



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

THYAGO DE OLIVEIRA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA MANIPULAÇÃO SEROTONINÉRGICA NAS
ÁREAS CENTRAIS AUTONÔMICAS DE RATAS SUPERNUTRIDAS DURANTE
A LACTAÇÃO**

Vitória de Santo Antão

2024

THYAGO DE OLIVEIRA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA MANIPULAÇÃO SEROTONINÉRGICA NAS
ÁREAS CENTRAIS AUTONÔMICAS DE RATAS SUPERNUTRIDAS
DURANTE A LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre(a) em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, na Área de concentração: Bases Experimentais e Clínicas da Plasticidade Fenotípica.

Orientadora: Profa. Dra Claudia Jacques Lagranha

Coorientadores: Prof. Dr. Samarjit Das

Vitória de Santo Antão
2024

THYAGO DE OLIVEIRA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA MANIPULAÇÃO SEROTONINÉRGICA NAS
ÁREAS CENTRAIS AUTONÔMICAS DE RATAS SUPERNUTRIDAS DURANTE A
LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre(a) em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, na Área de concentração: Bases Experimentais e Clínicas da Plasticidade Fenotípica.

Aprovado em: 20/ 12/ 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Claudia Jacques Lagranha (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Mariana Pinheiro Fernandes (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Thaynan Raquel dos Prazeres Oliveira (Examinador Externo)

Prof^a. Dr^a. Severina Cássia de Andrade Silva (Examinador Externo)

. Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Rodrigues, Thyago de Oliveira.

Avaliação dos efeitos da manipulação serotoninérgica nas áreas centrais autonômicas de ratas supernutridas durante a lactação / Thyago de Oliveira Rodrigues. - Vitória de Santo Antão - PE, 2025.

87f.: il.

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

Orientação: Claudia Jacques Lagranha.

Inclui referências e anexos.

1. Estresse oxidativo; 2. Fluoxetina; 3. Sistema nervoso;
4. Supernutrição. I. Lagranha, Claudia Jacques. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

À minha mãe, cuja força silenciosa floresceu entre sol ardente e chuva persistente. Foi sob o abrigo do seu amor incansável que aprendi a transformar cansaço em coragem e passos em propósito.

AGRADECIMENTOS

Esta jornada acadêmica foi muito mais do que um desafio intelectual; representou um profundo processo de transformação pessoal. Ao longo deste percurso, cresci não apenas como pesquisador, mas também como ser humano.

Agradeço, primeiramente, a Deus, cuja presença constante me deu força, paciência e direção em cada etapa dessa caminhada.

À minha mãe, que sempre sonhou com um futuro melhor para mim e se dedicou incansavelmente para tornar minha vida mais fácil, direciono meu eterno agradecimento. Seu amor incondicional foi o alicerce que me permitiu chegar até aqui.

Aos meus irmãos, Thaís, Tathiano e Thayná, e aos meus sobrinhos, Davi, Victor, Joel e Henrique, pela alegria e apoio incondicional. Cada um de vocês trouxe leveza e motivação nos momentos mais desafiadores.

Aos meus amigos Osmar e Dani, que me acompanharam em todas as fases deste projeto, meu profundo reconhecimento. O apoio de vocês, desde o início até a conclusão, foi fundamental. Agradeço também toda ajuda no biotério e na parte experimental, cuja contribuição tornou essa trajetória mais tranquila.

À minha irmã da vida, Deise, minha eterna companheira, expresso minha mais sincera gratidão. Por sua amizade, por compartilhar alegrias e dificuldades, por ser minha parceira no vôlei e nos momentos de desabafo. Todas as vezes que você acreditou em mim, dividiu minhas dores e me incentivou, sua presença foi essencial para superar os obstáculos que surgiram no caminho.

Aos meus amigos Diego, Débora, Filipe, Mirelly e Aniellen, que foram minha rede de apoio nos momentos mais difíceis. Cada palavra de incentivo e gesto de carinho me impulsionaram a continuar.

À Thaynan, Regis e Cássia, que foram meu porto seguro quando mais precisei de apoio, conversas e um simples abraço durante o mestrado. Nossa amizade, construída com respeito e compreensão, foi um verdadeiro presente divino.

Aos amigos que fiz no LABMEX, foi nesse lugar que encontrei grandes companheiros. A convivência com Aliffer, Bruno, Carlos, Cecília, Gizele, Guilherme, Jefferson, Jonata, Letícia, Nilson, Ramon, Tamara, Vanessa, Wellington e Will transformou o ambiente de trabalho em um espaço de aprendizado e colaboração.

À professora Mariana Pinheiro, Fernando, Maysa e Fernanda, direciono meu respeito e admiração. Essa família sempre tão receptiva, educada e acolhedora fez com que eu me sentisse em casa, especialmente nas confraternizações e momentos de descontração.

À minha orientadora, Claudia Lagranha, sou imensamente grato por toda a sabedoria compartilhada. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho, e seu compromisso e apoio foram decisivos para minha formação.

Por fim, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos às agências de fomento, em especial à FACEPE, pelo indispensável apoio financeiro e institucional que viabilizou a realização deste projeto, permitindo minha dedicação integral à pesquisa.

"Não é a mais forte das espécies que sobrevive,
nem a mais inteligente, mas a que melhor se
adapta às mudanças." — Charles Darwi

RESUMO

A obesidade, reconhecida pela Organização Mundial da Saúde como uma epidemia global, está associada a uma complexa interação de fatores genéticos, ambientais e comportamentais. Este estudo investigou os efeitos da supernutrição neonatal, em um modelo experimental que mimetiza a obesidade precoce, e avaliou o potencial terapêutico da modulação serotoninérgica utilizando fluoxetina (FX). Para tanto, foram utilizadas ratas Wistar, cujas ninhadas foram padronizadas em Normonutridas (9 filhotes por ninhada) e Supernutridas (3 filhotes por ninhada) no terceiro dia pós-natal. Os grupos experimentais incluíram a prole fêmea tratadas com salina (SS e NS) ou FX (SF e NF) do 3º ao 21º dia de vida. Os resultados demonstraram que a supernutrição neonatal (grupo SS) levou a um aumento significativo do peso corporal e do índice de Lee aos 30 dias de vida, indicativo de obesidade. Esse grupo também apresentou maior consumo de alimentos palatáveis e labina, sugerindo alterações no comportamento alimentar. Além disso, observamos um perfil metabólico desfavorável, com elevação dos níveis de glicose e colesterol total. A intervenção com FX no grupo SF reverteu parcialmente esses efeitos, normalizando o índice de Lee e melhorando os parâmetros metabólicos. A nível molecular, a supernutrição provocou redução do conteúdo de NADH no hipotálamo e diminuição da atividade da enzima citrato sintase, indicando comprometimento do metabolismo energético. Essas alterações foram acompanhadas por um aumento do estresse oxidativo, evidenciado pela elevação das espécies reativas de oxigênio (EROS), oxidação de proteínas e malondialdeído (MDA). Notavelmente, o tratamento com FX atenuou significativamente esses danos, restaurando os níveis de NADH, aumentando a atividade de enzimas antioxidantes (como catalase e SOD) e elevando os níveis de glutathiona reduzida (GSH). No tronco encefálico, os efeitos protetores da FX foram ainda mais pronunciados, com aumento da atividade da enzima citrato sintase e redução dos marcadores de estresse oxidativo. Além disso, a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) foi significativamente maior nos animais tratados com FX em ambos os tecidos analisados, sugerindo um possível mecanismo neuroprotetor. Em conclusão, este estudo demonstrou que a supernutrição neonatal induz alterações metabólicas, oxidativas e comportamentais semelhantes às observadas na obesidade. A modulação serotoninérgica com fluoxetina mostrou-se eficaz em atenuar esses efeitos nas ratas supernutridas, melhorando o perfil metabólico, reduzindo o estresse oxidativo e promovendo a neuroproteção via aumento do BDNF.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Fluoxetina; Hipotálamo; Supernutrição; Tronco encefálico.

ABSTRACT

Obesity, recognized by the World Health Organization as a global epidemic, is associated with a complex interplay of genetic, environmental, and behavioral factors. This study investigated the effects of neonatal overnutrition, using an experimental model that mimics early-life obesity, and evaluated the therapeutic potential of serotonergic modulation with fluoxetine (FX). Female Wistar rat pups were used, with litters standardized to Normonourished (9 pups per litter) or Overnourished (3 pups per litter) on postnatal day 3. Experimental groups included female offspring treated with saline (OS and NS) or FX (OF and NF) from days 3 to 21 of life. Results demonstrated that neonatal overnutrition (OS group) led to a significant increase in body weight and Lee index at 30 days of age, indicative of obesity. This group also exhibited higher consumption of palatable food and lab chow, suggesting alterations in feeding behavior. Furthermore, we observed an unfavorable metabolic profile, characterized by elevated glucose and total cholesterol levels. FX intervention in the OF group partially reversed these effects, normalizing the Lee index and improving metabolic parameters. At the molecular level, overnutrition reduced hypothalamic NADH content and decreased citrate synthase activity, indicating impaired energy metabolism. These changes were accompanied by increased oxidative stress, evidenced by elevated reactive oxygen species (ROS), protein carbonylation, and malondialdehyde (MDA) levels. Notably, FX treatment significantly attenuated these damages, restoring NADH levels, enhancing antioxidant enzyme activities (including catalase and SOD), and increasing reduced glutathione (GSH) levels. In the brainstem, the protective effects of FX were even more pronounced, with increased citrate synthase activity and reduced oxidative stress markers. Additionally, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression was significantly higher in FX-treated animals in both tissues analyzed, suggesting a potential neuroprotective mechanism. In conclusion, this study demonstrated that neonatal overnutrition induces metabolic, oxidative, and behavioral alterations similar to those observed in obesity. Serotonergic modulation with fluoxetine proved effective in attenuating these effects in overnourished rats, improving metabolic profile, reducing oxidative stress, and promoting neuroprotection via increased BDNF expression.

Keywords: Brainstem; Fluoxetine; Hypothalamus; Overnutrition; Oxidative stress.

Figura 1	Insultos nutricionais	16
Figura 2	Consequências da supernutrição no desenvolvimento	18
Figura 3	Redução de ninhada	19
Figura 4	Localização do tronco encefálico	21
Figura 5	Divisão neuroanatômica do tronco encefálico	22
Figura 6	Localização neuroanatômica do hipotálamo	23
Figura 7	Neuroanatomia do hipotálamo	24
Figura 8	Anatomia do cérebro de ratos	26
Figura 9	Regulação da saciedade pela serotonina	27
Figura 10	Regulação de funções pela serotonina	28
Figura 11	Mecanismo de ação da fluoxetina	30
Figura 12	Respiração celular	31
Figura 13	Disfunção mitocondrial	33
Figura 14	Dinâmica mitocondrial	34
Figura 15	Enzimas antioxidantes	37
Figura 16	Classificação dos sistemas antioxidantes	38
Figura 17	Dismorfismo sexual	40
Figura 18	Desenho experimental	45
Figura 19	Comportamento alimentar	53
Figura 20	Função mitocondrial em ambos os tecidos	56
Figura 21	Biomarcadores em ambos os tecidos	58
Figura 22	Sistema antioxidante enzimático em ambos os tecidos	60
Figura 23	Sistema não-enzimático em ambos os tecidos	62
Figura 24	Expressão gênica em ambos os tecidos	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sequência de <i>primers</i> utilizado para os experimentos da dissertação	50
Tabela 2	Medidas murinométricas e perfil bioquímico em ratas fêmeas aos 30 dias de vida	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

. OH: Radical hidroxila
5-HT: 5-Hidroxitriptamina
5-HT_{2C}: Receptor de serotonina 2C
AgRP: proteína relacionada agouti
AIF: Fator indutor de apoptose
ARH: Núcleo arqueado
ATP: Adenosina trifosfato
B2M: Beta2-microglobulina
BAD: Agonista de morte celular associado a Bcl-2
BAK: Assassino associado a Bcl-2
BAX: Proteína X associada a Bcl-2
BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BIM: Mediador de morte celular interagindo com BCL-2
BSA: Albumina do Soro Bovino
CART: Transcrição regulamentada de cocaína e anfetamina
CAT: Catalase
CDNB: 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
CO₂: Dióxido de carbono
COVID: Doença do Coronavírus
CT: Ciclo limiar
DEPC: DietilPirocarbonato
DNA: Ácido desoxirribonucleico
DNM1L: Proteína semelhante à dinamina-1
DNPH: 2,4-Dinitrofenilhidrazina
DNP-SG: Dinitro fenil S glutationa
DPN: Dia pós-natal
DRP1: Dinamina-1
DTNB: 5,5'-ditiobis-ácido 2-nitrobenzóico
E1: Estradiol
E2: Estrona
E3: Estriol
EDTA: Ácido Etilenodiamino tetra-ácido
EGTA: Ácido Etileno glicol-bis(2-aminoetil) -N,N,N',N'-tetra-acético
ERNS: Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs: Espécies Reativas de Oxigênio
ER- α : Receptor para estrogênio alfa
ER- β : Receptor para estrogênio beta
FIS1: Proteína de fissão mitocondrial 1
Fx: Fluoxetina
GPX: Glutaciona peroxidase
GR: Glutaciona redutase
GSH: Glutaciona reduzida
GSSG: Glutaciona oxidada
GTP: Trifosfato de guanosina
H₂DCFDA: 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate
H₂O: Água
H₂O₂: Peróxido de hidrogênio
HCL: Ácido clorídrico

HDL: Lipoproteína de alta densidade
HEPES: Hidroxietyl piperazina ácido etanesulfônico
IL-1: Interleucina 1
IL-10: Interleucina 10
IL-6: Interleucina 6
KCL: Cloreto de Potássio
KH₂PO₄: Fosfato de Potássio Monobásico
MDA: Malondialdeído
MFN1: Mitofusina 1
MFN2: Mitofusina 2
mRNA: RNA mensageiro
mtDNA: DNA mitocondrial
NAD⁺: Dinucleótido de nicotinamida e adenina (Oxidada)
NADH: Dinucleótido de nicotinamida e adenina (Reduzida)
NaOH: Hidróxido de sódio
NF: Normonutridos fluoxetina
NM: Nanômetro
NP40: Octil-beta-Glucosídeo
NPY: N-PropylTyrosine
NS: Normonutridos salina
O₂: Oxigênio molecular
O₂^{•-}: Ânion superóxido
OMS: Organização Mundial de Saúde
OPA1: Atrofia Óptica 1
OPT: O-ftaldialdeído
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase
pH: Potencial Hidrogeniônico
PMSF: Fluoreto de Fenilmetanossulfonil
PND3: Terceiro dia pós-natal
POMC: Pró-opiomelanocortina
PVN: Núcleo paraventricular
REDOX: Reação de oxidação–redução
RNA: Ácido ribonucleico
RPM: Rotação por minuto
RT-PCR: Reação em Cadeia da Polimerase por Tempo Real
SERTs: Transportadores de Serotonina
SF: Supernutridos fluoxetina
SNC: Sistema Nervoso Central
SOD: Superóxido dismutase
SS: Supernutridos salina
SSRI: Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina
TAG: Transtorno de ansiedade generalizada
TBA: Ácido Tiobarbitúrico
TCA: Ácido Tricloroacético
TH: Tirosina hidroxilase
TNF-alfa: Fator de necrose tumoral alfa
TOC: Transtorno Obsessivo-Compulsivo
TPH2: Triptofano hidroxilase 2
μl: microlitro
VMN: Núcleo ventromedial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 <i>Nutrição materna e repercussões na saúde da prole em desenvolvimento</i>	15
2.2 <i>Modelo de redução de ninhada</i>	18
2.3 <i>Neurodesenvolvimento do Tronco Encefálico e Hipotálamo</i>	20
2.4 <i>Inibidores seletivos da recaptção de serotonina (SSRIs)</i>	29
2.5 <i>Função mitocondrial e estresse oxidativo</i>	31
2.6 <i>Dismorfismo sexual</i>	39
3. HIPÓTESE	42
4. OBJETIVOS	40
4.1 <i>Objetivo geral</i>	43
4.2 <i>Objetivos específicos</i>	43
5. MATERIAIS E MÉTODOS	44
5.1 <i>Animais e tratamento farmacológico</i>	44
5.2 <i>Avaliação do peso corporal</i>	45
5.3 <i>Índice de Lee</i>	45
5.4 <i>Comportamento alimentar</i>	46
5.5 <i>Avaliação bioquímica no sangue</i>	46
5.6 <i>Preparação das amostras para análises de estresse oxidativo</i>	46
5.7 <i>Dosagem de proteína</i>	46
5.8 <i>Razão NAD/NADH</i>	47
5.9 <i>Atividade da Citrato sintase</i>	47
5.10 <i>Quantificação da produção de espécies reativas de oxigênio</i>	47
5.11 <i>Avaliação dos níveis de Malondialdeído</i>	47
5.12 <i>Avaliação do conteúdo de Carbonilas</i>	48
5.13 <i>Superóxido dismutase (SOD)</i>	48
5.14 <i>Catalase (CAT)</i>	48
5.15 <i>Glutathione-S-transferase (GST)</i>	49
5.16 <i>Glutathione reduzida (GSH)</i>	49
5.17 <i>Glutathione oxidada (GSSG)</i>	49
5.18 <i>Níveis de tíos totais</i>	49
5.19 <i>Expressão do mRNA e Avaliação por RT-PCR</i>	50
5.20 <i>Análise estatística</i>	50
6. RESULTADOS	51
7. DISCUSSÃO	64
8. CONCLUSÃO	73

1.INTRODUÇÃO

A gestação, lactação e primeiros anos de vida constituem períodos críticos para o desenvolvimento humano, marcados por intensa atividade metabólica e acelerado crescimento celular. Durante esta fase crucial, o ambiente nutricional exerce profunda influência na regulação da expressão gênica através de mecanismos epigenéticos como metilação do DNA e modificações de histonas. Estas alterações podem determinar padrões duradouros de expressão gênica, afetando o desenvolvimento e funcionamento de diversos órgãos e sistemas, particularmente o sistema nervoso central.

O desenvolvimento cerebral é um processo complexo que se inicia na vida intrauterina e persiste até a idade adulta, envolvendo estágios sequenciais de crescimento, maturação e organização estrutural e funcional. Este processo é modulado tanto por fatores genéticos quanto ambientais, sendo a plasticidade fenotípica - capacidade do cérebro de se adaptar a estímulos externos - um aspecto fundamental para o desenvolvimento neural saudável. Tal plasticidade permite a formação e refinamento de conexões neuronais, adaptação a novos desafios e recuperação após lesões.

Neste contexto, a supernutrição durante períodos críticos do desenvolvimento pode levar ao sobrepeso e obesidade, desencadeando alterações metabólicas e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Este desequilíbrio oxidativo pode comprometer diversas funções cerebrais, incluindo cognição e controle motor. Apesar da relevância deste fenômeno, a maioria dos estudos experimentais tem focado em modelos com animais machos, negligenciando importantes diferenças sexuais na obesidade. Evidências epidemiológicas demonstram variações na prevalência de obesidade entre homens e mulheres em diferentes faixas etárias, influenciadas por fatores hormonais, comportamentais e sociais.

Esta lacuna é particularmente preocupante considerando que as diferenças sexuais na obesidade afetam diretamente regiões cerebrais críticas como hipotálamo e tronco encefálico, áreas fundamentais para o controle alimentar e metabólico. A produção excessiva de EROs nestas regiões pode levar a estresse oxidativo, resultando em disfunções do sistema nervoso autônomo, alterações neuroendócrinas e danos a populações neuronais específicas, incluindo neurônios serotoninérgicos.

Estudos anteriores de nosso grupo demonstraram que a fluoxetina (FX) em ratos

machos supernutridos melhorou o balanço oxidativo e aumentou a expressão de genes relacionados à biogênese mitocondrial e plasticidade neural em regiões como hipotálamo e tronco encefálico (Braz *et al.*, 2020; Santana *et al.*, 2023; Santos-Júnior *et al.*, 2024). No entanto, permanecem escassos os dados sobre os efeitos da supernutrição e da modulação serotoninérgica em ratas fêmeas durante períodos críticos do desenvolvimento.

Diante desta lacuna, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos da supernutrição durante a lactação em ratas tratadas com FX ou solução veículo, avaliando parâmetros corporais, comportamento alimentar, perfil bioquímico, balanço oxidativo e níveis do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) em regiões cerebrais chave, como o hipotálamo e tronco encefálico.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Nutrição materna e as repercussões na saúde da prole em desenvolvimento

A teoria de Barker, também conhecida como teoria desenvolvimentista da saúde e da doença juntamente com a hipótese do fenótipo poupador, propõe que carências ou excessos nutricionais durante o período intrauterino e os primeiros anos de vida tem um impacto significativo no desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta, como por exemplo, diabetes, hipertensão e obesidade (Arima; Fukuoka 2020). Essa teoria ressalta a importância da nutrição e do ambiente durante esses estágios críticos, sugerindo que fatores como a desnutrição, supernutrição ou exposição a toxinas podem programar o organismo para um maior risco de doenças. Essa programação pode ocorrer por meio de alterações epigenéticas, como alterações na cromatina, modificações de histonas e metilação no DNA e que, conseqüentemente podem moldar a fisiologia do indivíduo ao longo da vida (Barker 1990).

Além disso, essa teoria destaca a capacidade do organismo de se adaptar a condições iniciais. Por exemplo, um feto exposto à desnutrição intrauterina ou até mesmo à supernutrição pode desenvolver mecanismos adaptativos que o tornam mais eficiente na utilização de nutrientes, mas que também o deixam mais suscetível a certas doenças metabólicas no futuro (Cortés-Albornoz *et al.*, 2021). Essa plasticidade fenotípica, ou capacidade de se adaptar às condições iniciais, é uma característica central da teoria de Barker e destaca a importância de intervenções precoces e de um ambiente saudável durante os estágios iniciais da vida para prevenir doenças crônicas na idade adulta (Moreno-Fernandez *et al.*, 2020).

Desajustes nutricionais podem causar prejuízos aos sistemas em desenvolvimento devido à sua influência nos processos bioquímicos e estruturais, como alterações em rotas metabólicas, expressão de genes e proteínas fundamentais para processos de sinalizações e que podem influenciar o crescimento e funcionamento adequado dos sistemas corporais, especialmente do sistema nervoso central (SNC) (Munteanu; Schwartz, 2022). Por exemplo, a falta de nutrientes essenciais, tais como vitaminas, minerais, ácidos graxos ômega3 e ômega-6, pode comprometer a formação e a função das células cerebrais, afetando a neurogênese, a migração neuronal, a mielinização e a sinaptogênese (Alvarado-Cruz *et al.*, 2018). Esses processos são críticos para o desenvolvimento de circuitos neuronais adequados e para a comunicação eficiente entre os neurônios.

Em adição, desequilíbrios nutricionais podem afetar a neuroquímica cerebral,

incluindo a produção e a função de neurotransmissores. A falta de nutrientes, como triptofano, tirosina e colina podem prejudicar a síntese de neurotransmissores importantes, como a serotonina, dopamina e noradrenalina, que desempenham papéis cruciais no humor, cognição e aprendizado (Gasmi et al., 2022). Essas alterações neuroquímicas podem ter impactos duradouros no desenvolvimento cerebral, levando a déficits cognitivos, emocionais e comportamentais ao longo da vida (Hawkey et al., 2022).

Nesse contexto, a influência do excesso de nutricionais pode se estender aos processos epigenéticos, que regulam a expressão gênica sem alterar a sequência de DNA (Tiffon, 2018). Nutrientes como folato, metionina e colina, por exemplo, desempenham papéis importantes na metilação do DNA e na expressão gênica (Bekdash, 2021). Alterações nesses processos epigenéticos podem afetar a forma como os genes relacionados ao desenvolvimento são expressos, potencialmente contribuindo para disfunções metabólicas (**Figura 1**).



Fonte: O autor (2024).

Na janela de desenvolvimento cerebral, uma série de eventos biológicos

significativos ocorrem, abrangendo diferenciação e proliferação celular, mielinização, migração de neurônios e sinaptogênese (de Leeuw *et al.*, 2022). A literatura indica que esses processos são suscetíveis a modificações por meio de uma interação complexa, ainda não completamente esclarecida, entre fatores genéticos, biológicos e ambientais (Chiapperino; Paneni, 2022).

Ao longo desses períodos críticos do desenvolvimento humano, representados pelos primeiros 1.000 dias desde a concepção até os 2 anos de idade, o desequilíbrio nutricional assume papel relevante (Beluska-Turkan *et al.*, 2019), uma vez que durante esse período, o crescimento e desenvolvimento substanciais do cérebro, corpo e sistema biológico são notáveis. Levando em consideração essa alta plasticidade e proliferação celular, uma dieta não saudável nesse período pode desencadear inflamação cerebral e inibição na síntese de novos neurônios (Carneiro; Pellerin, 2021).

Tanto a subnutrição quanto a supernutrição nos primeiros anos de vida estão associadas a diversas alterações, entre elas modificações nos padrões de expressão proteica na sinalização cerebral da insulina, podendo resultar em características patológicas no cérebro, como disfunção sináptica, estresse oxidativo e risco aumentado de doenças neurodegenerativas (Scherer; Sakamoto; Buettner, 2021). Essa descompensação nutricional pode também culminar em comprometimento cognitivo e neuroinflamação (Zhang *et al.*, 2022).

O impacto de uma dieta em excesso durante o desenvolvimento cerebral pode levar à inadequada concentração de nutrientes essenciais, comprometendo funções cognitivas, a memória e aumentando o risco de distúrbios neurológicos. De forma semelhante, o excesso de nutrientes está associado ao aumento do peso corporal, risco de doenças metabólicas e neurológicas (Gorelick *et al.*, 2011) (**Figura 2**).

Figura 2 - Consequências de uma supernutrição durante o desenvolvimento

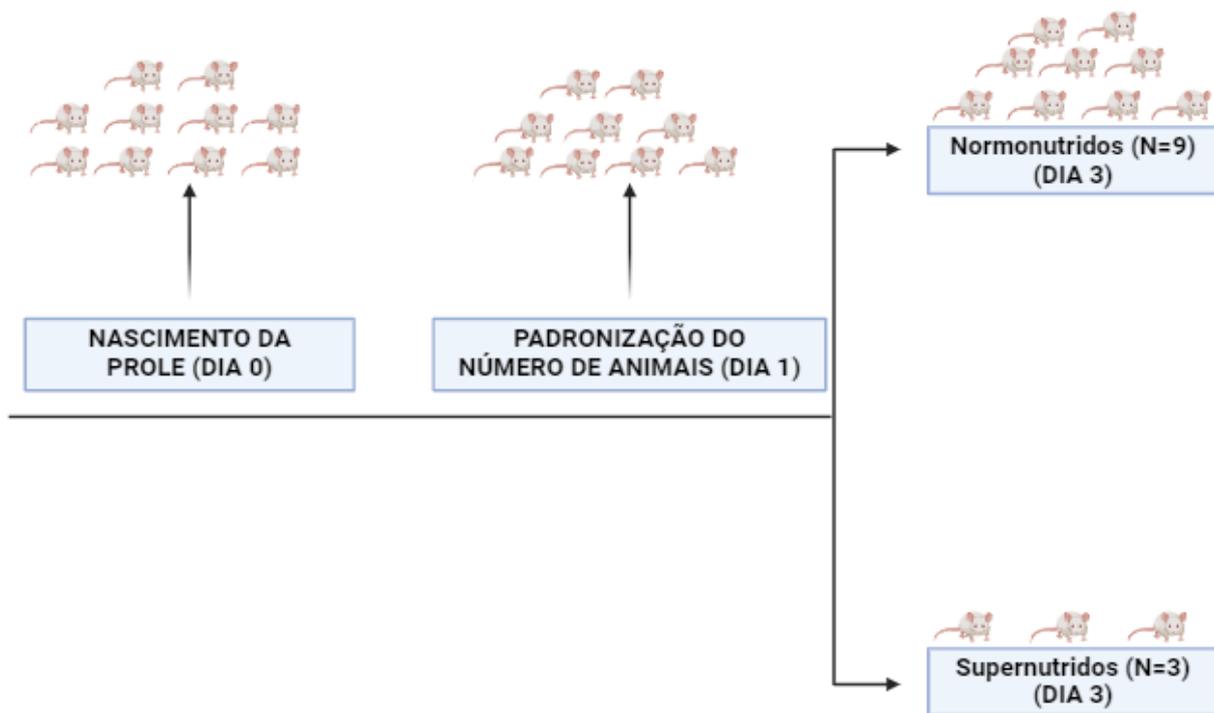


Fonte: O autor (2024).

2.2 Modelo de redução de ninhada: o efeito da nutrição materna sobre a saúde da prole

O modelo de redução de ninhada proposto inicialmente por Plagemann (Plagemann *et al.*, 1992a) é um método experimental utilizado em estudos sobre nutrição e desenvolvimento. Ele foi desenvolvido para investigar os efeitos da redução da quantidade de filhotes na quantidade de leite disponível para prole durante a amamentação, simulando condições de superalimentação neonatal. Nesse modelo de insulto nutricional, as ratas lactantes são postas para acasalar, e após o nascimento dos filhotes (PND1), a prole de todas as lactantes são padronizados para um número amostral de nove animais por mães. A redução de ninhada ocorre no terceiro dia após o nascimento dos filhotes (PND3), onde os animais que compõem o grupo controle (ou normonutridos) são mantidos com o número amostral de 9 filhotes por lactante, enquanto os grupos supernutridos, efetivamente tem a ninhada reduzida, sendo então formado por apenas 3 filhotes por lactante (**Figura 3**).

Figura 3 - Redução de ninhada



Fonte: O autor (2024).

Nesse modelo, os filhotes são monitorados ao longo do período de amamentação e após o desmame avaliando seu peso, crescimento, desenvolvimento e comportamento alimentar. Após o desmame, os filhotes são mantidos em condições padrões de alimentação e cuidados. Eles são acompanhados ao longo da vida adulta para avaliar possíveis efeitos da manipulação da ninhada, como ganho de peso, metabolismo, comportamento alimentar e susceptibilidade a doenças relacionadas à obesidade e a distúrbios metabólicos (Braz; da Silva, *et al.*, 2020a; de Andrade Silva *et al.*, 2021).

Trabalhos anteriores ao nosso, com o mesmo modelo de redução de ninhada, demonstraram que esse método induz a obesidade na prole, isso porque a oferta do leite materno será maior no grupo que foi reduzido (Braz; da Silva, *et al.*, 2020a; Silva *et al.*, 2023). Além disso, um dos mecanismos pelo qual a supernutrição induz ao sobrepeso e obesidade pode ser a partir da regulação negativa de genes específicos que controlam a ingestão alimentar, como AgRP, NPY, POMC e CART (de Andrade Silva *et al.*, 2021).

A superoferta de nutrientes para a prole em desenvolvimento, durante a gestação e lactação, reproduz aspectos da dieta humana associada à obesidade

(Moullé; Parnet, 2019), proporcionando uma abordagem relevante para entender os efeitos da nutrição materna na programação metabólica e no desenvolvimento da obesidade na prole.

Com esse modelo de supernutrição durante a lactação, é possível investigar os impactos da exposição precoce a uma dieta, destacando a importância do período perinatal no estabelecimento de predisposições metabólicas que podem perdurar ao longo da vida. Essa abordagem experimental oferece compreensão sobre os mecanismos moleculares e fisiológicos subjacentes à obesidade, incluindo alterações no metabolismo energético, regulação do apetite, resposta inflamatória e modificações epigenéticas (Harmancioğlu; Kabaran, 2023).

Outro aspecto relevante desse modelo é a utilidade em estudos bioquímicos e fisiológicos subjacentes aos efeitos da nutrição materna na programação metabólica, fornecendo informações detalhadas sobre como a nutrição materna pode influenciar a regulação do apetite, o metabolismo energético e a deposição de gordura na prole (Franzago *et al.*, 2019).

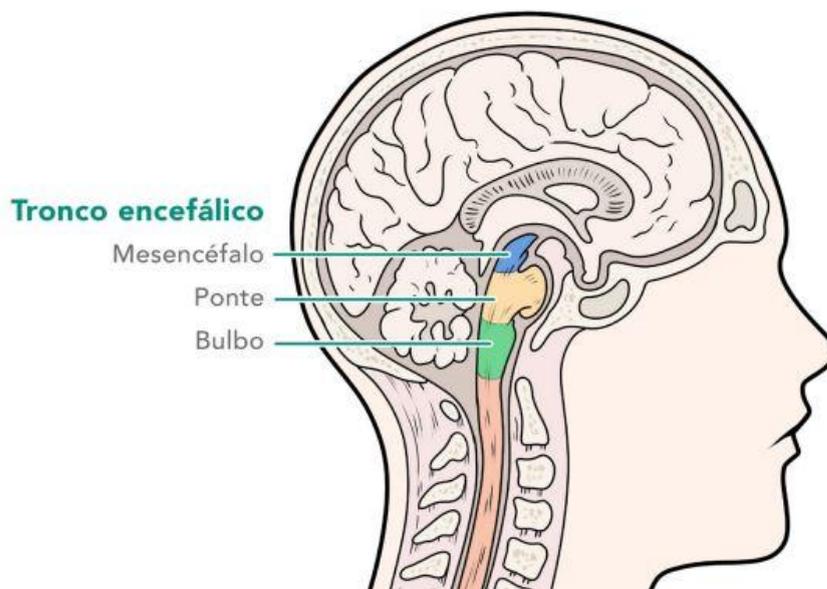
Especialmente em tecidos cerebrais como o hipocampo, hipotálamo e tronco encefálico, a supernutrição pode causar modificações pontuais moleculares em circuitos relacionados ao comportamento alimentar que resultam em um excesso persistente de ingestão de alimentos e ganho de peso corporal que dura até a idade adulta (Braz; da Silva, *et al.*, 2020a; Braz; Silva, *et al.*, 2020; de Andrade Silva *et al.*, 2021; de Andrade Silva *et al.*, 2023; de Santana *et al.*, 2023). Além disso, durante a lactação esse insulto desregula a função mitocondrial e os sistemas monoaminérgico, no hipotálamo, tronco encefálico e hipocampo de ratos machos (de Andrade Silva *et al.*, 2021), com aumento marcante de biomarcadores de estresse oxidativo e redução da eficiência dos sistemas de defesa antioxidante enzimático e não-enzimático mesmo depois de um período de 30 dias sem manipulação (de Santana *et al.*, 2023).

2.3 Neurodesenvolvimento do Tronco Encefálico e Hipotálamo

O tronco encefálico é uma parte essencial do SNC, localizada na base do cérebro e conectando-o à medula espinhal. Sua neuroanatomia complexa inclui núcleos cranianos, vias ascendentes e descendentes que transmitem sinais sensoriais e motores, e diversas áreas que desempenham papéis cruciais na homeostase do organismo. É composto por três regiões principais: o bulbo, a ponte e o mesencéfalo (**Figura 4**) (Horn-Bochtler; Buttner-Ennervet, 2011).

De modo geral, a função do tronco encefálico está associada ao controle cardiovascular e da respiração, controle de reflexos cranianos como deglutição, além de estar envolvido na regulação do sono, da vigília e da regulação da temperatura corporal (Basinger; Hogg 2024).

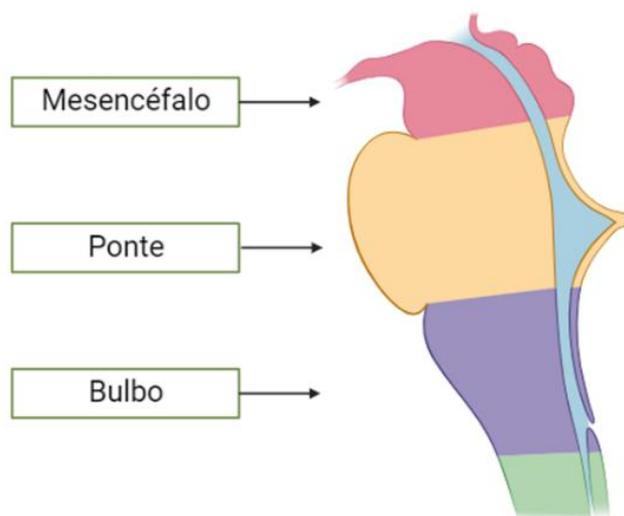
Figura 4 - Localização do tronco encefálico e a divisão anatômica



Fonte: Fernandes (2023).

O bulbo, ou medula oblonga, desempenha um papel vital na regulação de funções autonômicas. Além disso, esse tecido está envolvido na regulação da pressão arterial e da digestão (Iordanova; Reddivari, 2023). A ponte, ou protuberância anular, está localizada superiormente ao bulbo e atua como uma importante via de comunicação entre diferentes partes do cérebro. Ela desempenha um papel crucial na coordenação de movimentos voluntários e na integração de informações sensoriais e motoras (Rahman; Tadi, 2023). O mesencéfalo, a última porção do tronco encefálico, está envolvido em funções sensoriais, como audição e visão, além de desempenhar um papel na regulação do ciclo sono vigília, resposta a estímulos de dor e coordenação motora (Caminero; Cascella, 2023) **(Figura 5)**.

Figura 5 –Divisão neuroanatômica do tronco encefálico

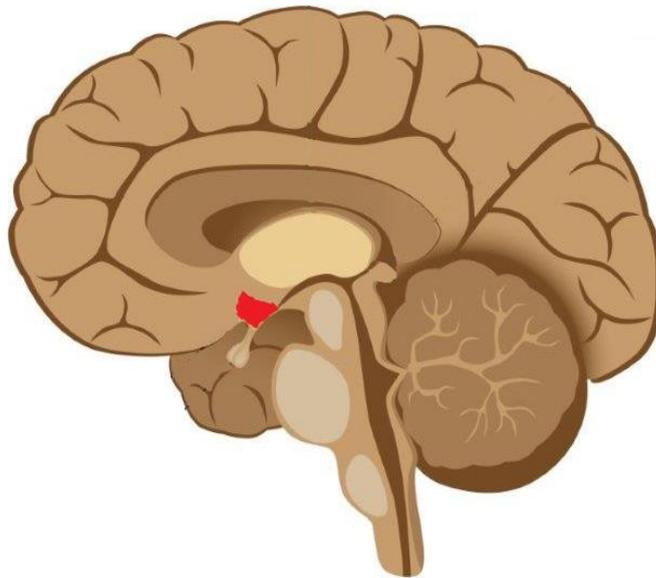


Fonte: O autor (2024).

No processo de desenvolvimento embrionário, o tronco encefálico se forma a partir do tubo neural, que se fecha e se desenvolve para formar o SNC. Ao longo do desenvolvimento fetal, passa por um complexo processo de crescimento, diferenciação celular e conexão neural para assumir suas funções (Elshazzly *et al.*, 2018). Durante o desenvolvimento pós-natal e infantil, o tronco encefálico continua a amadurecer e a se adaptar às demandas ambientais, refinando suas conexões neurais e integrando-se com outras regiões do cérebro para sustentar funções vitais e comportamentos complexos (Hadders-Algra, 2018).

Outra importante região cerebral é o hipotálamo, uma pequena, mas crucial região localizada na base do cérebro, desempenha um papel central na regulação de várias funções fisiológicas e comportamentais do organismo (**Figura 6**). O desenvolvimento do hipotálamo começa durante as fases iniciais do desenvolvimento embrionário, quando o tubo neural se dobra e fecha para formar o cérebro em desenvolvimento (Chhetri; Joe, 2023). Ao longo do desenvolvimento fetal e infantil, o hipotálamo passa por estágios de maturação, incluindo a proliferação celular, migração neuronal, diferenciação celular e formação de conexões sinápticas. Esses processos são influenciados por fatores genéticos e ambientais, que moldam a formação e a função final do hipotálamo (Hwang; Ku; Hashimoto-Torii, 2019).

Figura 6 – Localização neuroanatômica do hipotálamo



Fonte: Atlas de saúde (2014).

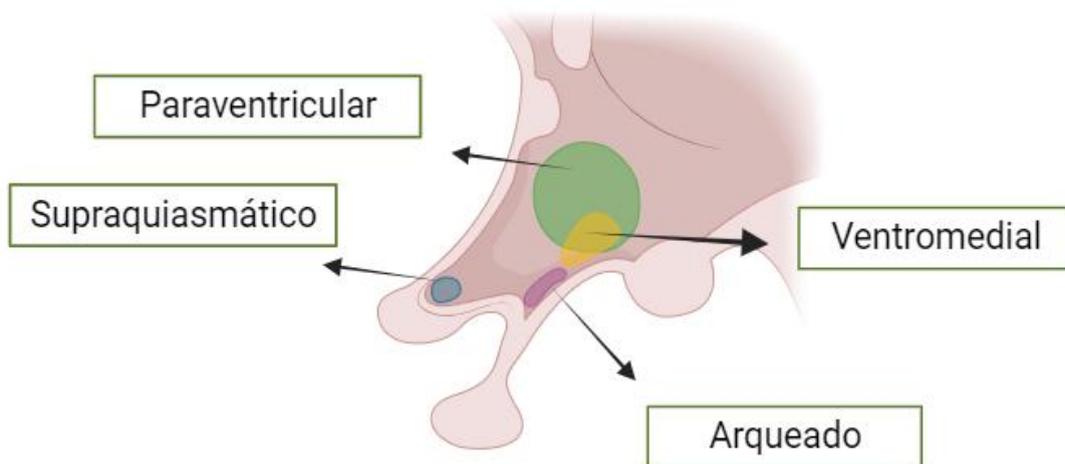
Durante a infância e a adolescência, o hipotálamo continua a se desenvolver e a se adaptar, refinando suas conexões neurais e ajustando sua atividade em resposta a mudanças hormonais e ambientais. Essa plasticidade neuronal é fundamental para a regulação adequada das funções fisiológicas e comportamentais ao longo da vida (Vijayakumar *et al.*, 2018).

Este complexo centro de comando é composto por diversos núcleos, cada um especializado em funções peculiares. O núcleo supraquiasmático, está localizado na região ventral do hipotálamo, próxima ao terceiro ventrículo cerebral, é fundamental para a regulação do ritmo circadiano, contribuindo para a sincronização do relógio biológico interno com os padrões de luz e escuridão ambientais (Ma; Morrison, 2023). Já o núcleo paraventricular, situado lateralmente ao terceiro ventrículo cerebral, próximo ao núcleo supraquiasmático e está envolvido na produção e liberação de hormônios, incluindo a oxitocina, desempenhando papéis cruciais na regulação do comportamento social, vínculos emocionais e resposta ao estresse (Qin; Li; Tang, 2018) **(Figura 7).**

Outro núcleo essencial é o núcleo ventromedial, mais especificamente, esse núcleo está situado no centro do hipotálamo, próximo ao terceiro ventrículo cerebral, que desempenha um papel vital no controle do apetite e do metabolismo. Este núcleo é sensível a sinais hormonais e nutricionais, desencadeando respostas que influenciam

a ingestão alimentar e o gasto energético (Khodai; Luckman, 2021). Além disso, o hipotálamo possui o núcleo arqueado, localizado na base do terceiro ventrículo cerebral, próximo ao núcleo ventromedial e ao núcleo paraventricular, que também desempenha um papel central na regulação do apetite, além de estar envolvido na produção de hormônios liberadores e inibidores que afetam a atividade da glândula pituitária (Korf; Møller, 2021). Essa diversidade de núcleos e suas funções específicas destacam a complexidade do hipotálamo como uma peça-chave no controle homeostático do organismo.

Figura 7. Neuroanatomia do hipotálamo



Fonte: O autor (2024).

Tanto o tronco encefálico quanto o hipotálamo são componentes cruciais do SNC que desempenham papéis significativos no controle alimentar, regulando a ingestão de alimentos e o equilíbrio energético. A relação entre essas duas regiões é complexa e envolve a integração de sinais hormonais e neurais para regular o apetite, a saciedade e outros aspectos do comportamento alimentar (Ludwig; Reddy; Varacallo, 2023).

A comunicação entre o tronco encefálico e o hipotálamo é fundamental para a percepção de saciedade. Quando o estômago está distendido após a ingestão de alimentos, os receptores de estiramento enviam sinais ao tronco encefálico e ao hipotálamo, indicando que o corpo está satisfeito (Cai *et al.*, 2024). Ainda recebem sinais hormonais importantes relacionados ao estado energético do corpo. Hormônios

como a leptina, produzida pelas células adiposas, e a grelina, liberada pelo estômago em resposta à fome, influenciam diretamente a atividade do hipotálamo e do tronco encefálico (Ludwig; Reddy; Varacallo, 2023).

Ainda, em ambos tecidos existem um conjunto de neurônios que são componentes do sistema serotoninérgico que utilizam a serotonina como neurotransmissor. A serotonina é um neurotransmissor crucial que desempenha um papel fundamental em uma ampla variedade de funções fisiológicas e comportamentais, incluindo regulação do humor, sono, apetite, funções cognitivas e regulação do sistema nervoso autônomo, como controle de frequência cardíaca (Kanova; Kohout, 2021). Os neurônios serotoninérgicos estão localizados principalmente no tronco encefálico, especificamente no núcleo da rafe, onde são originados (Walker; Tadi, 2023). A partir daí, eles enviam projeções para várias regiões do cérebro, como o córtex cerebral, o hipotálamo e o sistema límbico, afetando assim uma ampla gama de funções.

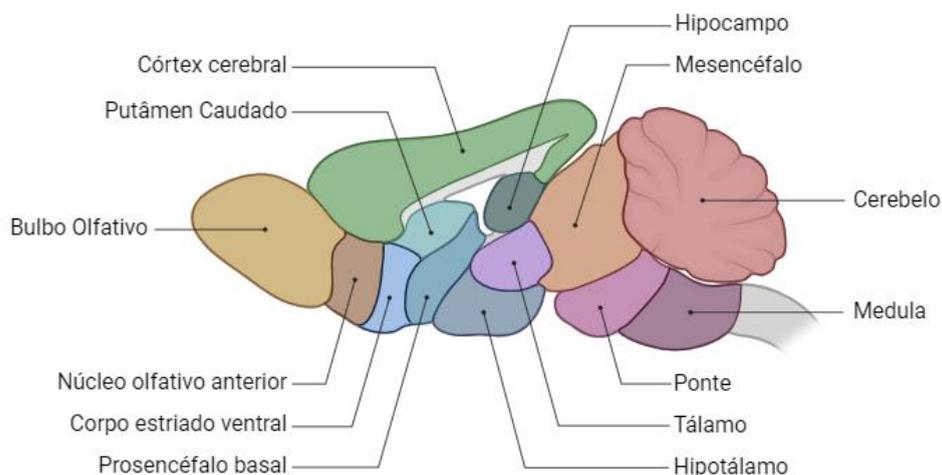
Embora existam diferenças anatômicas significativas entre o cérebro humano e de roedores, como a proporção de tamanho e complexidade estrutural (Beauchamp *et al.*, 2022), é importante ressaltar que esses animais compartilham semelhanças bioquímicas e fisiológicas essenciais. Estas semelhanças permitem que estudos experimentais em roedores forneçam achados valiosos sobre processos neurobiológicos relevantes para os humanos (Domínguez-Oliva *et al.*, 2023).

Por exemplo, ambos possuem sistemas neurotransmissores semelhantes, como o sistema dopaminérgico e serotoninérgico, que desempenham papéis cruciais em funções cognitivas e emocionais (Strac; Pivac; Muck-Seler, 2016). Além disso, a resposta do cérebro de roedores a estímulos externos, como drogas ou intervenções dietéticas, pode refletir padrões semelhantes aos observados em humanos, possibilitando a investigação de mecanismos subjacentes a condições neurológicas e distúrbios alimentares (**Figura 8**).

Figura 8. Anatomia do cérebro de ratos

Anatomia do cérebro de ratos

Vista sagital



Fonte: Adaptado de Allen Brain Atlas e Gensat (2024).

Na década de 1930, o cientista italiano Vittorio Erspamer isolou pela primeira vez uma substância chamada "enteramina" do trato gastrointestinal. Sua pesquisa, que inicialmente buscava compreender as propriedades fisiológicas do intestino, revelou que essa substância tinha propriedades semelhantes à serotonina. Foi somente nas décadas de 1940 e 1950 que Maurice Rapport, Arda Alden Green e Irvine Page, pesquisadores norte-americanos, identificaram a enteramina como sendo a serotonina ou 5-HT, confirmando as descobertas de Erspamer (Bakshi; Tadi, 2024).

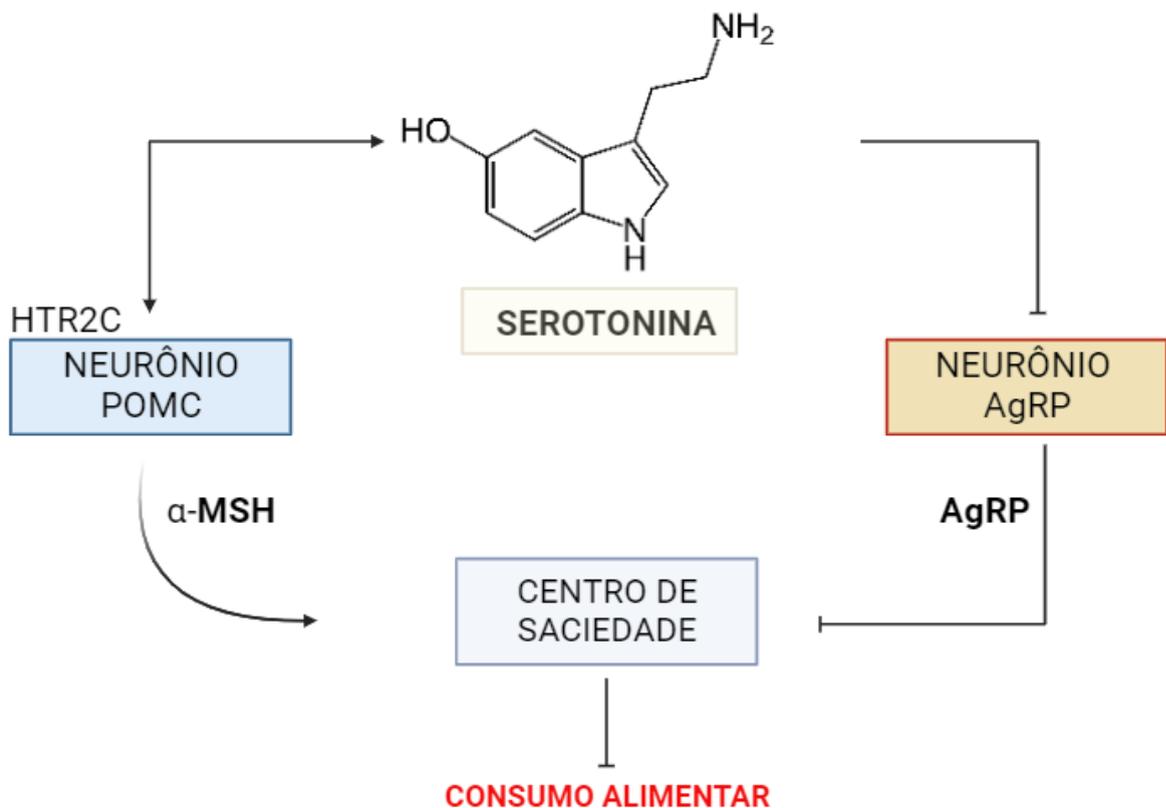
O isolamento e a identificação dessa molécula assinalaram um marco significativo na história da neurociência, proporcionando descobertas sobre a serotonina como neurotransmissor e sua importância em uma variedade de funções fisiológicas e comportamentais. A colaboração entre esses cientistas permitiu a compreensão mais profunda dessa substância e eventualmente levou a avanços significativos no tratamento de distúrbios neuropsiquiátricos (Pourhamzeh *et al.*, 2022).

Este sistema é suscetível a diversos fatores, como predisposição genética, estresse, estilo de vida, dietas e outros elementos ambientais. Situações de estresse crônico, como insultos ambientais, podem influenciar indiretamente o sistema serotoninérgico, impactando a produção, liberação e reabsorção da serotonina (Bamalan; Moore; Khalili, 2023). O estresse prolongado pode induzir alterações nos padrões de atividade cerebral e na expressão de genes associados ao sistema

serotoninérgico (de Andrade Silva *et al.*, 2023; Murnane 2019), contribuindo, assim, para a desregulação do desenvolvimento do SNC, expressão de genes e comportamento alimentar (Galen; Horst; Serlie, 2021). Alterações no sistema serotoninérgico estão correlacionadas a distúrbios neuropsiquiátricos, como depressão, ansiedade e transtornos do humor (Moncrieff *et al.*, 2023).

A relação entre os níveis de serotonina e o comportamento alimentar é mediada por diversos mecanismos. A serotonina age como sinal de saciedade, sendo liberada após a ingestão de alimentos e interagindo com receptores específicos, como os receptores 5-HT_{2C}, para modular a sensação de plenitude e suprimir o apetite (Shin; Kim; Sohn, 2023). Adicionalmente, algumas pesquisas indicam que a diminuição nos níveis de serotonina pode estar associada ao aumento do desejo por alimentos ricos em carboidratos, especialmente aqueles contendo triptofano, um aminoácido precursor de serotonina (Jenkins *et al.*, 2016) (**Figura 9**).

Figura 9—Regulação da saciedade pela serotonina



Fonte: Adaptada de Namkung *et al.*, (2015).

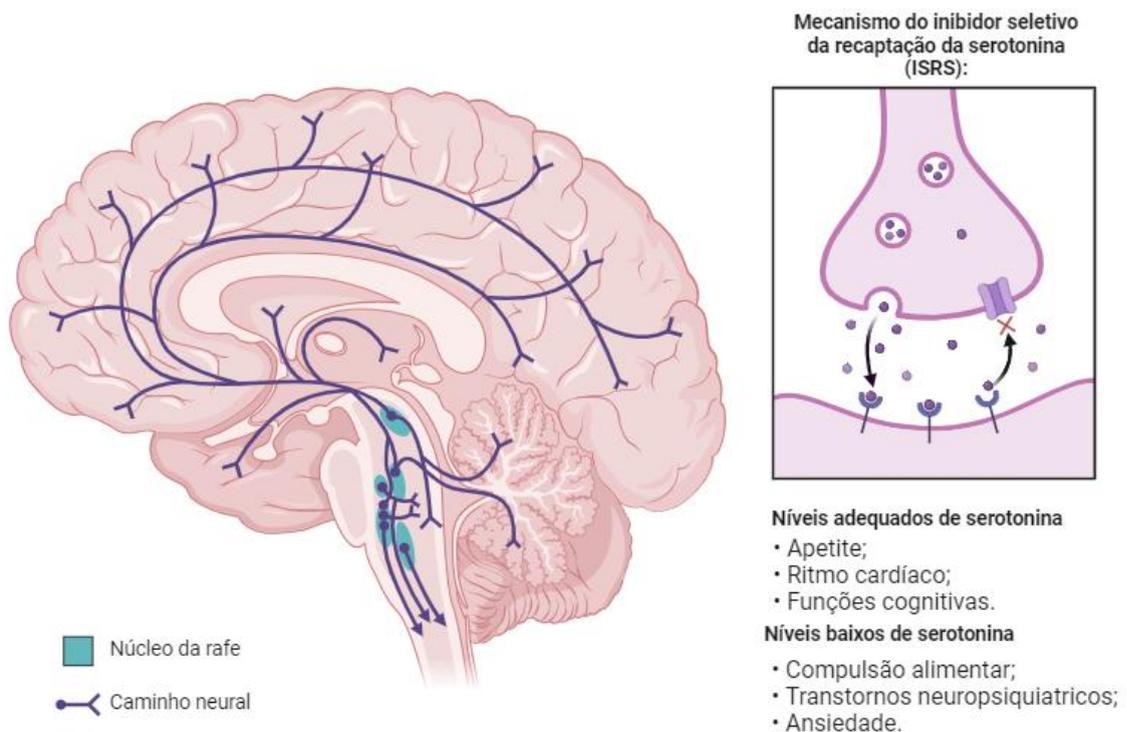
A 5-HT, além de suas funções como neurotransmissor, desempenha um papel importante na redução da geração EROs - moléculas altamente reativas contendo

oxigênio, que podem causar danos celulares por meio de processos de oxidação (Pisoschi *et al.*, 2021) contribuindo para a homeostase das reações de oxidação-redução (REDOX) do organismo, tanto por meios diretos quanto indiretos.

Em termos diretos, a serotonina age como um agente antioxidante, funcionando como um doador de elétrons capaz de neutralizar radicais livres e outras EROs, efetivamente eliminando essas moléculas reativas e protegendo as células contra o estresse oxidativo (Hadi *et al.*, 2024). Além disso, a presença de serotonina estimula a expressão intracelular de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx), intensificando a eficácia da neutralização e eliminação de EROs, robustecendo assim as defesas antioxidantes endógenas (Fanibunda *et al.*, 2019).

A atividade do sistema serotoninérgico é regulada por vários fatores, incluindo a disponibilidade de serotonina e a sensibilidade dos receptores de serotonina nas células-alvo. Distúrbios no sistema serotoninérgico têm sido associados a uma variedade de condições, incluindo transtornos de humor como a depressão e a ansiedade, distúrbios do sono, distúrbios alimentares, entre outros (Liu; Zhao; Guo, 2018) (**Figura 10**).

Figura 10 - Regulação de funções pela serotonina



Fonte: O autor (2024).

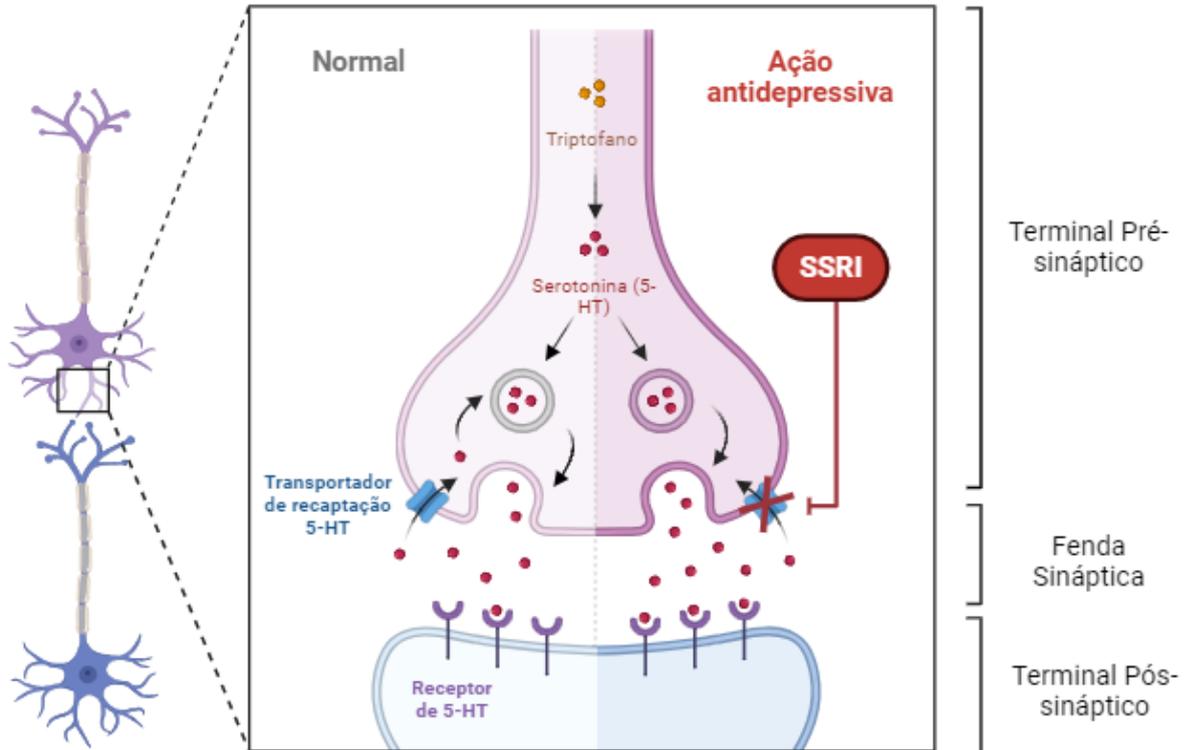
2.4 Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (SSRIs)

Em pesquisas experimentais, uma intervenção relevante para compreender os mecanismos associados à compulsão alimentar é a manipulação serotoninérgica. Além de regular disfunções mitocondriais, essa intervenção pode reduzir a geração em excesso de EROs e beneficiar os sistemas antioxidantes (Silva *et al.*, 2023).

Essa modulação acontece a partir de fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (SSRIs), conhecidos por pertencerem a classe de medicamentos utilizados principalmente no tratamento de transtornos de humor, como depressão, ansiedade e alguns tipos de transtornos de ansiedade, como transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) e transtorno de ansiedade generalizada (TAG). Eles atuam aumentando os níveis de serotonina nas fendas sinápticas modulando assim o humor, sono, apetite e outros processos fisiológicos (Bamalan; Moore; Khalili, 2023).

Os SSRIs funcionam inibindo seletivamente a recaptação de serotonina nos neurônios, o que significa que eles aumentam a disponibilidade de serotonina no espaço sináptico entre os neurônios (Lochmann; Richardson, 2024). Isso pode ajudar a melhorar o humor e reduzir os sintomas associados a transtornos de humor, embora o mecanismo exato pelo qual os SSRIs produzem esses efeitos ainda não seja completamente compreendido (**Figura 11**). Alguns exemplos de SSRIs incluem fluoxetina (Prozac), sertralina (Zoloft), paroxetina (Paxil), escitalopram (Lexapro) e citalopram (Celexa).

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (SSRIs)



Fonte: O autor (2024).

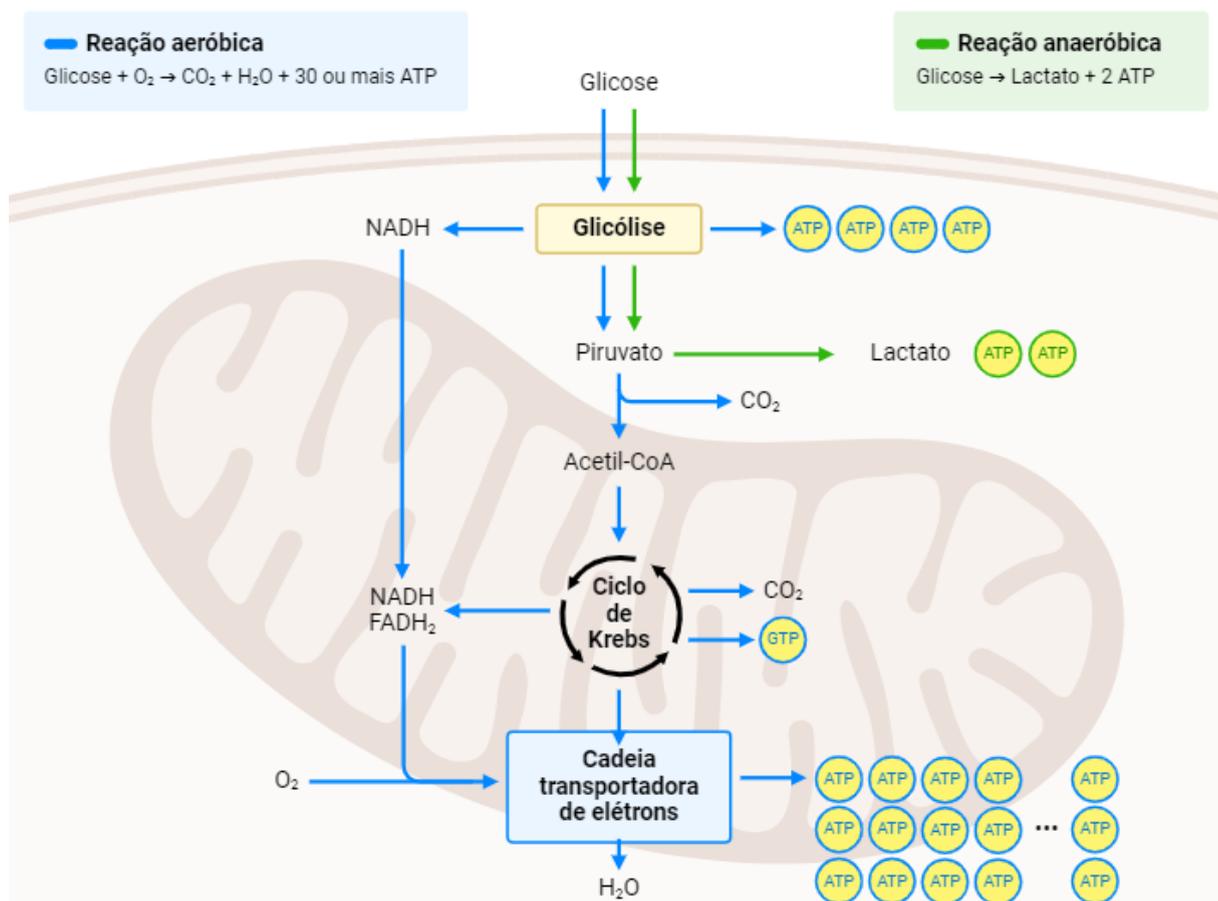
A FX é um dos principais e mais utilizados fármacos no tratamento de transtornos de humor, como depressão, TOC, TAG e transtornos alimentares, como bulimia nervosa. Assim como outros fármacos da mesma classe, a FX atua aumentando os níveis de serotonina, o que aumenta a disponibilidade desse neurotransmissor no espaço sináptico entre os neurônios. Isso pode ajudar a melhorar o humor e reduzir os sintomas associados aos transtornos mencionados (Sohel; Shutter; Molla, 2024).

Estudos experimentais anteriores sinalizaram que a manipulação do sistema serotoninérgico, a partir da utilização de FX, conseguiu induzir um fenótipo magro em ratos, além de melhorar a função mitocondrial e a defesa antioxidante em áreas centrais como o hipocampo, hipotálamo e tronco encefálico (de Andrade Silva *et al.*, 2021; Braz *et al.*, 2020), além de áreas periféricas como coração e fígado (Braz *et al.*, 2016; Simões-Alves *et al.*, 2018). Acredita-se que esses efeitos sejam mediados pela modulação de sistemas de neurotransmissores, incluindo a serotonina, que pode influenciar as vias do estresse oxidativo (Gambini; Stromsnes, 2022).

2.5 Função mitocondrial e estresse oxidativo

As mitocôndrias são organelas especialmente vulneráveis a desequilíbrios nutricionais. Essas organelas são encontradas em células eucarióticas, ou seja, células que têm um núcleo definido e são encontradas em organismos que vão desde unicelulares, como as leveduras, até os multicelulares, como os seres humanos (Picard; Shirihai, 2022). As mitocôndrias são frequentemente chamadas de "usinas de energia" das células, pois desempenham um papel fundamental na produção de adenosina trifosfato (ATP), que é a principal molécula de energia utilizada pelas células para realizar suas funções (Valdebenito; Chacko; Duchon, 2023) (**Figura 12**).

Figura 12 - Respiração celular



Fonte: O autor (2024).

Além da produção de energia, as mitocôndrias estão envolvidas em muitos outros processos celulares, incluindo a regulação do metabolismo, a sinalização celular e a apoptose (morte celular programada) (Nguyen *et al.*, 2023). Elas também desempenham um papel importante na regulação do equilíbrio de íons dentro das

células e na geração EROS como subproduto do processo de produção de energia (Yang; Lian, 2020).

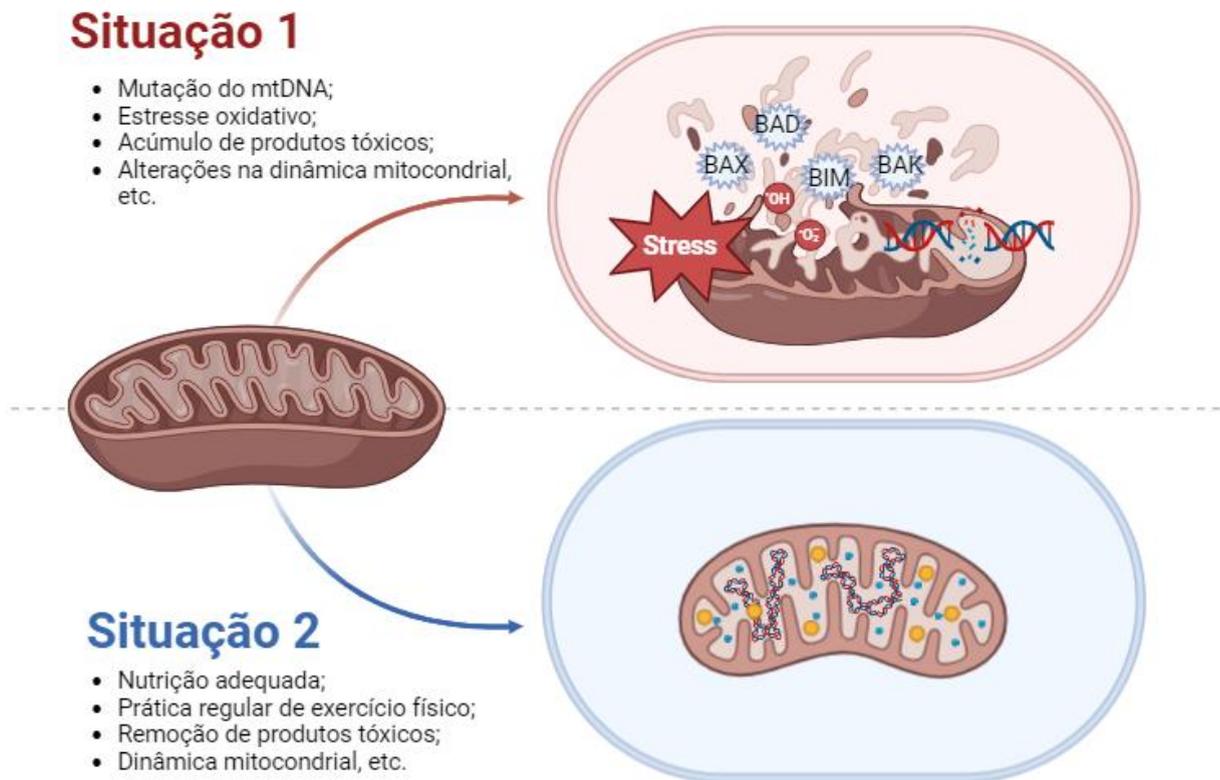
A estrutura das mitocôndrias é única em relação a outras organelas celulares. Elas têm uma membrana externa lisa e uma membrana interna altamente invaginada, formando estruturas chamadas de cristas mitocondriais. A matriz mitocondrial, o espaço interno delimitado pela membrana interna, contém enzimas e DNA mitocondrial (mtDNA), que são essenciais para a produção de energia e para a replicação e expressão do DNA mitocondrial (Kleckler; Westermann, 2021). Uma característica única das mitocôndrias é que elas contêm seu próprio DNA, conhecido como DNA mitocondrial, que é diferente do DNA nuclear das células. Isso sugere que as mitocôndrias têm uma origem evolutiva distinta e pode ter sido derivada de bactérias antigas que estabeleceram uma relação simbiótica com as células eucarióticas ancestrais (Habbane *et al.*, 2021).

Devido ao seu papel central na produção de energia e em vários processos celulares, as mitocôndrias desempenham um papel crucial na saúde e no funcionamento adequado das células e dos organismos como um todo (San-Millán, 2023). Disfunções mitocondriais têm sido associadas a uma variedade de doenças humanas, incluindo distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e condições relacionadas ao envelhecimento, como declínio cognitivo, e da função imunológica e doenças cardiovasculares (Chen; Zhao; Li, 2023b).

A disfunção mitocondrial pode surgir devido a vários fatores que afetam a estrutura, função ou regulação das mitocôndrias. Esses fatores podem ser genéticos, ambientais ou relacionados ao estilo de vida, e podem levar a uma ampla gama de condições patológicas (Kaarniranta *et al.*, 2020). Um dos principais mecanismos é a mutação do mtDNA, cuja principal função é a produção de algumas proteínas envolvidas na respiração celular; mutações no mtDNA podem levar a defeitos na síntese de proteínas dos complexos da cadeia transportadora de elétrons, afetando a função das mitocôndrias podendo levar a uma produção de energia insuficiente, ou a produção em excesso de EROs (Ryzhkova *et al.*, 2018) (**Figura 13**).

Quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a capacidade das células de neutralizá-las com antioxidantes pode ocasionar o estresse oxidativo, o que pode desempenhar um papel retroalimentação para a disfunção mitocondrial (Picca *et al.*, 2020; Vona *et al.*, 2021).

Figura 13 - Disfunção mitocondrial



Fonte: O autor (2024).

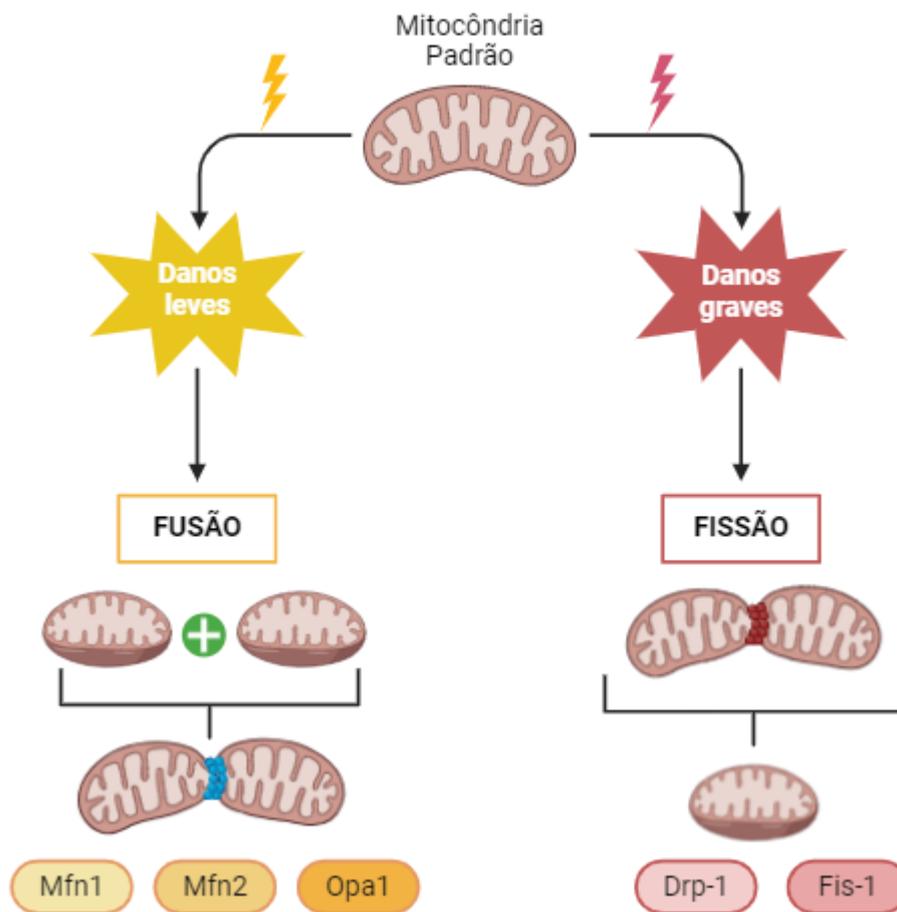
Outro processo que pode levar à disfunção nessa organela é o acúmulo de produtos tóxicos, como EROs, espécies reativas de nitrogênio (ERNs), entre outros que são encontrados em doenças metabólicas ou intoxicações, podendo interferir em suas funções homeostáticas (Reddam; McLarnan; Kupsco, 2022). Alterações na dinâmica mitocondrial, como um desequilíbrio entre fusão e fissão, também podem ser um fator contribuinte na disfunção mitocondrial (Chen; Zhao; Li, 2023b).

Os processos de fusão e fissão mitocondrial são essenciais para a manutenção da integridade e funcionalidade das mitocôndrias, permitindo que elas se adaptem a diferentes demandas celulares e condições ambientais, por exemplo, a demanda energética, disponibilidade de nutrientes, envelhecimento celular e estresse oxidativo (Adebayo *et al.*, 2021). O equilíbrio entre esses processos é crucial para a saúde celular e pode ser afetado por uma variedade de estímulos e condições patológicas (**Figura 14**).

A fusão mitocondrial é um processo complexo que envolve a fusão das membranas externas e internas das mitocôndrias para formar uma única mitocôndria (Gao; Hu, 2021). Esse processo começa com o reconhecimento e a aproximação de

duas mitocôndrias, mediados pelas proteínas mitofusinas (MFN1 e MFN2) na membrana externa (Zaman; Shutt, 2022). As mitofusinas interagem para promover a fusão das membranas externas, facilitando a fusão das membranas internas, que é mediada pela proteína OPA1 na membrana interna (Chandhok; Lazarou; Neumann, 2018).

Figura 14 – Dinâmica mitocondrial, fusão e suas enzimas reguladoras (MFN1, MFN2 e OPA1) e fissão e suas enzimas reguladoras (DRP1 e FIS1)



Fonte: O autor (2024).

A OPA1 regula a fusão das membranas internas, garantindo a integração das redes de compartilhamento de proteínas e lipídios das mitocôndrias fundidas (Ge *et al.*, 2020). Após a fusão das membranas, ocorre a mistura de conteúdos mitocondriais, permitindo a complementação de funções entre as mitocôndrias fundidas e a diluição

de danos em mitocôndrias disfuncionais (Yapa *et al.*, 2021).

Por outro lado, a fissão mitocondrial é o processo pelo qual uma mitocôndria se divide em duas mitocôndrias separadas (Green; Hossain; Eckmann, 2022). Esse processo começa com a constrição da mitocôndria em um ponto específico da membrana externa, mediada pela Proteína semelhante à dinamina-1 (DNM1L), também conhecida como Drp1. A Drp1 se associa à mitocôndria e forma um anel ao redor da região de constrição, atuando como uma guilhotina molecular para cortar a mitocôndria em duas partes separadas (Zerihun; Sukumaran; Qvit, 2023).

A Drp1 é regulada por uma série de proteínas acessórias que controlam sua localização e atividade, garantindo uma divisão precisa e equilibrada das mitocôndrias. Após a divisão, as duas mitocôndrias resultantes se separam e podem seguir caminhos metabólicos diferentes, dependendo das necessidades celulares (Rios *et al.*, 2023).

Há discussões de que em condições de desequilíbrio bioquímicos, a partir da supernutrição materna, pode levar a um aumento na produção de EROs, e levar a um quadro de estresse oxidativo nas células da prole. Esse estresse pode afetar as organelas celulares e interferir em vias metabólicas críticas, como a cadeia respiratória, metabolismo de aminoácidos ou lipídico (Masenga *et al.*, 2023). O excesso de EROs, pode levar a disfunção celular, danos no DNA, comprometimento da função mitocondrial, ativação de processos inflamatórios e contribuição para o desenvolvimento de várias doenças, incluindo câncer, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, além de acelerar o envelhecimento celular (Miwa *et al.*, 2022).

As mitocôndrias são particularmente sensíveis aos danos oxidativos causados pelas EROs devido à elevada presença de lipídios, proteínas e DNA em sua constituição, sendo susceptíveis à oxidação (Juan *et al.*, 2021). O ataque excessivo de EROs às mitocôndrias pode levar à perda de funções, tais como, disfunções na cadeia respiratória mitocondrial, resultando em uma produção inadequada de ATP, que é a principal fonte de energia para a célula (Tirichen *et al.*, 2021).

Além disso, as EROs podem desencadear a abertura de poros na membrana mitocondrial, comprometendo a integridade estrutural (Bernardi *et al.*, 2023). Esse evento pode levar à liberação de moléculas pró-apoptóticas, como a citocromo c, Fator indutor de apoptose (AIF) desencadeando a apoptose, ou morte celular programada (Jan; Chaudhry, 2019). Assim, a disfunção mitocondrial induzida por EROs não apenas afeta a produção de energia, mas também desempenha um papel significativo na regulação do destino celular (Riegger *et al.*, 2023).

Essas moléculas são geradas como subprodutos naturais do metabolismo celular, mas sua produção aumentada, muitas vezes devido a fatores como poluição, radiações ultravioleta, estresse e inflamação, pode sobrecarregar os sistemas antioxidantes do organismo (Hassan; Ahmed; Hassan, 2024). Os antioxidantes, incluindo enzimas como a superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e moléculas como a vitamina C, normalmente neutralizam as EROs, protegendo as células contra danos oxidativos (Ighodaro; Akinloye, 2018).

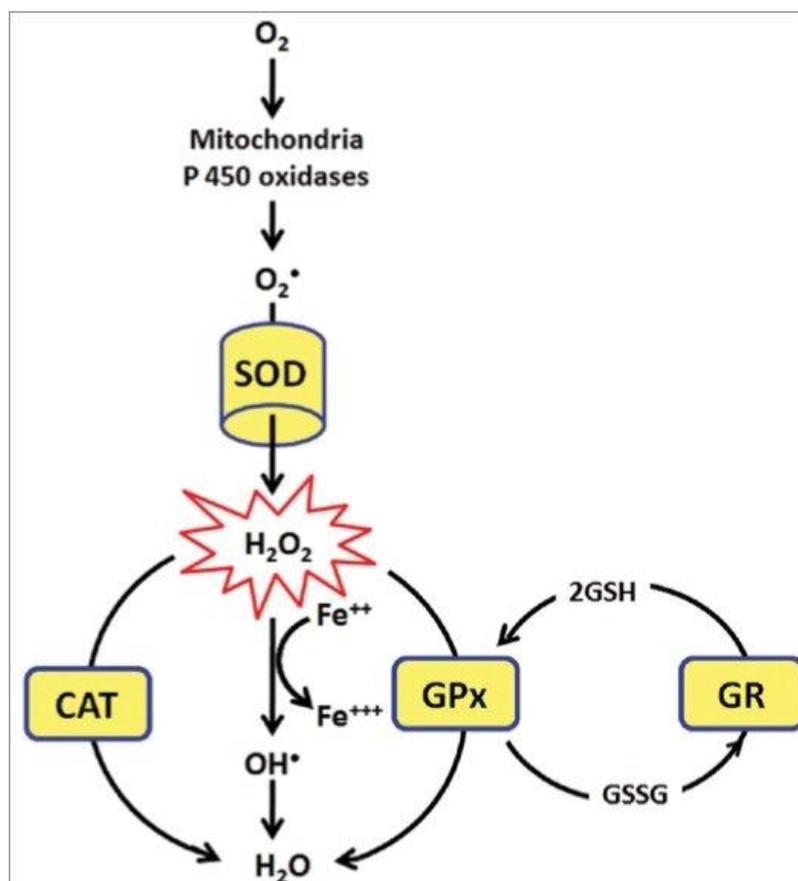
No entanto, quando a produção de EROs é excessiva, esses sistemas antioxidantes podem ficar inadequados ou em quantidade insuficiente para neutralizar todas as espécies reativas, levando a um desequilíbrio e favorecendo a sobreposição de um ambiente pró-oxidante causando danos às células, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (Murphy *et al.*, 2022). O estresse oxidativo resultante desse desequilíbrio pode contribuir para o desenvolvimento de diversas condições patológicas, como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer (Vona *et al.*, 2021).

Por outro lado, os antioxidantes desempenham um papel crucial na proteção das células contra danos causados pelo estabelecimento do estresse oxidativo. Estas moléculas têm a capacidade de neutralizar EROs, evitando que causem danos às células e moléculas importantes no corpo (Caliskan *et al.*, 2021). A estrutura dos antioxidantes varia, mas muitos deles compartilham a característica comum de doar elétrons e hidrogênios para neutralizar as moléculas reativas e assim estabilizar as moléculas (Santos-Sánchez *et al.*, 2019).

Existem duas principais classificações de antioxidantes: enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos são produzidos a partir do DNA celular, como a Superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a GPx, entre outras enzimas. Essas enzimas têm a capacidade de catalisar reações químicas específicas que convertem EROs em substâncias menos prejudiciais.

Essas enzimas trabalham em conjunto para manter o equilíbrio entre as reações REDOX nas células, protegendo-as contra o dano oxidativo. Quanto a atuação, a SOD catalisa a conversão do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Essa reação é fundamental, pois o ânion superóxido é uma ERO altamente reativa que pode causar danos celulares. A SOD é encontrada em diferentes compartimentos celulares, como o citoplasma, as mitocôndrias e o espaço extracelular (Younus, 2018). **(Figura 15).**

Figura 15 - Principais enzimas antioxidantes eliminando diretamente os radicais superóxido e o peróxido de hidrogênio, convertendo-os em espécies menos reativas



Fonte: Pandey and Rizvi (2010).

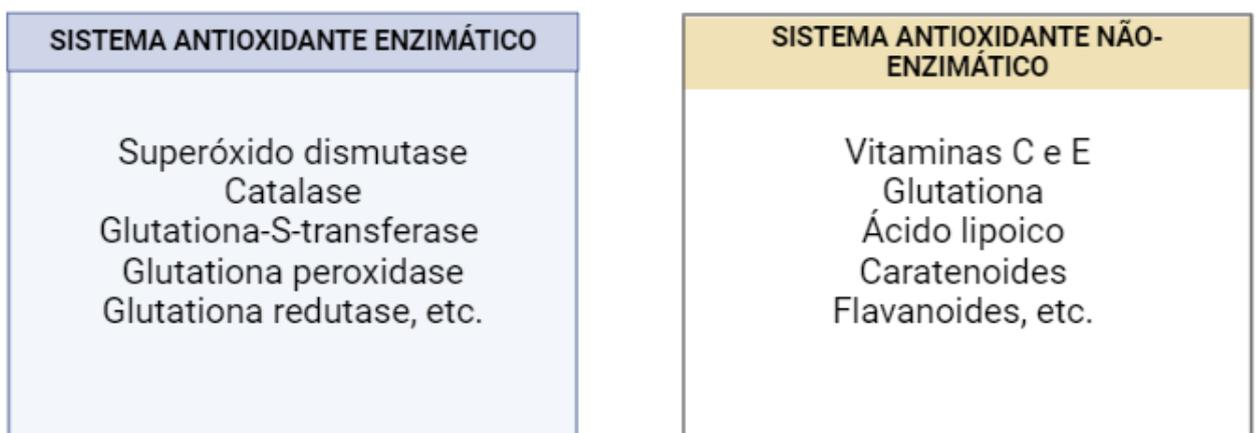
A catalase é uma enzima encontrada principalmente no peroxissomo, uma organela celular. Sua função principal é catalisar a decomposição do H_2O_2 em água (H_2O) e O_2 . O peróxido de hidrogênio é um subproduto da ação da SOD e, se acumulado, pode se tornar tóxico para as células. A catalase evita essa toxicidade convertendo eficientemente o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (Nandi *et al.*, 2019).

A GPx é membro de uma família de enzimas que utiliza a glutatona reduzida (GSH) como cofator para reduzir o H_2O_2 e outros peróxidos orgânicos em água. Além da ação da GPx usando a GSH, outro membro importante é a glutatona redutase (GR) que está envolvida na regeneração da glutatona oxidada (GSSG) para manter a glutatona intracelular em sua forma reduzida. A glutatona em sua forma reduzida é uma molécula com alto potencial antioxidante por si só e desempenha um papel vital na proteção celular contra danos oxidativos (Averill-Bates, 2023). Essas enzimas e moléculas trabalham em conjunto para manter o equilíbrio REDOX nas células,

protegendo-as contra o dano oxidativo. A coordenação eficaz entre a SOD, CAT e GPx é essencial para garantir a homeostase REDOX e a saúde celular.

Por outro lado, os antioxidantes não enzimáticos são substâncias que não são enzimas, mas desempenham um papel crucial na neutralização de EROs. Entre os antioxidantes não enzimáticos, destacam-se várias vitaminas, tais como a vitamina C (ácido ascórbico) e a vitamina E (tocoferol), bem como compostos como o ácido úrico, a coenzima Q10, muitos flavonoides presentes em alimentos vegetais, entre outros compostos (Pruteanu *et al.*, 2023). A sinergia entre esses diferentes tipos de antioxidantes, tanto enzimáticos quanto não enzimáticos, é essencial para manter o equilíbrio REDOX no organismo, prevenindo danos oxidativos e contribuindo para a saúde celular e o funcionamento adequado dos sistemas biológicos (**Figura 16**).

Figura 16 - Classificação dos sistemas antioxidantes, enzimático ou não



Fonte: O autor (2024).

2.6 Dismorfismo sexual

As diferenças bioquímicas e fisiológicas entre mulheres e homens são intrincadas e abrangentes, abarcando uma variedade de sistemas biológicos que vão além das características sexuais primárias, envolvendo diferenças secundárias, como distribuição de gordura, desenvolvimento muscular e padrões de crescimento (Ristori *et al.*, 2020). Essas diferenças são influenciadas por uma complexa interação entre fatores genéticos, hormonais e ambientais, que moldam o desenvolvimento e a

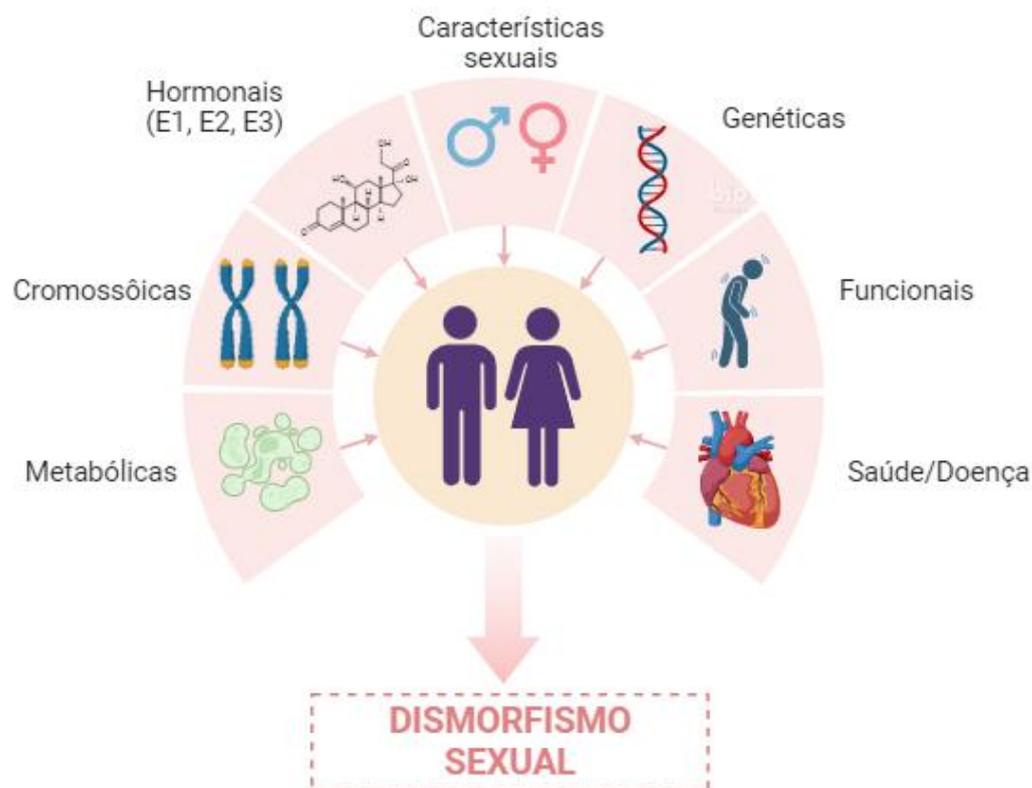
expressão dos caracteres sexuais ao longo da vida.

Em 2011, uma análise revelou que os estudos de neurociência em camundongos machos superavam em mais de cinco vezes os estudos em camundongos fêmeas (Beery; Zucker, 2011). Essa disparidade ao longo do tempo levou a uma compreensão deficiente do cérebro feminino, potencialmente resultando em diagnósticos equivocados de condições mentais e neurológicas em mulheres, além do desenvolvimento de medicamentos com mais efeitos colaterais para elas (Zelco; Wapeesittipan; Joshi, 2023).

Até o momento, a disparidade na incidência de algumas doenças entre homens e mulheres permanece um fenômeno não sendo completamente elucidado. Observa-se que algumas condições são mais frequentes em homens do que em mulheres, por exemplo, os homens têm maior probabilidade do que as mulheres de ter casos graves de COVID-19, hipertensão, diabetes e doenças cardíacas, no entanto, as mulheres apresenta maior susceptibilidade esclerose múltipla, e acidente vascular cerebral (Itoh *et al.*, 2023).

Os padrões de distribuição de gordura variam entre os sexos. As mulheres tendem a acumular mais gordura subcutânea, especialmente nas regiões glúteas e coxas, enquanto os homens têm uma distribuição mais centralizada, com maior propensão à gordura abdominal. Essas diferenças têm implicações na metabolização de nutrientes e no risco de doenças metabólicas (Panuganti; Nguyen; Kshirsagar, 2023). A obesidade, por exemplo, afeta as mulheres de forma desproporcional. Estudos indicam que as mulheres têm uma maior prevalência de obesidade em comparação com os homens e, conseqüentemente, enfrentam um maior risco de complicações associadas. Além disso, dados mostram que as mulheres têm uma taxa de mortalidade mais alta por complicações relacionadas à obesidade (Kapoor; Arora; Kalra, 2021) **(Figura 17)**.

Figura 17 - Dismorfismo sexual, destacando as principais disparidades entre homens e mulheres.



Fonte: O autor (2024).

Estudos indicam que as respostas imunológicas também apresentam dimorfismo sexual. Mulheres, em geral, tendem a ter respostas imunes mais robustas, o que pode contribuir para uma maior resistência a infecções, mas também pode estar associado a uma maior incidência de doenças autoimunes. Homens, por outro lado, podem ter respostas imunológicas mais atenuadas (Wilkinson *et al.*, 2022).

Uma das diferenças mais proeminentes reside no sistema endócrino, onde os hormônios sexuais desempenham um papel crucial. Mulheres produzem predominantemente estrogênio e progesterona, enquanto homens têm níveis mais elevados de testosterona. Essas disparidades hormonais afetam não apenas o desenvolvimento sexual, mas também influenciam processos metabólicos, regulação do humor e resposta ao estresse (Hammes; Levin, 2019).

A diferença sexo-específica em relação ao estresse oxidativo estão relacionadas, em grande parte, às influências hormonais, especialmente o estrogênio nas mulheres. Esse é o principal hormônio sexual feminino, cujo papel é protetor e significativo contra o estresse oxidativo (Lagranha *et al.*, 2018). Ele possui propriedades antioxidantes diretas e indiretas, ajudando a neutralizar os efeitos nocivos das EROs.

O estrogênio não é considerado um antioxidante clássico, e sua contribuição para a capacidade antioxidante também tem ação secundária em comparação com enzimas antioxidantes específicas. A propriedade físico-química do estrogênio, contendo anéis aromáticos e uma cadeia lateral hidrofílica, pode permitir que eles atuem como agentes redutores, doando elétrons para neutralizar EROs e reduzir o estresse oxidativo (Kuzikov *et al.*, 2020).

Em nível molecular, o estrogênio interage com receptores específicos, como os receptores de estrogênio alfa (ER- α) e beta (ER- β), presentes no núcleo celular. Quando ligado a esses receptores, o estrogênio ativa a transcrição gênica de enzimas antioxidantes, como a SOD e a GPx (Borrás *et al.*, 2021). Nesse sentido, a ação antioxidante do estrogênio ocorre tanto pela indução da expressão de enzimas antioxidantes quanto pela sua capacidade intrínseca de neutralizar diretamente EROs, proporcionando uma defesa abrangente contra o dano oxidativo e contribuindo para a proteção celular contra o estresse oxidativo.

Embora o estrogênio seja geralmente considerado um hormônio protetor contra o estresse oxidativo nas mulheres, há condições em que sua eficiência pode ser comprometida. Duas situações específicas incluem a presença de obesidade e insultos farmacológicos. A literatura sinaliza que a obesidade pode levar a condições como inflamação crônica, resistência à insulina e disfunção endotelial (Kajikawa; Higashi, 2022). Além disso, em certos contextos clínicos, o uso de agentes farmacológicos pode desencadear reações adversas ou efeitos colaterais que comprometem os níveis e sinalização do estrogênio (Domingues; Wiltbank; Hernandez, 2023). Em conjunto, esses fatores podem desafiar a eficácia protetora do estrogênio, uma vez que a obesidade cria um ambiente propício ao estresse oxidativo e à inflamação, mesmo em presença desse hormônio.

3. HIPÓTESE

A manipulação serotoninérgica durante os períodos de desenvolvimento pode minimizar os efeitos negativos da supernutrição e melhorar a função mitocondrial, balanço oxidativo e neurogênese no hipotálamo e tronco encefálico de ratas em idade juvenil.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar no tronco encefálico e hipotálamo de ratas supernutridas, aos 30 dias de vida, os efeitos da manipulação serotoninérgica sobre os parâmetros corporais,

comportamentais, perfil bioquímico, função mitocondrial, balanço oxidativo e expressão gênica da neurotrofina-BDNF.

4.2 Objetivos Específicos:

- Peso corporal e índice de Lee;
- Comportamento alimentar;
- Níveis sanguíneos de glicose, colesterol, triglicerídeos e HDL;
- Razão NAD⁺/NADH;
- Atividade de citrato sintase;
- Quantificação de espécies reativas;
- Níveis de peroxidação lipídica e oxidação proteica;
- Atividade de enzimas antioxidante Superóxido Dismutase (SOD); Catalase (CAT); Glutathione-S-transferase (GST);
- Balanço REDOX (GSH/GSSG);
- Níveis de tióis totais (Sulfidrilas);
- Expressão do mRNA: BDNF.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

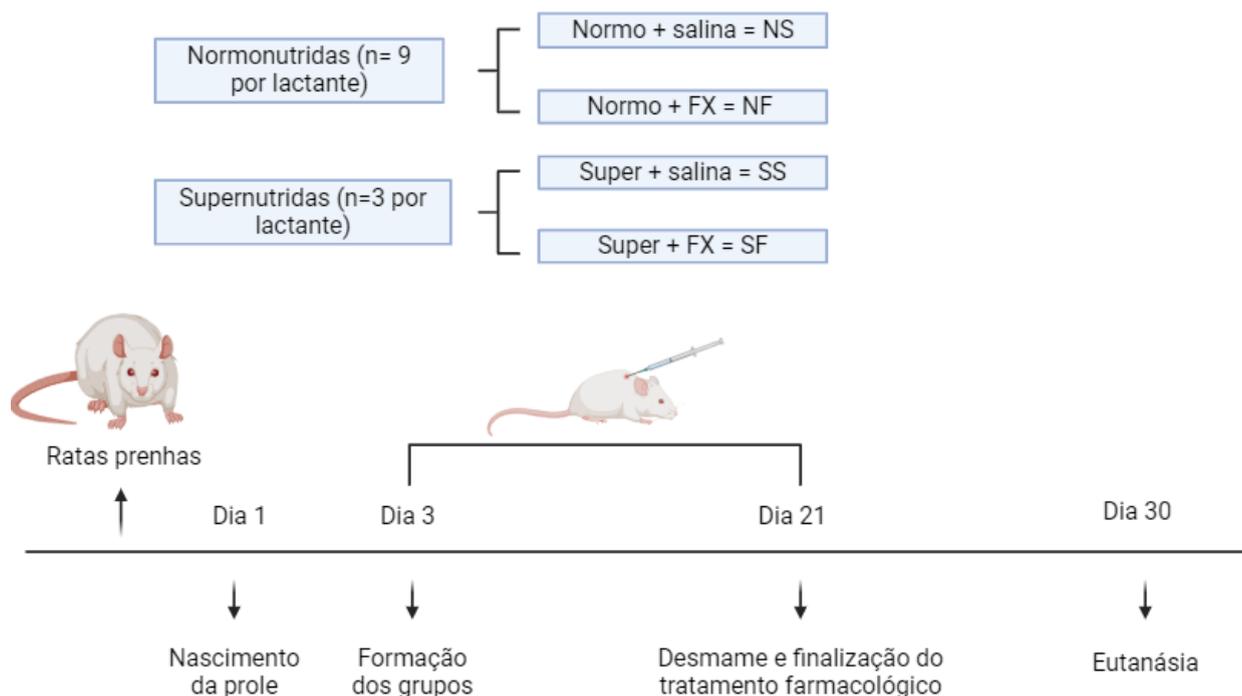
5.1 Animais e tratamento farmacológico

Todos os procedimentos do experimento obedeceram às diretrizes éticas estabelecidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (protocolo de aprovação no

0013/2023) (ANEXO A) e aos "Principles of Laboratory Animal Care" publicados pelo National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA.

Dez ratas Wistar fêmeas, com 80 dias de idade e pesando entre 150 e 200 g, provenientes do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Após recebimentos dessas ratas, elas foram postas em biotério para aclimação, com um ciclo invertido claro-escuro (12/12 horas). Após a aclimação, foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para um macho. Os animais foram mantidos a 23 ± 1 °C com um ciclo claro-escuro de 12 horas e tiveram livre acesso a água e ração comercial (Labina-Presence®) durante a gestação e a lactação. Vinte e quatro horas após o nascimento, a prole fêmea (com um peso de 6-8 g) foram distribuídas aleatoriamente por grupos, com um número de 9 filhotes por mãe. No terceiro dia pós-natal (PND 3), os grupos foram divididos para ajustar o tamanho da ninhada: o grupo Normonutridas permaneceu com nove filhotes por ninhada, também foi criado o grupo de Supernutridas com três filhotes por ninhada. O tamanho reduzido da ninhada aumentou a disponibilidade de alimentos para os filhotes, resultando em maior ingestão de alimentos e, conseqüentemente, maior peso corporal. Depois de dividir os grupos de acordo com o insulto nutricional: Grupo Normonutridos (N) e Grupo Supernutridos (S), 72h após, foi iniciado a divisão dos grupos conforme o insulto farmacológico, desse modo, houve a subdivisão dos grupos N e S em: Grupo Normonutridos + veículo (solução salina – NaCl 0,9%) – Grupo NS; Grupo Normonutridos + fluoxetina (10mg/kg de peso corporal) – Grupo NF; Grupo Supernutridos + veículo – Grupo SS; Grupo Supernutridos + fluoxetina = Grupo SF. Todos os grupos foram tratados diariamente por via subcutânea do 3º ao 21º dia de vida. No PND 21, todas as fêmeas foram desmamadas e alojadas em gaiolas com cinco animais por gaiola, recebendo água e ração comercial ad libitum até atingirem 30 dias de idade. O horário de aplicação nos animais correspondeu à segunda hora após início do ciclo escuro (da Silva *et al.*, 2015).

Figura 18 - Desenho experimental



Fonte: Autor (2024).

5.2 Avaliação do peso corporal

O peso foi monitorado em uma balança analítica (S-400 com capacidade de 400 gramas e legibilidade de 0,01 gramas) (da Silva *et al.*, 2015).

5.3 Índice de Lee

No dia da eutanásia, foram aferidos o comprimento nasoanal, peso corporal e foi calculado o índice de Lee, comparativamente entre os grupos de estudo. Este índice foi calculado dividindo-se a raiz cúbica do peso corporal (g) pelo comprimento nasoanal (cm) e multiplicando-se o resultado por 1000. Os resultados abaixo de 0,300 são considerados normais (Malafaia *et al.*, 2013).

5.4 Comportamento alimentar

A ingestão de alimentos das ratas foi medida pela pesagem da ração comercial ou cookies, entre os dias 21 à 24, os animais foram adaptados a dieta nos três primeiros dias. As ratas foram alocadas em gaiolas individuais e receberam labina ou alimento

palatável (biscoitos de chocolate - Chocookies; Nabisco®, East Hanover, NJ, EUA). Além disso, foi realizado o consumo dentro do ciclo circadiano, onde a dieta foi ofertada em um período de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão (um ciclo de 24 horas) entre 21 à 24 dias de idade, após 3 horas de privação de alimento (24° dia de idade) usando uma balança digital (Marte, modelo balança digital (Marte, modelo S-100 com 0,001 g de sensibilidade). Os resultados foram expressos como g (da Silva *et al.*, 2019).

5.5 *Avaliação bioquímica do sangue*

Ao trigésimo dias de idade, o sangue das ratas foi coletado para análise sérica de glicose, lipoproteína de alta densidade (HDL), triglicérides, e colesterol total. Após 5 minutos de centrifugação a 903 x g, as amostras foram analisadas no espectrofotômetro (IL-592, ELEVE, China) usando um kit de diagnóstico adquirido comercialmente (Biotecnic® - Minas Gerais, Brasil).

5.6 *Preparação das amostras para análises de estresse oxidativo*

Aos 30 dias de idade, as ratas foram eutanasiadas por decapitação, e as regiões cerebrais contendo o tronco encefálico e o hipotálamo foram rapidamente dissecadas e preservadas a - 80°C para análises posteriores. Os tecidos foram homogeneizados em tampão de extração (Tris Base 100 mM, pH 7,5; EDTA 10 mM; NP40 0,1% e os inibidores de protease ortovanadato de sódio 1 mM; PMSF 2 mM). Com a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm, a 4° C, durante 10 minutos e o sobrenadante foi submetido à quantificação de proteína. Todas as amostras foram acondicionadas em freezer -20°C durante os procedimentos experimentais (Braz *et al.*, 2020a).

5.7 *Dosagem de proteína*

A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford. O princípio do método baseia-se na determinação da concentração da absorbância do complexo proteína corante. Este complexo absorve em comprimento de onda de 595 nm. A absorbância é considerada diretamente proporcional à concentração de proteína na solução analisada, onde uma solução de BSA a 2% foi utilizada como padrão (Bradford, 1976).

5.8 *Razão NAD/NADH*

Os níveis de NAD⁺ e NADH foram determinados conforme descrito anteriormente. 100 µg de proteína por amostra foram incubadas com um tampão contendo 50 mM-TRIS, e 1mMEDTA (pH 7,4), as análises foram realizadas usando um espectrofotômetro (IL-592, ELEVE, China) em temperatura ambiente por 1 min. As absorvâncias foram lidas em dois comprimentos de onda, 260 nm e 340 nm, para NAD⁺ e NADH, respectivamente, para avaliar a cinética de oxidação do nucleotídeo de piridina (razão NAD⁺/NADH) (Lehninger, 1971).

5.9 *Atividade da enzima Citrato Sintase*

Para verificar a capacidade oxidativa e a função mitocondrial, foi avaliada a primeira enzima do ciclo de Krebs, a citrato sintase. A atividade foi avaliada utilizando um mix de reação contendo 100 mM de Tris-HCl (pH 8,2), 1 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 0,2 mM 5,5- ditio-bis (2-ácido nitrobenzóico), 3 mM Acetil-CoA, 5 mM de oxaloacetato e 200 µg de proteína. A reação foi efetuada a uma temperatura de 25 °C e a atividade foi medida através da avaliação da alteração da absorvância a 412 nm durante 3 minutos. Os níveis são expressos em miligrama de proteína. Este protocolo foi efetuado conforme descrito anteriormente por Le Page (Le Page *et al.*, 2009).

5.10 *Quantificação da produção de espécies reativas de oxigênio*

por meio de uma sonda fluorescente, foi mensurada a produção mitocondrial de espécies reativas. Essa mensuração foi feita a partir da incubação de amostras (200 µg) em tampão TRIS-HCL (40 mM) a pH 7,4; H₂DCFDA (10 µM) durante 30 minutos a 30°C. Após a incubação, a fluorescência das amostras foi medida num leitor de microplacas Varioskan (ThermoFisher, EUA) a 485 nm de excitação e 525 nm de emissão. Os resultados foram expressos em intensidade de fluorescência por miligrama de proteína (da Silva *et al.*, 2015).

5.11 *Avaliação dos níveis de Malondialdeído*

Para avaliar os níveis de Malondialdeído (MDA), um dos produtos da peroxidação lipídica, foram utilizados 200 µg de proteína que reagiram com ácido tiobarbitúrico (TBA). O MDA ou substâncias semelhantes ao MDA produzem um

pigmento cor-de-rosa com absorção máxima a 535 nm. A reação foi iniciada pela adição sequencial de ácido tricloroacético (TCA) a 30% e Tris-HCl (3mM) às amostras, seguida de centrifugação a 4000 RPM durante 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo, misturado com um volume igual de TBA a 0,8% (v/v) e fervido durante 30 minutos. A absorbância da fase orgânica foi lida a 535 nm num espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mM/mg de proteína (Buege; Aust, 1978).

5.12 *Avaliação do conteúdo de Carbonilas*

A oxidação de proteínas foi avaliada segundo Levine et al (1990). Para o efeito, foi adicionado 30% de TCA à amostra (200 µg de proteína), onde foi misturado e logo após centrifugado durante 15 minutos a 10000 RPM. O sedimento foi suspenso em 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) 10 mM e incubado imediatamente no escuro durante 1 hora, com agitação de 15 em 15 minutos. As amostras foram então centrifugadas e lavadas três vezes com o tampão etil/acetato, e o sedimento foi suspenso em cloridrato de guanidina 6 M. Em seguida, foi incubado durante 5 minutos num banho de água a 30°C. A absorbância foi lida a 370 nm e os resultados foram expressos em mM/mg de proteína (Levine *et al.*, 1990).

5.13 *Superóxido Dismutase (SOD)*

A atividade da SOD foi avaliada através do método de auto-oxidação da adrenalina. Para isso, os sobrenadantes (200 µg de proteína) foram incubados com 880 µl de carbonato de sódio (0,05%, pH 10,2, 0,1 mM EDTA) a 25°C, e a reação foi iniciada com 30 mM de epinefrina (em 0,05% de ácido acético). A cinética de inibição da auto-oxidação da adrenalina foi monitorizada durante 180 segundos a 480 nm. O resultado foi expresso em unidades por miligrama de proteína. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de proteína necessária para inibir a auto-oxidação de 1 µmol de epinefrina por minuto (Misra; Fridovich, 1972).

5.14 *Catalase (CAT)*

A atividade da catalase é diretamente proporcional a taxa de decomposição do

peróxido de hidrogênio, sendo assim, a atividade da enzima foi medida através da avaliação do consumo de peróxido pelo decréscimo na absorção a 240 nm. A atividade dessa enzima foi medida no ensaio que consiste em tampão fosfato 50 mM (pH 7,0), H₂O₂ a 0,300 mM e uma amostra (200 µg de proteína). Os resultados foram expressos em µ/mg de proteína. Uma unidade de catalase foi definida como quantidade de proteína requerida para converter 1 µmol de H₂O₂ em H₂O por minuto (Aebi, 1984).

5.15 *Glutaciona-S-transferase (GST)*

A atividade da enzima glutaciona-S-transferase (GST) foi determinada através do método espectrofotométrico que quantifica a formação do conjugado 2,4-dinitrofenil-S-glutaciona (DNP-SG). Para esta análise, foram utilizados 200 µg de proteína do sobrenadante tissular, diluídos em tampão fosfato 0,1 M (pH 6,5) contendo EDTA 1 mM, mantidos a 25°C. A reação enzimática foi iniciada pela adição dos substratos 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 1 mM e glutaciona reduzida (GSH) 1 mM. A cinética da reação foi monitorizada pela medida da absorbância a 340 nm, correspondente à formação do produto DNP-SG. Uma unidade de atividade de GST foi definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a formação de 1 µmol de DNP-SG por minuto nas condições experimentais estabelecidas (Habig; Pabst; Jakoby, 1974). Os resultados foram expressos em unidades de atividade enzimática por miligrama de proteína total (U/mg proteína).

5.16 *Glutaciona reduzida (GSH)*

A GSH foi mensurada pelo método descrito por Hissin e Hilf (1976). Foram utilizadas 200 µg de proteínas, tampão fosfato de sódio (pH 8,0) com EDTA, acrescida de OPT (ortoftaldeído) a (1 mg/ 1 ml de metanol), e incubada por 15 minutos em temperatura ambiente. A fluorescência foi determinada a 355 nm de excitação e 460nm de emissão no espectro de fluorescência Varioskan (Thermo Fisher, EUA). Também foi estabelecida uma curva de calibração utilizando diferentes concentrações de GSH. Os resultados foram expressos em µmol de GSH/mg de proteína (Hissin; Hilf, 1976).

5.17 *Glutaciona oxidada (GSSG)*

A GSSG foi avaliada a partir da incubação da amostra (200 µg de proteínas) com Nethylmaleimide (40 mM) por 30 minutos a temperatura ambiente e com adição do tampão fosfato de sódio (NaOH, 100 mM). As alíquotas foram incubadas com OPT, nas mesmas condições da GSH e com a fluorescência lida no espectro de fluorescência Varioskan (Thermo Fisher, EUA). Os valores da GSSG foram comparados com a curva padrão e o estado REDOX determinado pela razão de GSH/GSSG. Os resultados foram expressos em µmol de GSSG/mg de proteína (Hissin; Hilf, 1976).

5.18 *Níveis de tióis totais*

A quantificação de tióis baseou-se na redução de 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) por tióis. Em resumo, 200 µg de sobrenadante proteico foram misturados com 30 µl de DTNB 10 mM e incubados no escuro. Depois disso, foi adicionado um tampão de extração (pH 7,4) para obter um volume final de 1 mL. A absorbância foi medida a 412 nm, e os resultados foram expressos em mol/mg de proteína (Aksenov; Markesbery, 2001).

5.19 *Expressão do mRNA e Avaliação por RT-PCR*

O RNA total foi extraído dos tecidos com o reagente Trizol, utilizando o método do isotiocianato de guanidina (Chomczynski; Sacchi, 1987), de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). Os sedimentos de RNA foram lavados com etanol a 75%, centrifugados a 7500 x g durante 5 minutos a 4°C, secos ao ar e dissolvidos em água ultrapura tratada com DEPC. A quantificação do RNA foi efetuada em um espectrofotômetro (Thermo Scientific, EUA) e a pureza foi avaliada utilizando a razão de absorbância de 260/280 nm. Em seguida, foram realizadas reações de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real para β2-microglobulina (β2M), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (**Quadro 1**), utilizando o kit SuperScript® III Platinum® YBR® Green qRT-PCR (Invitrogen, EUA). As amostras foram processadas em duplicatas e os valores do ciclo limiar (Ct) de cada gene-alvo foram normalizados para o β2M Ct determinado nas mesmas amostras. A expressão relativa do RNAm foi determinada utilizando o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Tabela 1 - Desenho de primers utilizado para a realização dos experimentos da

Gene	Forward primer (5'- 3')	Reverse primer (3'- 5')
B2M	TGACCGTGATCTTTCTGGTG	ACTTGAATTTGGGGAGTTTTCTG
BDNF	ACGGTCACAGTCCTTGAAAAG	GGATTGCACTTGGTCTCGTA

Sequências de oligonucleotídeos iniciadores (primers) específicos utilizados para a amplificação por PCR dos genes B2M (β -2-microglobulina, gene de referência) e BDNF (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro) nos experimentos realizados. As sequências estão apresentadas no sentido 5'→3

5.20 *Análise estatística*

Os dados foram analisados usando o Excel 2010 (Washington, EUA) e o Graph Pad Prism 10 (GraphPad, La Jolla, CA, EUA). Como o número de animais nos grupos foi inferior a 10, os dados não atenderam aos pressupostos paramétricos. Os dados foram então expressos como medianas com suas respectivas pontuações mínima e máxima. Para comparar os grupos experimentais, foi feita uma análise de variância usando o teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas e pós-teste de Dunns. O nível de significância em todos os casos foi mantido em 5% para todas as análises.

6. RESULTADOS

6.1 *Peso corporal*

O peso corporal das ratas aos 30 dias de vida foi maior no grupo de ratas supernutridas do que no grupo de ratas normotricas, assim NS: 78,50 (73,00 - 85,00) e SS: 102,0 (90,00 - 102,0) com significância estatística ($p=0,047$) (Tabela 2).

6.2 *Índice de Lee*

O índice de Lee indica obesidade em ratos, descrito anteriormente por Lee (1928). Neste estudo, as ratas supernutridas também foram consideradas obesas porque, ao comparar as fêmeas dos grupos NS e SS, as últimas apresentaram valores de índice mais altos, NS: 288,0 (250,0 - 299,0), SS: 313,0 (300,0 - 338,0), com uma diferença estatística de ($p=0,001$). Além disso, o tratamento com fluoxetina reduziu os valores do índice no grupo SF de ratas quando comparado com as fêmeas do grupo SS, SS: 313,0 (300,0 - 338,0), SF: 291,5 (285,0 - 295,0), com uma significância de ($p=0,021$) (Tabela 2).

Tabela 2. Medidas murinométricas e perfil bioquímico em ratas com 30 dias de vida.

	Normo + Sal	Super + Sal	Normo + FX	Super + FX
Peso corporal (g)	78.50 (73.00 – 85.00)	102.0 (90.00 – 102.00) *	63.00 (60.00 – 64.00)	79.00 (75.00 – 86.00)
Índice de Lee (g/cm ³)	288.0 (250.0 – 299.0)	313.0 (300.0 – 338.0) *	290.0 (249.0 – 388.0)	291.5 (285.0 – 295.0) &
Glicose (mg/dL)	166.5 (160.2 – 175.8)	191.5 (187.3 – 229.7)	165.7 (139.4 – 184.3)	148.7 (135.6 – 154.2) &
Colesterol total (mg/dL)	68.56 (67.42 – 72.52)	81.02 (75.35 – 88.39)	65.16 (62.32 – 66.86)	56.66 (46.46 – 60.06) &
HDL (mg/dL)	95.82 (75.23 – 97.87)	94.79 (92.72 – 99.68)	84.08 (79.66 – 92.88)	78.98 (76.15 – 81.47)
Triglicerídeos (mg/dL)	73.33 (55.56 – 78.89)	72.22 (51.11 – 87.78)	66.67 (60.00 – 88.89)	66.67 (63.33 – 73.33)

Tabela 2. Peso corporal aos 30 dias de idade, índice de Lee e análise do soro de ratas normo ou supernutridas durante o período de lactação, tratadas ou não com fluoxetina. Os dados foram então expressos como medianas, pontuações mínimas e máximas. Para comparar os grupos experimentais, foi utilizada uma análise de variância usando o teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas e o pós-teste de Dunn. Para o peso corporal, o p foi *p<0,047 vs. NS; para o índice de Lee foi *p<0,001 vs. NS e &p<0,021 vs. SF; glicose &p<0,0007 vs. SF; colesterol total &p<0,0004 vs. SF; para HDL e triglicerídeos, os resultados não foram significativos (ns).

6.3 Comportamento alimentar

Nossa pesquisa revelou uma preferência significativa por alimentos mais palatáveis, como cookies, nas ratas do grupo SS. Elas consumiram uma quantidade maior de cookies em comparação com o grupo de ratas NS, com um valor de NS: 2,50 (2,00 - 3,00), SS: 3,91 (3,83 - 5,70, $p=0,013$, Figura 19 A). Além disso, as ratas do grupo SS comeram mais labina, um alimento menos palatável, do que as ratas do grupo NS, NS: 2,88 (2,00 - 2,90), SS: 3,20 (3,00 - 3,30), com significância ($p=0,018$). As ratas fêmeas do grupo SF comeram menos do que as ratas do grupo SS, SS: 3,20 (3,00 - 3,30) e SF: 1,20 (1,00 - 1,40), com uma significância de ($p=0,0002$). É interessante notar que as ratas do grupo NF comeram mais labina do que as ratas NS, NS: 2,88 (2,00 - 2,90) e NF: 3,11 (3,00 - 4,00). Por fim, as fêmeas do grupo SF comeram menos do que as ratas NF, NF: 3,11 (3,00 - 4,00) e SF: 1,20 (1,00 - 1,40), a significância foi respectivamente ($p=0,046$ e $p=0,0004$) (Figura 19B).

Em termos de consumo total, entre os cookies e a labina, as ratas supernutridas do grupo SS comeram mais do que as ratas do grupo NS, com NS: 5,38 (4,00 - 5,88) e SS: 7,03 (7,00 - 9,00). Além disso, as ratas do grupo SF comeram menos do que as ratas SS, assim SS: 7,03 (7,00 - 9,00) e SF: 3,70 (3,70 - 3,90), com significância ($p=0,045$; $p=0,0001$), respectivamente (Figura 19C).

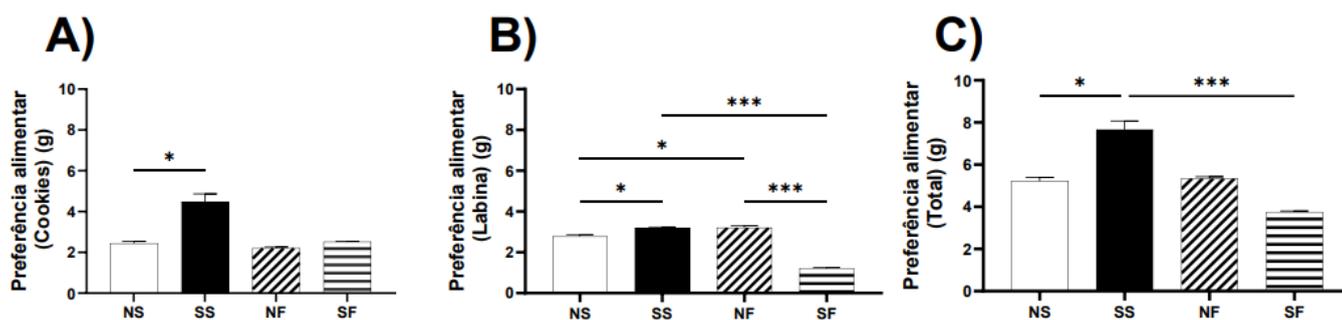


Figura 19. Comportamento alimentar em ratas normo ou supernutridas durante o período de lactação, tratadas ou não com fluoxetina. (a) Preferência alimentar (Cookies); (b) Preferência alimentar (labina); (c) Preferência alimentar (ingestão total). A distribuição dos dados foi verificada com o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram então expressos como medianas, pontuações mínimas e máximas. Para comparar os grupos experimentais, foi feita uma análise de variância usando o teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas e o pós-teste de Dunn. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$.

6.4 Análises bioquímicas no sangue

Os níveis de glicose no sangue foram reduzidos nas ratas SF em relação as ratas do grupo SS, com SS: 191,5 (187,3 - 229,7) e SF: 148,7 (135,6 - 154,2), com significância ($p=0,0007$). Os níveis de triglicerídeos e HDL não diferiram entre os grupos. Por fim, os níveis de colesterol total foram encontrados reduzidos nas ratas SF em comparação as ratas SS, com SS: 81,02 (75,35 - 88,39) e SF: 56,66 (46,46 - 60,06), sendo a significância ($p=0,0004$) (Tabela 2).

6.5 Função celular e mitocondrial do hipotálamo e tronco encefálico

Com relação à avaliação das coenzimas nos estados reduzido e oxidado, o conteúdo de NADH no hipotálamo não diferiu entre os grupos (Figura 20 A); entretanto, no tronco encefálico, o conteúdo dessa coenzima foi afetado pela supernutrição nas ratas SS em relação as ratas NS, com NS: 0,49 (0,40 - 1,33) e SS: 0,31 (0,08 - 0,49). Apesar da supernutrição, as ratas tratadas com fluoxetina foram capazes de mostrar níveis aumentados de NADH em comparação com o grupo de ratas SS, assim, SS: 0,31 (0,08 - 0,49) e SF: 0,80 (0,40 - 1,12), a significância foi de, respectivamente, ($p=0,032$; $p=0,004$) (Figura 20 B). O conteúdo de NAD⁺ não diferiu entre os grupos em nenhum dos tecidos avaliados (Figuras 20 C e D). A relação NAD⁺/NADH no hipotálamo não apresentou diferença (Figura 20 E); entretanto, no tronco encefálico essa relação foi maior no grupo de ratas SS do que no grupo SF, assim SS: 4,92 (4,36 - 8,00) e SF: 3,82 (3,57 - 3,83), com significância ($p=0,017$), foi também foi maior nas ratas fêmeas NF do que nas fêmeas do grupo SF, assim NF: 5,66 (4,05 - 7,14) e SF: 3,82 (3,57 - 3,83), com significância ($p=0,006$) (Figura 20 F).

A atividade da enzima citrato sintase apresentou menor atividade no hipotálamo de ratas SS em comparação com ratas NS, assim NS: 2,89 (1,13 - 3,49) e SS: 0,68 (0,19 - 2,08), a significância de ($p=0,048$). Além disso, as ratas NF apresentaram uma redução na atividade dessa enzima em comparação com o grupo de ratas NS, sendo NS: 2,89 (1,13 - 3,49) e NF: 0,91 (0,42 - 1,30), com significância ($p=0,036$) (Figura 20 G). No tronco encefálico, a atividade da enzima citrato foi menor nas ratas NF em comparação com as ratas NS; assim, NS: 1,11 (0,67 - 1,50) e NF: 0,52 (0,44 - 0,63), com significância de ($p=0,025$). Com relação à manipulação serotoninérgica, esse tratamento aumentou a atividade dessa enzima nas ratas fêmeas SF em comparação com NF, portanto, o grupo NF: 0,52 (0,44 - 0,63) e SF: 1,68 (1,29 - 2,29), também em relação às ratas do grupo SS, assim SS: 0,67 (0,33 - 0,74) e SF: 1,68 (1,29 - 2,29), com

significância, respectivamente, ($p=0,002$; $p=0,012$) (Figura 20 H).

Com relação à produção de espécies reativas totais no hipotálamo (Figura 20 I), as ratas do grupo SS produziram mais espécies reativas do que as ratas NS, assim, NS: 0,801 (0,708 - 0,860) e SS: 0,932 (0,887 – 0,946) ($p=0,003$). Além disso, as ratas NF produziram mais dessas moléculas do que as ratas NS, NS: 0,801 (0,708 - 0,860) e NF: 0,945 (0,924 - 0,959), com significância ($p = 0,004$). No tronco encefálico, as ratas NF apresentaram níveis mais altos de espécies reativas do que as ratas NS, NS: 0,879 (0,827 - 0,929) e NF: 0,936 (0,914 - 0,985), ($p=0,011$). Elas também apresentaram níveis mais altos do que as ratas do grupo SF, NF: 0,936 (0,914 - 0,985) e SF: 0,886 (0,865 - 0,918), com significância ($p=0,019$) (Figura 20 J).

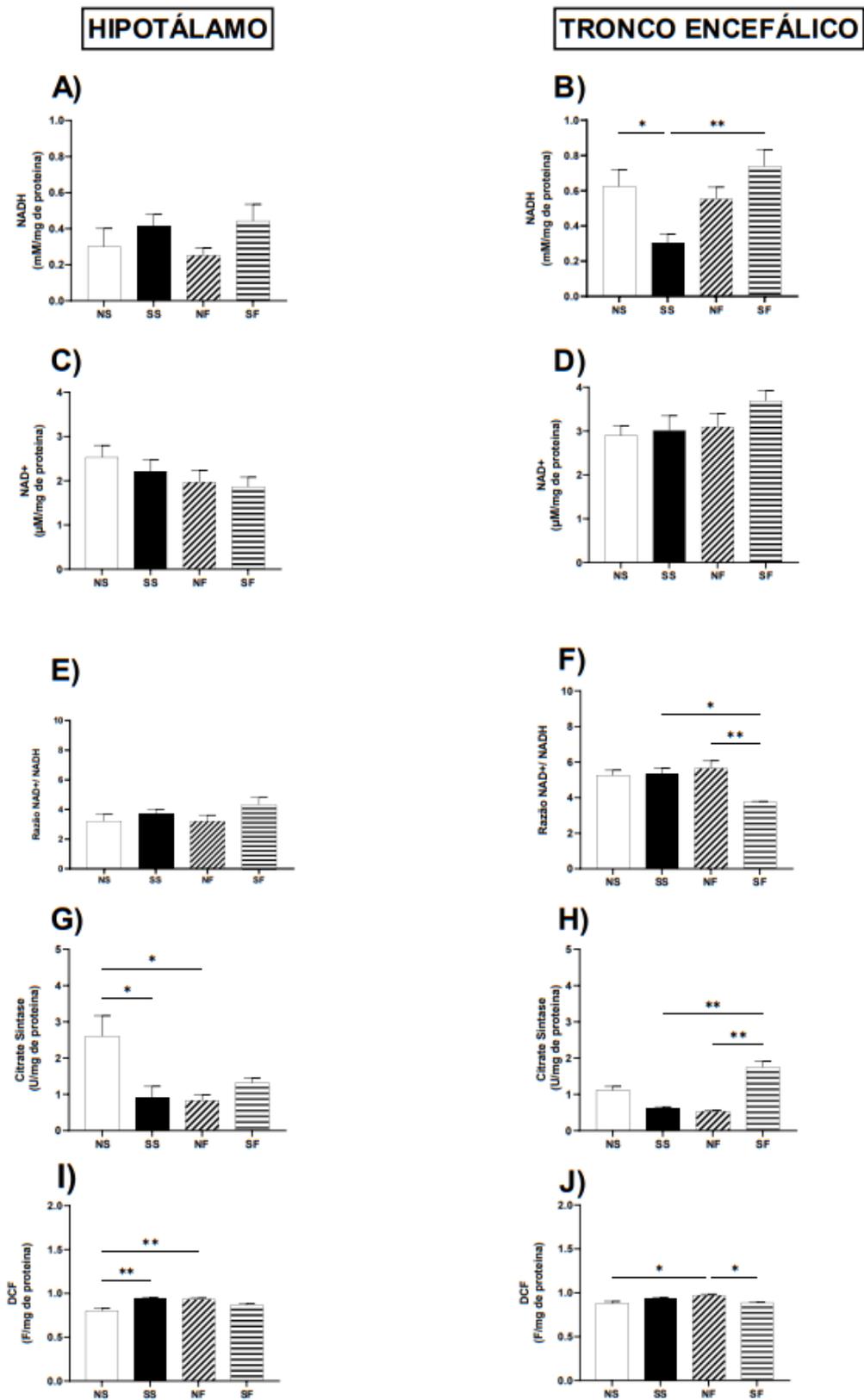


Figura 20. Função mitocondrial no hipotálamo e tronco encefálico de ratas normo ou supernutritas durante o período de lactação, tratadas ou não com fluoxetina (a) NADH no

hipotálamo; (b) NADH no tronco encefálico; (c) NAD⁺ no hipotálamo; (d) NAD⁺ no tronco encefálico. (e) Razão NAD⁺/NADH no hipotálamo; (f) Razão NAD⁺/NADH no tronco encefálico; (g) Atividade da enzima citrato sintase no hipotálamo; (h) Atividade da enzima citrato sintase no tronco encefálico; (i) Níveis de EROS no hipotálamo; (j) Níveis de EROS no tronco encefálico. Os dados foram então expressos como medianas, pontuações mínimas e máximas. Para comparar os grupos experimentais, foi utilizada uma análise de variância usando o teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas e pós-teste de Dunn. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$.

6.6 Biomarcadores de estresse oxidativo no hipotálamo e tronco encefálico

Em relação aos biomarcadores de estresse oxidativo, os níveis de malondialdeído, um marcador de peroxidação lipídica, foram maiores no hipotálamo de ratas NF, embora a manipulação serotoninérgica tenha conseguido reduzir esses níveis em ratas SF, portanto NF: 13,92 (10,33 - 15,33) e SF: 9,61 (8,46 - 12,18), com significância ($p=0,026$) (Figura 21 A). No entanto, no tronco encefálico, não houve diferença entre os grupos (Figura 21 B).

Quanto aos níveis de oxidação de proteínas no hipotálamo, as ratas do grupo SS apresentaram níveis mais elevados de oxidação de proteínas do que as ratas NS, assim, NS: 13,94 (12,73 - 25,45) e SS: 37,12 (33,33 - 42,12), com significância ($p=0,044$). O grupo das ratas NF também apresentaram níveis aumentados de danos, mas a manipulação serotoninérgica nas ratas supernutridas reduziu esse dano, com NF: 28,94 (17,58 - 30,30) e SF: 8,48 (6,06 - 10,91), ($p=0,041$). Além disso, a supernutrição em ratas SS aumentou a oxidação de proteínas, mas a manipulação serotoninérgica nesse grupo reduziu esse prejuízo, com SS: 37,12 (33,33 - 42,12) e SF: 8,48 (6,06 - 10,91) ($p=0,0001$) (Figura 21 C).

No tronco encefálico, à resposta à supernutrição foi semelhante em ratas fêmeas, onde o grupo SS apresentou níveis aumentados de dano proteico em comparação com o grupo NS, NS: 15,82 (14,55 - 16,18) e SS: 25,09 (22,36 - 30,91), ($p=0,042$), também apresentou níveis mais elevados do que as ratas SF, assim SS: 25,09 (22,36 - 30,91) e SF: 7,90 (5,82 - 11,27), ($p=0,0002$), o grupo NF também apresentou níveis mais altos de oxidação de proteínas em comparação com as ratas SF, assim NF: 22,91 (20,55 - 24,91) e SF: 7,90 (5,82 - 11,27), com significância ($p=0,008$) (Figura 21 D).

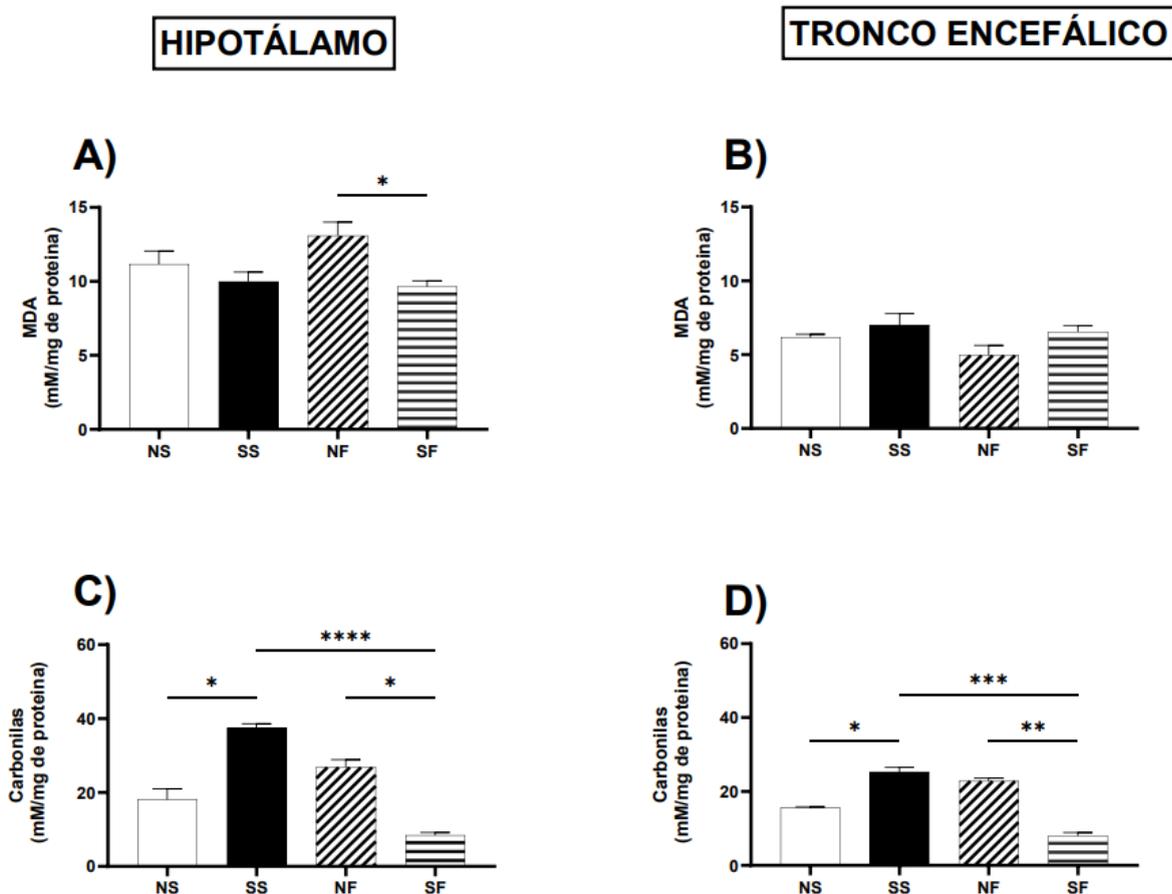


Figura 21. Biomarcadores de estresse oxidativo no hipotálamo e no tronco encefálico de ratas normo ou supernutridas durante o período de lactação, tratadas ou não com fluoxetina. (a) MDA no hipotálamo; (b) MDA no tronco encefálico; (c) Carbonilas no hipotálamo; (d) Carbonilas no tronco encefálico; os dados foram então expressos como medianas, pontuações mínimas e máximas. Para comparar os grupos experimentais, foi utilizada uma análise de variância usando o teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas e pós-teste de Dunn. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$.

6.7 Sistema antioxidante enzimático no hipotálamo e tronco encefálico

A atividade da enzima superóxido dismutase no hipotálamo foi maior nas ratas SS em comparação com as ratas NS, NS: 24,13 (17,38 - 43,95) e SS: 55,56 (47,93 - 69,49) ($p=0,032$) (Figura 22A). No tronco encefálico, essa enzima apresentou atividade mais significativa nas ratas SF do que nas ratas NF, NF: 8,91 (7,88 - 14,76) e SF: 30,60 (24,88 - 32,26) ($p=0,001$) (Figura 22B).

No hipotálamo, a atividade da enzima catalase, foi modulada positivamente pela manipulação serotoninérgica nas ratas do grupo SF em comparação com as ratas NF, NF: 240,5 (190,2 - 743,5) e SF: 807,9 (571,2 - 1092) e modulou positivamente em relação ao grupo SS, assim SS: 324,2 (250,0 - 553,4) e SF: 807,9 (571,2 - 1092), ($p=0,011$; $p=0,032$), respectivamente (Figura 22 C). No tronco encefálico, a atividade da

catalase seguiu a mesma tendência, uma vez que a manipulação serotoninérgica aumentou a atividade dessa enzima em ratas SF em comparação com as ratas NF, NF: 143,7(80,23–245,7) e SF: 463,9 (204,4–625,7), com significância ($p=0,013$), e também houve uma atividade mais significativa nas ratas SF em comparação com as ratas SS, assim SS:132,2 (77,50–197,6) e SF: 463,9 (204,4–625,7), com significância ($p=0,001$) (Figura 22 D).

A atividade da enzima Glutationa-S-transferase no hipotálamo foi menor nas ratas SS do que nas ratas NS, NS: 0,047 (0,031 - 0,051) e SS:0,019 (0,016 - 0,026), com significância ($p=0,035$) (Figura 22 E). No tronco encefálico, a atividade da enzima GST não mostrou diferença significativa entre os grupos (Figura 22 F).

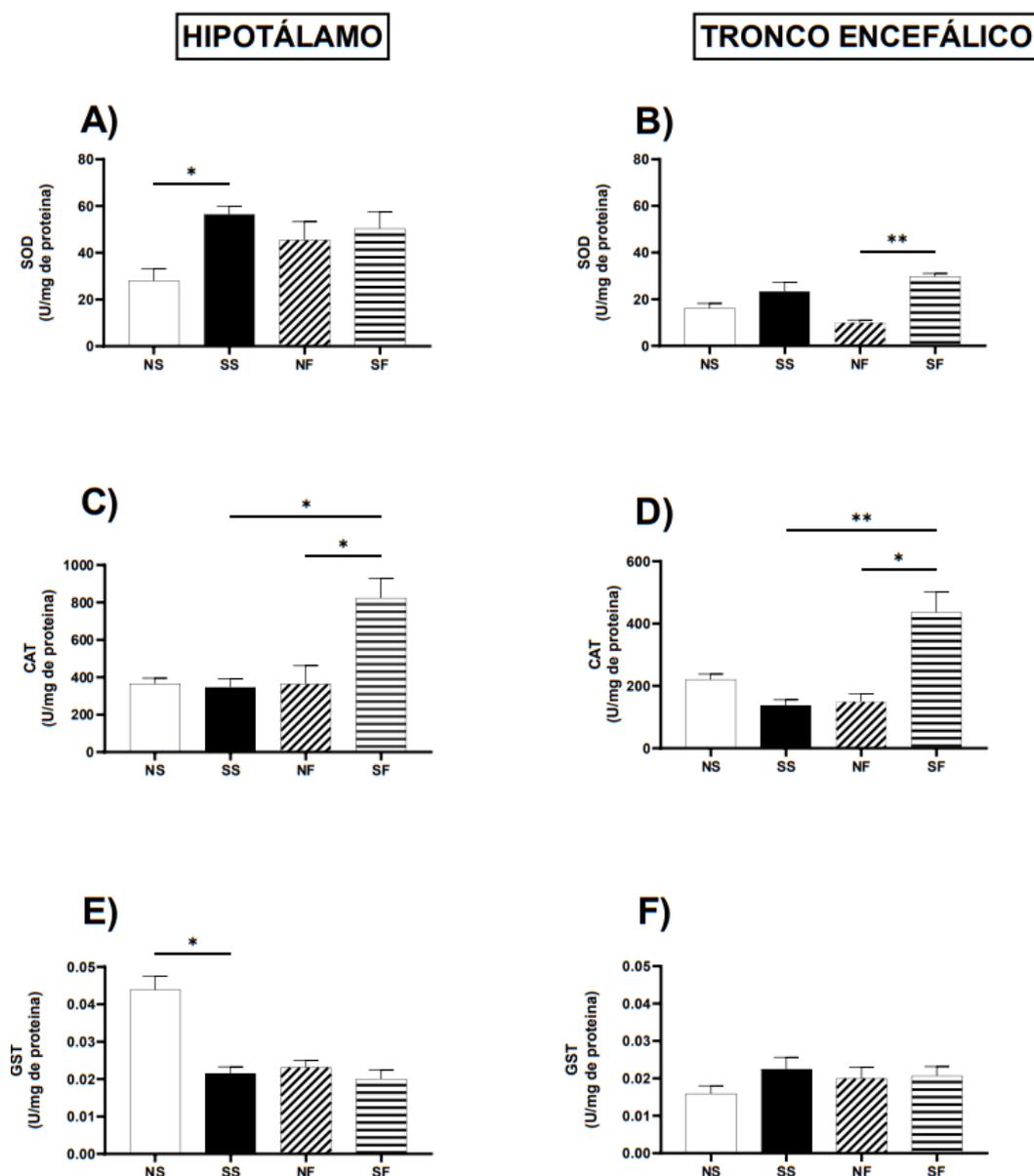


Figura 22. Atividade enzimática antioxidante no hipotálamo e tronco encefálico de ratas normo ou superalimentadas durante o período de lactação, tratadas ou não com fluoxetina. (a)

Atividade da SOD no hipotálamo; (b) Atividade da SOD no tronco encefálico; (c) Atividade da catalase no hipotálamo; (d) Atividade da catalase no tronco encefálico; (e) Atividade da GST no hipotálamo; (f) Atividade da GST no tronco encefálico. Os dados foram então expressos como medianas, pontuações mínimas e máximas. Para comparar os grupos experimentais, foi utilizada uma análise de variância usando o teste de KruskalWallis com comparações múltiplas e pós-teste de Dunn. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$.

6.8 Sistema antioxidante não-enzimático no hipotálamo e tronco encefálico

A GSH no hipotálamo apresentou níveis mais altos nas ratas SF quando comparadas às ratas SS, assim SS: 3,24 (3,01 - 3,85) e SF: 5,84 (3,93 - 7,47); além disso, também apresentou níveis reduzidos em relação as ratas NS, assim NS: 4,28 (3,95 - 5,83) e SS:3,24 (3,01 - 3,85), com significância ($p=0,031$ e $p=0,032$, respectivamente) (Figura 23 A). Não houve diferença entre os grupos de tronco encefálico (Figura 23 B). Quanto ao conteúdo de glutathiona oxidada, não houve diferença significativa entre os grupos nos dois tecidos (Figura 23 C, D). O estado REDOX no hipotálamo foi afetado pela supernutrição nas ratas SS, em relação ao grupo NS, NS: 454,8 (422,6 - 671,3) e SS: 335,6 (318,5 - 440,1), com significância ($p=0,044$) (Figura 23 E). No entanto, no tronco encefálico, não foi significativo (Figura 23 F).

No hipotálamo, os níveis de tióis totais foram menores nas ratas SS do que no grupo de ratas NS, NS: 0,015 (0,012 - 0,018) e SS: 0,012 (0,011 - 0,013), com significância ($p=0,017$). No tronco encefálico, o conteúdo de tióis foi significativamente maior nas ratas SF do que nas ratas NF, NF: 0,029 (0,020 - 0,031) e SF: 0,039 (0,036 - 0,064), com significância ($p=0,017$) (Figura 23 G, H).

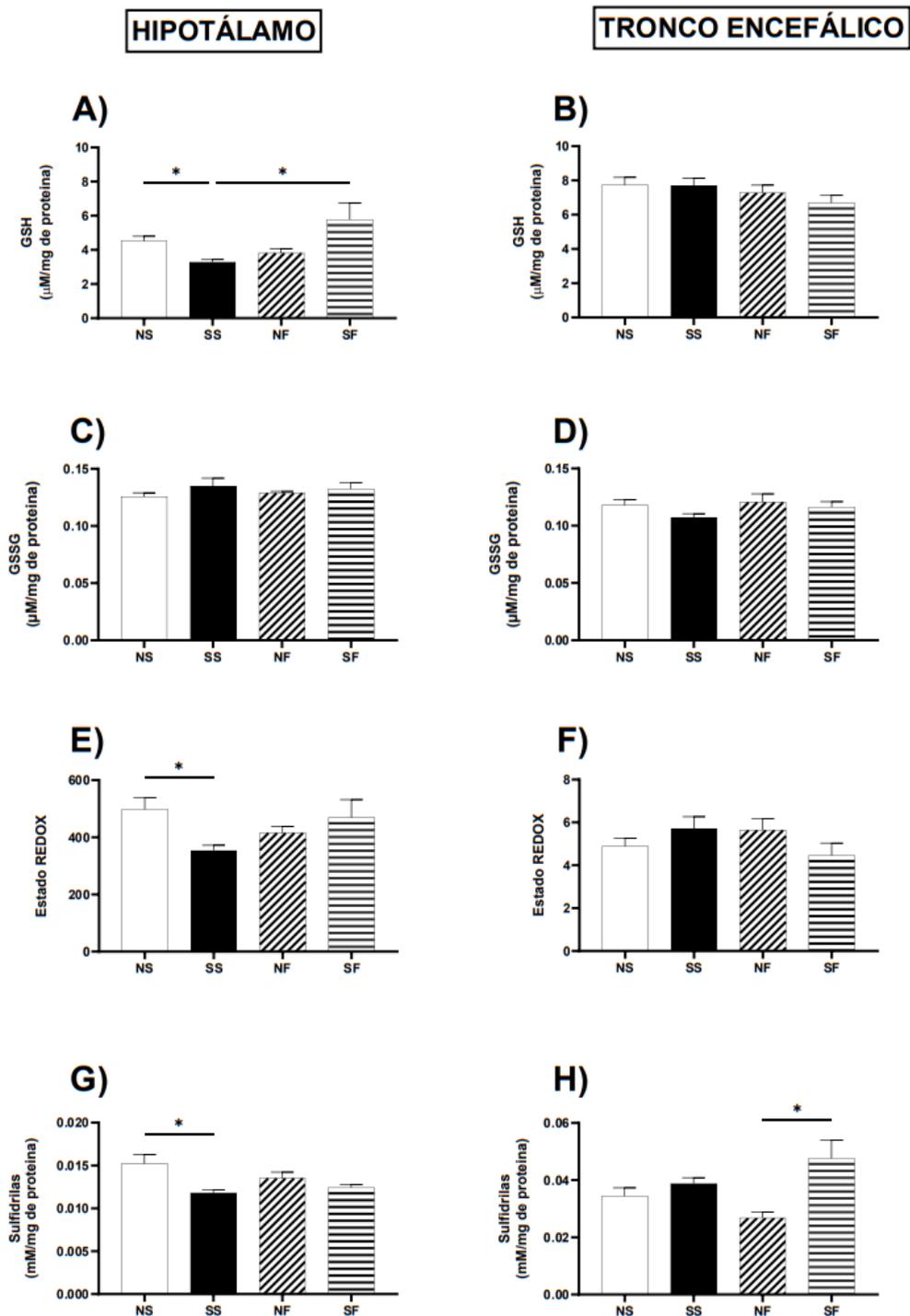


Figura 23. Sistema antioxidante não enzimático no hipotálamo e tronco encefálico de ratas normo ou supernutridas durante o período de lactação, tratadas ou não com fluoxetina. (a) Níveis de GSH no hipotálamo; (b) Níveis de GSH no tronco encefálico; (c) Níveis de GSSG no hipotálamo; (d) Níveis de GSSG no tronco encefálico; (e) Estado REDOX no hipotálamo; (f) Estado REDOX no tronco encefálico; (g) Conteúdo total de tiol no hipotálamo; (h) Conteúdo total de tiol no tronco encefálico. Os dados foram então expressos como medianas, pontuações mínimas e máximas. Para comparar os grupos experimentais, foi utilizada uma análise de variância usando o teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas e pós-teste de Dunn. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$.

6.9 Expressão gênica no hipotálamo e tronco encefálico

Quanto aos níveis de expressão gênica do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipotálamo constatamos que foram mais expressos nas ratas SF do que NF (SF: $2,000 \pm 0,100$; NF: $1,200 \pm 0,100$; $p=0,0173$; $n=4$) também foi maior em ratas SF do que SS (SF: $2,000 \pm 0,100$; SS: $0,700 \pm 0,200$; $p=0,0004$; $n=4$) (Figura 31 A). No tronco encefálico, observamos que a expressão desse gene foi maior nas fêmeas SF do que nas ratas do grupo NF (SF: $1,400 \pm 0,1000$; NF: $1,000 \pm 0,100$; $p=0,0411$; $n=4$) (Figura 31 B).

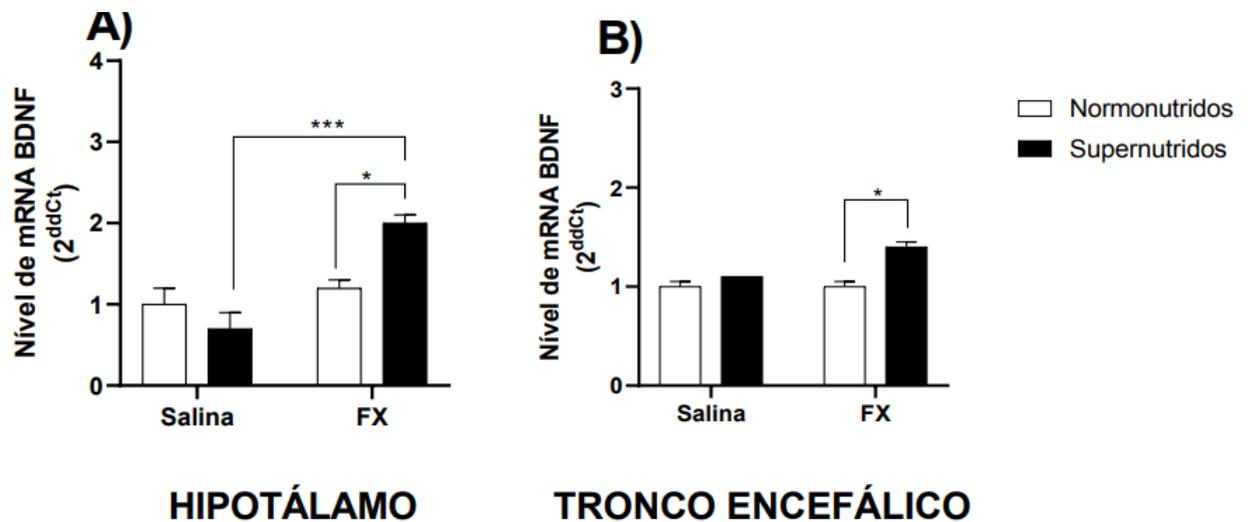


Figura 24. Expressão gênica no hipotálamo e tronco encefálico de ratas wistar aos 30 dias de vida. (a) Expressão do BDNF no hipotálamo. (b) Expressão do BDNF no tronco encefálico. Dados apresentados como média \pm SEM (N=4). Para comparação dos grupos pela ANOVA two-way seguidos de teste de Tukey para múltiplas comparações. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

7. DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliamos os efeitos da supernutrição durante o desenvolvimento em ratas fêmeas jovens em relação as alterações corporais e comportamentais, na função mitocondrial, no equilíbrio oxidativo e na expressão de genes envolvidos na neuroplasticidade no tronco encefálico e hipotálamo. A associação entre a ingestão excessiva de nutrientes no início da vida e os distúrbios metabólicos está gerando preocupações clínicas no mundo todo. O sobrepeso ou a obesidade, que estão positivamente associados a um desequilíbrio entre a ingestão de alimentos e o gasto de energia, são considerados fatores de risco para muitas doenças, entre elas as doenças neurológicas crônicas (Wen *et al.*, 2022).

Até o momento, estudos experimentais referentes aos efeitos da supernutrição e obesidade foram realizados apenas em ratos machos, mas no presente estudo, avaliamos os efeitos da supernutrição em ratas fêmeas, e observamos que a supernutrição durante o período de lactação resultou em um fenótipo obeso em ratas com 30 dias de idade. Além de aumentar o consumo de alimentos após o desmame, a supernutrição alterou os níveis plasmáticos de colesterol total e glicose, como também resultou em deficiências em termos de função mitocondrial, equilíbrio oxidativo e expressão gênica. O impacto geral do excesso de ingestão de nutrientes durante períodos críticos do desenvolvimento, caracterizado como supernutrição, é multifatorial e ainda precisa ser mais investigado. No entanto, a disfunção mitocondrial atrelado ao estresse oxidativo são relatados como mecanismos subjacentes a supernutrição e obesidade (Gambini; Stromsnes, 2022).

Entre os modelos de insultos nutricionais, Plagemann mimetizou em grupos experimentais, a supernutrição reduzindo o tamanho da ninhada, a fim de investigar as possíveis consequências permanentes da superalimentação pós-natal na prole (Plagemann *et al.*, 1992b). Nesse modelo, no período pós-desmame, geralmente os filhotes da ninhada reduzida têm um peso corporal maior em comparação com o grupo de controle (da Silva *et al.*, 2019; Braz *et al.*, 2020a). Além disso, a maior disponibilidade de leite materno pode levar a um maior consumo de alimentos e, conseqüentemente, ao excesso de peso (de Andrade *et al.*, 2021; Braz *et al.*, 2020b; Liu *et al.*, 2013). Essas observações são apoiadas pelo fato de que o rato recém-nascido não tem o controle da ingestão alimentar até o 14^o ou 16^o dia de vida pós-natal (McMillen; Adam; Mühlhäusler, 2005).

Isso ocorre porque o controle hipotalâmico no início da vida pós-natal ainda não

está totalmente estruturado (Miller; Aoki, 1992). Semelhante ao que foi observado anteriormente, a supernutrição em ratas fêmeas também aumentou o peso corporal. Esses achados estão de acordo com Braz *et al.*, (2020) e Silva *et al.*, (2021), cujo aumento do peso corporal está relacionado à grande oferta de leite materno e à consequente falta de sinalização de saciedade em ratos machos (Liu *et al.*, 2013).

Atualmente, estratégias estão sendo adotadas para o controle do peso corporal, dentre elas a utilização de fármacos da categoria dos Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina (ISRS), entre os quais a fluoxetina (nome comercial Prozac) se destaca entre os mais comercializados (Serralde-Zuñiga *et al.* 2022). Em estudos experimentais, com ratos machos supernutridos, já foi demonstrado que a manipulação serotoninérgica resultou na perda de peso em relação ao controle (Braz, *et al.*, 2020a; de Andrade Silva *et al.*, 2021; da Silva *et al.*, 2019). No presente estudo com fêmeas, observamos uma redução significativa do peso corporal nas ratas supernutridas tratadas com fluoxetina (SF) em relação as supernutridas (SS). A atenuação do ganho do peso corporal também foi percebida nas ratas normonutridas tratadas com fluoxetina (NF). Confirmando o efeito secundário do fármaco, já que o objetivo principal do medicamento é tratar transtornos psiquiátricos.

Outro indicador de excesso de peso é o índice de Lee, que é um índice usado para determinação da obesidade em ratos, cujo resultado configura o índice nutricional e a consequente medição da obesidade (Malafaia *et al.*, 2013), e pode ser considerado um indicador de alterações lipêmicas e glicêmicas. Em nosso estudo, o aumento do índice de Lee foi acompanhado por alterações no conteúdo de glicose e colesterol total plasmático nas fêmeas superalimentadas, corroborando o estudo de da Silva *et al.* (2019), que demonstrou que em ratos machos superalimentados apresentaram distúrbios metabólicos em relação aos níveis glicêmicos e lipídicos (da Silva *et al.* 2019). Padrões semelhantes de distúrbios metabólicos foi observado em estudos anteriores (Enes-Marques; Giusti-Paiva, 2018) e no estudo atual em ratas fêmeas, o que pode ser justificado pela disfunção mitocondrial e estresse oxidativo que podem contribuir para uma série de alterações metabólicas que resultam em níveis elevados de glicose e lipídios no sangue de ratos ou ratas obesos (as) (Ziomber-Lisiak *et al.*, 2022; Bhatti; Bhatti; Reddy, 2017).

Os altos índices glicêmicos e lipídicos observados na prole supernutrida corroboram também com estudos experimentais anteriores (Xavier *et al.*, 2019), que mostraram que a redução do tamanho da ninhada induz ajustes metabólicos e histológicos nas mães durante a lactação, com efeitos precoces na prole. Isso implicou

que as mães lactantes que superalimentaram tiveram alterações no conteúdo do leite, com maior valor energético, maior teor de gordura e maior teor de triglicérides (Xavier *et al.*, 2019), podendo influenciar diretamente a ingestão de nutrientes e hormônios que regulam o desenvolvimento metabólico, resultando em mudanças duradouras no peso corporal e na saúde metabólica da prole (Bokor *et al.*, 2024).

Destacamos que os níveis glicêmicos e lipêmicos foi reduzido a partir da administração da fluoxetina nas ratas supernutridas (SF) nesse estudo. Em estudos clínicos, a fluoxetina também apresentou um efeito positivo na melhoria do controle da glicemia e no controle do peso em pessoas obesas (Zhang *et al.*, 2022), sugerindo que esse efeito nos níveis sanguíneos também seja um importante efeito secundário desse fármaco.

A anormalidade nos níveis plasmáticos de glicose e colesterol total, nas ratas supernutridas (SS) está em sintonia com o maior consumo de alimentos palatáveis, como cookies, em comparação com ratas não obesas. Essa preferência por alimentos altamente palatáveis pode estar associada a alterações neurocomportamentais e metabólicas relacionadas à obesidade (Ali *et al.*, 2018), mostrando a complexidade das interações entre o SNC e a regulação do apetite. Em nosso estudo, nas ratas supernutridas observamos um aumento significativo no consumo de alimentos palatáveis, como cookies, em comparação com ratas controle. Além disso, as fêmeas obesas também consumiram mais ração padrão (Labina®) em comparação com o grupo de ratas não obesas, mostrando um comportamento hiperfágico associado a supernutrição no início da vida. Além disso, observamos que ratas obesas comem mais no geral em comparação com ratas não obesas. Esses resultados estão de acordo com os dados de da Silva *et al.*, (2019) e Silva *et al.*, (2021), sugerindo que a preferência por alimentos palatáveis e o aumento no consumo total de alimentos podem ser fenômenos observados em ambos os sexos, embora os estudos anteriores tenham sido realizados apenas em ratos machos.

Isso indica uma possível relação entre a obesidade e a resposta ao consumo de alimentos altamente palatáveis, independentemente do sexo dos animais (Stice *et al.*, 2009). Vale ressaltar, que uma das ações da fluoxetina, por meio da modulação dos níveis de serotonina, é controlar o apetite, o que pode causar uma redução da ingestão de alimentos e uma diminuição do peso corporal, resposta essa que observamos nas ratas normonutridas (NF) e supernutridas (SF), confirmando o papel da fluoxetina como um importante modulador do apetite independente do gênero do animal.

Conforme mencionado anteriormente já se sabe que a supernutrição e

obesidade induz alterações metabólicas que podem estar relacionadas a inúmeras doenças crônicas (Ahmed; Sultana; Greene, 2021). O principal sítio regulador e controlador do metabolismo celular são as mitocôndrias, uma vez que desempenham um papel fundamental na biologia da maioria das células eucarióticas, estando envolvidas na regulação do metabolismo, no controle da homeostase do cálcio intracelular, no início de reações inflamatórias e no controle de várias vias que influenciam a vida e a morte celular (Casanova *et al.*, 2023). Estudos demonstraram que o comprometimento mitocondrial devido à obesidade está intimamente associado ao remodelamento progressivo ou à falência de órgãos (Hadjispyrou *et al.*, 2023; Liao *et al.*, 2023).

No hipotálamo das ratas estudadas, verificamos que no contexto da função mitocondrial, não houve diferença nos conteúdos das coenzimas NAD⁺ e NADH. Entretanto, no tronco encefálico, o conteúdo de NADH foi reduzido nas fêmeas supernutridas. Vale a pena observar que a manipulação do sistema serotoninérgico conseguiu aumentar os níveis de NADH nessas ratas. A proporção de NAD⁺/NADH foi menor nas supernutridas tratadas com fluoxetina quando comparado com as fêmeas supernutridas (SS) e normonutridas (NF). Isso pode indicar um aumento na atividade metabólica relacionada à oxidação de substratos, uma vez que a relação NAD⁺ / NADH é necessário para o funcionamento adequado das reações de oxirredução celular (Xie *et al.*, 2020).

Ainda referente a função mitocondrial, avaliamos a atividade da enzima citrato sintase, uma das enzimas mais importantes do sistema oxidativo por ser a primeira enzima que catalisa as reações do ciclo do ácido cítrico; nossos dados mostraram que a atividade dessa enzima foi consistentemente afetada pela supernutrição no hipotálamo. No entanto, a atividade da enzima no tronco encefálico foi restaurada em fêmeas supernutridas tratadas com fluoxetina em comparação com seus controles. Esses resultados indicam uma resposta diferenciada da atividade da enzima citrato sintase à supernutrição e à manipulação serotoninérgica em diferentes regiões do cérebro. A redução da atividade dessa enzima nas fêmeas superalimentadas pode ser atribuída a alterações metabólicas e bioenergéticas associadas à obesidade (Marino *et al.*, 2025). Essa condição é frequentemente associada a disfunções metabólicas, como resistência à insulina e desregulação do metabolismo de lipídios e carboidratos, que podem afetar a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo energético, como a citrato sintase (Savage; Petersen; Shulman, 2007).

No tronco encefálico e no hipotálamo, observamos uma redução na atividade da

enzima citrato sintase nas ratas normonutridas tratadas com fluoxetina (NF), ao contrário do que foi observado por Silva et al. (2021) no córtex pré-frontal de ratos machos, onde houve um aumento na atividade dessa enzima aos 22 dias. Ainda não foi totalmente elucidado se esse aumento é dependente do tecido, da idade ou do sexo (de Andrade Silva *et al.*, 2021). No entanto, já se sabe que a manipulação do sistema serotoninérgico pode não ser benéfica em ratos eutróficos devido a um equilíbrio delicado na regulação dos neurotransmissores e da homeostase metabólica (Silva *et al.*, 2023; de Santana *et al.*, 2023; de Andrade Silva *et al.*, 2023; de Andrade Silva *et al.*, 2021; Braz *et al.*, 2020; Braz *et al.*, 2020b).

Durante a obesidade, é comum observar níveis aumentados de EROS (Braz *et al.*, 2020), entretanto ainda não se sabe, se é a causa ou o efeito da disfunção mitocondrial e do desequilíbrio no metabolismo celular causada pela obesidade (Kuznetsov *et al.*, 2022). As EROS são produtos naturais do metabolismo celular, mas, em excesso, podem levar ao estresse oxidativo, causando danos às biomoléculas e comprometendo a função mitocondrial (Hong *et al.*, 2024). O aumento da produção de EROS no hipotálamo de ratas supernutridas pode ser explicada provavelmente pela própria obesidade, já nas ratas normonutridas tratadas com fluoxetina, tanto no hipotálamo como no tronco encefálico, pelo insulto farmacológico. Outro possível mecanismo envolvido no aumento de EROS em ambos tecidos das ratas normonutridas tratadas com fluoxetina pode ser explicado pela redução da atividade da enzima citrato, uma vez que a disfunção mitocondrial pode resultar em dano celular (Chen; Zhao; Li, 2023; Chhimpa *et al.*, 2023).

Apesar desse possível mecanismo, não podemos descartar a possibilidade de haver mecanismos de regulação cruzada, uma vez que a expressão reduzida da citrato sintase pode levar à formação excessiva de superóxido e à apoptose celular (Cai *et al.*, 2017), em conjunto, podemos sugerir que a obesidade independente da espécie, gênero ou idade está associada ao aumento de EROS e que mais estudos faz-se necessário para se entender os mecanismos mais específicos atrelados a essa desordem molecular e celular.

As principais espécies reativas de oxigênio, como o O_2^- , H_2O_2 , e o radical hidroxila ($\cdot OH$), podem levar à peroxidação de lipídios e à oxidação de proteínas, levando ao quadro que é conhecido como estresse oxidativo (Aranda-Riveira *et al.*, 2022). Experimentalmente, a peroxidação lipídica pode ser avaliada pelos níveis de compostos que reagem com o ácido tiobarbitúrico, entre eles o malondialdeído; nas ratas avaliadas nesse estudo, não observamos diferença no hipotálamo das ratas

supernutridas, entretanto a manipulação serotoninérgica reduziu o dano lipídico nas fêmeas supernutridas tratadas com fluoxetina em comparação com as fêmeas normonutridas tratados com fluoxetina. No tronco encefálico, não houve diferença entre os grupos. Em geral, há diferenças entre os sexos na suscetibilidade à oxidação lipídica. As mulheres tendem a ter níveis mais altos de antioxidantes endógenos, bem como interferência hormonal, o que pode conferir proteção adicional contra a oxidação lipídica (Tiberi *et al.*, 2023) e justificando nossos dados principalmente no tronco encefálico.

Em adição as análises da peroxidação lipídica, avaliamos a oxidação de proteínas, cujo resultados em ambos os tecidos indicam um aumento dos danos as proteínas das ratas supernutridas, contudo o tratamento com a fluoxetina nas fêmeas contribuiu para a redução nos níveis de oxidação de proteínas quando comparado com ambos os grupos controle. É importante considerar que, apesar da proteção antioxidante conferida pelo estrogênio e outras propriedades físico-químicas que podem reduzir a oxidação lipídica, as mulheres ainda podem sofrer danos oxidativos em proteínas ou DNA devido a vários outros fatores, como estresse ambiental. Esses fatores podem incluir condições específicas, como inflamação crônica, excessos nutricionais ou exposição a agentes oxidantes exógenos, que podem desafiar a eficácia protetora do estrogênio e aumentar a oxidação de proteínas (Clarkson; Thompson, 2000).

A redução dos níveis de peroxidação de lipídios e o aumento dos níveis de oxidação de proteínas observados nesse estudo podem ser explicados pela afinidade do estrogênio contra a peroxidação de lipoproteínas e danos ao DNA (Sowers *et al.*, 2009; Wilson *et al.*, 2002). A proteção oferecida por esse hormônio em termos de peroxidação lipídica pode ser devida à sua capacidade de inibir a geração do radical superóxido e impedir a propagação da cadeia (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014; Tian *et al.*, 2016). Curiosamente, alguns estudos indicam que o estrogênio aumenta a expressão de enzimas antioxidantes, conferindo uma melhor resposta ao sistema antioxidante (Nilsen; Brinton, 2004; Chen; Nilsen; Brinton, 2006). Em nosso estudo, a atividade da enzima SOD apresentou diferenças específicas dependendo do tecido. No hipotálamo, a atividade foi aumentada em resposta à obesidade. No tronco encefálico, a atividade foi aumentada em resposta ao tratamento farmacológico, é importante pontuar que essa enzima é responsável por catalisar a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio (Kar; Bhandar; Kavdia, 2012), no entanto, a atividade da Superóxido dismutase deve ser acompanhada por um aumento da atividade da enzima catalase, que é responsável pela degradação do peróxido de hidrogênio (Nandi

et al., 2019). Assim, a SOD agiria como uma “faca de dois gumes” se não for acompanhada por um aumento na catalase ou demais enzimas com capacidade de detoxificar o peróxido de hidrogênio; aparentemente para o hipotálamo de ratas supernutridas, esse aumento da SOD pode justificar o aumento na peroxidação de proteínas, mas para afirmar categoricamente mais enzimas precisariam ser avaliadas.

Em ambos os tecidos, a atividade da catalase foi aumentada pela manipulação serotoninérgica em ratas supernutridas. Nossos resultados são apoiados por estudos semelhantes com ratos machos supernutridos, mostrando que o tratamento foi benéfico em termos de estimulação da atividade da catalase tanto no hipocampo de machos aos 22 dias (de Andrade *et al.*, 2023), como no hipotálamo e tronco encefálico de ratos machos aos 90 dias (de Santana *et al.*, 2023). A enzima glutathione S-transferase (GST) no hipotálamo apresentou menor atividade nas ratas supernutridas e normonutridas tratadas com fluoxetina, sinalizando menor atividade antioxidante nesses grupos de ratas, corroborando novamente com dados observados em machos supernutridos e avaliados aos 22 dias de vida (de Andrade Silva *et al.*, 2023), e novamente sugerindo que os efeitos deletérios da superalimentação durante o desenvolvimento independe de gênero e idade.

O sistema antioxidante é composto tanto pelas enzimas como por moléculas, que não são enzimas, mas tem a capacidade de neutralizar as EROS minimizando assim a ação deletéria dessas moléculas reativas. Entre as moléculas antioxidantes não enzimáticas, avaliamos os níveis de glutathione reduzida e tióis totais (-SH). Em relação a GSH, não observamos diferença no tronco encefálico; no entanto, no hipotálamo, observamos que a superalimentação afeta os níveis da glutathione, enquanto a manipulação serotoninérgica nas ratas supernutridas consegue restaurar os níveis da GSH. Acompanhado por essa diminuição, observamos uma diminuição significativa no status REDOX no grupo de ratas obesas; corroborando nossos resultados com dados anteriores da literatura que mostraram que a superalimentação diminui o status REDOX em machos com 22 dias (de Andrade *et al.*, 2023).

É importante destacar que a resposta ao insulto nutricional ou farmacológico pode ser dependente do tecido e da idade, entretanto, no geral a capacidade antioxidante é maior nas fêmeas (Katalinic *et al.*, 2005), sobretudo, há discussões de que o estrogênio, nas fêmeas, pode modular mais eficientemente o sistema enzimático de defesa (Strehlow *et al.*, 2003; Bellanti *et al.*, 2013). Além disso, pelo menos em ratos machos, a capacidade antioxidante foi aumentada pela manipulação serotoninérgica (Braz *et al.*, 2016).

No que se refere ao conteúdo de tióis totais (-SH), no hipotálamo observamos que nas ratas supernutridas ocorreu uma redução nos níveis de -SH, indicando uma diminuição na capacidade antioxidante nessas condições de superalimentação, e corroborando com estudos prévios (Çakırca *et al.*, 2023). Já no tronco encefálico, não observamos diferença nas fêmeas supernutridas, mas nas fêmeas supernutridas tratadas com fluoxetina os níveis desse marcador de defesa antioxidante foram elevados. Essas diferenças nas respostas antioxidantes entre o hipotálamo e o tronco encefálico podem ser devidas às diferentes funções e demandas metabólicas dessas regiões cerebrais, bem como à complexidade do sistema serotoninérgico e suas interações com outros sistemas neuromoduladores e vias metabólicas (Donovan; Tecott, 2013).

Estudos prévios sugerem que a uma alimentação desreguladas é capaz de danificar vias de neurotransmissores, como o sistema serotoninérgico além de alterar os níveis de BDNF por vários fatores (Sandrini *et al.*, 2018). O BDNF é uma proteína que desempenha um papel fundamental no desenvolvimento, crescimento e manutenção dos neurônios no SNC (Li *et al.*, 2022). Em nossos resultados, observamos apenas alteração nas ratas supernutridas tratadas com fluoxetina, em ambos tecidos avaliados, cujo resultados sugerem um aumento na expressão desse gene, que pode estar relacionado com a regulação do comportamento alimentar, uma vez que nas fêmeas supernutridas tratadas com fluoxetina observamos uma maior saciedade em comparação com as supernutridas salina, corroborando com estudos prévios (Taha *et al.*, 2022; de Andrade *et al.*, 2023). Mas como um ponto limitante de nosso estudo não avaliamos os níveis proteicos do BDNF, o que esperamos em um futuro poder fazer tanto em fêmeas como em machos submetidos a supernutrição e ao tratamento com fluoxetina, e além de avaliar a expressão gênica, avaliar também a expressão proteica do BDNF.

8. CONCLUSÃO

Portanto, esses achados sugerem que a supernutrição, durante a gestação e

lactação, ratas resulta em alterações fenotípicas, comportamentais, bioquímicas e moleculares, causando danos significativos a biomoléculas essenciais, além de prejudicar a atividade de enzimas antioxidantes e do metabolismo oxidativo. No entanto, a manipulação serotoninérgica demonstrou ser benéfica em ratas fêmeas supernutridas, melhorando a eficácia da atividade do sistema antioxidante, a atividade da enzima do metabolismo oxidativo (i.e., citrato sintase), aumentando a expressão do BDNF - gene associado à neurogênese e, conseqüentemente, reduzindo marcadores de estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEBAYO, Mary et al. Mitochondrial fusion and fission: The fine-tune balance for cellular homeostasis. **The FASEB Journal**, v. 35, n. 6, p. e21620, 2021.

AEBI, Hugo. [13] Catalase in vitro. In: Methods in enzymology. **Academic press**, 1984. p. 121-126.

AHMED, Bulbul; SULTANA, Rifat; GREENE, Michael W. Adipose tissue and insulin resistance in obese. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 137, p. 111315, 2021.

AKSENOV, Michael Y.; MARKESBERY, William R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience letters**, v. 302, n. 2-3, p. 141-145, 2001.

ALVARADO-CRUZ, Isabel et al. Environmental epigenetic changes, as risk factors for the development of diseases in children: a systematic review. **Annals of global health**, v. 84, n. 2, p. 212, 2018.

ARANDA-RIVERA, Ana Karina et al. RONS and oxidative stress: an overview of basic concepts. *Oxygen*, v. 2, n. 4, p. 437-478, 2022.

ARIMA, Yuichiro; FUKUOKA, Hideoki. Developmental origins of health and disease theory in cardiology. **Journal of Cardiology**, v. 76, n. 1, p. 14-17, 2020.

AVERILL-BATES, Diana. Reactive oxygen species and cell signaling. Review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, v. 1871, n. 2, p. 119573, 2024.

AYALA, Antonio; MUÑOZ, Mario F.; ARGÜELLES, Sandro. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, n. 1, p. 360438, 2014.

BAKSHI, Arjun; TADI, Prasanna. *Biochemistry, serotonin*. 2020.

BAMALAN, Omar A.; MOORE, Marlyn J.; AL KHALILI, Yasir. Physiology, serotonin. In: **StatPearls [internet]**. StatPearls Publishing, 2023.

BARKER, David J. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ: British Medical Journal*, v. 301, n. 6761, p. 1111, 1990.

BASINGER, Hayden; HOGG, Jeffery P. **Neuroanatomy, brainstem**. 2019.

BEAUCHAMP, Antoine et al. Whole-brain comparison of rodent and human brains using spatial transcriptomics. **elife**, v. 11, p. e79418, 2022.

BEERY, Annaliese K.; ZUCKER, Irving. Sex bias in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 3, p. 565-572, 2011.

BEKDASH, Rola A. Early life nutrition and mental health: the role of DNA methylation. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 3111, 2021.

BELLANTI, Francesco et al. Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: impact of estrogen therapy. *Redox biology*, v. 1, n. 1, p. 340-346, 2013.

BELUSKA-TURKAN, Katrina et al. Nutritional gaps and supplementation in the first 1000 days. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 2891, 2019.

BERNARDI, Paolo et al. Identity, structure, and function of the mitochondrial permeability transition pore: controversies, consensus, recent advances, and future directions. **Cell Death & Differentiation**, v. 30, n. 8, p. 1869-1885, 2023.

BHATTI, Jasvinder Singh; BHATTI, Gurjit Kaur; REDDY, P. Hemachandra. Mitochondrial

dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 5, p. 1066-1077, 2017.

BOKOR, Szilvia et al. Dietary nutrients during gestation cause obesity and related metabolic changes by altering DNA methylation in the offspring. **Frontiers in Endocrinology**, v. 15, p. 1287255, 2024.

BORRÁS, C. et al. Estrogen replacement therapy induces antioxidant and longevity-related genes in women after medically induced menopause. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2021, n. 1, p. 8101615, 2021.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRAZ, Glauber Ruda F. et al. Neonatal SSRI exposure improves mitochondrial function and antioxidant defense in rat heart. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 41, n. 4, p. 362-369, 2016.

BRAZ, Glauber Rudá Feitoza et al. Fluoxetine administration in juvenile overfed rats improves hypothalamic mitochondrial respiration and REDOX status and induces mitochondrial biogenesis transcriptional expression. **European Journal of Pharmacology**, v. 881, p. 173200, 2020.

BUEGE, John A.; AUST, Steven D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: Methods in enzymology. **Academic press**, 1978. p. 302-310.

CAI, Haijiang et al. Neural circuits regulation of satiation. **Appetite**, p. 107512, 2024.

CAI, Quanxiang et al. Reduced expression of citrate synthase leads to excessive superoxide formation and cell apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 485, n. 2, p. 388-394, 2017.

ÇAKIRCA, Gökhan et al. Thiol level and total oxidant/antioxidant status in patients with COVID-19 infection. **Irish Journal of Medical Science (1971-)**, p. 1-6, 2021.

ÇALIŞKAN, Betül et al. Antioxidant and Oxidative Stress. **Antioxidants—Benefits, Sources, Mechanisms of Action**, 2021.

CAMINERO, Francheska; CASCELLA, Marco. Neuroanatomy, mesencephalon midbrain. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2024.

CARNEIRO, Lionel; PELLERIN, Luc. Nutritional impact on metabolic homeostasis and brain health. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, p. 767405, 2022.

CASANOVA, Amaloha et al. Mitochondria: It is all about energy. **Frontiers in physiology**, v. 14, p. 1114231, 2023.

CHANDHOK, Gursimran; LAZAROU, Michael; NEUMANN, Brent. Structure, function, and regulation of mitofusin-2 in health and disease. **Biological Reviews**, v. 93, n. 2, p. 933-949, 2018.

CHEN, Shuhua; NILSEN, Jon; BRINTON, Roberta Diaz. Dose and temporal pattern of estrogen exposure determines neuroprotective outcome in hippocampal neurons: therapeutic implications. **Endocrinology**, v. 147, n. 11, p. 5303-5313, 2006.

CHEN, Wen; ZHAO, Huakan; LI, Yongsheng. Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 8, n. 1, p. 333, 2023.

CHHETRI, Parvat Kuwar; DAS, Joe M. Neuroanatomy, neural tube development and stages. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2023.

CHHIMPA, Neeraj et al. The novel role of mitochondrial citrate synthase and citrate in the pathophysiology of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 94, n. s1, p. S453-S472, 2023.

CHIAPPERINO, Luca; PANENI, Francesco. Why epigenetics is (not) a biosocial science and why that matters. **Clinical Epigenetics**, v. 14, n. 1, p. 144, 2022.

CHOMCZYNSKI, Piotr; SACCHI, Nicoletta. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Analytical biochemistry**, v. 162, n. 1, p. 156-159, 1987.

CLARKSON, Priscilla M.; THOMPSON, Heather S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. **The American journal of clinical nutrition**, v. 72, n. 2, p. 637S-646S, 2000.

CORTÉS-ALBORNOZ, María Camila et al. Maternal nutrition and neurodevelopment: a scoping review. **Nutrients**, v. 13, n. 10, p. 3530, 2021.

DA SILVA, Aline Isabel et al. Body composition, biochemical, behavioral and molecular alterations in overfed rats after chronic exposure to SSRI. **Behavioural Brain Research**, v. 356, p. 62-70, 2019.

DA SILVA, Aline Isabel et al. Effect of fluoxetine treatment on mitochondrial bioenergetics in central and peripheral rat tissues. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 40, n. 6, p. 565-574, 2015.

DE ANDRADE SILVA, Severina Cassia et al. Overfeeding during development induces temporally-dependent changes in areas controlling food intake in the brains of male Wistar rats. **Life Sciences**, v. 285, p. 119951, 2021.

DE ANDRADE SILVA, Severina Cassia et al. The immediate effect of overnutrition and fluoxetine treatment during the critical period of development on the hippocampus. **Neurochemistry International**, v. 162, p. 105454, 2023.

DE LEEUW, Victoria C. et al. Neuronal differentiation pathways and compound-induced developmental neurotoxicity in the human neural progenitor cell test (hNPT) revealed by RNA-seq. **Chemosphere**, v. 304, p. 135298, 2022.

DE SANTANA, Jonata Henrique et al. Effects of fluoxetine withdrawal in the brainstem and hypothalamus of overnourished rats: Chronic modulation on oxidative stress levels.

DOMINGUES, Rafael R.; WILTBANK, Milo C.; HERNANDEZ, Laura L. Maternal serotonin: implications for the use of selective serotonin reuptake inhibitors during gestation. **Biology of Reproduction**, v. 109, n. 1, p. 17-28, 2023.

DOMÍNGUEZ-OLIVA, Adriana et al. The importance of animal models in biomedical research: current insights and applications. **Animals**, v. 13, n. 7, p. 1223, 2023.

DONOVAN, Michael H.; TECOTT, Laurence H. Serotonin and the regulation of mammalian

energy balance. **Frontiers in neuroscience**, v. 7, p. 36, 2013.

ELSHAZZLY, Mohamed et al. Embryology, central nervous system. 2018.

ENES-MARQUES, Silvia; GIUSTI-PAIVA, Alexandre. Litter size reduction accentuates maternal care and alters behavioral and physiological phenotypes in rat adult offspring. **The journal of physiological sciences**, v. 68, n. 6, p. 789-798, 2018.

FANIBUNDA, Sashaina E. et al. Serotonin regulates mitochondrial biogenesis and function in rodent cortical neurons via the 5-HT_{2A} receptor and SIRT1–PGC-1 α axis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 22, p. 11028-11037, 2019.

FRANZAGO, Marica et al. Nutrigenetics, epigenetics and gestational diabetes: consequences in mother and child. **Epigenetics**, v. 14, n. 3, p. 215-235, 2019.

GAMBINI, Juan; STROMSNES, Kristine. Oxidative stress and inflammation: from mechanisms to therapeutic approaches. **Biomedicines**, v. 10, n. 4, p. 753, 2022.

GAO, Song; HU, Junjie. Mitochondrial fusion: the machineries in and out. **Trends in cell biology**, v. 31, n. 1, p. 62-74, 2021.

GASMI, Amin et al. Neurotransmitters regulation and food intake: The role of dietary sources in neurotransmission. **Molecules**, v. 28, n. 1, p. 210, 2022.

GE, Yifan et al. Two forms of Opa1 cooperate to complete fusion of the mitochondrial inner-membrane. **elife**, v. 9, p. e50973, 2020.

GORELICK, Philip B. et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. **stroke**, v. 42, n. 9, p. 2672-2713, 2011.

GREEN, Adam; HOSSAIN, Tanvir; ECKMANN, David M. Mitochondrial dynamics involves molecular and mechanical events in motility, fusion and fission. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 1010232, 2022.

HABBANE, Mouna et al. Human mitochondrial DNA: particularities and diseases. **Biomedicines**, v. 9, n. 10, p. 1364, 2021.

HABIG, William H.; PABST, Michael J.; JAKOBY, William B. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HADDERS-ALGRA, Mijna. Early human motor development: From variation to the ability to vary and adapt. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 90, p. 411-427, 2018.

HADI, Rhonda; MELUMAD, Shiri; PARK, Eric S. The Metaverse: A new digital frontier for consumer behavior. **Journal of Consumer Psychology**, v. 34, n. 1, p. 142-166, 2024.

HADJISPYROU, Spyridon et al. Mitochondrial dysfunction and sarcopenic obesity: the role of exercise. **Journal of clinical medicine**, v. 12, n. 17, p. 5628, 2023.

HAMMES, Stephen R. et al. Impact of estrogens in males and androgens in females. **The Journal of clinical investigation**, v. 129, n. 5, p. 1818-1826, 2019.

HARMANCIOĞLU, Begüm; KABARAN, Seray. Maternal high fat diets: Impacts on offspring obesity and epigenetic hypothalamic programming. **Frontiers in genetics**, v. 14, p. 1158089, 2023.

HASSAN, Huda A.; AHMED, Hind Sh; HASSAN, Dheefaf F. Free radicals and oxidative stress: Mechanisms and therapeutic targets. **Human Antibodies**, v. 32, n. 4, p. 151-167, 2024.

HAWKEY, Andrew B. et al. Persistent neurobehavioral and neurochemical anomalies in middle-aged rats after maternal diazinon exposure. **Toxicology**, v. 472, p. 153189, 2022.

HISSIN, Paul J.; HILF, Russell. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical biochemistry**, v. 74, n. 1, p. 214-226, 1976.

HONG, Yuhang et al. Reactive oxygen species signaling and oxidative stress: transcriptional regulation and evolution. **Antioxidants**, v. 13, n. 3, p. 312, 2024.

HORN-BOCHTLER, Anja KE; BÜTTNER-ENNEVER, Jean A. Neuroanatomy of the Brainstem. **Brainstem Disorders**, p. 1-35, 2011.

HWANG, Hye M.; KU, Ray Y.; HASHIMOTO-TORII, Kazue. Prenatal environment that affects neuronal migration. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 7, p. 138, 2019.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria journal of medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

IORDANOVA, Radostina; REDDIVARI, Anil Kumar Reddy. Neuroanatomy, medulla oblongata. 2019.

ITOH, Noriko et al. Sex differences in the neuronal transcriptome and synaptic mitochondrial function in the cerebral cortex of a multiple sclerosis model. **Frontiers in Neurology**, v. 14, p. 1268411, 2023.

JAN, Rehmat et al. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 9, n. 2, p. 205, 2019.

JENKINS, Kirsten et al. Energy justice: A conceptual review. **Energy research & social science**, v. 11, p. 174-182, 2016.

JUAN, Celia Andrés et al. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 9, p. 4642, 2021.

JUNIOR, Osmar Henrique Dos Santos et al. Effects of serotonergic manipulation in the brainstem and hypothalamus of overnourished rats during lactation. **Life Sciences**, v. 358, p. 123179, 2024.

KAARNIRANTA, Kai et al. Mechanisms of mitochondrial dysfunction and their impact on age-related macular degeneration. **Progress in retinal and eye research**, v. 79, p. 100858, 2020.

KAJIKAWA, Masato; HIGASHI, Yukihiro. Obesity and endothelial function. **Biomedicines**, v. 10, n. 7, p. 1745, 2022.

KANOVA, Marcela; KOHOUT, Pavel. Serotonin—Its synthesis and roles in the healthy and the critically ill. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 9, p. 4837, 2021.

KAPOOR, Nitin; ARORA, Saurabh; KALRA, Sanjay. Gender disparities in people living with obesity—an uncharted territory. **Journal of mid-life health**, v. 12, n. 2, p. 103-107, 2021.

KAR, Saptarshi; BHANDAR, Bhagyesh; KAVDIA, Mahendra. Impact of SOD in eNOS

uncoupling: a two-edged sword between hydrogen peroxide and peroxyxynitrite. **Free Radical Research**, v. 46, n. 12, p. 1496-1513, 2012.

KATALINIC, V. et al. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 140, n. 1, p. 47-52, 2005.

KHODAI, Tansi; LUCKMAN, Simon M. Ventromedial nucleus of the hypothalamus neurons under the magnifying glass. **Endocrinology**, v. 162, n. 10, p. bqab141, 2021.

KLECKER, Till; WESTERMANN, Benedikt. Pathways shaping the mitochondrial inner membrane. **Open Biology**, v. 11, n. 12, p. 210238, 2021.

KORF, Horst-Werner; MØLLER, Morten. Arcuate nucleus, median eminence, and hypophysial pars tuberalis. **Handbook of clinical neurology**, v. 180, p. 227-251, 2021.

KUZIKOV, Alexey V. et al. Electrochemical oxidation of estrogens as a method for CYP19A1 (aromatase) electrocatalytic activity determination. **Electrochimica Acta**, v. 333, p. 135539, 2020.

KUZNETSOVA, Aleksandra A. et al. Insight into the mechanism of DNA synthesis by human terminal deoxynucleotidyltransferase. **Life science alliance**, v. 5, n. 12, 2022.

LAGRANHA, Claudia J. et al. Protective effects of estrogen against cardiovascular disease mediated via oxidative stress in the brain. **Life sciences**, v. 192, p. 190-198, 2018.

LE PAGE, Christine et al. Exercise training improves functional post-ischemic recovery in senescent heart. **Experimental gerontology**, v. 44, n. 3, p. 177-182, 2009.

LEHNINGER, Albert L.; CARAFOLI, Ernesto. The interaction of La³⁺ with mitochondria in relation to respiration-coupled Ca²⁺ transport. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 143, n. 2, p. 506-515, 1971.

LEVINE, Rodney L. et al. [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In: *Methods in enzymology*. **Academic Press**, 1990. p. 464-478.

LI, Yiyi et al. The role of brain derived neurotrophic factor in central nervous system. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 14, p. 986443, 2022.

LIAO, Tingfeng et al. Mitochondrial disorders as a mechanism for the development of obese Sarcopenia. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 15, n. 1, p. 224, 2023.

LIU, Hung-Wen et al. Adult-onset obesity induced by early life overnutrition could be reversed by moderate caloric restriction. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 305, n. 7, p. E785-E794, 2013.

LIU, Yi; ZHAO, Jingping; GUO, Wenbin. Emotional roles of mono-aminergic neurotransmitters in major depressive disorder and anxiety disorders. **Frontiers in psychology**, v. 9, p. 2201, 2018.

LOCHMANN, Dee; RICHARDSON, Tara. Selective serotonin reuptake inhibitors. **Antidepressants: From biogenic amines to new mechanisms of action**, p. 135-144, 2019.

LUDWIG, Parker E.; REDDY, Vamsi; VARACALLO, Matthew A. Neuroanatomy, neurons. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2023.

MA, Melinda A.; MORRISON, Elizabeth H. Neuroanatomy, nucleus suprachiasmatic. 2019.

MALAFIA, Andressa Bressan et al. Obesity induction with high fat sucrose in rats. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 26, p. 17-21, 2013.

MARINO, Francesca et al. From Obesity to Mitochondrial Dysfunction in Peripheral Tissues and in the Central Nervous System. **Biomolecules**, v. 15, n. 5, p. 638, 2025.

MASENGA, Sepiso K. et al. Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 9, p. 7898, 2023.

MCMILLEN, I. Caroline; ADAM, Clare L.; MÜHLHÄUSLER, Beverly S. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. **The Journal of physiology**, v. 565, n. 1, p. 9-17, 2005.

MILLER, LD Pozzo; AOKI, Agustin. Postnatal development of the hypothalamic ventromedial nucleus: neurons and synapses. **Cell Mol Neurobiol**, v. 12, p. 121-129, 1992.

MISRA, Hara P.; FRIDOVICH, Irwin. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

MIWA, Satomi et al. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. **The Journal of clinical investigation**, v. 132, n. 13, 2022.

MONCRIEFF, Joanna et al. The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. **Molecular psychiatry**, v. 28, n. 8, p. 3243-3256, 2023.

MORENO-FERNANDEZ, Jorge et al. Impact of early nutrition, physical activity and sleep on the fetal programming of disease in the pregnancy: a narrative review. **Nutrients**, v. 12, n. 12, p. 3900, 2020.

MOULLÉ, Valentine Suzanne; PARNET, Patricia. Effects of nutrient intake during pregnancy and lactation on the endocrine pancreas of the offspring. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 2708, 2019.

MUNTEANU, Camelia; SCHWARTZ, Betty. The relationship between nutrition and the immune system. **Frontiers in nutrition**, v. 9, p. 1082500, 2022.

MURNANE, Kevin Sean. Serotonin 2A receptors are a stress response system: implications for post-traumatic stress disorder. **Behavioural pharmacology**, v. 30, n. 2 and 3, p. 151-162, 2019.

MURPHY, Michael P. et al. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. **Nature metabolism**, v. 4, n. 6, p. 651-662, 2022.

NAMKUNG, Jun; KIM, Hail; PARK, Sangkyu. Peripheral serotonin: a new player in systemic energy homeostasis. **Molecules and Cells**, v. 38, n. 12, p. 1023-1028, 2015.

NANDI, Ankita et al. Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, n. 1, p. 9613090, 2019.

NGUYEN, Thanh T. et al. Mitochondria-associated programmed cell death as a therapeutic target for age-related disease. **Experimental & molecular medicine**, v. 55, n. 8, p. 1595-1619, 2023.

NILSEN, Jon; BRINTON, Roberta D. Mitochondria as therapeutic targets of estrogen action in the central nervous system. **Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders**, v. 3, n. 4, p.

297-313, 2004.

PANDEY, Kanti Bhooshan; RIZVI, Syed Ibrahim. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2, n. 5, p. 270-278, 2009.

PANUGANTI, Kiran K. et al. Obesity (nursing). 2021.

PICARD, Martin; SHIRIHAI, Orian S. Mitochondrial signal transduction. **Cell metabolism**, v. 34, n. 11, p. 1620-1653, 2022.

PICCA, Anna et al. Mitochondrial signatures in circulating extracellular vesicles of older adults with Parkinson's disease: Results from the EXosomes in PArkiNson's Disease (EXPAND) study. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 2, p. 504, 2020.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena et al. Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 209, p. 112891, 2021.

PLAGEMANN, A. et al. Obesity and enhanced diabetes and cardiovascular risk in adult rats due to early postnatal overfeeding. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 99, n. 03, p. 154-158, 1992.

POURHAMZEH, Mahsa et al. The roles of serotonin in neuropsychiatric disorders. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 42, n. 6, p. 1671-1692, 2022.

PRUTEANU, Lavinia Lorena et al. The biochemistry and effectiveness of antioxidants in food, fruits, and marine algae. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 860, 2023.

QIN, Cheng; LI, Jiaheng; TANG, Ke. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: development, function, and human diseases. **Endocrinology**, v. 159, n. 9, p. 3458-3472, 2018.

RAHMAN, Masum; TADI, Prasanna. Neuroanatomy, pons. 2020.

REDDAM, Aalekhya; MCLARNAN, Sarah; KUPSCO, Allison. Environmental chemical exposures and mitochondrial dysfunction: a review of recent literature. **Current environmental health reports**, v. 9, n. 4, p. 631-649, 2022.

RIEGGER, Jana et al. Oxidative stress as a key modulator of cell fate decision in osteoarthritis and osteoporosis: a narrative review. **Cellular & molecular biology letters**, v. 28, n. 1, p. 76, 2023.

RIOS, Luis et al. Targeting an allosteric site in dynamin-related protein 1 to inhibit Fis1-mediated mitochondrial dysfunction. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 4356, 2023.

RISTORI, Jiska et al. Brain sex differences related to gender identity development: genes or hormones?. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 6, p. 2123, 2020.

RYZHKOVA, Anastasia I. et al. Mitochondrial diseases caused by mtDNA mutations: a mini review. **Therapeutics and clinical risk management**, p. 1933-1942, 2018.

SANDRINI, Marco; CARONNI, Antonio; CORBO, Massimo. Modulating reconsolidation with non-invasive brain stimulation—where we stand and future directions. **Frontiers in psychology**, v. 9, p. 1430, 2018.

SAN-MILLÁN, Iñigo. The key role of mitochondrial function in health and disease. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 782, 2023.

SANTOS-SÁNCHEZ, Norma Francenia et al. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. **IntechOpen**, 2019.

SAVAGE, David B.; PETERSEN, Kitt Falk; SHULMAN, Gerald I. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. **Physiological reviews**, v. 87, n. 2, p. 507-520, 2007.

SCHERER, Thomas; SAKAMOTO, Kenichi; BUETTNER, Christoph. Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 8, p. 468-483, 2021.

SHIN, Yurim; KIM, Seungjik; SOHN, Jong-Woo. Serotonergic regulation of appetite and sodium appetite. **Journal of neuroendocrinology**, v. 35, n. 9, p. e13328, 2023.

SIMÕES-ALVES, Aiany C. et al. Neonatal treatment with fluoxetine improves mitochondrial respiration and reduces oxidative stress in liver of adult rats. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 8, p. 6555-6565, 2018.

SOHEL, Ahsan J. et al. Fluoxetine. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2024.

SOWERS, MaryFran et al. Oestrogen metabolites in relation to isoprostanes as a measure of oxidative stress. **Clinical endocrinology**, v. 68, n. 5, p. 806-813, 2008.

STICE, Eric et al. An effectiveness trial of a dissonance-based eating disorder prevention program for high-risk adolescent girls. **Journal of consulting and clinical psychology**, v. 77, n. 5, p. 825, 2009.

STREHLOW, Kerstin et al. Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. **Circulation research**, v. 93, n. 2, p. 170-177, 2003.

ŠVOB ŠTRAC, Dubravka; PIVAC, Nela; MÜCK-ŠELER, Dorotea. The serotonergic system and cognitive function. **Translational neuroscience**, v. 7, n. 1, p. 35-49, 2016.

TAHA, Murtada A. et al. The association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein level and body mass index. **Medicina**, v. 59, n. 1, p. 99, 2022.

TIAN, Hui et al. Estrogen potentiates reactive oxygen species (ROS) tolerance to initiate carcinogenesis and promote cancer malignant transformation. **Tumor Biology**, v. 37, p. 141-150, 2016.

TIBERI, Jessica et al. Sex differences in antioxidant defence and the regulation of redox homeostasis in physiology and pathology. **Mechanisms of ageing and development**, v. 211, p. 111802, 2023.

TIFFON, Céline. The impact of nutrition and environmental epigenetics on human health and disease. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 11, p. 3425, 2018.

TIRICHEN, Hasna et al. Mitochondrial reactive oxygen species and their contribution in chronic kidney disease progression through oxidative stress. **Frontiers in physiology**, v. 12, p. 627837, 2021.

VALDEBENITO, Gabriel E.; CHACKO, Anitta R.; DUCHEN, Michael R. The mitochondrial ATP synthase as an ATP consumer—a surprising therapeutic target. **The EMBO Journal**, v. 42, n. 10, p. e114141, 2023.

VAN GALEN, Katy A.; TER HORST, Kasper W.; SERLIE, Mireille J. Serotonin, food intake, and obesity. **Obesity Reviews**, v. 22, n. 7, p. e13210, 2021.

VIJAYAKUMAR, Nandita et al. Puberty and the human brain: Insights into adolescent development. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 92, p. 417-436, 2018.

VONA, Rosa et al. The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. **Antioxidants**, v. 10, n. 2, p. 201, 2021.

WALKER, Emily P.; TADI, Prasanna. Neuroanatomy, nucleus raphe. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2023.

WEN, Xue et al. Signaling pathways in obesity: mechanisms and therapeutic interventions. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 7, n. 1, p. 298, 2022.

WILKINSON, John L. et al. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 8, p. e2113947119, 2022.

WILSON, Ted et al. Antioxidant effects of phyto-and synthetic-estrogens on cupric ion-induced oxidation of human low-density lipoproteins in vitro. **Life Sciences**, v. 70, n. 19, p. 2287-2297, 2002.

XAVIER, João Lucas P. et al. Litter size reduction induces metabolic and histological adjustments in dams throughout lactation with early effects on offspring. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 01, p. e20170971, 2019.

XIE, Na et al. NAD⁺ metabolism: pathophysiologic mechanisms and therapeutic potential. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 5, n. 1, p. 227, 2020.

YANG, Shenshu; LIAN, Gaojian. ROS and diseases: Role in metabolism and energy supply. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 467, p. 1-12, 2020.

YAPA, Nethmi MB et al. Mitochondrial dynamics in health and disease. **FEBS letters**, v. 595, n. 8, p. 1184-1204, 2021.

YOUNUS, Hina. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. **International journal of health sciences**, v. 12, n. 3, p. 88, 2018.

ZAMAN, Mashiat; SHUTT, Timothy E. The role of impaired mitochondrial dynamics in MFN2-mediated pathology. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 10, p. 858286, 2022.

ZELCO, Aura; WAPEESITTIPAN, Pattama; JOSHI, Anagha. Insights into sex and gender differences in brain and psychopathologies using big data. **Life**, v. 13, n. 8, p. 1676, 2023.

ZERIHUN, Mulate; SUKUMARAN, Surya; QVIT, Nir. The Drp1-mediated mitochondrial fission protein interactome as an emerging core player in mitochondrial dynamics and cardiovascular disease therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5785, 2023.

ZHANG, Qin et al. Overnutrition induced cognitive impairment: insulin resistance, gut-brain axis, and neuroinflammation. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16, p. 884579, 2022.

ZHANG, Qin et al. Overnutrition induced cognitive impairment: insulin resistance, gut-brain axis, and neuroinflammation. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16, p. 884579, 2022.

ZHANG, Zizhen et al. Effects of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on glucose metabolism: A systematic review. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 73, p. 103092, 2022.

ZIOMBER-LISIAK, Agata et al. Repetitive transcranial direct current stimulation modulates the brain–gut–microbiome axis in obese rodents. **Pharmacological Reports**, v. 74, n. 5, p. 871-889, 2022.

ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 27 de junho de 2023

Ofício nº 48/23

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

Para: Prof. Cláudia Jacques Lagranha

Centro Acadêmico de Vitória(CAV)

Processo nº 0013/2023

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação dos efeitos da manipulação serotoninérgica nas áreas centrais autonômicas de ratas supernutridas durante a lactação**”, Registrado com o nº 0013/2023 sob a responsabilidade de **Prof. Cláudia Jacques Lagranha** o 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 27/06/2023

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	30/06/2023 a 31/12/2025
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	144 animais, (progenitores: 36 prole:108 animais Wistar Neonatos)
Peso/Idade	180-240g/ 70-100 dias e 120-170g/ 60 dias
Sexo	Macho () e Fêmea ()
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia UFPE.

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691