, 2011). As

situações que conferem alto desenvolvimento do organismo e saúde humana e experimentais, em destaque pela influência de fatores externos e plásticos, são denominadas como período crítico de desenvolvimento, como exemplo a gestação e lactação. Diversos trabalhos têm se concentrado em entender os possíveis efeitos que o ambiente obesogênico materno durante a gestação e lactação podem representar posteriormente à saúde do feto (Alfaradhi e Ozanne, 2011; Pergn; Oken; Dabelea, 2019).

A alimentação inadequada é um fator externo ambiental, como exemplo da DHH, que promove as alterações homeostáticas e obesogênicas à saúde contribuindo para o contínuo crescimento desse grande desafio na saúde pública atual (Yañes; Vargas; Pérez-Morales 2017). A ingestão de DHH, especialmente durante a gestação e lactação, é bem estabelecida por causar alterações no metabolismo e controle da ingestão alimentar, por afetar circuitos hipotalâmicos importantes ao balanço energético como o núcleo arqueado na prole (Silva et Al., 2022). A lactação em especial é um período crítico para a prole, assim como para a saúde materna, sendo assim a qualidade da alimentação pré e pós-natal são cruciais para o desenvolvimento neural, por exemplo. O momento pós-natal também se faz importante e delicado para a saúde da prole devido ao desenvolvimento e maturação neurocomportamental que ainda se segue (Gomes et Al., 2019).

A exposição pré-natal à desnutrição no Grande Fome Holandesa ou Inverno da Fome (1944-1945), ao final da Segunda Guerra Mundial, se tornou um grande exemplo da influência externa numa janela sensível de desenvolvimento ao estado de saúde e respostas adaptativas. Esta situação gerou uma programação metabólica no organismo dos filhos a nascerem, que passaram a apresentar macrossomia, IMC elevado e resposta alterada à glicose na vida adulta devido a modificações genéticas (Tobi e colaboradores, 2014). A relação entre IMC materno e desenvolvimento fetal durante este período sensível continuam presentes no meio científico, em especial no primeiro trimestre de gestação. Estudos da Grande Fome Chinesa, também no cenário de guerra mundial, evidenciam essa premissa em estudos onde encontrou-se uma evidenciada taxa de hipertensão na vida adulta, devido a um desenvolvimento pontual (Wang et Al., 2012).

A hipótese do “fenótipo poupador”, estabelecida por Hales e Barker, serve de apoio para a afirmação anterior. Basicamente, a alimentação inadequada durante o período crítico de desenvolvimento do indivíduo, como a gestação, é o ponto-chave de toda uma problemática consequente e tardia no âmbito metabólico de sua saúde, onde o corpo humano adaptativo entende a situação de escassez nutricional e busca sobrevivência de órgãos vitais como o cérebro, ao passo que outros demais órgãos e componentes obtêm desfoque nesta evolução, causando assim um consequente impacto no seu crescimento e funcionalidade, conforme afirmado pelo conceito de programação fetal (Hales; Barker, 2001).

Se tratando da supernutrição, também há programação de efeitos na saúde do feto a longo prazo devido ao ambiente uterino modificado nutricionalmente, como é citada na proposição de N. Freikel sobre gestação e diabetes, onde a economia nutricional materna presente em sua dieta e composição corporal para a demanda uterina do feto se torna primordial no seu desenvolvimento, e que em condições de hipernutrição, resulta em diferenciação celular e organogênese fetal induzida. O feto se utiliza de substratos como glicose, gorduras e proteínas provenientes não apenas da ingestão atual, mas da reserva corporal materna que reflete a sua nutrição ao longo da vida uterina (Parrenttini; Caroli; Torlone, 2020). Diante do aporte nutricional através da placenta, o feto se torna reflexo do estilo de vida materno e, no caso de uma dieta e peso excedentes ao recomendado, o feto também adquire maiores demandas metabólicas a curto longo prazo, repercutindo em peso elevado ao nascer (Barker e Thonburg, 2013) e menor sensibilidade insulínica pós-natal na prole devido a alterações nas vias de sinalização da insulina (Melo et al., 2023).

Na gestação há dependência da nutrição materna de modo que variações em sua dieta neste período refletem na saúde do feto devido à sua adaptação ao ambiente intrauterino adverso (McArdle et al., 2006). As alterações de saúde fetal são de origem fisiológica e metabólica, ocasionando efeitos tardios no peso e regulação do balanço energético dos descendentes (Desai; Hales, 1997; Lawlor et al., 2007) são apontadas tanto em estudos observacionais em humanos (Schack-Nielsen et al., 2010) como em estudos pré-clínicos experimentais (Picone et al., 2011; Desai et al., 2014). Entretanto, a lactação também confere criticidade ao desenvolvimento e deve ser ganhar destaque na associação entre dieta materna e maior ganho de peso neonatal devido à programação do metabolismo nos padrões de saúde do filho (Ma e colaboradores, 2020), ainda que a

amamentação exclusiva humana esteja em consenso como a opção mais saudável e, inclusive, protetora contra ao desenvolvimento da obesidade infantil segundo inúmeros estudos (Mameli; Mazzantini; Zuccotti, 2016).

O leite materno humano é necessário para a saúde do bebê e possui substratos essenciais para sua nutrição, crescimento e desenvolvimento. Macronutrientes como lipídios, glicose e proteína tem proporções diferentes de acordo com cada fase do leite. O colostro, primeiro fluido após o parto, é rico em proteínas do soro, minerais e baixo em gordura; no leite de transição, entre 5 dias a 2 semanas, a composição se mantém semelhante; já no leite maduro, após 2 semanas pós-parto, contém de 3 a 5% de gordura, cerca de 7% de carboidratos e menos proteínas (Lyons et Al., 2020). A qualidade da dieta e adiposidade da nutriz promove variação da concentração dos componentes do leite materno e programação metabólica à prole (Pomar et Al., 2019). A lactação por nutriz que consomem dieta CAF promovem redução de proteínas como alfa-lactoalbumina no leite, e desregula o equilíbrio energético e adiposidade (Pomar; Sanchez; Palou, 2020). Também promove programação metabólica, gerando um fenótipo magro por fora/gordo por dentro, ou seja, menor peso, massa magra e maior adiposidade devido ao leite materno com menos proteínas e múltiplas vezes mais gordura no grupo CAF (Pomar et Al., 2017).

Uma experiência negativa como a supernutrição causada pela obesidade durante a lactação promove riscos metabólicos como a obesidade na prole, uma afirmação reproduzida em pesquisas *in vivo* e experimentais as quais colhem confirmações em seus resultados. O conceito anterior também justifica o termo Origens Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (DOHaD), onde há a premissa de que as influências diretas durante fases importantes do desenvolvimento refletem fenotipicamente na saúde (Fleming e col., 2018), especialmente no que diz respeito ao ambiente obesogênico, onde ocorrem alterações metabólicas e no comportamento alimentar mediante anormalidades em atividades encefálicas, como no sistema serotoninérgico (Rivera et Al., 2015).

2.4 Nutrição e sistema serotoninérgico

A serotonina (5-hidroxitriptamina) é uma monoamina biogênica amplamente encontrada também em regiões periféricas do organismo. Em 1937, foi isolada a partir de células enterocromafins intestinais e só depois foi encontrada no encéfalo, onde atua como neurotransmissor (Peric et al., 2022). Desde a concepção, a serotonina atua em funções importantes do desenvolvimento do sistema nervoso, tais quais criação e diferenciação de neurônios, mielinização e sinaptogênese (Romero-Reyes et Al., 2021). A importância da 5-HT na modulação da neurogênese, especialmente no início da vida, sugere que uma disfunção na disponibilidade e na transmissão serotoninérgica nesse período poderia modificar a plasticidade do organismo, levando a alterações morfológicas, fisiológicas e funcionais duradouras (Daubert; Condrón, 2010).

A 5-HT é sintetizada nos núcleos da rafe, com neurônios projetados a todo sistema nervoso central (SNC), pela enzima Triptofano hidroxilase (TPH) (Donovan; Tecott, 2013; Romero-Reyes et Al., 2021). Os corpos celulares de neurônios serotoninérgicos são distribuídos em 9 núcleos da rafe e estas projeções serotoninérgicas estão envolvidas com a homeostase nutricional são originadas a partir dos núcleos dorsal e mediano da rafe (Van Galen e tal., 2020). O núcleo dorsal da rafe (DR) está localizado no mesencéfalo e ponte, como uma estrutura bilateral e heterogênea. Neste núcleo, neurônios 5-HT atuam no controle de peso e homeostase, por meio da detecção e resposta a sinais relacionados ao gasto energético e ingestão alimentar (Bhave; Nectow, 2021). Este núcleo contém a maior parte de neurônios produtores de serotonina e envia projeções para diversas estruturas como córtex pré-frontal, estriado, amígdala, hipocampo ventral, tálamo e hipotálamo (Ramos, 2021; Van Galen et al., 2020; Calizo et al., 2011).

Em especial, a região do hipotálamo é reconhecida como um centro de homeostase devido à sua ação de detectar sinais de hormônios e nutrientes periféricos realizando efetivação de efetivar respostas a nível endócrino, autônomo e comportamental (Mullins et Al., 2020). O hipotálamo é formado ainda pelos subnúcleos paraventricular (PVN) que possui neurônios anorexígenos, assim como os núcleos ventromedial (VMN) e dorsomedial (DMN) os quais desempenham equilíbrio da leptina (Morton et Al., 2006). Dentre os núcleos hipotalâmicos destaca-se o núcleo arqueado (Arc), que representa um circuito de controle energético e ponderal. Estudos mostram que alterações no desenvolvimento e funcionamento desta área levam a prejuízos nos sinais de saciedade e alterações metabólicas, como a obesidade (Vohra e

colaboradores, 2022). Estudos demonstram que o consumo de dietas hiperlipídicas podem provocar alterações serotoninérgicas (Dunn et al., 2022;). A ingestão materna de dieta ocidental reduziu a síntese de TPH2 e 5-HT na rafe, alterando também o transporte de serotonina a outras regiões (Dunn et al., 2022). Camundongos submetidos a dieta rica em calorias e gorduras apresentaram aumento do peso corporal e hiperglicemia, e menores níveis de 5-HT no hipocampo, possivelmente associada a uma maior sensibilidade ao receptor 5-HT_{1A} no núcleo dorsal da rafe (Zemdegs et al., 2016).

A atividade de neurônios serotoninérgicos no núcleo dorsal da rafe parece estar aumentada após a ingestão de alimentos, apontando que os neurônios 5-HT nesta região podem estar envolvidos com a sinalização pós-prandial (Van Galen et al., 2020). Em contraste, neurônios 5-HT expressos no núcleo mediano da rafe, que enviam projeções para regiões encefálicas relacionadas ao sistema de recompensa, podem estar envolvidos com o controle motivacional do comportamento alimentar (Van Galen et al., 2020). Nestes núcleos dorsal e mediano da rafe, substância negra, amígdala e núcleo dorsolateral do tálamo são observadas altas concentrações de neurônios que expressam o transportador de serotonina (De Souza e Kuyatt, 1987).

O transportador de serotonina (SERT) é uma glicoproteína que faz parte do grupo de transportadores de neurotransmissores sódio-dependentes. Possui o papel de recaptação de serotonina, devido a sua depuração no meio extracelular, e a alteração da sensibilidade desta monoamina no sistema nervoso e em outras áreas que a recebem como intestino, plaquetas e linfomonócitos (Veniaminova et Al., 2020). O SERT é um transportador de neurotransmissores de forma sódio-dependente, possui a função de regular a liberação serotoninérgica no sistema nervoso central ao recaptá-la do meio extracelular e devolvê-la ao meio intracelular, para realizar o seu metabolismo, bem como sua função homeostática (Ni; Watts, 2006). O transportador de serotonina transporta a 5-HT através de membranas biológicas e sofre mudanças de conformação em sua estrutura, movendo uma ou mais moléculas a cada ciclo (Sghendo; Mifsud, 2012).

O SERT possui em sua estrutura proteica 12 hélices transmembranas, sendo 1 alça extracelular entre as hélices transmembranas 3 e 4. Além disso, o seu terminal polipeptídico é localizado dentro do citoplasma celular com 6 locais de fosforilação

putativa. As suas hélices de 1 a 3 e de 8 a 12 são as que possuem melhor afinidade seletiva com a serotonina (Sghendo; Mifsud, 2012). Ainda podemos destacar a estrutura molecular do SERT, que possui 630 aminoácidos com alto grau de identificação de sequência proteica. Em adição, este transportador possui estrutura comum de 12 domínios transmembrana, assim como demais transportadores do tipo sódio ou cloro-dependentes (Lau; Schloss, 2012). Está localizado ainda nos terminais dos neurônios de serotonina (Meneses et Al., 2011) e também possui expressão densa no hipocampo, córtex, núcleos da rafe, além de gânglios de base e núcleos amigdaloides. Alguns estudos da área de imunohistoquímica com anticorpos também localizaram o transportador de serotonina no núcleo da rafe e botões sinápticos cerebrais. Outros estudos ainda demonstraram sua localização em axônios e compartimentos intracelulares (Lau; Schloss, 2012).

Além disso, o SERT possui a importante função de realizar a translocação de 5-HT da sinapse e área circulante mediante co-transporte de um íon Na^+ e um Cl^- , e exportar um íon K^+ , completando seu ciclo de atividade serotoninérgica (Chan et Al., 2022). Assim, acumula 5-HT nas terminações nervosas e encerra a sua ação extracelular e fornece serotonina citoplasmática para as vesículas sinápticas cerebrais, reabastecendo-as. Em experimentos em temperatura ambiente, o transportador carrega de duas a três moléculas de 5-HT por segundo, completando seu ciclo em cerca de meio segundo (Rudnik; Sandtner, 2019). A ação serotoninérgica visa suprir funções metabólicas importantes e é regulada com sua recaptação da fenda sináptica que é realizada pelo SERT, logo após sua liberação. Este processo é crucial à sua efetividade pois ditará o tempo da duração, extensão e domínio do espaço onde o receptor se ativa. Para isso, a recaptação favorece maior passagem de sinais, restrição específica do efeito do neurotransmissor e reciclagem de parte da substância química (Sghendo; Mifsud, 2011).

O transportador de serotonina é encontrado em períodos iniciais da vida fetal, em roedores e humanos, e em embriões com apenas quatro células (Romero-Reyes et Al., 2021). Na gestação e lactação, as condições do surgimento de serotonina e seu transportador (SERT) são importantes para a morfologia e funcionalidade do sistema nervoso central, bem como para o padrão de atividade serotoninérgica. No encéfalo humano, neurônios que expressam o neurotransmissor 5-HT são evidenciados na 5ª semana de gestação, e na 15ª semana gestacional é possível ver sua conformação no

núcleo da rafe, aumentando até os 2 anos e com pico maior aos 5 anos de idade. Os neurônios de SERT são evidenciados em estudos com roedores ao 11º e 12º dia da embriogênese, seguindo até a vida adulta em neurônios de 5-HT (Pinheiro, 2017).

Devido à importância crucial do SERT no transporte e biodisponibilidade da serotonina para suas funções sistêmicas, alterações em sua concentração devido aos efeitos de dietas hiperlipídicas e calóricas refletem importantes mudanças que inclinam à perpetuação da obesidade. Um estudo em roedores mostra que a falta de expressão de SERT pode justificar aumento da adiposidade branca; diminuição na tolerância à glicose e esteatose hepática; aumento de IMC e desenvolvimento de diabetes tipo 2, especialmente pelo fato que a 5-HT está relacionada nos processos de produção e secreção insulínica (Hoch e colaboradores, 2023; Yabut et Al., 2019). Camundongos deficientes em SERT desenvolveram fenótipo obeso e aumento da adiposidade. Modelos humanos também demonstram relação entre a obesidade com deleção de SERT, com polimorfismo de expressão reduzida deste transportador (Zha et Al., 2017). O fenótipo obeso de animais é revertido diante da regulação positiva do SERT. Ou seja, a maior expressão de SERT se correlaciona com menores níveis extracelulares de 5-HT, que conseqüentemente foram melhor aproveitados para suas funções metabólicas e homeostáticas com a sua recaptação (Pinheiro et al., 2017).

A expressão diminuída do SERT está associada à obesidade e resistência à insulina devido a alterações nos sinais de saciedade e desregulação metabólica, mediante a alteração da atividade serotoninérgica (Chen et al., 2012). Segundo estudos, indivíduos com obesidade e síndrome metabólica possuem menores níveis de SERT nas membranas plaquetárias cerebral e periféricas (Veniaminova et al., 2020). Estudos com primatas não humanos expostos indiretamente à DHH materna apontam um aumento da expressão gênica da enzima limitante da serotonina, a TPH2 e auto-receptores 5-HT_{1A} no núcleo rostral da rafe, sugerindo perturbação do sistema serotoninérgico (Sullivan et al., 2010). Diante destes achados, observamos a correlação entre obesidade e níveis de SERT diminuídos.

3. HIPÓTESE

A utilização de Dieta Cafeteria materna durante a lactação aumenta o peso corporal e diminui a expressão neuronal de transportador de serotonina (SERT) em núcleos do hipotálamo e do tronco encefálico em prole de animais jovens.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar peso corporal da prole de ratos Wistar e posteriormente a expressão neuronal de transportador de serotonina em núcleos do hipotálamo e do tronco encefálico de prole jovem submetida à dieta cafeteria durante a lactação.

4.2 Objetivos específicos

Avaliar em prole jovem de ratos Wistar submetida à dieta cafeteria durante a lactação:

- Peso corporal dos filhotes na lactação (do 1º ao 21º dia de vida), e nos dias 25 e 30 de vida.
- Imunorreatividade do transportador serotoninérgico (SERT) com medidas de perímetro e área, no núcleo Arqueado e seus subnúcleos dorsal, medial e lateral; núcleo Dorsal da Rafe e seus subnúcleos dorsomedial, ventromedial e dorsolateral; e núcleo Mediano da Rafe nos filhotes com 31 dias de vida.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais Experimentais

Vinte Ratos *Wistar* foram mantidos sob condições padrão de biotério, ciclo de luz de 12/12 horas, livre acesso à água e alimentação. O projeto foi submetido à Comissão de Ética para Uso de Animais Experimentais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco. 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 0083/2021.

O acasalamento ocorreu na proporção de duas fêmeas para um macho (2:1) após a fêmea atingir idade ideal, a qual é cerca de 8 a 10 semanas, e peso mínimo para o acasalamento, de 200 a 250g. Logo após acasalar, as fêmeas foram alocadas em gaiolas individuais e submetidas à sexagem 1 semana depois para confirmação da prenhez. A gestação foi acompanhada por meio da medição do ganho de peso corporal da nutriz a cada semana. Ao nascimento dos filhotes, o peso destes foi realizado nos dias 1º ao 21º pós-nascido, que compreende o período de lactação, e nos dias 25º a 30º pós-nascido. De acordo com Ostadalová e Babický (2012), em ratos o período de lactação atinge pico maior entre o 12º e 19º dia pós nascimento, devido a saída dos filhotes da ninhada e abertura dos olhos, e o desmame ocorre a partir do 21º dia.

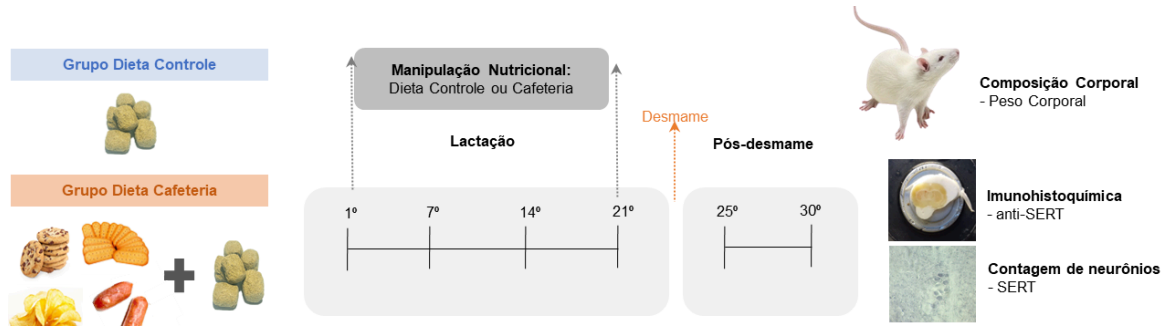
5.2 Grupos experimentais

No 1º dia pós-natal (1º DPN), ou 24 horas após o nascimento da prole (DPN 0), foi realizada a sexagem e cada ninhada foi formada por uma nutriz com oito filhotes machos, estes últimos com peso corporal entre 5 a 7g. Filhotes fêmeas podem ser utilizadas para completar ninhadas com menos de 8 machos. No 1º DPN, uma nutriz com oito filhotes compôs uma ninhada, e foram randomizados em dois grupos experimentais de acordo com a manipulação dietética (Figura 1).

Grupo Dieta Controle (C; n=10): as ratas nutrizas e os filhotes receberam dieta padrão de biotério durante a lactação (Nuvilab CR-1; 295kcal/100g; 4,5% kcal/lipídios).

Grupo Dieta Cafeteria (CAF; n=10): as ratas nutrizas e os filhotes receberam dieta Cafeteria durante a lactação (Nuvilab CR-1 + Alimentos com alto teor calórico; 422 kcal/100g; 34,50% kcal/lipídios).

Figura 1: Grupos experimentais, linha do tempo da pesquisa e análises.



Fonte: Própria autora.

5.3 Manipulação nutricional

A dieta padrão de biotério para roedores foi a Nuvilab[®] CR-1 (295kcal/100g) e foi ofertada para todos os grupos, na gestação e lactação. A dieta cafeteria foi adicionada apenas na lactação e consiste em alimentos altamente palatáveis e com alto teor calórico acompanhada da dieta Nuvilab[®]. Do 1º ao 21º dia, foram randomizados e entregues quatro alimentos em comedouros na gaiola. Para manter a variedade semelhante à alimentação humana, quatro alimentos foram ofertados e eram trocados periodicamente, para que os animais não recebessem os mesmos alimentos por mais que dois dias consecutivos (Figura 2). Concomitantemente, também foram alternadas as texturas (crocante e macio) e sabores (doce e salgado), segundo adaptação dos modelos de dieta cafeteria propostos por George e cols. (2019) e Da Costa Estrela e cols. (2015). No 22º DPN, os filhotes foram desmamados e separados de suas mães e passaram a receber apenas dieta padrão de biotério (Nuvilab[®]) até o final dos experimentos.

Figura 2: Lista de alimentos com alto teor calórico da dieta cafeteria.

LISTA DE ALIMENTOS POR SABOR	
Alimentos Salgados	Textura
1 Salgadinho Batata Scruch	Crocante
2 Salamitos	Macio
3 Salgadinho Cheetos Requeijão	Crocante
4 Salsicha mista	Macio
5 Salgadinho Crocantíssimo	Crocante
6 Pão Bisnaguito	Macio
7 Salgadinho Fandangos Presunto	Crocante
8 Mortadela	Macio
9 Biscoito de Povilho Salgado	Crocante
10 Pipoca Salgada	Crocante/Macio
11 Salgadinho Lanchinho Mineiro Bacon	Crocante
12 Salamitos Sabor Pepperônico	Macio
Alimentos Doces	Textura
13 Cookies chocolate	Crocante
14 Doce de coco (Beijo de moça)	Macio
15 Biscoito Recreacho Morango	Crocante
16 Doce de leite (Pingo de leite)	Macio
17 Amendoim Doce Pralinê	Crocante
18 Pão de mel chocolate ao leite	Macio
19 Doce de amendoim (Doce Rio)	Crocante/Macio
20 Jujuba (Gomets)	Macio
21 Biscoito Teens bauny	Crocante/Macio
22 Chocolate Bombom prestígio	Macio
23 Pipoca doce	Crocante/ Macio
24 Doce de amendoim (Pé de moça)	Crocante/Macio
25 Beijo de Leite (Substituto Pingo de Leite)	Macio

Fonte: Própria autora.

Tabela 1: Composição nutricional dos alimentos ultraprocessados da dieta cafeteria.

Alimentos Ultraprocessados	Porção (g)	Kcal / Porçã o	Carb oidra tos (g)	Prote ínas (g)	Gordura s totais (g)	Sódi o (mg)	Kcal/ 100g
Amendoim Doce Pralinê	15,0	75,0	8,0	2,0	3,6	0,0	500,0
Biscoito Cookies de chocolate	40,0	195,0	24,0	2,7	8,9	106, 0	487,5
Biscoito de Povilho Salgado	30,0	136,0	23,0	0,0	4,7	288, 0	453,3
Biscoito recheado morango	37,0	175,0	26,0	2,1	7,0	70,0	473,0
Biscoito Teens Bauny	30,0	134,0	20,0	2,4	4,8	87,0	446,7
Chocolate Bombom prestígio	19,0	86,0	12,0	0,0	3,8	10,0	452,6

Doce de amendoim (Molecão)	18,0	77,0	11,0	1,4	2,7	34,0	427,8
Doce de amendoim (Pé de moça)	26,0	119,0	15,0	2,0	6,0	19,0	457,7
Doce de leite (Pingo de leite)	10,0	43,0	8,0	0,0	1,1	0,0	430,0
Doce de coco (Beijo de moça)	28,0	109,0	18,0	1,0	3,0	35,0	389,3
Jujuba	20,0	72,0	18,0	0,0	0,0	10,0	360,0
Pão Bisnaguito	50,0	155,0	28,0	4,2	2,8	172,	310,0
						0	
Pão de mel chocolate ao leite	30,0	115,0	21,0	2,2	2,5	56,0	383,3
Pipoca doce	25,0	95,0	23,0	1,2	0,2	0,0	380,0
Pipoca salgada	25,0	130,0	16,0	1,5	7,0	174,	520,0
						0	
Salamitos	36,0	122,0	0,9	11,0	8,5	543,	338,9
						0	
Salamitos Sabor Peperônico	36,0	124,0	0,9	11,0	8,5	543,	344,4
						0	
Salsicha Mista	50,0	123,0	2,2	6,2	9,9	625,	246,0
						0	
Salgadinho Batata Scrusch	25,0	148,0	13,0	1,5	10,0	125,	592,0
						0	
Salgadinho Cheetos requeijão	23,0	114,0	15,0	1,2	5,3	102,	495,7
						0	
Salgadinho Crocantissimo	25,0	110,0	19,0	2,3	2,9	136,	440,0
						0	
Salgadinho Fandangos Presunto	23,0	113,0	15,0	1,4	5,4	126,	491,3
						0	
Salgadinho Torraditos Bacon	25,0	122,0	12,5	1,4	7,4	210,	488,0
						0	
Mortadela Sabor Frango	40,0	116,0	2,8	4,8	9,6	540,	290,0
						0	

Fonte: Própria autora.

5.4 Análises experimentais:

5.4.1 Peso Corporal da prole

O peso dos filhotes foi avaliado do 1º ao 21º dia de lactação, e nas idades de 25 e 30 dias de vida. Foi utilizada balança semi-analítica (BEL Engineering®).

5.4.2 Densidade neuronal do transportador de serotonina (SERT):

Aos 31 dias de vida foi realizada a anestesia nos animais randomizados, com ketamina (60mg/kg de peso corporal) e xilasina (7,5 mg/kg de peso corporal), para ser realizado o eutanásia dos animais. Seguindo as fases deste procedimento, inicia-se assim a perfusão com solução salina (NaCl, 0,9%) e solução fixadora (4% de paraformaldeído, pH 7,4, em 4°C). Após, os encéfalos fixados foram retirados do crânio do animal manualmente, e imersos em solução fixadora com sacarose (20%) por 4 horas. Em seguida, foram armazenados em solução crioprotetora com tampão fosfato-salino (PBS) e sacarose a 20% por 24h. Os encéfalos foram crio-seccionados em cortes coronais de 40µm de espessura para análise histoquímica, utilizando-se o aparelho criostato (Leica-3185).

5.4.2.1 Análise histoquímica da densidade neuronal do transportador de serotonina:

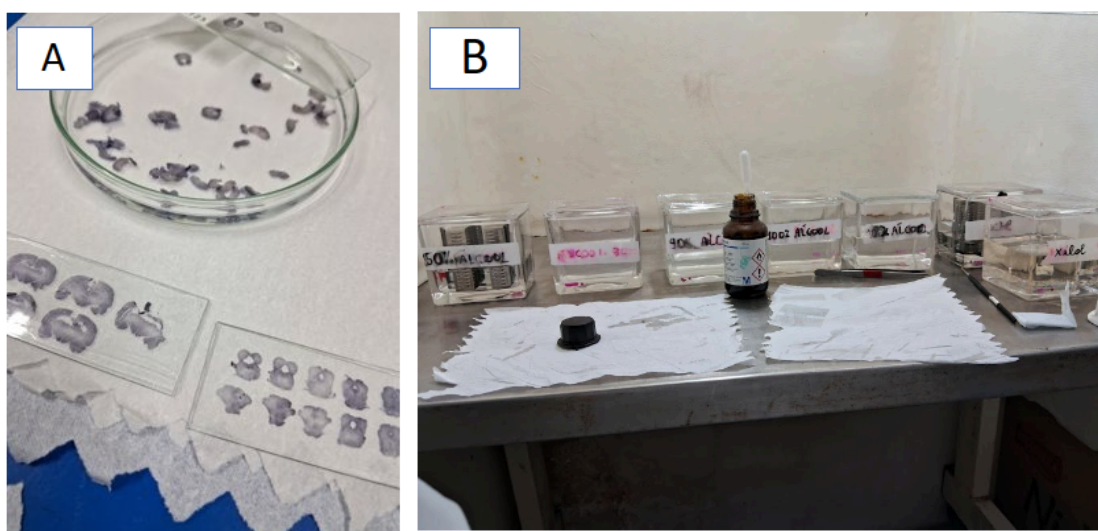
Séries de cortes crio-seccionados foram coletadas, para cada animal, em placas de cultura de acrílico (6 poços) sob solução anti-freezing e armazenadas a -20°C. Uma série de cortes foi submetida a reações de imunohistoquímica contra o anti-SERT em laboratório especializado, seguindo os seguintes passos: os cortes coronais foram submetidos a lavagens em PBS (0,1M). Seguido da incubação com Peróxido de Hidrogênio à 30%. Em sequência, foram incubados em PBS e soro normal de cabra (NGS 5%) para bloqueio de sítios inespecíficos. Após, incubados em solução com anticorpo primário anti-SERT (AB9726, feito em coelho, Chemicon), e em solução com anticorpo secundário (1:200, B8895, feito em cabra contra coelho, Sigma). Em seguida, incubados com o Complexo Avidina Biotina Peroxidase 1% (ABC Kit, Vector Laboratories). Para a revelação, foram incubados em solução de revelação com 3,3-diaminobenzidina – DAB. Após esta reação, foi acrescentada a solução contendo a

enzima *Glucose Oxidase* até que os cortes apresentem coloração acinzentada. Assim, os cortes foram lavados em acetato de sódio (0,1M) e PBS e reservados.

5.4.2.2 Preparação das lâminas:

Os cortes foram montados em lâminas previamente gelatinizadas, passaram por processos de desidratação, onde foram imersos em uma sequência crescente de concentrações de álcoois, a partir de 50%, e diafanizados em xilol. Após estas etapas, as lâminas foram recobertas com Entellan e lamínula (Figura 3).

Figura 3: Preparação das lâminas. A) Distribuição dos cortes histológicos em lâminas. B) Sequência de banhos nas lâminas com álcool em diferentes concentrações de xilol.



5.4.2.3 Contagem de neurônios SERT:

O Atlas Estereotático de Rato foi utilizado para identificação e delimitação das áreas cerebrais (Paxinos e Watson, 2007) em comparação com os cortes encefálicos e íntegros, apresentados na lâmina devidamente limpa de resíduos e sujidades, realizando-a de forma manual. Foram utilizados na contagem o núcleo arqueado do hipotálamo, e seus subnúcleos arqueado lateral, dorsal, medial e medial-posterior; o núcleo dorsal da rafe, e seus subnúcleos dorsal, ventral e lateral; e o núcleo mediano da rafe. Foi selecionado 1 bregma a ser contado para cada um dos 4 animais que compõem o grupo randomizado. Cada bregma foi fotografado manualmente em zoom de 40x, em microscópio óptica de campo claro (Zeiss®).

Posteriormente, no software de edição de imagens GIMP (GNU Image Manipulation Program) (Gimp, 1995), foi realizada a colagem das fotos, minuciosamente registradas, visando compor uma foto total do bregma de tamanho e qualidade superior para a contagem. A contagem de neurônios foi realizada manualmente no programa de processamento de imagens em Java, ImageJ (ImageJ, 1997). Foram verificadas e contadas as células com marcação evidente para o transportador de serotonina nas áreas encefálicas de interesse no hipotálamo e tronco encefálico (Tabela 1).

Tabela 2: Bregmas dos núcleos hipotalâmicos e do tronco encefálico.

Núcleos e Subnúcleos	Sigla	Intervalo de Bregmas
Hipotalâmicos		
Núcleo arqueado do Hipotálamo	Arc	-1.72mm ao -3.36mm
Núcleo hipotalâmico arqueado dorsal	ArcD	-1.92mm ao -3.36mm
Núcleo hipotalâmico arqueado lateral	ArcL	-1.92mm ao -3.36mm
Núcleo hipotalâmico arqueado medial	ArcM	-1.92mm ao -3.36mm
Núcleo hipotalâmico arqueado medial-posterior	ArcMP	-3.48mm ao -4.36mm
Núcleos e Subnúcleos do Tronco Encefálico		
Núcleo Dorsal da Rafe	DR	-6.84mm ao -9.36mm
Núcleo dorsal da rafe, dorsal	DRD	-7.08mm ao -8.40mm
Núcleo dorsal da rafe, ventral	DRV	-7.20mm ao -8.40mm
Núcleo dorsal da rafe, lateral	DRL	-7.20mm ao -8.04mm
Núcleo Mediano da Rafe	MnR	-7.20mm ao -8.76mm

Fonte: Paxinos e Watson, 2007. Demonstração das áreas que foram utilizadas para contagem de neurônios no núcleo arqueado do hipotálamo em diferentes bregmas (Figura 5), do núcleo dorsal da rafe (Figura 6) e do núcleo mediano da rafe (Figura 7).

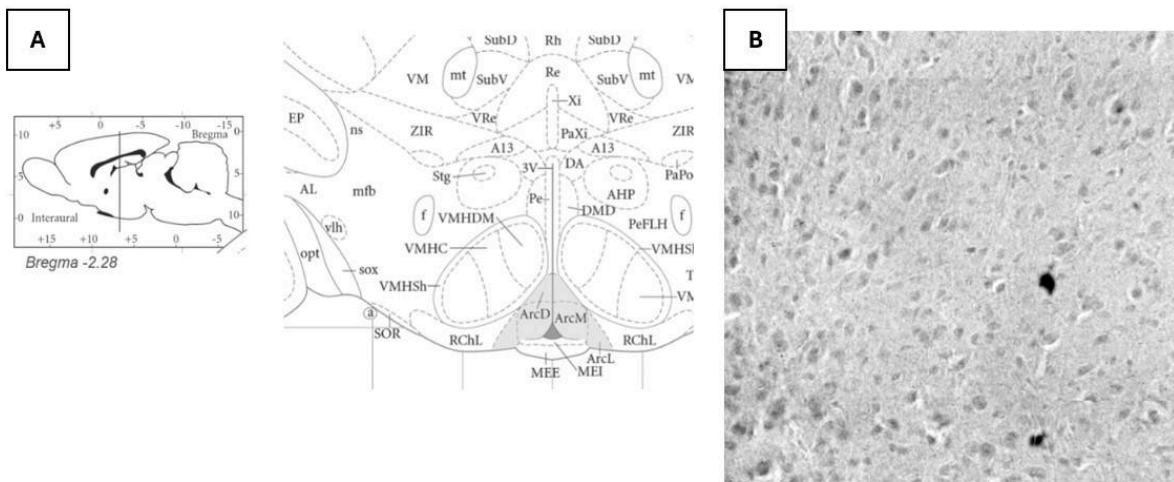


Figura 4: A. Representação esquemática do Atlas de Cérebro de Rato (Bregma -2.28). **B.** Identificação de núcleos celulares de neurônios SERT-IR no Núcleo Arqueado do Hipotálamo utilizando o programa Image J (Bregma -2.28).

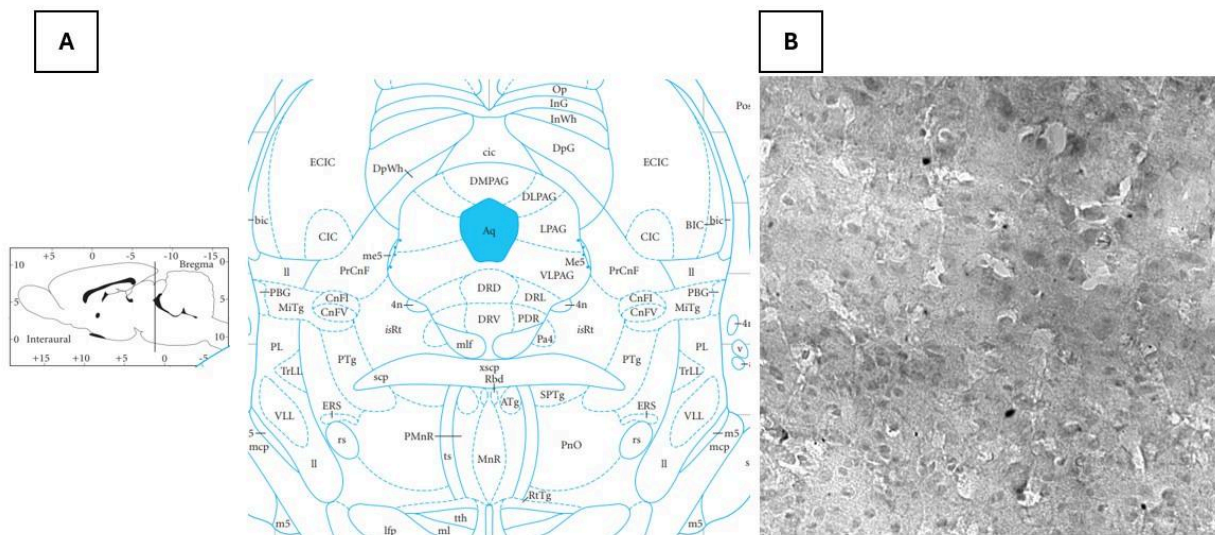


Figura 5: A. Representação esquemática do Atlas de Cérebro de Rato (Bregma -7.80). **B.** Identificação do Núcleo Dorsal da Rafe com núcleos celulares de neurônios SERT-IR utilizando o microscópio Primo Star (Bregma -7.80).

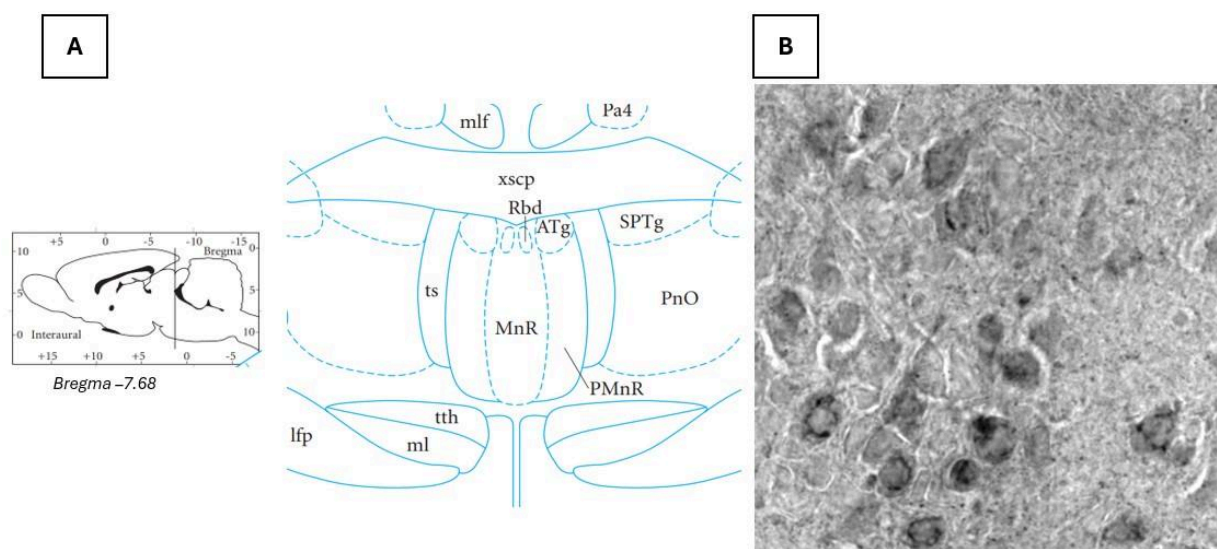


Figura 6: A. Representação esquemática do Atlas de Cérebro de Rato (Bregma -7.68). B. Identificação de núcleos celulares de neurônios SERT-IR no Núcleo Mediano da Rafe utilizando o programa Image J (Bregma -7.68).

5.5 Análises Estatísticas

Os dados coletados foram armazenados em planilhas no software Excel®. A normalidade foi testada através do teste de Shapiro Wilk. Para dados paramétricos, foi utilizada a Análise de Variância de Duas Vias (ANOVA Two Way) para comparação dos diferentes grupos, na análise do peso corporal, seguido do Teste de Bonferroni para identificar os grupos significativamente diferentes. E teste T de Student para contagem de neurônios SERT. O nível de significância estatística foi estabelecido com o valor de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas no programa GraphPad Prism® (Graph Pad Software, Inc, 2019).

6. RESULTADOS

6.1 Peso corporal dos filhotes

O ANOVA *two way* apresentou interação significativa entre os dois grupos experimentais em relação ao ganho de peso corporal [$F(5, 90) = 3,586$; $p = 0,0053$]. Também apresentou significância em relação a idade dos animais [$F(1, 827,$

32,89)=1062; $p<0,0001$] e a dieta consumida no período de lactação [F (1, 18)= 7,666 ; $p=0,0127$].

Os animais do grupo que receberam dieta cafeteria durante a lactação apresentaram maior peso corporal nos dias 14 e 21 de vida (14^o dia, C: 27,29±4,00; n=10 vs CAF: 34,51±3,15; n=10, $p<0,0020$; 21^a dia, C: 43,63±3,67; n=10 vs CAF: 52,55±4,63; n=10, $p<0,0010$). Não foram observadas diferenças do peso corporal aos 25 e 30 dias de vida (Figura 6).

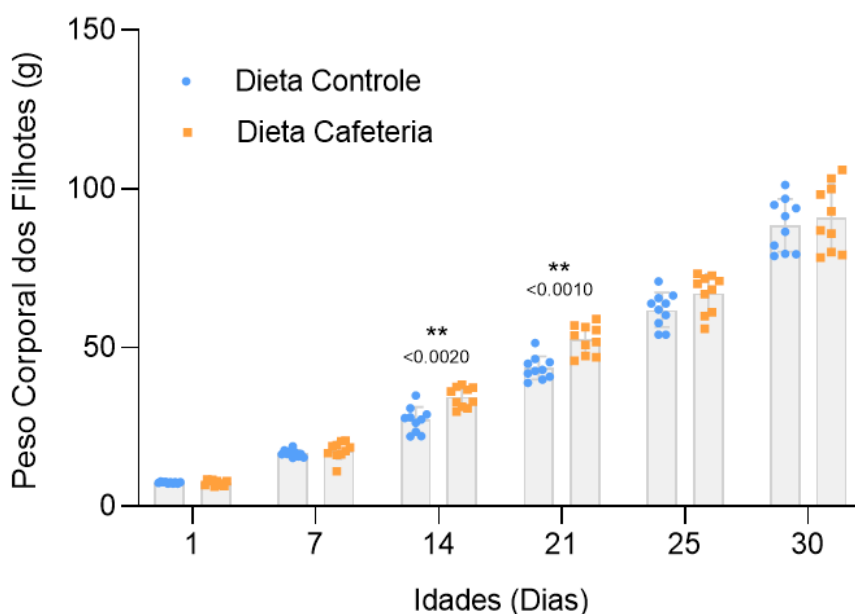


Figura 7: Peso corporal da prole. Comparação entre os Grupos Dieta Controle (C, n=10) e Dieta Cafeteria (CAF, n=10). Teste ANOVA *two way* medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni. Dados expressos em média ± desvio padrão. Nível de significância $p<0,05$.

6.2 Quantidade de neurônios SERT-IR no Núcleo Arqueado do Hipotálamo

A quantidade total de neurônios que expressam o transportador de serotonina no Núcleo Arqueado do Hipotálamo (Arc) não foi diferente na comparação entre os grupos experimentais Dieta Controle e Dieta Cafeteria aos 31 dias de vida (C: mediana 345 ± IIQ 289-394; n=4 versus CAF: mediana 324 ± IIQ 164,6-401,6; n=4, $p\leq 0,29$). Em relação aos subnúcleos arqueado dorsal (ArcD), arqueado medial (ArcM), arqueado medial posterior (ArcMP) não foram diferentes na comparação entre os grupos. O subnúcleo arqueado lateral (ArcL) apresentou redução na imunorreatividade do SERT no grupo

cafeteria, aos 31 dias de vida (C: mediana 49,50 \pm IIQ 48,50-54,50; n=3 versus CAF: mediana 43,50 \pm IIQ 42,50-46,00; n=3; p<0,05.

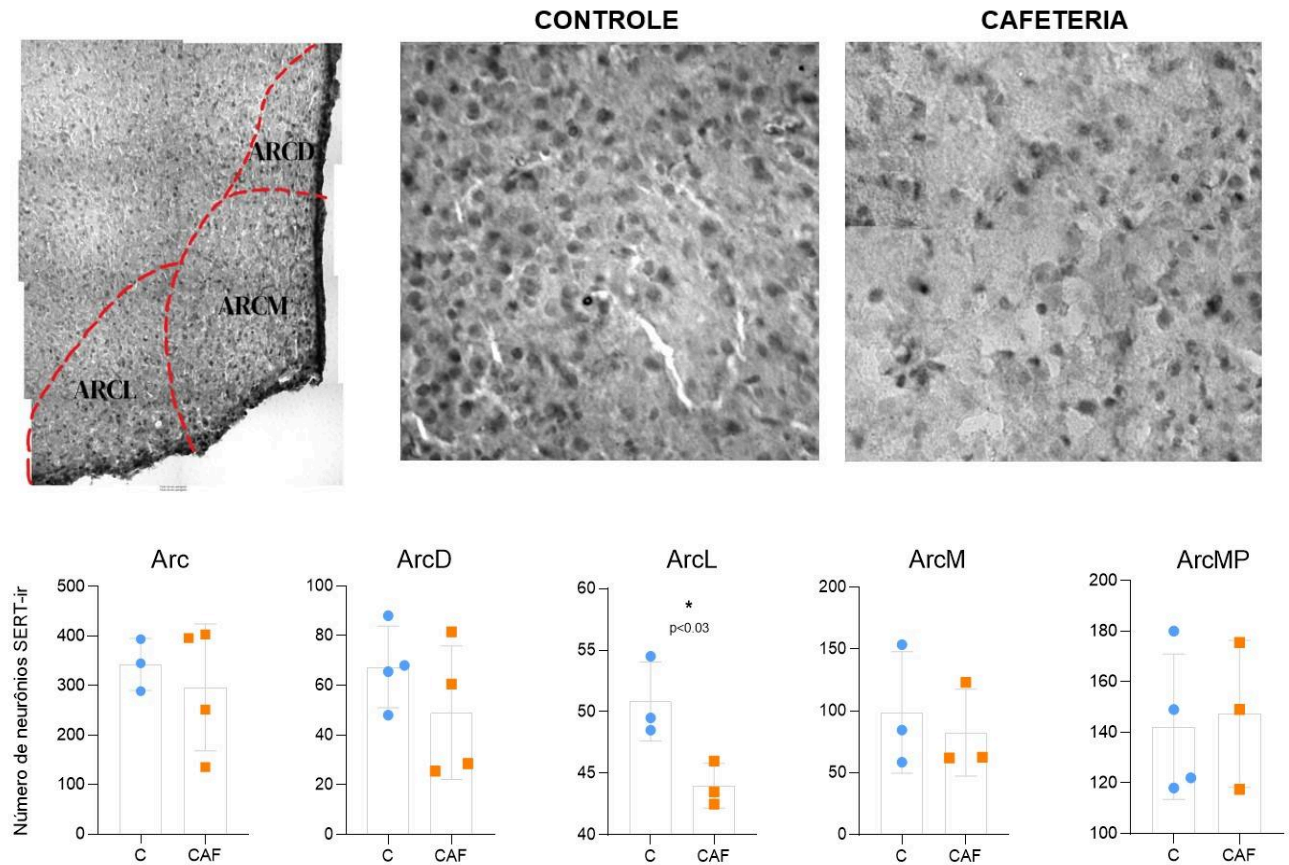
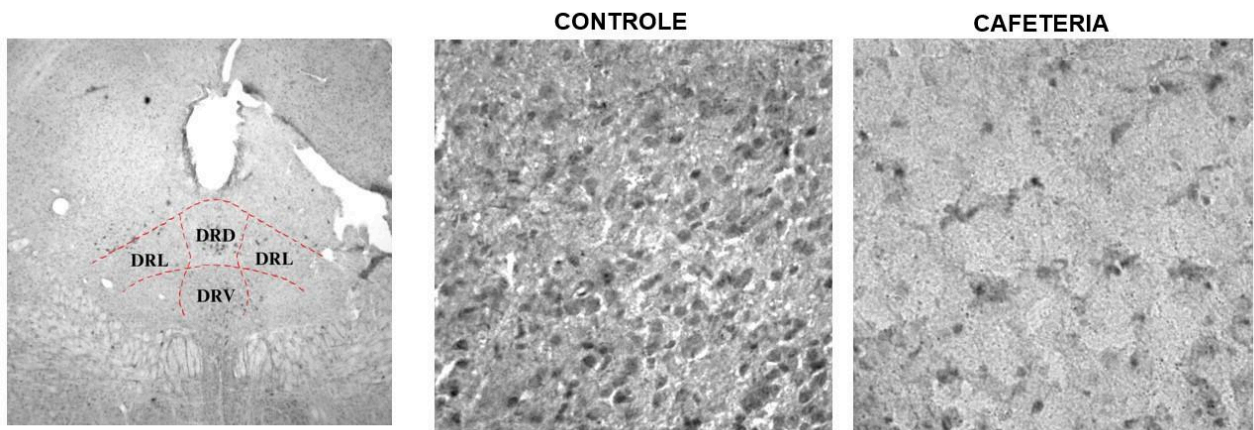


Figura 8: Núcleo Arqueado do Hipotálamo (objetiva 4x, objetivas de 40x, bregmas -3.84 e -3.24mm, respectivamente). Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR no Núcleo Arqueado Hipotalâmico em ratos wistar aos 31 dias de vida, submetidos à dieta controle ou dieta cafeteria na lactação. Grupo Controle (C, Arc n=4; ArcD n=4; ArcL n=3; ArcM n=3; ArcMP n=4) e grupo Cafeteria (CAF, Arc n=4; ArcD n=; ArcL n=3; ArcM n=3; ArcMP n=3). Utilizado o teste T de Student, com dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75). Nível de significância p<0,05.

6.3 Quantidade de neurônios SERT-IR no Núcleo Dorsal da Rafe

A quantidade total de neurônios que expressam o transportador de serotonina no

Núcleo Dorsal da Rafe do Tronco Encefálico (DR) e nas porções dorsal (DRD) e ventral (DRV) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais aos 31 dias de vida (C: mediana 114 \pm IIQ 101,5-137; n=3 versus CAF: mediana 90,5 \pm IIQ 97,5-121,8; n=4, $p \leq 0,25$). A parte lateral do núcleo dorsal da rafe (DRL) expressou uma redução dos neurônios SERT-ir no grupo cafeteria (C: mediana 42,00 \pm



IIQ 38,13 - 48,13; n=4 versus CAF: mediana 28,25 \pm IIQ 21,63 - 36,38; n=4; $p < 0,028$).

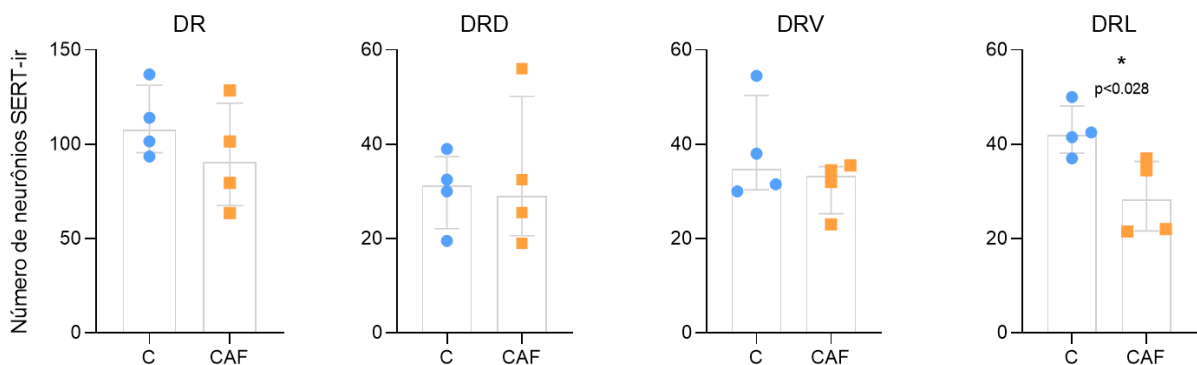


Figura 9: Núcleo Dorsal da Rafe (objetiva 40x, bregmas -7.68mm e -8.04mm).

Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR nos subnúcleos dorsal da rafe do tronco encefálico em prole jovem, submetida à Dieta Controle ou Dieta Cafeteria durante a lactação. Grupo Controle (C: DR n=4 ; DRD n=4; DRV n=4; DRL n=4) e Dieta Cafeteria (CAF: DR n=4; DRD n=4; DRV n=4; DRL n=4). Foi utilizado o teste T de Student, com dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75). Nível de significância $p < 0,05$.

6.4. Quantidade de neurônios SERT-IR no Núcleo Mediano da Rafe

A quantidade total de neurônios que expressam o transportador de serotonina no

Núcleo Mediano da Rafe do Tronco Encefálico (MnR) apresentou diferenças significativas entre os dois grupos experimentais aos 31 dias de vida, sendo maior no grupo que consumiu dieta cafeteria na lactação (C: 90; IIQ 68-110,9; n=4 versus CAF: 132; IIQ 123,5-137,5; n=3, $p \leq 0,02$).

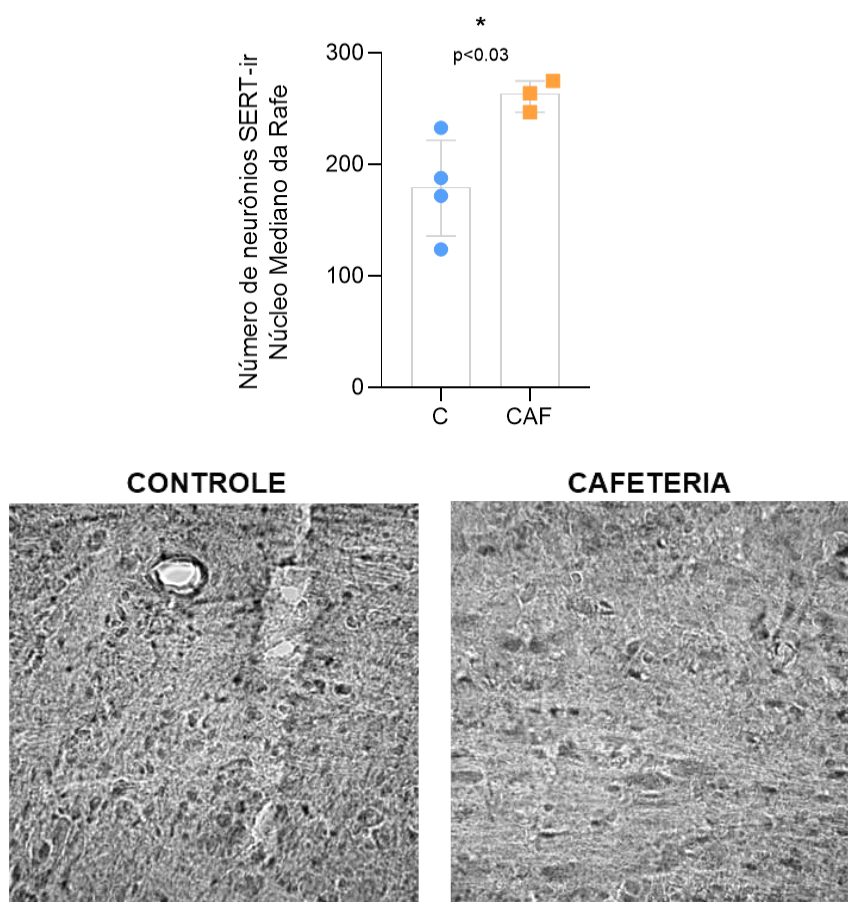


Figura 10: Núcleo Mediano da Rafe (objetiva 40x, bregmas 7.62-mm e -7.56). Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR no núcleo mediano da rafe do tronco encefálico em prole jovem, submetida à Dieta Controle ou Dieta Cafeteria durante a lactação. Grupo Controle (C, n=4) e Dieta Cafeteria (CAF, n=3). Foi utilizado o teste T de Student, com dados expressos em mediana \pm intervalo interquartil (Percentil 25 - Percentil 75). Nível de significância $p < 0,05$.

7. DISCUSSÃO

Neste estudo, foram analisados o peso corporal e a quantidade de neurônios que expressam o SERT em prole de animais cujas nutrizes consumiram dieta cafeteria durante a lactação. O período de tempo de vida dos ratos utilizado neste trabalho corresponde tanto a imaturidade alimentar, ao 10º dia de vida, assim como o momento de independência alimentar da prole, a partir dos 18º dia de vida (Cavalcante, 2016). A comparação foi realizada entre grupos que receberam dieta controle e dieta cafeteria, devido à relevância encontrada em artigos científicos acerca desta correlação para a saúde e sua relação com a quantidade de transportador de serotonina.

Os resultados deste estudo evidenciaram que a prole do grupo que recebeu dieta cafeteria na lactação apresentou maior peso corporal no 14º e 21º dias pós natal (DPN). No entanto, não foi observada uma diferença entre os pesos corporais no 25º e 30º DPN. Corroborando com o presente estudo, a ingestão de dieta CAF pós-natal pelas nutrizes levou ao aumento de peso corporal e tal aumento foi, inclusive, superior ao gerado pela dieta DHH na prole (Lalanza; Snoeren, 2021). Outro estudo também demonstrou aumento de peso corporal em filhotes de roedores alimentados com dieta rica em calorias e gorduras do tipo cafeteria na fase da lactação. Nesse estudo, ainda houve redução ponderal do peso e aumento da adiposidade nos machos da prole adulta (Tajaddini et al., 2022).

Entretanto, há também relatos de redução de peso corporal em prole em animais submetidos à dieta cafeteria materna (Sánchez-Blanco et Al., 2015). Neste caso, postula-se que a redução ponderal do peso corporal estaria associada à menor ingestão proteica materna, apesar do alto valor energético total ingerido (Sánchez-Blanco et Al., 2015). Além de promover uma superávit energético ao metabolismo gerando ganho de peso notável (George et Al, 2019), a oferta *ad libitum* por 30 dias de dieta cafeteria, assim como protocolo deste trabalho, promoveu maior ingestão alimentar desde o primeiro dia de oferta (Guedine, 2018). Adicionalmente, a exposição da prole de ratos jovens à dieta cafeteria por curto período na lactação foi suficiente para aumentar riscos de desordens na homeostase metabólica (Pomar et. Al., 2019). Isso pode ser explicado porque em um ambiente onde principalmente a nutriz ingere dieta cafeteria, o leite materno possui mais calorias provenientes de gordura e triglicerídeos em comparação ao grupo controle, levando ao maior ganho de peso da prole (Pomar et al., 2017).

Em relação aos resultados da quantidade total de neurônios SERT no núcleo dorsal da rafe e nas porções dorsal e ventral não houve diferença aos 31 dias de vida. No entanto, na mesma idade, houve redução significativa da imunorreatividade de SERT

na porção lateral do núcleo dorsal da rafe (DRL) nos filhotes do grupo cafeteria. Estes resultados se tornam alvo de investigação visto que pesquisas científicas experimentais como a de Khozai (2016) revelam que a expressão de SERT pós-natal no núcleo dorsal da rafe de ratos Wistar, incluindo seu subnúcleo DRL, aumentou desde o 5º DPN, chegando a uma expressão neuronal de cerca de 80% ao 20º DPN, caracterizando uma eficiente recaptação de serotonina extracelular e sináptica. O núcleo dorsal da rafe contém o maior conjunto de neurônios serotoninérgicos os quais possuem o papel de regulação da alimentação (Schneeberger et Al., 2022), no metabolismo da glicose e no apetite. Em subnúcleos da DRN os neurônios serotoninérgicos se diferenciam em morfologia, eletrofisiologia, projeções e funções (Xiao et Al., 2021), o que pode explicar diferenças nos níveis de quantificação nos subnúcleos estudados.

O núcleo mediano da rafe (MnR) é um importante alvo serotoninérgico envolvido com suas funções relacionadas ao organismo. Possui agrupamentos serotoninérgicos B5 e B6 e compõe o sistema serotoninérgico dorsal, além de 15% de seus neurônios serem GABAérgicos, os quais coexistem com 5-HT comumente (Pezzato, 2014). Além disso, é ponto de partida de vias ascendentes de serotonina para áreas límbicas cerebrais, que controlam comportamentos emocionais e impulsivos (Pezzato, 2014). Neste estudo houve diferenças significativas da imunorreatividade de SERT no MnR de prole de ratos aos 31 dias de vida, sendo esta

Pesquisas mostram que, em condições normais, a fome impulsiona a busca por alimentos calóricos que supram a demanda energética e este processo é finalizado com a sensação de saciedade ao adquirir energia suficiente para as necessidades fisiológicas. Esta situação de fome e saciedade são mediadas por hormônios através da dieta e sinais do sistema central e periférico (Cabraia, 2004). No caso da ingestão de dieta CAF hipercalórica e hiperlipídica, reflete assim não apenas nos sinais de fome e saciedade, mas imunorreatividade do sistema serotoninérgico, o qual também atua regulando estes sinais (Bhave; Nectow, 2021). Isso sugere que um estímulo funcional prejudicado neste subnúcleo gera riscos para ocorrência de alterações metabólicas como a obesidade. Esta atividade é regulada por circuitos neurais hipotalâmicos que possuem neurônios que expressam SERT. Entretanto, o papel do tronco cerebral e, em especial, do núcleo dorsal da rafe vem sendo demonstrado por conta de conexão

recíproca com núcleos hipotalâmicos de controle alimentar como ArcL (Nectow et Al., 2017).

O presente estudo experimental obteve como resultado de imunorreatividade SERT no núcleo arqueado do hipotálamo e seus subnúcleos que não houve diferença significativa na quantidade total de SERT no Arc, assim como nos subnúcleos dorsal, medial e medial posterior. Entretanto, o subnúcleo lateral (ArcL) apresentou redução na SERT-IR no grupo cafeteria, aos 31 dias de vida. A área hipotalâmica lateral recebe projeções do Arc e é relacionada com o gasto energético e regulação do apetite, tanto que pesquisas em camundongos knockout para o hormônio concentrador de melanina, um neuropeptídeo orexígeno encontrado no ArcL, houve resistência à obesidade e aumento de gasto energético (Simpson; Martin; Bloom, 2009).

Os resultados dessa pesquisa se correlacionam com achados científicos relacionando a SERT-IR com utilização de dietas ricas em gordura e açúcares. Em humanos, um estudo com 25 indivíduos magros do sexo masculino que receberam DHH por 6 semanas mostrou diminuição em 30% da ligação ao SERT da região hipotalâmica (Koopman et Al., 2013). Um estudo post-mortem com 23 indivíduos idosos também mostrou que a imunorreatividade SERT era menor no núcleo infundibular, o equivalente ao Arc, nos indivíduos com peso elevado e obesidade em relação ao grupo com peso adequado (Borgers et Al., 2014), demonstrando assim a relevância deste estudo diante da semelhança anatômica e fisiológica cerebral entre roedores experimentais e humanos em situações adversas como a redução da imunorreatividade de SERT mediante dieta inadequada.

A leptina, hormônio chave na promoção de saciedade e regulação do consumo alimentar, é dependente de 5-HT para exercer sua função, tanto que a depleção serotoninérgica é associada com a redução de leptina e consequente aumento de ingestão (Kassab, 2022). Este fator humoral afeta o balanço energético via SNC na proporção de adiposidade corporal e age primariamente no Arc (Hermsdoff; Vieira; Monteiro, 2006). Estudos experimentais com camundongos obesos revelam que seu organismo possui ausência de leptina, afetando assim a funcionalidade dos neurônios NPY/ArgRP e ocasionando maior sinalização de fome, além da resistência à insulina, que interfere na sinalização de sinais de fome e saciedade adequados (Morton et Al, 2006). Outros estudos mostraram que a DHH reduziu os níveis de 5-HT no hipotálamo de ratos Wistar (Haleem e Mahmood, 2019).

É importante destacar que níveis de 5-HT e seu transportador (SERT) alterados em nutrizas as quais sofreram consequências metabólicas pela dieta cafeteria podem ser repassados à prole em períodos críticos como a lactação, e também induzirem secundariamente a alterações metabólicas como a obesidade. A 5-HT é sintetizada no epitélio e glândulas mamárias, e tem o papel de gerar um feedback ao SNC para controle de liberação do leite materno, sendo incorporada pelo SERT (Chiba; Maeda; Kudo, 2018), o qual se localiza no epitélio e células estromais mamárias da nutriz (Marshall; Hernandez; Cavaleiro, 2013). Em ratos, o período de lactação atinge pico maior entre o 12º e 19º dia pós nascimento, devido a saída dos filhotes da ninhada e abertura dos olhos, e o desmame ocorre a partir do 21º dia (Ostádalová e Babický, 2012), o que se correlaciona com o momento onde os roedores passam a ingerir maior volume de leite e até mesmo a comida do comedouro como a dieta CAF, gerando maiores efeitos à SERT-IR em relação aos animais com dieta equilibrada nutricionalmente.

Embora ainda haja necessidade de esclarecimentos, como na interação entre SERT, 5-HT e transmissão do sinal serotoninérgico, mais questionamentos podem ser formulados para o futuro, visto que este tema denota importância diante de eventos da saúde pública, tais quais o crescimento da obesidade e o uso de alimentos industrializados e de inferior qualidade nutricional.

8. CONCLUSÃO

O consumo materno de dieta cafeteria durante a lactação promoveu o ganho de peso na prole nesta fase, havendo significância entre idade da prole e a dieta ingerida. Além disso, no que se refere à imunorreatividade do transportador de serotonina, os núcleos dorsal da rafe e arqueado do hipotálamo não apresentaram diferenças significativas entre os grupos controle e cafeteria aos 31 dias de vida, assim como os seus respectivos subnúcleos. Entretanto, o mediano da rafe apresentou aumento na quantidade de neurônios SERT-IR, a porção lateral do núcleo dorsal da rafe e núcleo arqueado hipotalâmico apresentaram redução notável no número de neurônios imunorreativos ao SERT no grupo que ingeriu dieta cafeteria.

Estes achados revelam que os efeitos da dieta cafeteria em períodos críticos de desenvolvimento são visíveis e comprováveis diante da redução quantitativa de SERT e

isso se reflete no metabolismo ponderal, assim como no ganho de peso da prole durante a amamentação. Destacando assim que a alimentação inadequada é uma grande questão social e de saúde pública por promover não apenas a obesidade, mas afetar outros sistemas corporais essenciais para a manutenção da saúde enquanto é tão presente no modo de vida ocidentalizado, e o quão cedo esses padrões de saúde podem se instaurar em um organismo devido à sua influência durante períodos de amamentação.

Mais estudos são interessantes e necessários para se compreender cada vez mais o papel e a interação de núcleos cerebrais relacionados ao metabolismo e sistema serotoninérgico, podendo levantar informações pertinentes à prevenção da obesidade e de problemas de saúde neurológicos relacionados à diminuição de SERT, por exemplo, assim como de padrões inadequados de saúde desenvolvidos durante uma janela de alto desenvolvimento orgânico. O presente estudo cumpriu o exigido para demonstrar resultados de contagem de SERT e avaliação do ganho ponderal e constitui-se de um exemplo metodológico e reprodutível para novas pesquisas e resultados pertinentes ao tema.

9. REFERÊNCIAS

AKYOL, A.; LANGLEY-EVANS, S. C.; MCMULLEN, S. **Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat.** *British Journal of Nutrition*, v. 102, n. 11, p. 1601-1610, 2009.

ALFARADHI, M. Z.; OZANNE, S. E. **Developmental programming in response to maternal overnutrition.** *Frontiers in Genetics*, v. 2, n. 27, doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2011.00027>, 2011.

BARROS, D. DE M. et al. **A influência da transição alimentar e nutricional sobre o aumento da prevalência de doenças crônicas não transmissíveis / The influence of food and nutritional transition on the increase in the prevalence of chronic non-communicable diseases.** *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 7, p. 74647–74664, 28 jul. 2021.

BARKER, D. J. P.; THORNBURG, K. L. **Placental programming of chronic diseases, cancer and lifespan: A review.** *Placenta*, v. 34, n. 10, p. 841–845, 2013.

BATESON, P. et Al. **Developmental plasticity and human health**. Nature, v. 430, n. 6998, p. 419-421, 2004.

BHAVE, V. M.; NECTOW, A. R. **The dorsal raphe nucleus in the control of energy balance**. Trends in Neuroscience, v. 44, n. 12, p. 946-960, 2021.

BORGERS, A. J. et al. **Decreased serotonin transporter immunoreactivity in the human hypothalamic infundibular nucleus of overweight subjects**. Frontiers in Neuroscience, v. 8, 15 maio 2014.

BRASIL. **Resolução Normativa CONCEA nº 15, de 16.12.2013**. Brasília, Seção 1, p. 9, 2013.

CAMBRAIA, R. P. B. **Psychobiological aspects of feeding behavior**. Communication, v. 17, n. 2, p. 217-225, 2004.

CAVALCANTE, T. C. F. **Controle hipotalâmico do comportamento alimentar neonatal e desnutrição**. Doutorado (Nutrição), 113 f. Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

CHAN, M. C. et Al. **The substrate import mechanism of the human serotonin transporter**. Biophysical Journal, v. 121, n. 121, p. 715-730, 2022.

CHANDRASEKARAN, P.; WEISKIRCHEN, R. **The Role of Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus—An Overview**. International Journal of Molecular Sciences, v. 25, n. 3, 2024.

CHAUDHURY, S. et Al. **Activity-dependent synaptic plasticity modulates the critical phase of brain development**. Brain and development, v. 38, n. 4, p. 355-363, 2016.

CHIBA, T.; MAEDA, T.; KUDO, K. **Endogenous Serotonin and Milk Production Regulation in the Mammary Gland**. YAKUGAKU ZASSHI, v. 138, n. 6, p. 829–836, 2018.

CRUZ-CARRILLO, G. et al. **Prenatal Cafeteria Diet Primes Anxiety-like Behavior Associated to Defects in Volume and Diffusion in the Fimbria-fornix of Mice Offspring**. Neuroscience, v. 511, p. 70-85, 2023.

DA COSTA ESTRELA, D. et al. **Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress.** *Physiology & Behavior*, v. 151, p. 252–263, 2015.

DALGARRONDO, P. **Evolução do cérebro: sistema nervoso, psicologia e psicopatologia sob a perspectiva evolucionista.** Artmed, 462 p., ISBN: 9788536324395, 2011.

DAUBERT, E. A.; CONDRON, B. G. **Serotonin: a regulator of neuronal morphology and circuitry.** *Trends in Neurosciences*, v. 33, n. 9, p. 424-434, 2010.

DESAI, M. et Al. **Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome.** *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 211, n. 3, 2014.

DESAI, M.; HALES, C. N. **Role of Fetal and Infant Growth in Programming Metabolism in Later Life.** *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 72, n. 2, p. 329-348, 1997.

DE SOUZA, E. B.; KUYATT, B. L. **Autoradiographic localization of³H-paroxetine-labeled serotonin uptake sites in rat brain.** *Synapse*, v. 1, n. 5, p. 488–496, 1987.

DE LA GARZA, A. L. **Characterization of the Cafeteria Diet as Simulation of the Human Western Diet and Its Impact on the Lipidomic Profile and Gut Microbiota in Obese Rats.** *Nutrients*, v. 15, n. 1, doi: 10.3390/nu15010086, 2023.

DONOVAN, M. H.; TECOTT, L. H. **Serotonin and the regulation of mammalian energy balance.** *Frontiers in neuroscience*, v. 7, n. 36, doi: <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00036>, 2013.

DU BOIS, T. M. et Al. **Fatty acids differentially affect serotonin receptor and transporter binding in the rat brain.** *Neuroscience*, v. 139, n. 4, p. 1397-1403, 2006.

ENTRINGER, S.; BUSS, C.; WADHWA, P. D. **Prenatal stress, development, health and disease risk: a psychobiological perspective.** Curt Richter Award Winner. *Psychoneuroendocrinology*, v. 62, p. 366-375, 2015.

FLEMING, T. P. et al. **Origins of lifetime health around the time of conception: causes and consequences.** *The Lancet*, v. 391, n. 10132, p. 1842–1852, 2018.

FREITAS, M. C. **Efeitos do consumo de dieta de cafeteria durante a gestação e lactação sobre o crescimento somático e parâmetros metabólicos em ratos**

neonatos. Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde), Universidade Federal da Bahia, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Tackling obesity and diet-related chronic diseases.** Acesso em: <<https://www.fao.org/3/ca3835en/CA3835EN.pdf>>, 2019.

GEORGE, G. et Al. **The impact of exposure to cafeteria diet during pregnancy or lactation on offspring growth and adiposity before weaning.** Nature, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50448-x>, 2019.

GOGTAY, N. et Al. **Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, v. 101, n. 21, p. 8174-8179, 2004.

GRIEBSCH, N. et A. **Obesity-related states of central serotonin transporter (SERT) and noradrenaline transporter (NAT) availability.** The Journal of Nuclear Medicine, v. 62, n. 1, 2021.

GUEDINE, C. R. C. **Dieta de cafeteria durante a lactação e/ou pós-lactação: alterações fisiológicas e comportamentais na prole de ratos Wistar.** Dissertação de doutorado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

HALEEM, D. J.; MAHMOOD, K. **Brain serotonin in high-fat diet-induced weight gain, anxiety and spatial memory in rats.** Nutritional Neuroscience, v. 24, n. 3, p. 226-235, 2019.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. **The thrifty phenotype hypothesis.** British medical bulletin, v. 60, n. 1, p. 5–20, 2001.

HE, J.; CREWS, F. T. **Increased MCP-1 and microglia in various regions of the human alcoholic brain.** Experimental Neurology, v. 210, n. 2, p. 349-358, 2007.

HERMSDORFF, H. H. M.; VIEIRA, M. A. DE Q. M.; MONTEIRO, J. B. R. **Leptina e sua influência na patofisiologia de distúrbios alimentares.** Revista de Nutrição, v. 19, n. 3, p. 369–379, 2006.

HERSEY, M. et Al. **High-fat diet induces neuroinflammation and reduces the serotonergic response to escitalopram in the hippocampus of obese rats.** Brain, behavior and immunity, v.96, p. 63-72, 2021.

JIMÉNEZ, E. G. Obesity: **Etiologic and pathophysiological analysis**. *Endocrinología y Nutrición* (English edition), Universidade de Granada, Espanha, v. 60, n. 1, doi: 10.1016/j.endoen.2013.01.005, 2013.

KASSAB, H. S. **Leptin as a Biomarker in Nutrition and Metabolism**. *Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications*, p. 977–992, 2022.

KIM, M. et Al. **Impact of High Fat Diet-induced Obesity on the Plasma Levels of Monoamine Neurotransmitters in C57BL/6 Mice**. *Biomol. Ther.*, v. 21, n. 6, p. 476-480, 2013.

KIM, S. R.; KIM, H. N.; SANG-WOOK, S. **Associations Between Mental Health, Quality of Life, and Obesity/Metabolic Risk Phenotypes**. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, v. 18, n. 7, p. 347-352, 2020.

KOOPMAN, K. E. et Al. **Diet-induced changes in the Lean Brain: Hypercaloric high-fat-high-sugar snacking decreases serotonin transporters in the human hypothalamic region**. *Mol Metab*, v. 2, n. 4, p. 417-422, 2013.

LALANZA, J. F.; SNOEREN, E. M. S. **The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior**. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 122, p. 92-119, 2021.

LAU, E. Y. et al. **Maternal Weight Gain in Pregnancy and Risk of Obesity among Offspring: A Systematic Review**. *Journal of Obesity*, v. 2014, p. 1–16, 2014.

LAU, T.; SCHLOSS, P. **Differential regulation of serotonin transporter cell surface expression**. *Advanced Review, WIREs Membr. Transp. Signal*, v; 1, p. 259–268. doi: 10.1002/wmts.10, 2012.

LAWLOR, D. A. et Al. **Epidemiologic Evidence for the Fetal Overnutrition Hypothesis: Findings from the Mater-University Study of Pregnancy and Its Outcomes**. *American Journal of Epidemiology*, v. 165, n. 4, p. 418-424. 2007.

LEIGH, S. J.; MORRIS, M. J. **The role of reward circuitry and food addiction in the obesity epidemic: An update**. *Biological Psychology*, v. 131, p. 31-42, 2023.

LYONS, K. E. et Al. **Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health**. *Nutrients*, v. 12, n. 4, 2020.

MALABOU, C. **“What should we do with our brain?”**. Perspectives in Continental Philosophy, Fordham University Press, Nova Iorque, 2008.

MAMELI, C.; MAZZANTINI, S.; ZUCCOTTI, G. **Nutrition in the First 1000 Days: The Origin of Childhood Obesity**. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 13, n. 9, p. 838, 2016.

MARSHALL, A. M.; HERNANDEZ, L. L.; HORSEMAN, N. D. **Serotonin and Serotonin Transport in the Regulation of Lactation**. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, v. 19, n. 1, p. 139–146, 18 out. 2013.

MARTINS, L. B. et al. **Pathways linking obesity to neuropsychiatric disorders**. Nutrition, v. 66, p. 16-21, 2019.

MARTIRE, S. I. et al. **Extended exposure to a palatable cafeteria diet alters gene expression in brain regions implicated in reward, and withdrawal from this diet alters gene expression in brain regions associated with stress**. Behavioral Brain Research, v. 265, p. 132-141, 2014.

MCARDLE, H. J. et Al. **Fetal programming: causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats -- a review**. Placenta, S56-S60, 2006.

MENESES, A. et Al. **Serotonin transporter and memory**. Neuropharmacology v. 61, p. 355–363, doi: 10. 1016/j.neuropharm.2011.01.018, 2011.

MORTON, G. J. et Al. **Central nervous system control of food intake and body weight**. Nature, v. 443, n. 7109, p. 289-295, 2006.

MORETON, E. et Al. **Impact of early exposure to a cafeteria diet on prefrontal cortex monoamines and novel object recognition in adolescent rats**. Behavioral Brain Research, v. 363, n. 2, p. 191-198, 2019.

NECTOW, A. R. et al. **Identification of a Brainstem Circuit Controlling Feeding**. Cell, v. 170, n. 3, p. 429-442.e11, jul. 2017.

NI, W.; WATTS, S. W. **5-hydroxytryptamine in the cardiovascular system: focus on the serotonin transporter (SERT)**. Clin Exp Pharmacol Physiol, v. 33, n. 7, p. 575-583, 2006.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). **Obesidade entre crianças e adolescentes aumentou dez vezes em quatro décadas, revela novo estudo do Imperial College London e da OMS.** Acesso em: <Obesidade entre crianças e adolescentes aumentou dez vezes em quatro décadas, revela novo estudo do Imperial College London e da OMS - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde (paho.org)>, 2017.

ONG, Z. Y.; MULHAUSLER, B. S. **Maternal "junk-food" feeding of rat dams alters food choices and development of the mesolimbic reward pathway in the offspring.** FASEB Journal, v. 25, n. 7, p. 2167-2179, 2011.

OSTÁDALOVÁ, I.; BABICKÝ, A. **Periodization of the early postnatal development in the rat with particular attention to the weaning period.** Physiological Research, v. 61, S1-S7, 2012.

PAXINOS, G.; CHARLES, W. **The rat brain in stereotaxic coordinates.** Elsevier Inc., 451 p., 2007.

PERGN, W.; OKEN, E.; DABELEA, D. **Developmental overnutrition and obesity and type 2 diabetes in offspring.** Diabetologia, v. 62, n. 10, p. 1779–1788. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4914-1>, 2019.

PERIĆ, M. et al. **Serotonin system in the human placenta – the knowns and unknowns.** Frontiers in Endocrinology, v. 13, 2022.

PEZZATO, F. **Efeitos comportamentais da lesão eletrolítica da região do núcleo mediano da rafe como modelo experimental de mania no rato e no camundongo.** Tese (Doutorado em Psicologia). UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. INSTITUTO DE PSICOLOGIA, 2014.

PICONE, O. et Al. **Hyperlipidic hypercholesterolemic diet in prepubertal rabbits affects gene expression in the embryo, restricts fetal growth and increases offspring susceptibility to obesity.** Theriogenology, v. 74, n. 2, p. 287-289, 2011.

PINHEIRO, I. L. **Estudo do sistema serotoninérgico no hipotálamo e tronco encefálico de animais jovens submetidos a fluoxetina neonatal.** Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Recife, 2017.

POMAR, C. A. et Al. **Maternal consumption of a cafeteria diet during lactation in rats leads the offspring to a thin-outside-fat-inside phenotype.** International Journal of Obesity, v. 41, n. 8, p. 1279-1287, 2017.

POMAR, C. A.; SÁNCHEZ, J.; PALOU, A. **The Intake of a Cafeteria Diet in Nursing Rats Alters the Breast Milk Concentration of Proteins Important for the Development of Offspring.** Nutrients, v. 12, n. 8, p. 2470, 17 ago. 2020.

POSTON, L. **Maternal obesity, gestational weight gain and diet as determinants of offspring long term health.** Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 26, n. 5, p. 627–639, out. 2012.

RAMOS, D. C. **Estudo do papel dos núcleos da rafe nos comportamentos tipo-depressivos e tipo-ansiosos e na memória de curta duração no modelo animal da doença de Parkinson induzida por proteína.** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), 85 f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

RIBEIRO, A. M. et Al. **Baixo peso ao nascer e obesidade: associação causal ou casual?** Revista Paulista de Pediatria, v. 33, n. 3, p. 340-348, 2015.

RIVERA, H. M. et al. **Maternal high-fat diet and obesity impact palatable food intake and dopamine signaling in nonhuman primate offspring.** Obesity, v. 23, n. 11, p. 2157–2164, 2015.

ROMERO-REYES, J. et Al. **Role of serotonin in vertebrate embryo development.** Reproductive Biology, v. 21, n. 1, 2021.

RUDNICK, G.; SANDTNER W. **Serotonin transport in the 21st century.** J Gen Physiol., v. 151, n. 11, p. 1248-1264, doi: 10.1085/jgp.201812066. 2019.

SÁNCHEZ-BLANCO, C. et al. **Influence of cafeteria diet and fish oil in pregnancy and lactation on pups' body weight and fatty acid profiles in rats.** European Journal of Nutrition, v. 55, n. 4, p. 1741–1753, 2015.

SCHACK-NIELSEN, L. et Al. **Gestational weight gain in relation to offspring body mass index and obesity from infancy through adulthood.** International Journal of Obesity v. 34, n. 1, p. 67-74, 2010.

SCHNEEBERGER, M. et al. **Pharmacological targeting of glutamatergic neurons within the brainstem for weight reduction.** *Nature Metabolism*, v. 4, n. 11, p. 1495–1513, 2022.

SGHENDO, L.; MIFSUD, J. **Understanding the molecular pharmacology of the serotonergic system: using fluoxetine as a model.** *The Journal of pharmacy and pharmacology*, v. 64, n. 3, p. 317–325, 2012.

SHELTON, R. C.; MILLER, A. H. **Eating ourselves to death (and despair): The contribution of adiposity and inflammation to depression.** *Progress in Neurobiology*, v. 94, n. 4, p. 275-299, 2010.

SILVA, R. K. B et Al. **Effects of maternal high-fat diet on the hypothalamic components related to food intake and energy expenditure in mice offspring.** *Life Sciences*, v. 307, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120880>, 2022.

SIMPSON, K. A.; MARTIN, N. M.; R. BLOOM, S. **Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications.** *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 53, n. 2, p. 120–128, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA. **SBCBM divulga dados sobre cirurgia bariátrica no Dia Nacional de Combate à Obesidade.**

Acesso em: <https://sbcbm.org.br/sbcbm-divulga-dados-sobre-cirurgia-bariatrica-no-dia-nacional-de-combate-obesidade/#:~:text=Obesidade%20cresce%20em%20todos%20os,corresponde%20a%2033.38%25%20da%20popula%C3%A7%C3%A3o>, 2023.

SULLIVAN, E. L. et al. **Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood.** *Neuroendocrinology*, 2010, v. 93, n. 1, p. 1-8, 2010.

SULLIVAN, E. L. et al. **The impact of maternal high-fat diet consumption on neural development and behavior of offspring.** *International Journal of Obesity*, v.2, n.2, p.7-13, 2012.

TAJADDINI, A. et Al. **Male Rat Offspring Are More Impacted by Maternal Obesity Induced by Cafeteria Diet than Females-Additive Effect of Postweaning Diet.** *Int. J. Mol. Sci.*, v. 23, n. 3, 2022.

TOBI, E. W. et al. **DNA methylation signatures link prenatal famine exposure to growth and metabolism.** Nature Communications, v. 5, n. 1, p. 5592, 2014.

ULLAH, R. et Al. **Mechanistic insight into high-fat diet-induced metabolic inflammation in the arcuate nucleus of the hypothalamus.** Biomedicine and Pharmacotherapy, v. 142. 2021.

URBONAITE, G. et al. **The impact of maternal high-fat diet on offspring neurodevelopment.** Frontiers in Neuroscience, v. 16, doi: 10.3389/fnins.2022.909762, 2022.

VAN GALEN, K. A. et Al. **The response to prolonged fasting in hypothalamic serotonin transporter availability is blunted in obesity.** Metabolism, doi: 10.1016/j.metabol.2021.154839. Epub 2021 Jul 29. PMID: 34331964; PMCID: PMC8994212, 2022.

VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO (VIGITEL). **Estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019.** Ministério da Saúde, Brasília, 2023.

VOHRA, M. S. et al. **AgRP/NPY and POMC neurons in the arcuate nucleus and their potential role in treatment of obesity.** European Journal of Pharmacology, v. 915, p. 174611, 2022.

VUCETIC, Z.; REYES, T. M. **Central dopaminergic circuitry controlling food intake and reward: implications for the regulation of obesity.** WIREs Mechanisms of Disease, v. 2, n. 5, p. 577-593, 2010.

VENIAMINOVA, E. et Al. **Metabolic, Molecular, and Behavioral Effects of Western Diet in Serotonin Transporter-Deficient Mice: Rescue by Heterozygosity?** Frontier Neuroscience, v. 14, n. 24, doi: 10.3389/fnins.2020.00024. PMID: 32132889; PMCID: PMC7041415, 2020.

WHARTON, S. et al. **Obesity in adults: a clinical guideline.** Canadian Medical Association Journal, v. 192, n. 31, p. 875-891, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight**. Acesso em: <Obesity and overweight (who.int)>, 2021.

XIAO, X. et al. **Orexin receptors 1 and 2 in serotonergic neurons differentially regulate peripheral glucose metabolism in obesity**. Nature Communications, v. 12, n. 1, 2021.

YAÑES, C.; VARGAS, G. G.; PÉREZ-MORALEZ, R. **Monogenic, Polygenic and Multifactorial Obesity in Children: Genetic and Environmental Factors**. Austin Journal of Nutrition and Metabolism, v. 4, n. 3, p. 1-12, 2017.

ZEMDEGS, J. et al. **High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice**. British Journal of Pharmacology, v. 173, n. 13, p. 2095-2110, 2016.

ZHA et Al. **Serotonin transporter deficiency drives estrogen-dependent obesity and glucose intolerance**. Scientific Reports, v. 7, n. 1, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01291-5>, 2017.

10. ANEXOS

10.1 Comprovante de aprovação do projeto de pesquisa no Comitê de ética no Uso de Animais (CEUA/UFPE).



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-620 / Recife - PE - Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 05 de abril de 2023

Ofício nº 29/23

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Isabeli Lins Pinheiro**

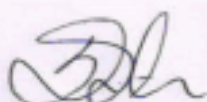
Centro Acadêmico de Vitória

Processo nº0083/2021

Certificamos que a proposta intitulada **"Indução de obesidade materna com dieta de cafeteria na lactação: repercussões da intervenção com ambiente enriquecido precoce sobre a ingestão alimentar, a densidade neuronal da serotonina e do transportador de serotonina em ratos jovens"**. Registrado com o nº 0083/2021 sob a responsabilidade da **Prof: Isabeli Lins Pinheiro** 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 28/02/2023

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	21/12/2021 a 31/12/2024
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	110 animais
Peso/Idade	220 - 260 g / 90 e 120 dias
Sexo	Machos (90) e fêmeas (20)
Origem: Biotério de Criação	Biotério/Colônia de criação do Departamento de Nutrição/UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de experimentação animal do Departamento de Anatomia da UFPE

Atenciosamente



Prof. Sebastião R. F. Silva
 -Presidente CEUAUFPE
 SIAPE 2345691