UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

EFEITO DOS AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS D_1 E D_2 NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR HEDÔNICO EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL

RECIFE

2012

Martimiano, Paula Honório de Melo

Efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 no comportamento alimentar hedônico em ratos adultos submetidos à desnutrição protéica perinatal / Paula Honório de Melo Martimiano . – Recife: O Autor, 2012.

79 folhas: il., fig.,; 30 cm

.

Orientador: Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2012.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Desnutrição perinatal. 2. Receptor D_1. 3. Receptor D_2. 4. Motivação. 5. Alimento palatável I. Freitas, Manuela Figueiroa Lyra de. II.Título.

UFPE

616.399 CDD (20.ed.) CCS2012-020

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

EFEITO DOS AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS D_1 E D_2 NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR HEDÔNICO EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL

Dissertação aprovada em: 03 de fevereiro de 2012

Banca examinadora:

_____

Profª Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho.

_____

Profª Dra. Carolina Peixoto Magalhães.

_____

Profª Dr. Mario Ribeiro De Melo-Júnior

Recife
2012

Aos Meus Pais, Argeu Martimiano e Tereza Martiminano

Essa é mais uma conquista dedicada a vocês. Vocês que me propiciaram uma vida digna onde eu pudesse crescer, acreditando que tudo é possível, desde que sejamos honestos, íntegros de caráter e tendo a convicção de que desistir nunca é uma ação contínua em nossas vidas; que sonhar e concretizar os sonhos só depende de nossa vontade. Tento retribuir o amor que vocês me deram com o melhor que consigo e faço o possível para deixa-los orgulhosos. Apesar da vida não ser fácil para nós, tentemos olhar sempre o lado positivo e sorrir para as coisas boas que nos cercam. Aprendi com minha mãe que é sempre preciso ter fé e com meu pai que a dedicação e confiança nos impulsionam. Levo isso no coração.

A vida passa rápido, espero tê-los sempre ao meu lado.
Minha maior felicidade em ter concluído o mestrado é ver o sorriso no rosto de vocês dois. Esse é um momento feliz!
Amo vocês, obrigada por tudo, painho e mainha.

Ao meu grupo de pesquisa

Pelos bons tempos vividos nesses dois anos. Por terem me ensinado tantas coisas e me ajudado tanto sem pedir nada em troca. Por terem acreditado em mim e me dado força para vencer essa luta. Com toda certeza, eu não teria conseguido sem todas vocês.
E o mais importante que posso tirar disso tudo foi nossa AMIZADE CONSTRUÍDA.

Minha profunda gratidão por terem feito desse trabalho, um grande trabalho.

Agradecimentos

É muito bom dizer **obrigada** a tanta gente que, neste período, em que se é acometido de tantos surtos de tristezas, incapacidades, euforias, incertezas, cansaço, alegrias, conseguiu se manter simplesmente presente. Por isso, as homenagens.

Á Manuela Figueiroa Lyra de Feitas,
Por você ter sido muito mais do que uma orientadora, uma amiga e tanto. Esteve comigo em todos os momentos, desde os experimentos no biotério até a última palavra escrita nessa dissertação. Durante esses dois anos, uma semana sem se ver ou se falar era impossível. Uma pessoa dedicada ao que se propõe fazer. Inteligente, responsável e sempre foi bastante carinhosa comigo. Manu é uma pessoa verdadeiramente humana, tem um coração enorme e consegue transmitir isso por onde passa. Tive muita sorte em encontrar você no meu caminho, Deus me deu um presente e sei que teremos muitas histórias para construir juntas. O que escrevo é muito pouco diante do que você merece. Muito, muito obrigada por tudo!

À Sandra Lopes de Souza,
Segurança, confiança, perseverança e trabalho em grupo. Essas são as palavras que a definem perfeitamente. Em pouco tempo pude compreender toda admiração que todos têm por ela e hoje estou feliz por ter por perto sua grandeza de conduta e seu espírito cativante. A quem dedico minha admiração como pesquisadora e minha gratidão como pessoa.

À Renata Campina
Por ter pegado na minha mão e me ensinado a "andar". Foram tantos quilos de dieta, tantas lavagens de gaiolas, tanta faxina no biotério, tanta ajuda nos experimentos, tanta presença em minha vida em poucos meses de convivência. A pessoa mais camarada que já conheci. A pessoa que me ajudou em tudo, independente da força que fosse preciso fazer. A boa vontade admirável. A simpatia em pessoa. O sorriso contagiante. O alto astral do anexo. Minha eterna gratidão a você, Renatita, que esteve comigo quando eu mais precisei na pesquisa e sem medir esforços, me ajudou a construir um sonho. Mesmo você estando longe, você jamais seria esquecida. Muito obrigada, parceira!

À Amanda Marcelino

Pela confiança depositada em mim. Por arrumar tempo onde não tinha. Por me escutar e sugerir suas ideias mirabolantes. Pela certeza transmitida até quando tudo estava incerto. Pela sua competência e presença diária nessa jornada. Muito Obrigada.

À Lívia de Almeida

Pela paciência e pensamento positivo. Por estar disponível para qualquer coisa e em qualquer momento que eu precisasse. Pela amizade construída durante a execução desse estudo. Por lutar comigo na seleção do doutorado e ter vencido. Muito Obrigada.

À Larissa Almeida

Pela sua atmosfera. Pelas suas palavras profundas, sempre ditas com tanta força, vontade e certeza. Por juntar todas nós, amigas, segurar nossas mãos e repetir quantas vezes fosse preciso: "Nós Vamos conseguir". E eu consegui, Lara! Muito Obrigada.

À Tássia

Por sua competência, seriedade e postura de uma pesquisadora exemplar. Por meu ajudar a acreditar em nós mesmos. Pela sua forte personalidade. Por ser mais uma peça do quebra cabeça e ter ajudado a monta-lo. Muito Obrigada.

À Taisy Ferro

Pela sua companhia e amizade. Por torcer por mim e acreditar que eu sou capaz. Muito Obrigada.

À Isabeli Lins

Por ter me ajudado a construir essa dissertação. Muito Obrigada.

À Lígia Câmara

Pelo espírito de grupo. Por me apoiar. Transmitir-me guarra pra vencer os obstáculos. Por ter me dito que temos que acreditar e admirar nosso trabalho com toda froça. Muito Obrigada.

Á Matilde

Pelo seu bom humor, pelos elogios e por passar tanta paz durante todos esses meses. Por ser sincera e mostrar onde devemos melhorar. Pelas suas palavras construtivas e pelos momentos engraçados que só você pode proporcionar. Muito Obrigada.

À Bruno Souza, Diogo Melo e Gilberto Roberto

Pela ajuda nos experimentos, pelas exaustivas horas no biotério, pelos horários cumpridos, pela responsabilidade necessária. Vocês, com certeza, lutaram junto a mim para execução dessa pesquisa e sua grata pela dedicação de cada um. Esse trabalho também pertence a vocês. Muito Obrigada.

Ao meu amor, Leandro Albuquerque

Por ter sempre acreditado em mim e me apoiado meus sonhos e minhas ideias. Pela paciência em ter me escutado todas as noites. Por ter dado suas opiniões sempre tão cabíveis e necessárias. Por estar comigo e enfrentar, mesmo a distância, esse desafio. Por me amar como eu amo... e me fazer feliz!

A Universidade Federal de Pernambuco

Por ter me oferecido a estrutura suficiente de seguir meus objetivos.

A CAPES pelo apoio financeiro.

“Ser estrela neste mundo passageiro, neste mundo cheio de pessoas cometas é um desafio, mas, acima de tudo, uma RECOMPENSA!”

Reinilson Câmara

Resumo

A desnutrição perinatal produz hiperfagia e aumento dos níveis de dopamina encefálica. Os receptores D_1 e D_2 estão envolvidos no consumo de alimentos palatáveis. O conhecimento de mecanismos neurais que definem a preferência por esse tipo de alimento e a relação desses mecanismos com o ambiente precoce pode ser alvo para prevenção e tratamento da síndrome metabólica. O trabalho avaliou o efeito da desnutrição protéica perinatal sobre a função dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 na motivação e no consumo de alimentos palatáveis. Foram utilizados ratos *Wistar* divididos segundo a dieta oferecida às mães durante o período perinatal: Normonutrido e Desnutrido. Foram avaliados: Peso corporal; Comportamento motivacional diante de recompensa alimentar; Ingestão de alimento palatável sob efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2. Foi observado que o peso corporal dos animais desnutridos se manteve menor quando comparado ao controle. Os animais desnutridos ingeriram maior quantidade de alimento palatável durante o período de teste. A aplicação dos agonistas D_1 e D_2 reduziu o consumo de dieta palatável em ambos os grupos, entretanto, o efeito anoréctico do agonista D_1 foi atenuado pela desnutrição. Durante o teste de motivação, os animais desnutridos foram mais motivados para reagir à recompensa. Esse resultado foi acentuado após aplicação do agonista D_1. Portanto**,** a desnutrição perinatal estimula os componentes motivacionais do comportamento alimentar reduzindo a ação hipofágica da dopamina sobre D1, aumentando o consumo de alimentos palatáveis.

Palavras-Chave: Desnutrição Perinatal, Receptor D1, Receptor D2, Motivação, Alimento Palatável.

Abstract

Malnutrition during critical periods of development has been associated with high risk of developing obesity, diabetes and cardiovascular disease in adulthood. In animals, perinatal nutrition produces hyperphagia and persistent increased levels of dopamine in the brain. Dopamine is one of the classic neurotransmitters acting on the central nervous system and dopamine D1 and D2 are known to be particularly involved in the consumption of palatable foods. As currently observed, the world's population, a high consumption of energy-dense foods rich in lipids and carbohydrates, the knowledge of neural mechanisms that define the preference for such foods, as well as understanding the relationship of these mechanisms with early nutritional environment, may be an important target for prevention and treatment of obesity and its associated diseases. **Objective:** To evaluate, in adult rats, the effect of perinatal protein malnutrition on the function of D1 and D2 dopamine receptors in motivation and energy-dense food consumption. **Method:** We used Wistar rats were divided into two groups according to the diet offered to mothers during pregnancy and lactation: Control (C, diet with 17% casein) and Low protein (LP diet with 8% casein). We evaluated: a) Body weight between 15 and 120 days old. b) Motivational behavior for food reward, through the Task Runway. This test was conducted from 60 to 82 days of life, including 11 alternate sessions of training, where the animal was exposed to the reward for 5min. c) Ingestion of palatable food under the effect of D1 and D2 dopamine agonists. **Result**: Body weight of malnourished animals remained lower when compared with animals normonutridos of 30 to 120 days. The malnourished animals ingested a greater amount of palatable food during the test period. The application of the D1 and D2 agonists reduced the intake of palatable diet normonutrido and malnourished groups, however, the anorectic effect of the D1 agonist was attenuated in malnourished animals. During the test of motivation, the malnourished animals is shown more motivated to respond to reward when compared with the group normonutrido. This result was enhanced after application of the D1 agonist. **Conclusion:** The perinatal malnutrition stimulates the motivational components of feeding behavior, reducing the hypophagic action of dopamine D1 receptor, contributing to the increased consumption of palatable foods.

Keywords: Perinatal malnutrition, D1 receptor, D2 receptor, motivation, Palatable Food.

Lista de ilustrações

Figura 1. Via de sinalização dos receptores dopaminérgicos D1 acoplados a proteína G 23

Figura 2. Via de sinalização dos receptores dopaminérgicos D2 acoplados a proteína G 38

Figura 3: Representação esquemática da estrutura do *runway test* 43

Figura 4. Esquema de treino do teste de motivação.....45

Lista de Ilustrações do artigo de revisão

Figura 1. Fluxograma dos artigos utilizados para elaboração do artigo de revisão sistemática 34

Lista de Ilustrações do artigo original

Figura 1. Peso corporal médio dos filhotes machos nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação.....64

Figura 2**.** Ingestão alimentar dos filhotes machos, aos 60 dias de vida, nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação.....64

Figura 3. Efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre o consumo de alimento palatável em animais que foram submetidos à desnutrição perinatal.....65

Figure 4. Efeito da desnutrição perinatal sobre o número e duração de distrações durante do teste de motivação dos 70 aos 92 dias de vida de animais submetidos à desnutrição perinatal.....66

Figure 5. Efeito da desnutrição perinatal sobre o tempo de latência para consumir a recompensa durante do teste de motivação dos 70 aos 92 dias de vida de animais submetidos à desnutrição perinatal.....67

Figure 6. Efeito da desnutrição perinatal sobre a velocidade no teste de motivação realizado aos 70 aos 92 dias de vida de animais submetidos à desnutrição perinatal.....67

Figura 7 A-B. Efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre a motivação e aprendizado dos animais submetidos à desnutrição perinatal.....68

Figura 8: Esquema de treino do teste de motivação.....68

Lista de tabelas do artigo de revisão sistemática

Tabela 1. Variáveis consideradas e descritas dos 12 artigos selecionados referentes ao efeito do agonista dopaminérgico D1 no comportamento alimentar em ratos.....35

Lista de tabelas do artigo original

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.....69

Tabela 2. Informação Nutricional do Alimento palatável 69

Lista de abreviaturas e siglas

AC - Adenilato Ciclase

AMP cíclico - Monofosfato de Adenosina Cíclico

AMPA e NMDA - Receptores Ionotrópicos de Glutamato

AgRP - Proteína Agouti

CREB - Proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc

DARPP-32 - Fosfoproteína Regulada por Dopamina e AMPc32-KDa

G_i - Proteína G do tipo inibitória

G_s - Proteína G do tipo excitatótia

GDP - Guanosina Difosfato

GTP - Guanosina Trifosfato

NPY - Neuropeptídeo Y

POMC - Peptídeo pró-ópio-melanocortina

PKA - Proteinocinases A

PP1 - Proteína Fosfatase1

PP2B - Calcineurina

SCS - Sequência Comportamental da Saciedade

SNC - Sistema Nervoso Central

Sumário

1 APRESENTAÇÃO 15

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18

2.1 Plasticidade Fenotípica 18

2.2 Comportamento Alimentar 19

2.3 Sistema Dopaminérgico 21

2.4 Receptor Dopaminérgico D_1 22

2.5 Artigo de Revisão 25

2.6 Receptor Dopaminérgico D_2 38

3 MÉTODOS 41

3.1 Animais 41

3.2 Obtenção dos Grupos Experimentais 41

3.3 Agonistas 42

3.4 Procedimentos Experimentais 42

3.4.1 *Peso Corporal* 42

3.4.2 *Ingestão Alimentar* 42

3.4.3 *Teste de Motivação* 43

3.4.4 *Avaliação da ingestão de alimento palatável sob estimulo dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 durante a idade adulta.* 45

3.5 Análises Estatísticas 46

4. RESULTADOS 47

4.1 Artigo Original 47

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS 70

6. REFERÊNCIAS 71

7. ANEXOS 78

1. APRESENTAÇÃO

A idéia de que a desnutrição durante os períodos de gestação e lactação pode influenciar a vida em longo prazo tem importantes implicações para a saúde pública, pois predispõe os indivíduos a desenvolver uma série de doenças, dentre elas a síndrome metabólica que se caracteriza pela associação entre obesidade, diabetes *mellitus* do tipo II, resistência à insulina, hipertensão arterial, e dislipidemia (Edwards; Mcmillen, 2001; Lau; Rogers, 2004; Conway; Rene, 2004; Patel; Srinivasan, 2010).

No mundo, mais de um bilhão de adultos e cerca de 20 milhões de crianças menores de 5 anos apresentam sobrepeso e 400 milhões deles são obesos (Koplan; Liverman; Kraak, 2005; Va-Dieren, 2010). Estimativas apostam que a acentuada prevalência da obesidade infantil será traduzida a um aumento previsto para 2,3 bilhões no número de obesos no mundo até 2015 (World Health Organization, 2006; Ahmed; Ong, Dunger, 2009; Han; Lawlor; Kimm, 2010).

A fim de explicar o aumento dramático na prevalência da obesidade e da síndrome metabólica nos últimos anos, evidências sugerem que além das mudanças nos hábitos alimentares dos indivíduos e a ausência de práticas esportivas concebidas pelo mundo moderno (Vickers, 2003), existe uma estreita relação entre agressões ocorridas nas fases precoce do desenvolvimento e o surgimento de doenças metabólicas na vida adulta (Godfrey, Barker 2000; Breier *et al*., 2001).

A desnutrição materna é um dos principais exemplos de um ambiente intrauterino adverso que pode promover efeitos danosos ao desenvolvimento fetal (Morgane *et al*., 1993; Godfrey; Barker, 2000; Warner; Ozanne, 2010). Na tentativa de se adaptar a esse ambiente, o feto parece redefinir pontos de ajustes do equilíbrio energético, com o objetivo de maximizar suas chances de sobrevivência. (Bellinger; Sculley *et al.*, 2006). Porém, o grau de incompatibilidade entre os ambientes pré e pós-natal é um dos principais determinantes de doenças em longo prazo (Gluckman, Hanson, 2004; Gluckman, Hanson, Beedle, 2008). Alterações ambientais no período perinatal, como as nutricionais, podem promover adaptações morfológicas e funcionais de estruturas envolvidas diretamente com o controle do comportamento alimentar (Muhlhausler *et al*., 2006; Garcia *et al*., 2010).

Na atualidade, a modulação dos componentes não homeostático (hedônico) do controle do comportamento alimentar, tem sido alvo de intensa investigação por sua

capacidade de sobrepor o controle homeostático hipotalâmico (Berthoud, 2006). O componente hedônico é estimulado particularmente por alimentos palatáveis, com alta densidade energética (Berthoud, 2006). Algumas evidências apontam para a intrínseca ação da desnutrição perinatal sobre esses mecanismos e sua relação com a etiologia da obesidade (Zheng; Lenard *et al.*, 2009).

Com objetivo de investigar essa temática, o grupo de pesquisa NNI-Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença vem realizando vários estudos comportamentais e celulares tentando colaborar com o meio científico a desvendar os fatores que estão associados com o surgimento da obesidade (Lopes De Souza, 2008; Orozco-Solís *et al.*, 2010; Oliveira, *et al.*, 2011). Uma das hipóteses levantadas é de que a restrição proteica em períodos críticos do desenvolvimento promovem alterações neuronais que repercutem na vida adulta. Dentre esses estudos, observou-se aumento na expressão de peptídeos hipotalâmicos orexigênicos e redução de anorexigênicos, associados ao elevado consumo alimentar dos animais desnutridos (Orozco-Solis, Matos *et al.*, 2010), bem como resistência ao efeito hipofágico do agonista serotoninérgico 5-HT_{1B} em ratos adultos desnutridos durante o período da gestação e lactação (Lopes De Souza, Orozco-Solis *et al.*, 2008).

A neurotransmissão dopaminérgica no sistema nervoso central (SNC) está associada às respostas hedônicas, como a palatabilidade e a motivação para consumir alimentos ricos em energia (Berridge; Kringelbach, 2008). Os principais receptores dopaminérgicos implicados na regulação do apetite são os receptores D_1 e D_2 (Beaulieu; Gainetdinov, 2011). Esses receptores estão localizados em regiões encefálicas, como o núcleo *accumbens* e área tegmentar ventral, as quais estão relacionadas às sensações motivacionais causadas por certos tipos de alimentos, estimulando a preferência e o consumo de alimentos energéticos (Vucetic; Reyes, 2010) como também são expressos em núcleos hipotalâmicos como o hipotálamo lateral e ventromedial mediando a ação inibitória que a dopamina tem sobre o consumo de alimentos, controlando assim, tamanho, duração e frequências das refeições (Vucetic; Reyes, 2010). Cooper; Al-Naser (2006) sugeriram que, após aplicação aguda do agonista dopaminérgico D_1 (SKF 38393), os animais tiveram preferência por alimentos ricos em carboidrato e lipídeo. Johnson; Kenny (2010) atribuíram a compulsão de animais obesos por alimentos palatáveis a uma baixa regulação dos receptores dopaminérgicos D_2.

Como atualmente observa-se, na população mundial, o elevado consumo de alimentos ricos em lipídios e carboidratos, o conhecimento de mecanismos neurais que determinam a preferência por esse tipo de alimentos, bem como o entendimento da relação de tais mecanismos com o ambiente nutricional precoce, pode ser um importante alvo para prevenção e tratamento da obesidade e suas patologias associadas. Portanto, levantou-se a hipótese de que a desnutrição proteica perinatal altera a função dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre o controle hedônico do comportamento alimentar, promovendo na vida adulta, indução ao consumo de alimentos densamente energéticos. O objetivo foi avaliar, em ratos adultos, o efeito da desnutrição proteica perinatal sobre a ação dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 na motivação e no consumo de alimentos palatáveis, possibilitando esclarecer o seu possível envolvimento e sua influência no aumento do consumo de alimento energético. Os objetivos específicos foram analisar em animais normonutridos e desnutridos: A ação dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre o consumo de alimento palatável; A motivação dos animais frente ao estímulo de recompensa após aplicação dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2.

O artigo original deste estudo é intitulado ‘‘The effect of perinatal protein malnutrition on the function of D1 and D2 dopamine receptors in motivation and consumption of palatable foods’’ será submetido ao periódico The Journal of Neuroscience- classificado como Qualis A1 na área de medicina II.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plasticidade Fenotípica

Plasticidade fenotípica consiste na capacidade dos organismos de alterar a sua fisiologia ou morfologia de acordo com as condições do ambiente. Dessa forma, estímulos ambientais durante o período embrionário podem ter efeitos profundos sobre o processo de desenvolvimento do SNC (Kippin *et al*., 2008; Silveira *et al*., 2008). Essa vulnerabilidade está associada ao intenso processo de diferenciação e maturação celular sofrido nesse período (Mccance; Widdowson, 1974). Esses processos realizam-se com velocidade máxima, provocando um rápido aumento do peso cerebral (Rice; Barone, 2000). Por esse motivo, essa fase é denominada de período de crescimento rápido do cérebro e é considerado como um dos períodos críticos mais importantes para o desenvolvimento cerebral (Morgane *et al*., 2002).

A maioria dos nutrientes participa de alguma forma, do processo de maturação do cérebro. Contudo, a proteína parece ser o componente mais importante a interferir durante o período de desenvolvimento cerebral (Morgane *et al*., 1993). Assim, a síntese de proteínas estruturais, o crescimento e a organização funcional dos neurônios e a produção de neurotransmissores dependem da disponibilidade de aminoácidos essenciais contidos nas proteínas da dieta (Wiggins; Fuller; Enna, 1984).

Vários estudos sugerem uma íntima relação entre a ocorrência da desnutrição e o prejuízo no desenvolvimento cerebral, com consequente alteração do seu funcionamento (Kehoe *et al*., 2001). Logo, alguns comportamentos tais como: aprendizado, memória, ingestão alimentar, podem ser determinados de acordo com o período e o tipo de estímulo sofrido, levando a conseqüências ao longo da vida (Dobbing; Sands, 1971; Desai; Crowther *et al.*, 1995; Levin, 2000). No estudo realizado por Moura *et al*., (2002) ratos desnutridos no período precoce da vida desenvolveram hiperfagia, obesidade e outros distúrbios metabólicos na idade adulta.

No sentido de identificar o motivo pelo qual os animais demonstram alterações no comportamento alimentar, foi proposto que perturbações, como restrição proteica, energética ou alimentação rica em gordura durante o período perinatal e neonatal modificam a estrutura e fisiologia do hipotálamo (Delahaye *et al*., 2008; Garcia *et al*., 2010). Exemplos como aumento da expressão de neuropeptídeo Y (NPY) (Plagemann *et al*., 2000), do peptídeo relacionado à proteína Agouti (AgRP) e diminuição do

neurotransmissor peptídeo pró-ópio-melanocortina (POMC), resultam muitas vezes, em uma forte predisposição para hiperfagia em ratos (Delahaye *et al*., 2008, Bouret, 2009; Orozco-Solis; Matos *et al*., 2010; Garcia *et al*., 2010). Da mesma forma, hormônios periféricos, como leptina, insulina e ghrelina também têm suscitado grande atenção como moduladores dos padrões alimentares e gasto energético ao nível do hipotálamo (Coll; Farooqi; O'rahilly, 2007). Fatores nutricionais durante a vida perinatal podem também modular a sensibilidade desses hormônios na vida adulta (Sanchez *et al*., 2008; Palou; Pico, 2009; Garcia *et al*., 2010).

Além disso, já foi relatado o aumento do metabolismo dopaminérgico no hipotálamo de animais submetidos à desnutrição durante o período perinatal (Valdomero *et al*., 2006) e dos níveis de serotonina no sistema nervoso central são maiores durante o período pós-natal em animais desnutridos (Manjarrez, Chagoya *et al.*, 1994). Dessa forma, os neurotransmissores parecem também estar alterados em ratos com histórico de desnutrição perinatal, interferindo no complexo circuito neural que coordena os aspectos do comportamento alimentar, favorecendo ao aumento no consumo de alimentos.

2.2 Comportamento Alimentar

O comportamento alimentar é parte de um sistema de *feedback* que controla o balanço energético, envolvendo uma complexa interação dos sinais de fome e saciedade, produzidos em estruturas encefálicas como o hipotálamo, bem como em órgãos periféricos, como o trato gastrointestinal (Erlanson-Albertsson, 2005; Magni *et al.*, 2009). Além disso, também faz parte dessa regulação, os estímulos sensoriais e as propriedades dos alimentos, como gosto e textura (Magni *et al*., 2009).

Para uma melhor compreensão, pode-se dizer que o comportamento alimentar é regulado por duas vias que se complementam: via homeostática (hipotálamo e trato gastrointestinal) e via hedônico (sistema de recompensa) (Berthoud, 2006; Lutter; Eric, 2009). A via homeostática aumenta a motivação para a ingestão alimentar após depleção dos estoques de energia com o objetivo de regular o balanço energético (Lutter; Eric, 2009). Em contrapartida, a via hedônica está relacionada ao sistema de recompensa alimentar, podendo prevalecer sobre a via homeostática durante períodos de abundância energética através do aumento do desejo de consumir alimentos, principalmente os palatáveis (Lutter; Eric, 2009).

Em relação aos fatores homeostáticos, a maioria dos trabalhos tem incidido sobre as funções dos hormônios circulantes, os quais transmitem informações sobre os níveis de energia periférica para o cérebro. Entre os hormônios periféricos, a leptina, a insulina e a ghrelina parecem ser os mais importantes. (Lutter; Eric, 2009).

A leptina, sintetizada pelo tecido adiposo, e insulina sintetizada pelo pâncreas parecem atuar como um *feedback* negativo que relaciona o comportamento alimentar com as reservas energéticas do corpo, provocando uma redução significativa na ingestão alimentar e no peso corporal dos indivíduos (Woods *et al*., 1979). Em contraste, a ghrelina, um peptídeo liberado pelo estômago, aumenta em resposta a um balanço energético negativo e estimula a ingestão de alimentos e armazenamento de energia (Castaneda *et al*., 2010).

Em relação ao SNC, o hipotálamo é capaz de integrar os sinais periféricos e centrais do controle homeostático do comportamento alimentar (Magalhães *et al*., 2010). No âmbito dos sinais periférico, o hipotálamo recebe sinais de fome e de saciedade provenientes do trato gastrointestinal, do pâncreas, do fígado e tecido adiposo (Morton; Cummings *et al.*, 2006). Já com relação aos sinais centrais, os neurônios serotoninérgicos e dopaminérgicos enviam projeções ascendentes para o hipotálamo de forma controlar o comportamento alimentar, o balanço energético e, conseqüentemente, o peso corporal (Davidowa; Plagemann, 2000; Kishi; Elmquist, 2005). O hipotálamo ainda está funcionalmente relacionado a funções vitais como reprodução, temperatura corporal, balanço hormonal e ritmos circadianos (Verge; Calas, 2000; Meister, 2007).

Além dos fatores homeostáticos, entender como o cérebro gera sensação de prazer, motivação e aprendizado são de intenso interesse pelos cientistas, pois o ambiente também exerce uma influência significativa sobre os circuitos neurais que atuam na manutenção da homeostase energética. (Kelley, 2004; Erlanson-Albertsson, 2005). O sistema de recompensa alimentar age integrando os estímulos sensoriais desencadeados por determinados tipos de alimentos, como os ricos em açúcar e gordura, gerando sensação de prazer e assim, prolongando uma refeição (Erlanson-Albertsson, 2005; Berridge; Kringelbach, 2008). Neste caso, isso ocorre mesmo na presença de saciedade e acúmulo energético (Berthoud, 2006). Os sinais endógenos que regulam a homeostase energética podem se tornar ineficazes, pois a tendência em manter o consumo de alimentos é poderosamente influenciada pelas propriedades gratificante dos mesmos (Fulton, 2010).

O sistema de recompensa é formado pelo núcleo *accumbens*, pálido ventral, área tegmentar ventral, córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala (Berthoud, 2006; Lenard; Berthoud, 2008). O núcleo *accumbens* é uma região do cérebro que parece desempenhar um papel crucial no comportamento alimentar. Ele recebe informações do tronco encefálico, em relação às sensações gastrointestinais e gosto dos alimentos, através do núcleo do trato solitário (Erlanson-Albertsson, 2005) e da mesma forma, os estímulos sensoriais chegam ao córtex pré-frontal e tálamo. O núcleo *accumbens* e área tegmentar ventral enviam informações para a região da amígdala e nela, são processadas e transformadas em estímulos emocionais (prazer), enquanto que o hipocampo funciona como um centro de armazenamento e aprendizado da informação (Kelley; Berridge, 2002; Wardle, 2007). Vários neurotransmissores atuam nessas regiões do cérebro, incluindo a dopamina.

2.3 Sistema Dopaminérgico

A dopamina é uma catecolamina, sintetizada principalmente no sistema nervoso, cuja biossíntese inicia-se com o aminoácido tirosina, o qual é proveniente da alimentação e da hidroxilação hepática da fenilalanina pela fenilalanina hidroxilase. A tirosina é convertida em L-dopa pela ação da enzima tirosina hidroxilase e a L-dopa, por sua vez, sob a ação da L- aminodescarboxilase, é convertida em dopamina (Ben-Jonathan; Hnasko, 2001). Após sintetizada, ela é armazenada nas vesículas sinápticas, onde permanece neste local para estoque, secreção e proteção contra a inativação enzimática (Ben-Jonathan; Hnasko, 2001).

A liberação da dopamina das vesículas sinápticas se faz através da exocitose. A despolarização da membrana permite o influxo de cálcio e este desempenha um papel inicial que libera a dopamina para o espaço sináptico (Estevinho; Fortunato, 2003). Uma vez secretada a dopamina difundi-se rapidamente e se acopla a receptores de membranas pós-sinápticas, que através de vias intracelulares, exercem uma série de funções em suas células efetoras (Ben-Jonathan; Hnasko, 2001). Além disso, a dopamina pode ser recaptada por neurônios pré-sinápticos e reincorporada em vesículas por transportadores de alta afinidade. Ela também pode ser degradada no espaço sináptico ou nos terminais pós-sinápticos (Estevinho; Fortunato, 2003).

Quatro principais vias dopaminérgicas foram identificadas no cérebro dos mamíferos; Via mesolímbica que vai da área tegmentar ventral até o sistema límbico e

está relacionada ao comportamento emocional, a via mesocortical que abrange os lobos frontais e parece estar envolvida no mecanismo de atenção e orientação, a via nigro-estriada que vai da substância negra até o corpo estriado, atuando nas zonas motoras involuntárias e a via curta, chamada de via tuberoinfundibular que está relacionada a liberação de hormônios da hipófise (ArakI *et al*., 2006).

Desde a descoberta de suas funções fisiológicas (Carlsson *et al*., 1957), essa catecolamina vem atraindo atenção por estar envolvida em várias funções vitais do sistema nervoso, incluindo o movimento, alimentação, afeto, recompensa, sono, atenção, memória e aprendizagem. Na periferia, a dopamina desempenha importante papel fisiológico na regulação do olfato, processos da retina, regulação hormonal, funções cardiovasculares, regulação simpática, sistema imunológico, funções renal, entre outros (Iversen; Iversen, 2007).

Ela exerce suas funções através de tipos diferentes de receptores, os quais são expressos no SNC desde o início da embriogênese (Ohtani *et al*., 2003; Araki *et al*., 2006). A primeira evidência da existência de receptores de dopamina no SNC foi em 1972, a partir de estudos que mostraram que a dopamina foi capaz de estimular a adenilatociclase (Kebabian; Petzold; Greengard, 1972). Posteriormente, com base em provas farmacológicas, bioquímicas, fisiológicas e pela sua distribuição anatômica, foi proposta a existência de duas populações distintas de receptores dopaminérgicos, os quais foram chamados de D1 e D2 (KEBABIAN, 1979).

Atualmente, sob o ponto de vista molecular e farmacológico, existem cinco tipos de receptores de dopamina (D1, D2, D3, D4 e D5). Os receptores D1 e D5 pertencem à superfamília dos receptores tipo D1 (D1-*like*) e os receptores D2, D3 e D4 pertencem à superfamília dos receptores D2 (D2-*like*) (ZHU *et al*., 2007; 2008).

2.4 Receptor Dopaminérgico D1

O receptor D1 é o mais difundido e expresso em níveis mais elevados do que qualquer outro receptor de dopamina. Ele é encontrado nos neurônios pós-sinápticos em várias regiões do cérebro, incluindo os núcleos da base (putamen, caudado, *accumbens*), substância negra, tubérculo olfatório, amígdala e córtex frontal, assim como, em níveis mais baixos no hipocampo, cerebelo, tálamo e hipotálamo (TarazI, 2001).

Esse receptor pertence a superfamília dos receptores acoplados a proteína G. Eles possuem uma estrutura de sete domínios transmembrana e são capazes de ativar as

proteínas G, do tipo exitatória (G_s) para induzir mecanismos de sinalização intracelular (Neve *et al*., 2004). Em geral, as proteínas G são compostas por três subunidades: α, β e γ (Pierce *et al*., 2002) e quando estimulada a subunidade α se dissocia do complexo βγ tornando o sistema ativado. O guanosina difosfato (GDP) é fosforilado a guanosina trifosfato (GTP) ativando alguns sistemas efetores, como do caso da adenilato ciclase (AC) (Pierce *et al*., 2002). Dessa forma, a AC estimula a produção do segundo mensageiro, monofosfato de adenosina cíclico (AMP cíclico), e a fosforilação das proteinocinases A (PKA) (Kebabian; Calne, 1979; Missale *et al*., 1998).

Diversos substratos da PKA, como a proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB), os receptores ionotrópicos de glutamato (AMPA e NMDA) e determinados canais de íons parecem ser afetados pela estimulação do receptor dopaminérgico D1 (Greengard, 2001). Entre os substratos da PKA, a fosfoproteína regulada por dopamina e AMPc32-KDa (DARPP-32) é uma das moléculas mais estudadas e envolvidas na sinalização do receptor D1. A DARPP-32 é uma fosfoproteína multifuncional presente nos neurônicos dopaminérgicos e interneurônios e tem ação moduladora dos sinais celulares em resposta a ação dos neurotransmissores, como a dopamina (Svenningsson *et al*., 2004).

A DARPP-32 é estimulada pela PKA que por sua vez inibe a proteína fosfatase1 (PP1) (Hemmings *et al*., 1984) com o objetivo de estimular os mecanismos de regulação dos receptores ionotrópicos glutamatérgicos sobre os receptores D1. Por outro lado, a inibição da DARPP-32 pela calcineurina (PP2B), libera PP1 o qual age inibindo os mecanismos alvos da via do glutamato (Greengard, 2001) (Figura 1). Essa é a via de silanização mais bem documentada que tem implicações no papel fisiológico do receptor dopaminérgico D1.

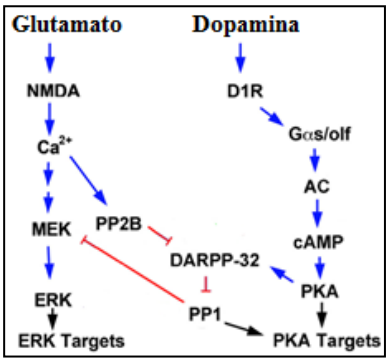

Figura 1. Via de sinalização dos receptores dopaminérgicos D1 acoplados a proteína G. A ação de outro neurotransmissor foi incluído para ilustrar os fatores integradores de sinal. As setas azuis indicam ativação e os traços vermelhos indicam inibição. As setas pretas indicam que o estímulo pode ser excitatório ou inibitório sobre a função de substratos específicos. D1R, receptor dopaminérgico D1 (Beaulieu; Gainetdinov, 2011).

O papel funcional do receptor D1 tem sido bastante caracterizado. Os estudos sugerem efeito estimulante sobre a atividade locomotora (Missale *et al*., 1998; Sibley, 1999) e eles parecem ser fundamentais para os mecanismos de aprendizagem e memória. Além disso, destaca-se seu efeito sobre as recompensa naturais e a dependência às drogas (Iversen; Iversen, 2007; Koob; Volkow, 2010).

2.5 ARTIGO DE REVISÃO

Editorial Manager(tm) for Nutritional Neuroscience
Qualis B1
Manuscript Draft
Manuscript Number: NNS56

Title: THE EFFECT OF DOPAMINE D-1 AGONIST ON FEEDING BEHAVIOR IN RATS: A SYSTEMATIC REVIEW

Article Type: Review

Keywords: Dopamine D1; Feeding Behavior; Receptors.

Corresponding Author: Paula Honório de Melo Martimiano, Masters degree in Pathology

Corresponding Author's Institution:

First Author: Paula Honório de Melo Martimiano, Masters degree in Pathology

Order of Authors: Paula Honório de Melo Martimiano, Masters degree in Pathology;Queliane Gomes da Silva Carvalho, Masters degree in Pathology;Sandra Lopes Souza, Postdoctoral in neuroscience;Raul Manhães Castro, Doctorate degree in Life Sciences;Manuela Figueiroa Freitas, Doctorate degree in Nutrition

Manuscript Region of Origin: BRAZIL

Abstract: Objective: To undertake a systematic review of the action of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats. Method: The systematic review was performed by online databases: Pubmed, Old Medline, Medline, Lilacs, SciELO and Science Direct. Studies that used only non-selective dopamine D-1 agonist; articles about two dopamine agonists acting on D1 receptors; studies that evaluated the food consumption through sucrose solutions, sodium chloride or the animal's response to the device reward; articles with animals underwent surgery or metabolic abnormalities; review articles and clinical trials were excluded. Results: Initially, 95 references in Medline, 181 in Pubmed, 3371 in Science Direct were found. However, no reference was found in SciELO, Old Medline and Lilacs. 12 of which were selected. Discussion: The heterogeneity of the studies did not allow the realization of a statistical meta-analysis. Despite the variety of methods and different clinical situations on animals, most selected studies suggested the anorexic effect of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats.

***Manuscript DO NOT INCLUDE ANY AUTHOR NAMES OR CONTACT DETAILS IN THIS FILE**

Click here to download Manuscript DO NOT INCLUDE ANY AUTHOR NAMES OR CONTACT DETAILS IN THIS FILE: Manuscript text.

THE EFFECT OF DOPAMINE D-1 AGONIST ON FEEDING BEHAVIOR IN RATS: A SYSTEMATIC REVIEW

ABSTRACT

Objective: To undertake a systematic review of the action of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats. **Method:** The systematic review was performed by online databases: Pubmed, Old Medline, Medline, Lilacs, SciELO and Science Direct. Studies that used only non-selective dopamine D-1 agonist; articles about two dopamine agonists acting on D1 receptors; studies that evaluated the food consumption through sucrose solutions, sodium chloride or the animal's response to the device reward; articles with animals underwent surgery or metabolic abnormalities; review articles and clinical trials were excluded. **Results:** Initially, 95 references in Medline, 181 in Pubmed, 3371 in Science Direct were found. However, no reference was found in SciELO, Old Medline and Lilacs. 12 of which were selected. **Discussion:** The heterogeneity of the studies did not allow the realization of a statistical meta-analysis. Despite the variety of methods and different clinical situations on animals, most selected studies suggested the anorexic effect of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats.

Keywords: Dopamine D1; Feeding Behavior; Receptors.

INTRODUCTION

The feeding behavior is part of a feedback system that controls energy balance. It is involves a complex interaction of hunger and satiety signals from the brain regions and peripheral organs[1,2]. In addition, the sensory stimulation and food properties also participate in this regulation[2]. Several neurotransmitters are related to feeding behavior, but the dopamine has received much attention3,4. It performs its functions through different types of receptors and maybe its release is associated with food consumption[5,6,7].

Some studies have reported the anorectic effect of dopamine D-1 receptors agonist[8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,19]. However, more recent evidence suggests that these receptors are involved in the preference for palatable foods[18]. This dopamine function is

related to obesity, which this pathology should be regarded as a major public health problem and a global epidemic to the World Health Organization[18].

Understanding the appetite regulation and the function of dopamine D-1 receptor agonist on feeding behavior has become a great scientific interest because studies in this area can help the prevention and treatment of diseases that affect people. Among that, there is the metabolic syndrome which is a clustering of cardio-metabolic risk factors[20] as obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, hypertension and dyslipidemia. The latter being a major cause of cardiovascular disease[21,22,23,24]. Considering this aspect, the aim of this study was to conduct a systematic review of the actions of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats.

METHODS

The systematic review was performed between September to October 2010 by online databases: Pubmed, Old Medline (International Literature in Health Sciences, until 1996), Medline (International Literature in Health Sciences, the from 1997), Lilacs (Latin American and Caribbean Health Sciences), SciELO (Scientific Electronic Library Online) and Science Direct. The search was expanded to the references of selected articles to find other articles.

Cross-reference keywords combined Descriptors in Health Sciences (DECs) with free terms (FT) were performed. The FT are not part of DeCS and Medical Subject Headings (MeSH), but were considered relevant because the theme studied. Crossreferences were: “feeding behavior” (DeCS) and “dopamine D1 agonists” (FT); “feeding behavior” (DeCS) and “dopamine D1 receptors” (FT); “feeding behavior” (DeCS) and “SK&F 38393” (FT). For the Science Direct Database, the following limits were used: food consumption, animal model receptor agonist and agonist dopamine.

Articles were selected from the inclusion criteria, which were: original articles with unlimited time period of publications; animal testing in research, specifically in rats and articles relating to the action of dopamine D-1 agonist with feeding behavior.

The exclusion criteria were: studies that used only non-selective dopamine D-1 agonist; articles about two dopamine agonists acting on D1 receptors; studies that evaluated the food consumption through sucrose solutions, sodium chloride or the animal's response to the device reward; articles with animals underwent surgery or metabolic abnormalities; review articles and clinical trials.

RESULTS

Initially, 95 references in Medline, 181 in Pubmed, 3371 in Science Direct were found. However, no reference was found in SciELO, Old Medline and Lilacs. According to limits search option, the number of periodicals decreased from 3371 to 243 in the Science Direct Database. A total of 519 studies were identified in accordance with this strategy review. They were analyzed carefully to prevent the inclusion of duplicated data. In addition, the inclusion and exclusion criteria established were applied and 12 of which were selected (Figure 1).

<Figure 1>

Table 1 presents results with the following variables: author and publication year; country of publication; administration and dosage of the D1 agonist; route of administration; time between drug administration and the start of the test; number of animals per group; food-deprived animals; palatable food consumption; methods and results.

Regarding the country of publication, eight of the selected articles were conducted in European countries[8,9,10,11,13,15,18,19] and four articles in other countries such as the United States[14,16], India[17] and Iran[12]. Most articles (83.33%) used SK&F 38393 as the dopamine D-1 agonist and the only two routes of drug administration were intraperitoneal and subcutaneous.

Studies selected used different dosages of the dopamine D-1 agonist. In relation to SK&F 38393, these values ranged from 0.8513 to 50 mg/kg[12]. The number of animals used varied from seven10 and eleven14 per group. Those food-deprived animals[10,12,13,14,16,17,18] for one hour[17] or up to 24 hours[16] before the experiments. The palatable food consumption was observed in seven (58.33%) of the selected studies[8,10,11,14,15,17,18].

Despite the variety of methods and lack of standardization of all variables, most selected studies suggested the anorexic effect of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats[8,9,10,11,12,13,14,15,16, 17,19].

<Table 1>

DISCUSSION

The heterogeneity of the studies did not allow the realization of a statistical meta-analysis. Among them, there are a lack of standardization of evaluation methods, the large divergence in dosage of drug used and its route of administration.

Regarding the country of publication, eight of the selected articles[8,9,10,11,13,15,18,19] were conducted in European countries and two[14,16] in the United States of America. These data suggest that the concern about this topic in these regions because there is a strong evidence of the relationship between dopamine, central control of appetite and the obesity. The latter is a disease that most affects people in developing countries today[18,19].

In the 12 selected articles, ten[8,9,10,11,12,13,14,16,17,18] used SK&F 38393. The preference for this type of agonist is due to its performance without stereotyped behaviors and its direct action on central control of appetite[8,9,10,11,14]. In spite of most articles have used the same drug, different results were observed. Most studies[8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,19] reports the anorexic effect of dopamine D-1 agonist. However, one of them suggested the increase in palatable food consumption[18] and the other[17] got different result depending on the dosage of the D1 agonist used.

There are a variety of interpretations of the drug action. Its effect on feeding behavior may be due to several factors because the selected studies used different dosages of the dopamine D-1 agonist. The SK&F 38393 ranged from 0.85 to 50 mg/kg. There is considerable controversy regarding the effects of dosage administered into animals and the amount of food consumed in only one study by Kaur; Kulkarni (2002). A dosage of 20mg/kg significantly reduced the food consumption at 0.5 hour, while lower dosages (05 and 10 mg/kg) increased the food consumption in the range of 2, 3 and 4 hours after the beginning of the experiment[17]. This difference may have been at the time the amount of food consumed was weighed. This explains why after a certain time the drug may lose the selectivity of its specific receptor, reducing its effect on feeding behavior in animals.

Another important factor that can influence the effect of agonist on feeding behavior is the route of administration. The intraperitoneal and subcutaneous routes

were only ones used in selected studies. They enable a systemic response especially its action in the brain and used animal experimentation in experimental research due to ease of administration when compared with other methods. Despite the subcutaneous absorption of drugs be slower and regular, and intraperitoneal route be faster, there is no evidence of a relationship between the route of administration used and possible interference in food consumption in animals. One of the difficulties of the analysis was that there is no standardization between route of administration and the times of drug metabolism and the start of the test, despite two routes have different absorption times. These values ranged between 0[16] and 30 minutes[10,11,15,17,18].

Some researchers used food-deprived animals to study the feeding behavior after the application of D1 agonist[10,12,13,14,16,17,18]. Others performed experiments with palatable food[8,10,11,14,15,17,18] and maintenance diet[9,12,13,16,19]. At certain times, the interaction between these factors was used. These various conditions can alter drug metabolism and its interaction with the organism, resulting in different effects on feeding behavior in these animals.

In the study by Cooper; Al-Naser[18], animals consumed more palatable food and reduced consumption of the maintenance diet compared to the control group, after the administration of the dopamine D-1 agonist. Human neuroimaging studies demonstrate dopamine release[25] and activation of specific brain regions related to pleasure of eating palatable food[26]. These regions form the food reward system. It integrates sensory stimuli by specific types of food such as high fat and high sugar foods associated with a sensory pleasure. Therefore, stimulation of these animals by dopamine agonists seems to increase the preference for this type of diet. However, other studies reported the anorectic effect of dopamine D-1 agonist that these drugs cause in animals when the palatable food is offered[8,10,11,14,15,17]. It is noteworthy that only the Cooper, Al-Naser's[18] study used a solid palatable food with milk chocolate-coated biscuits. Other studies[8,10,11,14,15,17] offered the animals a mixture of condensed milk, water and powdered Purina. It is known that rodents have a preference for a solid food. Thus, the texture of a food may influence the food consumption in animals. This justifies the differences in results obtained.

Concerning food deprivation, only two studies showed a intergroup comparison[10,14]. In the study of Terry; Katz[14], animals that were submitted or not submitted to this condition, reduced food consumption. However, the group of food

deprivation had a small effect of dopamine D-1 agonist on the amount of food consumed. The result of this research corroborated the findings of Rusk; Cooper[10]. They also showed a reduction in food consumption in both groups. But, diets given to animals were not the same in both groups. This is a problem that prevents a comparison and complicates the evaluation of the impact of food deprivation on the feeding behavior in animals. In relation to articles that did not show a intergroup comparison[12,13,16,17,18], there is a trend of using food-deprived animals. However, articles that food-deprived and non-deprived animals had any differences in the results. Some factors contribute to this. The time of food-deprived animals that ranged of one hour[17] to 24 hours[16], and the reduced access to diet[12] or amount of food consumed for few days before the experiment[14]. Perhaps the lack of standardization of time, the diet, intensity and time when deprivation-induced feeding on animals justify the difficult to evaluate the influence that food deprivation can cause in animals before experiments.

The relationship between food deprivation procedure and the effect of dopamine agonists is an important factor to be evaluated. Since after a period of deprivation, animals can increase their reward system and respond positively when they feed[27]. The high consumption of foods, especially rich in energy, associated with reduced physical activity are related to morbidity and mortality in population and these foods may predispose people to the development of metabolic diseases. Therefore, the use of dopamine agonists stimulates receptors and the dopamine exerts its usual effect on them. This way, can contribute with answers about disorders related to feeding behavior.

CONCLUSION

It can suggest the anorexic effect of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in animals despite the heterogeneity of methods used and different clinical situations on animals.

However, it is necessary studies that standardize the evaluation methods and reduce the interaction of factors that may influence the results.

In this way, there will be a clear interpretation of results that can guide clinical practice and development of future research.

ACKNOWLEDGEMENTS

We gratefully acknowledge Prof. Hilton Justino for his valuable comments on the manuscript. None of the authors have relevant financial interests to disclose, nor a conflict of interest of any kind.

REFERENCES

1. ERLANSON-ALBERTSSON, C. How palatable food disrupts appetite regulation. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v.97, n.2, Aug, p.61-73. 2005.

2. MAGNI, P. *et al.* Feeding behavior in mammals including humans. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1163, Abr, p.221-32. 2009.

3. BARBANO, M.F.; CADOR, M. Differential Regulation of the Consummatory, Motivational and Anticipatory Aspects of Feeding Behavior by Dopaminergic and Opioidergic Drugs. **Neuropsychopharmacology,** v.31, p.1371–1381. 2006

4. FALLON, S. *et al.* Food reward-induced neurotransmitter changes in cognitive brain regions. **Neurochemical research**, v.32, n.10, Oct, p.1772-82. 2007.

5. HAJNAL, A.; NORGREN, R. Accumbens dopamine mechanisms in sucrose intake. **Brain research,** v.904, p.76-84. 2001

6. HAJNAL, A.; SMITH, G.P.; NORGREN, R. Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v.286, p.31-37. 2004.

7. LUTTER, M.; ERIC, J. Nestler Homeostatic and Hedonic Signals Interact in the Regulation of Food Intake. **The Journal of Nutrition**, v.139, p.629–632. 2009.

8. GILBERT D.B.; COOPER, S.J. Analysis of dopamine d1 and d2 receptor involvement in d- and l-amphetamine-induced anorexia in rats. **Research Bulletin**, v.15, n.4, p.385-389. 1985.

9. MARTIN-IVERSON, M., T.; DOURISH C.T. Role of dopamine D-1 and D-2 receptor subtypes in mediating dopamine agonist effects on food consumption in rats. **Psychopharmacology, v.**96, p.370-374. 1988.

10. RUSK, I.,N.; COOPER, S.,J. The selective dopamine D1 receptor agonist SK&F 38393: its effects on palatability- and deprivation-induced feeding, and operant responding for food. **Pharmacology Biochemistry & Behavior,** v.,34, n.1, p.17-22. 1989.

11. COOPER, S.,J.; FRANCIS, J.; RUSK, I., N. The anorectic effect of SK&F 38393, a selective dopamine D1 receptor agonist: a microstructural analysis of feeding and related behavior. **Psychopharmacology, v.**100, p.182-I 87. 1990.

12. ZARRINDAST, M.,R.; OWJI, A.,A; HOSSEINI-NIA, T. Evaluation of dopamine receptor involvement in rat feeding behaviour. **General pharmacology,** v.,22, n.6, p.1011-6. 1991.

13. LADURELLE, N.; DUTERTE-BOUCHER, D.; COSTENTIN, J. Stimulation of D1 and D2 dopamine receptors produces additive anorectic effects. **Fundamental clinical pharmacology,** v.5, n.6, p.481-90. 1991.

14. TERRY, P.; KATZ, J.,L. Differential antagonism of the effects of dopamine D1-receptor agonists on feeding behavior in the rat. **Psychopharmacology (Berl), v.**109, n.4, p.403-9. 1992.

15. AI-NASER, H.,A.; COOPER, S.,J. A-68930, a novel, potent dopamine D1

receptor agonist: a microstructural analysis of its effects on feeding and other behaviour in the rat. **Behavior Pharmacology**, v.5, n.2, p.210-218. 1994.
16. HOBBS D., J.; KOCH, J., E; BODNAR, R.,J. Naltrexone, dopamine receptor agonists and antagonists, and food intake in rats: 1. Food deprivation. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.49, Issue 1, p.197-204. 1994.
17. KAUR, G.; KULKARNI, S.,K. Studies on modulation of feeding behavior by atypical antipsychotics in female mice. **Progress in neuro psychopharmacology & biological psychiatry,** v.26, n.2, p.277-85. 2002.
18. COOPER, S.J.; AL-NASER, H.A. Dopaminergic control of food choice: Contrasting effects of SKF 38393 and quinpirole on high-palatability food preference in the rat. **Neuropharmacology**, v.50, p.953-963. 2006.
19. COOPER, S.,J.; AL-NASER, H.,A.; CLIFTON, P.,G. The anorectic effect of theselective dopamine D1-receptor agonist A-77636 determined by meal patternanalysis in free-feeding rats. **European journal of pharmacology**, v.532, n.3,p.253-7. 2006.
20. KIMBERLEY, D. B.; HANSON M.A. The Developmental Origins, Mechanisms, and Implications of Metabolic Syndrome. **The Journal of nutrition**, v.140, p.648–652, 2010.
21. EDWARDS, L.J.; MCMILLEN, I.C. Maternal undernutrition increases arterial blood pressure in the sheep fetus during late gestation. **Journal of Physiology,** v.533, n.2, p.561–570. 2001.
22. LAU, C.; ROGERS, J.M. Embryonic and Fetal Programming of Physiological Disorders in Adulthood. **Birth Defects Research (Part C),** v.72, p.300–312. 2004.
23. CONWAY, B.; RENE, A. Obesity as a disease: no lightweight matter. **Obesity reviews**, v.5, p.145-151. 2004.
24. PATEL, M.S.; SRINIVASAN, M. Metabolic Programming Due to Alterations in Nutrition in the Immediate Postnatal Period. **The Journal of nutrition**, v.140, p.658–661, 2010.
25. NESTLER, E.J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Nature reviews. Neuroscience, v.**2, p.119–28. 2001.
26. SMALL, D.M.; ZATORRE, R.J.; DAGHER, A.; EVANS, A.C.; GOTMAN, M.J. Changes in brain activity related to eating chocolate. From pleasure to aversion. **Brain, v.**124, p.1720:1733. 2001.
27. DIAS, C.; LACHIZE, S.; BOILET, V.; HUITELEC, E.; CADOR, M. Differential effects of dopaminergic agents on locomotor sensitisation and on the reinstatement of cocaine-seeking and food-seeking behaviour. **Psychopharmacology (Berl),** v.175, n.4, p.414-27. 2004

FIGURE

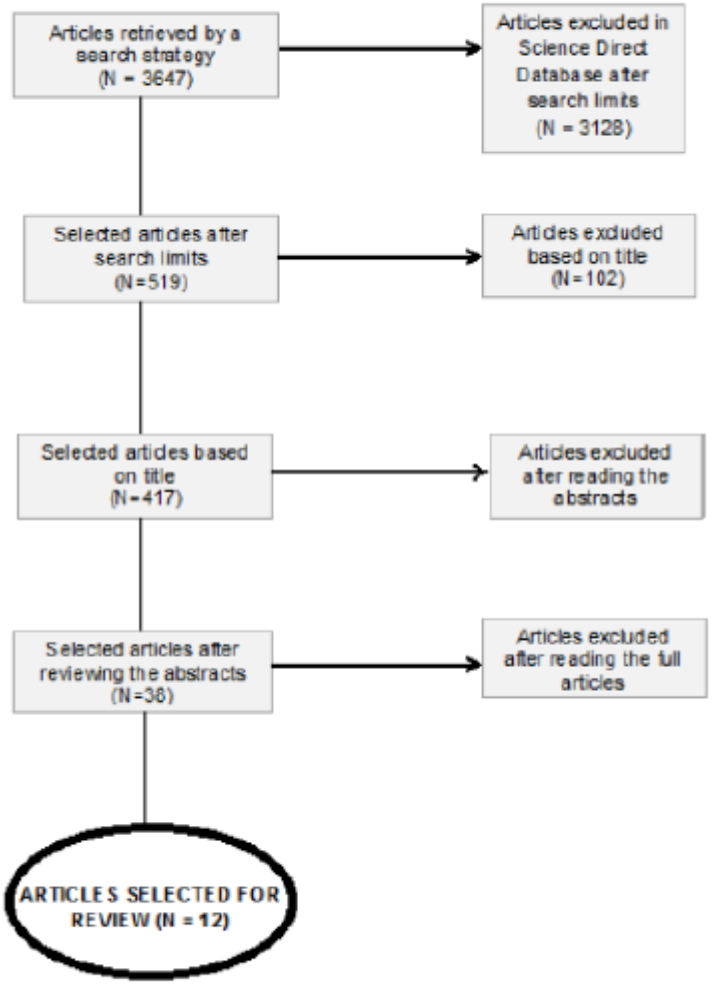

Figure 1 - Flowchart of select articles used in the systematic review after the inclusion and exclusion criteria previously determined. N=number

TABLE

Table 1 - Variables according to the 12 selected articles about the effect of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats.

Author/Year	Country	Administration and dosage of the dopamine D-1 agonist	Route of administration	Time between drug administration and the start of the test	Number of animals per group (N)	Food-deprived animals	Palatable food consumption	Methods	Results
Gilbert; Cooper, 1985[8]	United Kingdom	SK&F 38393 (3,10,30mg/kg)	Intraperitoneal	3-4 minutes	N=8	NO	YES	Adaptation to the palatable food consumption and test environment. Evaluation of food consumption for 30 minutes.	Reduction of palatable food consumption at all dosages.
Martin-Iverson; Dourish, 1988[9]	United Kingdom	SK&F 38393(5mg/kg)	Intraperitoneal	Immediately after initial weight of food	N=15	NO	NO	Evaluation of food consumption at the end of 4 hours of the experiment	SK&F 38393(5mg/kg) reduced the food consumption.
Rusk; Cooper, 1989[10]	United Kingdom	SK&F 38393 (1, 3,10, 20,30 mg/kg) SK&F 75760 (5mg/kg), SK&F 82526 (3, 10 mg/kg)	Intraperitoneal	30 minutes	N=7/8/10	Maintain a healthy weight at 85% - To consume the maintenance diet	YES – For animals not subjected to food-deprived	Evaluation of food consumption of food-deprived animals and those fed the palatable food for 30 minutes.	SK&F 38393(10 and 20 mg/kg), SK&F 75760 (5mg/kg) and SK&F 82526 (10mg/kg) reduced the palatable food consumption. SK&F 38393 (3.10 and 30 mg/kg) reduced the consumption of maintenance diet.
Cooper; Francis; Rusk,1990[11]	United Kingdom	SK&F 38393 (3, 10 mg/kg)	Subcutaneous	30 minutes	N=10	NO	YES	Adaptation to the palatable food consumption. Evaluation of feeding behavior for 30 minutes.	SK&F 38393 (3 and 10 mg/kg) reduced the palatable food consumption.
Zarrindast; Owji; Hosseini-Nia, 1991[12]	Iran	SK&F 38393(10, 30, 50 mg/kg)	Intraperitoneal	15 minutes	N=3	4 hours of diet per day	NO	Evaluation of food consumption during the interval of 1, 2 and 4 hours.	Reduction of food consumption at all dosages.
Ladurelle; Duterte-Boucher; Costentin, 1991[13]	France	SK&F 38393 (0.85, 2.5, 7.5, 22.5 mg/kg)	Subcutaneous	15 minutes	N=30	18 hours	NO	Evaluation of food consumption at various times for 3 hours.	SK&F 38393 (7.5, 22.5 mg/kg) reduced the food consumption at various times during the first hour of test.

Author/Year	Country	Administration and dosage of the D1 agonist	Route of administration	Time between drug administration and the start of the test	Number of animals per group (N)	Food-deprived animals	Palatable food consumption	Methods	Results
Terry; Katz, 1992[14]	United States	SK&F 38393 (3, 10, 30 mg/kg) SK&F 77434 (0.3, 1, 3, 10, 30 mg/kg) SK&F 82958 (0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/kg)	Intraperitoneal	15 minutes	N=10/11	15 grams during 1-week diet period before the test	YES	Evaluation of food consumption of food-deprived animals and those fed the palatable food for 40 minutes.	SK&F 38393 reduced the food consumption in both groups, but was less potent in food-deprived rats. All three D1 agonists reduced food consumption
Al-Naser; Cooper, 1994[15]	United Kingdom	A-68930 (0.1, 0.3, 1.0 mg/kg)	Subcutaneous	30 minutes	N=9	NO	YES	Evaluation of palatable food for 3 hours in sessions of 20 minutes.	Reduction of palatable food consumption.
Hobbs;Koch; Bodnar, 1994[16]	United States	SK&F -38393 (5, 10 mg/kg)	Intraperitoneal	Immediately before initial weight of food	N=10	24 hours	NO	Evaluation of food consumption for 30, 60 and 120 minutes.	SK&F 38393(10 mg/kg) reduced the food consumption during the test.
Kaur; Kulkarni, 2002[17]	India	SK&F 38393 (20 mg/kg)	Intraperitoneal	30 minutes	N=6	1 hour	YES	Evaluation of palatable food for 0,5, 1, 2, 3, 4 and 5 hours.	SK&F 38393(20mg/kg) reduced the food consumption during the interval of 0,5 hour. Low dosages (5 and 10 mg/kg) increased the food consumption in 2, 3 and 4 hours.
Cooper; Al-Naser, 2006[18]	United Kingdom	SK&F 38393 (1, 3 e 10 mg/kg)	Subcutaneous	30 minutes	N=10	22 hours	YES	Evaluation of feeding behavior for 15 minutes.	SK&F 38393(3mg/kg) increased the preference to foods rich in energy
Cooper; Al-Naser; Clifton, 2006[19]	United Kingdom	A-77636 (0.1, 0.3, 1mg/kg)	Subcutaneous	25 minutes before the early evening	N=8	NO	NO	Evaluation of food consumption in 2/2 hours for 24 hours.	Reduction of size and duration of meal without affecting the meal frequency.

Title page

THE EFFECT OF DOPAMINE D-1 AGONIST ON FEEDING BEHAVIOR IN RATS: A SYSTEMATIC REVIEW

Paula Honório de Melo Martimiano[1], Queliane Gomes da Silva Carvalho[1], Sandra Lopes de Souza[2], Raul Manhães de Castro[3], Manuela Figueiroa Lyra de Freitas[4].

[1]Masters degree in Pathology, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.
[2]Department of Anatomy, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.
[3]Doctorate degree in Life Sciences, Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.
[4]Doctorate degree in Nutrition, Academic Center of Vitória, Federal University of Pernambuco, Vitória of Santo Antão, Pernambuco, Brazil.

Address of the department and institution to which the work should be attributed:
Department of Anatomy, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.
Address: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil.

Full postal address of each author:
Paula Honório de Melo Martimiano
Address: Rua João Fragoso de Medeiros, 2428, APTO:401, Candeias, CEP: 54430-250, Jaboatão dos Guararapes, PE, Brasil.

Queliane Gomes da Silva Carvalho
Address: Rua professor Chaves Batista, 262, APTO: 201, Varzea, CEP: 50740-030, Recife, PE, Brasil.

Sandra Lopes de Souza
Address: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil.

Raul Manhães de Castro
Address: Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil.

Manuela Figueiroa Lyra de Freitas.
Address: Rua do Alto do Reservatório, S/N, Bela Vista, CEP: 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil.

Corresponding author:
Name: Paula Honório de Melo Martimiano.
Telephone: 55 (81) 96069481 / 55 (81) 85212285
Email address: paulah_melo@hotmail.com
My email address can be published.

Word count: 1.831 words
The number of figures: 1
The number of tables: 1

2.6 RECEPTOR DOPAMINÉRGICO D2

Os receptores dopaminérgicos D_2 fazem parte da família dos receptores de dopamina D_2-*like*, os quais são acoplados a proteína G_i e assim induzem a inibição da adenilato ciclase e produção do AMP cíclico (Beaulieu; Gainetdinov, 2011). Diferente dos receptores D_1, sua ativação resulta na diminuição da atividade das PKAs para induzir mecanismos de sinalização intracelular (Bateup *et al*., 2010). Esses receptores também podem interagir com a ativação de receptores glutamatérgicos, estimulando diretamente o aumento intracelular de cálcio, o que por sua vez ativa a PP2B, a qual inibi a ação da DARPP-32, uma das moléculas mais estudadas e envolvidas na cascata de sinalização (Svenningsson *et al*., 2004). Essa proteína permite a interação de interneurônios como os de glutamato, atuando com uma ação moduladora e amplificadora dos sinais celulares proveniente da ativação dos receptores de dopamina, porém permanece inativa com a ativação dos receptores dopaminérgicos D_2 (Nishi *et al*., 1997; Bateup *et al*., 2008).

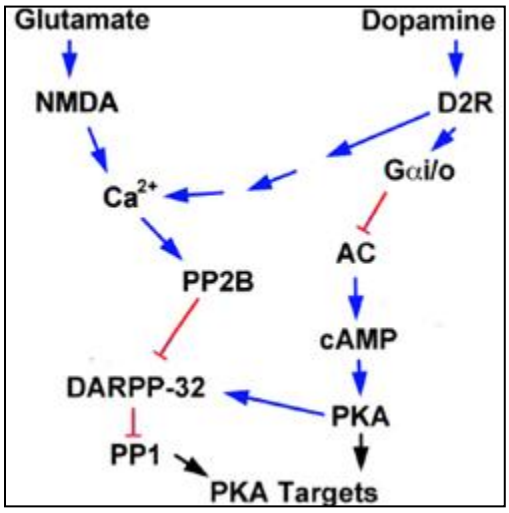

Figura 2. Via de sinalização dos receptores dopaminérgicos D2 acoplados a proteína G. A ação de outro neurotransmissor foi incluído para ilustrar os fatores integradores de sinal. As setas azuis indicam ativação e os traços vermelhos indicam inibição. As setas pretas indicam que o estímulo pode ser excitatório ou inibitório sobre a função de substratos específicos. D2R, receptor dopaminérgico D2 (Beaulieu; Gainetdinov, 2011).

Os receptores D_2 também se diferenciam do D_1 em nível de sua estrutura genética. Os genes dos receptores D_1 não contêm *introns*, enquanto os genes que codificam os receptores D_2 apresentam seis introns em sua sequência codificadora. A presença de introns permite a geração de variantes do receptor por *splicing* alternativo. No receptor D_2 foram identificadas isoformas com significado biológico reconhecido. O receptor D_2 apresenta duas variantes, denominadas curta (D_2 *short* - D_{2S}) e longa (D_2 *long* - D_{2L}), que são geradas por *splicing* alternativo, com a inserção de 29 aminoácidos na terceira alça intracitoplasmática (Ben-Jonathan, 2001). Estas variantes determinam propriedades anatômicas, fisiológicas,

farmacológicas distintas. Em contraste com a família D_1-*like*, os receptores D_2 são expressos nos neurônios dopaminérgicos pré e pós-sinápticos. D_{2S} é expresso, em sua maioria, nos neurônios pré-sináptico e são envolvidos nas funções de auto-receptor, fornecendo um mecanismo de *feedback* negativo importante no ajuste do disparo neuronal, síntese e liberação de dopamina em resposta a mudanças nos níveis extracelular desse neurotransmissor (Sibley *et al*., 1999), enquanto D_{2L} parece estar predominantemente presentes nos neurônios pós-sinápticos (De Mei *et al*., 2009), mediando uma variedade de funções importantes a nível do sistema nervoso central.

Os maiores níveis dos receptores D_2 são encontrados no núcleo accumbens, estriado e trato olfatório, porém também são expressos na substância negra, área tegmental ventral, córtex pré frontal, amigdala e hipocampo (Seeman, 2006). Eles estão envolvidos em várias funções vitais do SNC, como movimento voluntário, afeto, sono, memória, aprendizado, alimentação e nos mecanismos de recompensa.

Como os receptores D_2 participam de várias funções do organismo, não é surpreendente que eles estejam envolvidos em uma série de patologia que acometem a população atualmente, como por exemplo, a obesidade. As primeiras evidências científicas mostraram que a estimulação dos receptores D_2 levou a redução na quantidade de alimentos ingeridos por animais (Van der Weide *et al*., 1986, 1987, 1988) e sua disfunção, um aumento na ingestão alimentar. Com o objetivo de fundamentar ainda mais sua função, posteriormente foi testado e comprovado que esse efeito poderia ser bloqueado por antagonistas desse tipo de receptor (Timmerman, 1989).

A sequência comportamental da saciedade (SCS) é o nome dado às transições que ocorrem durante o período que o alimento está sendo consumido e é utilizada para observar o funcionamento dos processos fisiológicos naturais subjacentes a saciedade, podendo comparar os diferentes tipos de drogas que interferem na ingestão alimentar (Halford; Wanninayake; Blundell, 1998). Ela pôde discriminar os efeitos causados pelos agonistas dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2. Ambos reduzem a ingestão alimentar, porém por mecanismos diferentes. Os agonistas para o receptor D_1 reduzem a duração da alimentação enquanto o receptor D_2 inibem a ingestão de alimentos por reduzir a frequência com que as refeições acontecem (Jason, 1998).

Nos últimos anos, observa-se um elevado consumo de alimentos ricos em lipídios e carboidratos, e por isso existe um grande interesse de aprofundar o conhecimento de mecanismos neurais que definem a preferência por esse tipo de alimentos. Cooper; Al-Naser (2006) demonstraram que o agonista para o receptor D_2 não afetou o consumo inicial de

chocolate, mas exibiu o seu efeito supressor no final do período de teste, sugerindo que o efeito anoréctico desse receptor não pode ser atribuído ao aumento na latência para iniciar a alimentação, porém eles parecem ter influência sobre tamanho das refeições, reduzindo em mais de 50% a ingestão de alimentos palatáveis, como também observado por Al-Naser; Cooper, 1994.

Johnson; Kenny (2010) atribuíram a compulsão de animais obesos por alimentos palatáveis a uma baixa regulação a nível dos receptores dopaminérgicos D_2. Eles parecem mediar a função inibitória que a dopamina tem sobre o controle do apetite e sua disfunção contribui para o surgimento de doenças metabólicas (Volkow, 2008). Recentes estudos corroboram com esses resultados, reforçando a ideia de que os receptores dopaminérgicos D_2 estão intimamente relacionados com a manutenção do balanço energético por atuarem a nível do sistema nervoso central, inibindo o consumo de alimentos, demonstrando sua particular importância na regulação do apetite e consequentemente no surgimento da obesidade e suas patologias associadas (Touzani *et al*., 2010; Beaulieu; Gainetdinov, 2011; Crunelle *et al*., 2011; Weenen *et al*., 2011; Martín-García *et al*., 2011).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* provenientes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Para obtenção dos animais experimentais, ratos adultos (120 dias) foram acasalados na proporção de 1 fêmea para 1 macho. A prenhez foi diagnosticada pela presença de espermatozóide no esfregaço vaginal, e confirmada pelo ganho de peso corporal da fêmea. O dia seguinte a este foi considerado o dia 0 da gestação. No dia 0 as fêmeas gestantes foram transferidas para gaiolas individuais, e durante toda a gestação e lactação receberam as dietas experimentais, normoprotéica (caseína 17%) ou dieta hipoprotéica (caseína a 8%), de acordo com os grupos experimentais (Tabela 1). Após o nascimento dos filhotes foi realizada a sexagem para a formação das maternidades com 8 filhotes machos por mãe. Durante toda a pesquisa, os filhotes foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de 22 ± 2^0C, sob ciclo claro/escuro invertido de 12 horas, luz acesa às 18 horas), recebendo ração padrão de biotério e água *ad libitum*, segundo recomendação ética do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Durante os experimentos, foi ofertada aos animais experimentais dieta palatável (Tabela 1) ou biscoito Cookies (Tabela 2). Todos os procedimentos foram aprovados de acordo com a Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE- processo nº 23076.034632/2010-79 (vide anexo).

3.2 Obtenção dos Grupos Experimentais

Inicialmente, os grupos experimentais foram obtidos aleatoriamente de acordo com a dieta experimental oferecida durante a gestação e lactação (Tabela 1):

- Grupo **Controle (C):** Constituído de animais nascidos de fêmeas que receberam dieta normoprotéica (Caseína 17%) durante a gestação e lactação (N=30).
- Grupo **Desnutrido (D)**: Constituído de animais nascidos de fêmeas que receberam dieta hipoprotéica (Caseína 8%) durante a gestação e lactação (N=30).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.

Constituintes	Dieta hipoprotéica (8%)	Dieta normoprotéica (17%)	Dieta Palatável (21%)
G %	100,00	100,0	100,00
Proteínas	**8,10**	**17,30**	**23,36**
Carboidrato	75,10	65,90	48,50
Lipídios	7,00	7,00	15,33
Fibras	5,00	5,00	2,72
Vitaminas	1,00	1,00	1,00
Minerais	3,50	3,50	3,50
Metionina	0,30	0,30	0,30
% Kcal	**362,48**	**363,44**	**421,41**

As dietas foram elaboradas no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. *As vitaminas e mistura mineral foram formulados de acordo com a recomendação da AIN-93G para dietas de roedores [PG Reeves, Nielsen FH, Fahey GC Jr, 1993].

3.3 Agonistas

Os agonistas dopaminérgicos D_1 (SKF 38393) e D_2 (Quinpirole) foram obtidos na forma cristalina e dissolvidos em água na proporção de 5mg/ml, segundo recomendação do fabricante (Sigma®). Em todos os experimentos, o agonista dopaminérgico D_1 foi administrado na dose de 3 mg/kg de peso corporal (Cooper; Al-Naser, 2006), o agonista dopaminérgico D_2 na dose de 0,3 mg/kg corporal (Cooper; Al-Naser, 2006). Todos os fármacos foram administrados através da via intraperitoneal.

3.4 Procedimentos experimentais

3.4.1 Peso Corporal

O peso corporal dos animais foi registrado nos intervalos de 30, 60, 90, 120 dias de vida. Para as medidas foi utilizada balança eletrônica com capacidade para 4 Kg e sensibilidade 0,1g (Marte, modelo S-4000®).

3.4.2 Ingestão Alimentar

A análise da ingestão alimentar foi realizada aos 60 dias de vida. Neste período os animais dos grupos C e D foram alojados em gaiolas individuais, onde foi disponibilizado entre 100-150 gramas de dieta palatável (Tabela 1). Três dias foram utilizados para a adaptação às gaiolas e à dieta, sendo esta oferecida aos animais durante uma hora por dia. O

consumo alimentar foi obtido a cada 12 horas dos ciclos de luminosidade (claro/escuro) durante três dias. Para as medidas da ingestão alimentar foi utilizada balança eletrônica com capacidade para 4 Kg e sensibilidade 0,1g (Marte, modelo S-4000®).

3.4.3 Teste de Motivação (Runway Task Incentive)

Aos 70 dias de vida, todos os animais foram submetidos ao teste de motivação, após privação alimentar de 4 horas. Este teste consiste de um paradigma comportamental, o qual gera curvas de aquisição de aprendizado, bem como a velocidade e trajetória percorridas que expressam a motivação do animal frente ao estímulo da recompensa (Pecina, Cagniard *et al.*, 2003). O teste foi realizado sempre entre 12 e 14 horas.

Estrutura do Runway Task

A estrutura do runway task é formada por duas caixas (Inicial e Alvo) nas extremidades de um corredor. A caixa alvo apresenta mobilidade podendo se localizar a diferentes distâncias da caixa inicial (Figura 3).

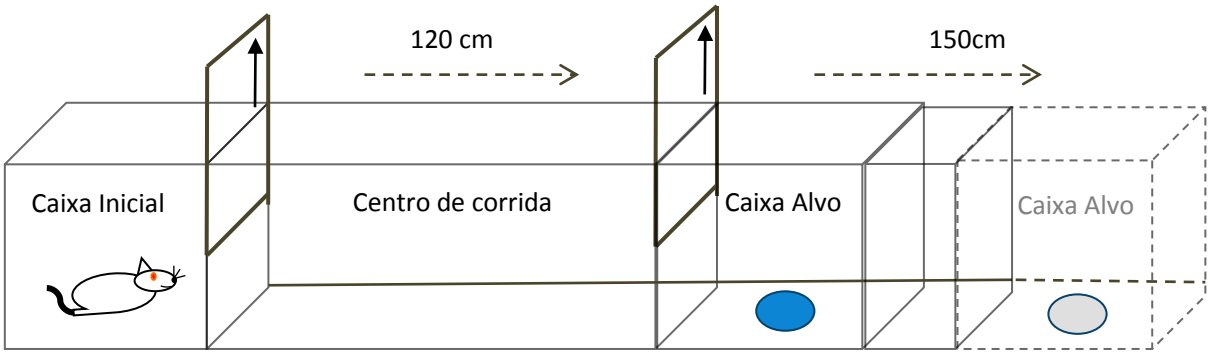

Figura 3: Representação esquemática da estrutura runway task

Os compartimentos apresentaram as seguintes medidas: uma caixa inicial (19x14x30), um centro de corrida (150x14x30), e uma caixa alvo (19x14x30). As caixas eram feitas de acrílico, enquanto que o centro de corrida era de polipropileno. Uma câmera de vídeo (câmera de infravermelho 1/3 480-linha chipsony) ficou localizada centralmente, de forma a filmar todos os compartimentos, conforme a distância (15 cm a 150 cm) entre a caixa inicial e alvo. Dentro da caixa alvo continha um recipiente com aproximadamente 5g cookies (Chocookies chocolate Nabisco® - (Tabela 2).

Treino Runway Task

Os treinos foram conduzidos durante 11 sessões em dias alternados (22 dias) cada sessão teve duração de 5min. Nas três primeiras sessões os ratos foram colocados diretamente na caixa alvo (com as portas fechadas) durante 5 minutos com acesso a recompensa. Os animais foram adaptados aos cookies chocolate (Nabisco®) nas três primeiras sessões, para extinguir o comportamento de neofobia. Da 4ª sessão do treino, caixa inicial foi localizada 15 cm da caixa alvo. O animal ficou no caixa inicial durante 30 seg com a porta fechada, em seguida a porta elevou-se para que o animal pudesse prosseguir pelo centro de corrida. Se o animal não saía da caixa inicial em 3 min, ele era gentilmente movido para a caixa alvo. Na sessão 5 a caixa inicial se afastou 30cm da caixa alvo, para 60 cm na 6ª sessão, 75cm na 7ª, 90cm na 8ª, 120cm na 9ª e 150m da 10-11 sessões (Figura 4). Nas sessões 10 e 11 os animais C e D foram subdivididos nos seguintes grupos para aplicação do fármaco:

-**Subgrupo CA:** Animais do grupo **C** que receberam aplicação de água destilada (N=10).
-Subgrupo CD1: Animais do grupo **C** que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D1 (N=10).
-Subgrupo CD2: Animais do grupo **C** que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D2 (N=10).
-Subgrupo DA: Animais do grupo **D** que receberam aplicação de água destilada (N=10).
-Subgrupo DD1: Animais do grupo **D** que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D1 (N=10).
-Subgrupo DD2: Animais do grupo **D** que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D2 (N=10).

A tarefa completa foi traduzida pela velocidade de execução, calculada por cada sessão (4º a 11º sessão). Este parâmetro foi obtido dividindo o tempo de latência de reação a caixa alvo pelo comprimento percorrido em cada dia. A saída da caixa inicial e a entrada na caixa alvo foram registradas quando as quatro patas do animal se encontravam dentro dos compartimentos. O teste de motivação foi finalizado quando o animal entrou na caixa alvo e iniciou o consumo da recompensa.

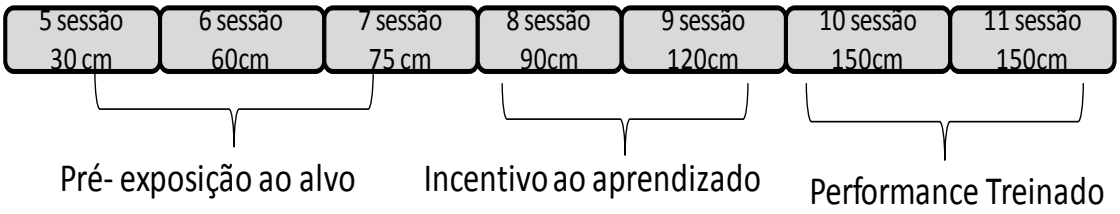

Figura 4. Esquema de treino do teste de motivação.

Durante os 5min de teste, foram avaliados: o tempo de latência (em segundos) para sair da caixa inicial, o tempo de latência (em segundos) para reagir ao caixa alvo, o número de pausas e direção reversa na rota da corrida até o alvo (incluindo retração dos passos, acompanhado de comportamento exploratório - cheirar), e o tempo de latência (em segundos) para iniciar o consumo da recompensa simultaneamente a reação a caixa alvo.

Tabela 2. Informação Nutricional do Alimento palatável*

Porção de 30g (2 unidades)	
Quantidade por porção	
Valor calórico	**147 kcal**
Carboidratos	**19g**
Açúcares	10g
Proteínas	1,8g
Gorduras totais	**7,3g**
Gorduras saturadas	3,4g
Gorduras trans	0,3g
Fibra alimentar	1,1g
Sódio	63mg

(*) Informações contidas na embalagem do produto: Chocookies Chocolate-Nabisco

3.4.4 Avaliação da ingestão de alimento palatável sob estimulo dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 durante a idade adulta.

Nessa análise, foram utilizados animais previamente privados (por quatro horas) de alimento. Os subgrupos CD1 e DD1 receberam dose aguda do agonista dopaminérgico D_1 (SKF 38393) na dose 3 mg/kg de peso corporal, os subgrupos CD2 e DD2 receberam 0,3 mg/kg de peso corporal do agonista dopaminérgico D_2 (Quinpirole) e os subgrupos CA e DA receberam água destilada no volume de 1ml/kg de peso corporal via intraperitoneal. Uma hora após as injeções, foi disponibilizado alimento palatável (Tabela 1) em quantidade conhecida. Após meia hora, o alimento foi removido e pesado para obtenção do consumo por diferença entre a quantidade oferecida e a rejeitada.

3.5 Análises Estatísticas

Os dados foram apresentados em média e erro padrão. Para demonstrar a diferença entre a ingestão alimentar dos grupos experimentais, os valores foram transformados em calorias e relativizado pelo peso corporal de cada animal, multiplicado por 100 [(g consumida x cal)/peso do animal) x 100]. Além disso, para comparar a quantidade de alimento ingerido pelos grupos normonutridos e desnutridos em resposta aos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2, os dados foram expressos em porcentagem relacionada à ingestão alimentar dos grupos que receberam aplicação de água destilada. Para as diferenças estatísticas foram utilizados os testes: T *student* para a ingestão alimentar aos 60 dias de vida e o two-way ANOVA seguido por Bonferroni pós-teste, para os demais experimentos (peso corporal, ingestão alimentar em resposta aos agonistas D_1 e D_2 e teste de motivação). O nível de significância foi considerado P igual ou menor que 0,05. Todos os dados foram analisados usando o programa GraphPad Prism 5, versão 7.

4. RESULTADOS

4.1 Artigo original

O EFEITO DA DESNUTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL SOBRE A AÇÃO DOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS D_1 e D_2 NA MOTIVAÇÃO E NO CONSUMO DE ALIMENTOS PALATÁVEIS.

Resumo

Objetivo: Avaliar, em ratos adultos, o efeito da desnutrição proteica perinatal sobre a função dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 na motivação e no consumo de alimentos palatáveis. **Método**: Foram utilizados ratos da linhagem Wistar divididos em dois grupos segundo a dieta oferecida às mães durante a gestação e a lactação: Normonutrido (N, dieta com 17% de caseína) e Desnutrido (D dieta com 8% caseína). Foram avaliados: a) Peso corporal entre 15 e 120 dias de vida. b) Comportamento motivacional diante de recompensa alimentar, através do teste de motivação sob efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2. Este teste foi realizado dos 70 aos 92 dias de vida, compreendendo 11 sessões alternadas de treinamento, onde o animal era exposto à recompensa por 5min. c) Ingestão de alimento palatável sob efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2. **Resultados:** Os animais desnutridos ingeriram uma maior quantidade de alimento palatável durante o período de teste. A aplicação dos agonistas D_1 e D_2 reduziu o consumo de dieta palatável nos grupos normonutrido e desnutrido, entretanto, o efeito anoréctico do agonista D_1 foi atenuado nos animais desnutridos. Durante o teste de motivação, os animais desnutridos se mostraram mais motivados para reagir à recompensa. Esse resultado foi acentuado após aplicação do agonista D_1. **Conclusão**: A desnutrição perinatal estimula os componentes motivacionais do comportamento alimentar, reduzindo a ação hipofágica do receptor de dopamina D_1, contribuindo para o aumento da motivação e consumo de alimentos palatáveis.

Palavras-Chave: Desnutrição Perinatal, Receptor D_1, Receptor D_2, Motivação, Alimento Palatável.

Introdução

A obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo atualmente (Finucane *et al*., 2011). A fim de explicar o aumento dramático na prevalência dessa patologia nos últimos anos, evidências sugerem que além das mudanças nos hábitos alimentares dos indivíduos e a ausência de práticas esportivas concebidas pelo mundo moderno (Vickers, 2003), existe uma estreita relação entre o baixo peso ao nascer e o elevado risco para desenvolvimento de doenças metabólicas na vida adulta (Hales; Barker, 1992; Velkoska; Morris, 2011). A causa mais frequente de alterações do peso corporal em períodos precoces da vida é o aporte nutricional materno durante os períodos de gestação e lactação (Page, Malik *et al.*, 2009).

A desnutrição perinatal altera função de mecanismos responsáveis pela manutenção do balanço energético, o qual é mantido por inúmeras substâncias estimuladas pelo padrão dietético do indivíduo que atuam, particularmente, sobre o hipotálamo (Wynne; Stanley *et al.*, 2005; Bellinger; Sculley *et al.*, 2006). Exemplos como aumento da expressão de neuropeptídeo Y (Plagemann *et al*., 2000), do peptídeo relacionado à proteína Agouti e diminuição do neurotransmissor peptídeo pró-ópio-melanocortina, resultam muitas vezes, em uma forte predisposição para hiperfagia e obesidade em ratos (Delahaye *et al*., 2008, Bouret, 2009; Orozco-Solis; Matos *et al*., 2010; Garcia *et al*., 2010). Hormônios periféricos, como leptina, insulina e ghrelina também têm suscitado grande atenção como responsáveis dos padrões alimentares e gasto energético ao nível do hipotálamo (Coll; Farooqi; O'rahilly, 2007). Fatores nutricionais durante a vida perinatal podem também modular a sensibilidade desses hormônios na vida adulta (Palou; Pico, 2009; Garcia *et al*., 2010).

A dopamina é um dos neurotransmissores clássicos que atua no sistema nervoso central e os receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 são conhecidos por estarem particularmente envolvidos no comportamento alimentar (Beaulieu; Gainetdinov, 2011). Esses receptores estão relacionadas às sensações motivacionais causadas por certos tipos de alimentos, estimulando a preferência e o consumo de alimentos energéticos (Niv, 2007; Vucetic; Reyes, 2010). Além disso,atuam mediando a ação inibitória que a dopamina tem sobre a regulação do apetite (Vucetic; Reyes, 2010).

Trabalhando com ratos submetidos a algumas horas de privação alimentar, Cooper; Al-Naser (2006) sugeriram que, após aplicação aguda do agonista dopaminérgico D_1 (SKF 38393), os animais tiveram preferência por alimentos ricos em carboidrato e lipídeo. Johnson; Kenny (2010) atribuíram a compulsão de animais obesos por alimentos palatáveis a uma baixa regulação a nível dos receptores dopaminérgicos D_2.

O alimento palatável é uma recompensa natural. Isso explica seu consumo além da necessidade energética. Os receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 atuam sobre o consumo desse tipo de alimento e embora muitos estudos já tenham fundamentado seu papel sobre o comportamento alimentar, a literatura ainda é escassa em relação ao efeito da desnutrição perinatal sobre a função desses receptores, podendo ser esse, um dos mecanismos neurais que esteja relacionado à etiologia da obesidade na população mundial atualmente. Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar, em ratos adultos, o efeito da desnutrição proteica perinatal sobre a função dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 na motivação e no consumo de alimentos densamente energéticos.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* provenientes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Para obtenção dos animais experimentais, ratos adultos (120 dias) foram acasalados na proporção de 1 fêmea para 1 macho. A prenhez foi diagnosticada pela presença de espermatozóide no esfregaço vaginal, e confirmada pelo ganho de peso corporal da fêmea. O dia seguinte a este foi considerado o dia 0 da gestação. No dia 0 as fêmeas gestantes foram transferidas para gaiolas individuais, e durante toda a gestação e lactação receberam as dietas experimentais, normoprotéica (caseína 17%) ou dieta hipoprotéica (caseína a 8%), de acordo com os grupos experimentais (Tabela 1). Após o nascimento dos filhotes foi realizada uma randomização com filhotes de várias mães do mesmo grupo experimental e em seguida foi realizada a sexagem para a formação das maternidades com 8 filhotes machos por mãe. Durante todo o experimento, os filhotes foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de 22 ± 2^0C, sob ciclo claro/escuro invertido de 12 horas, luz acesa às 18 horas), recebendo ração padrão de biotério e água *ad libitum*, segundo recomendação ética do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Durante os experimentos, foi ofertada aos animais experimentais dieta palatável (Tabela 1) ou biscoito Cookies (Tabela 2).

Agonistas

Os agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 foram obtidos na forma cristalina e dissolvidos em água na proporção de 5mg/ml, segundo recomendação do fabricante (Sigma). Em todos os experimentos, o agonista dopaminérgico D_1 (SKF 38393) foi administrado na dose de 3 mg/kg de peso corporal e o agonista dopaminérgico D_2 (Quinpirole) na dose de 0,3 mg/kg, aplicados por via intraperitoneal.

Peso Corporal e Ingestão Alimentar

O peso corporal foi analisado aos 30, 60, 90 e 120 dias de vida. Aos 60 dias de vida os animais foram alojados em gaiolas individuais sendo disponibilizado entre 100-150 gramas de dieta palatável (Tabela 1). Três dias foram utilizados para a adaptação às gaiolas e à dieta,

sendo esta oferecida aos animais durante uma hora por dia. O consumo alimentar foi obtido a cada 12 horas dos ciclos de luminosidade (claro/escuro) durante três dias.

Teste de Motivação

Aos 70 dias de vida, todos os animais foram submetidos ao teste de motivação, após privação alimentar de 4 horas. Este teste consiste de um paradigma comportamental, o qual gera curvas de aquisição de aprendizado, bem como a velocidade e trajetória percorridas que expressam a motivação do animal frente ao estímulo da recompensa (Pecina, Cagniard *et al.*, 2003). O teste foi realizado sempre entre 12 e 14 horas. A estrutura do *runway task* consiste em três compartimentos: A caixa inicial (19x14x30), o corredor (150x14x30) e a caixa alvo (19x14x30). As caixas eram feitas de acrílico, enquanto que o centro de corrida era de polipropileno. As imagens eram capturadas por uma câmera de vídeo (câmera de infravermelho 1/3 480-linha chipsony) que ficou localizada centralmente, de forma a filmar todos os compartimentos, conforme a distância (15 cm a 150 cm) entre a caixa inicial e alvo. A caixa alvo apresenta mobilidade podendo se localizar a diferentes distâncias da caixa inicial. Dentro da caixa alvo continha um recipiente com aproximadamente 5g de cookies (Chocookies chocolate Nabisco®) (Tabela 2). Para extinguir o comportamento neofobia os animais foram adaptados aos cookies chocolate (Nabisco®) nas três primeiras sessões. Os treinos foram conduzidos durante 11 sessões em dias alternados (22 dias) cada sessão teve duração de 5min (Figura 8). Nas primeiras três sessões, os ratos foram colocados diretamente na caixa alvo, fechada, permitindo o animal comer a recompensa durante 5 minutos. Da 4ª sessão do treino, caixa inicial foi localizada 15 cm da caixa alvo. O animal ficou no caixa inicial durante 30 seg com a porta fechada, em seguida a porta elevou-se para que o animal pudesse prosseguir pelo centro de corrida. Se o animal não saía da caixa inicial em 3 min, ele era gentilmente movido para a caixa alvo. Na sessão 5 a caixa inicial se afastou 30cm da caixa alvo, para 60 cm na 6ª sessão, 75cm na 7ª, 90cm na 8ª, 120cm na 9ª e 150m da 10-11 sessões. Nas sessões 10 e 11 os animais C e D foram subdivididos nos seguintes grupos para aplicação do fármaco: -**Subgrupo CA:** Animais normonutridos que receberam aplicação de água destilada (N=10). **-Subgrupo CD1:** Animais normonutridos que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D1 (N=10). **-Subgrupo CD2:** Animais normonutridos que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D2 (N=10). **-Subgrupo DA:** Animais desnutridos que receberam aplicação de água destilada (N=10). -**Subgrupo DD1:** Animais desnutridos que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D1 (N=10). -**Subgrupo DD2:** Animais

desnutridos que receberam aplicação do agonista dopaminérgico D2 (N=10). A tarefa completa foi traduzida pela velocidade de execução, calculada por cada sessão. Este parâmetro foi obtido dividindo o tempo de latência de reação à caixa alvo pelo comprimento de cada sessão. A saída da caixa inicial e a entrada na caixa alvo foram registradas quando as quatro patas do animal se encontravam dentro dos compartimentos. O teste de motivação foi finalizado quando o animal entrou na caixa alvo e iniciou o consumo da recompensa. Durante os 5min de teste, foram avaliados: 1- O tempo de latência (em segundos) para sair da caixa inicial, 2- O tempo de latência (em segundos) para reagir ao caixa alvo, 3- O número de pausas e direção reversa na rota da corrida até o alvo (incluindo retração dos passos, acompanhado de comportamento exploratório - cheirar), e 4- O tempo de latência (em segundos) para iniciar o consumo da recompensa.

Avaliação da ingestão de alimento palatável sob estimulo dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 durante a idade adulta

Nessa análise, foram utilizados animais previamente privados de alimento por quatro horas. Os subgrupos CD1 e DD1 receberam dose aguda do agonista dopaminérgico D_1, os subgrupos CD2 e DD2 receberam do agonista dopaminérgico D_2 e os subgrupos CA e DA receberam água destilada. Meia hora após as injeções foi disponibilizado alimento palatável (Chocookies chocolate Nabisco®) em quantidade conhecida. Após uma hora, o alimento foi removido e pesado para obtenção do consumo por diferença entre a quantidade oferecida e a rejeitada.

Análises estatísticas

Os dados foram apresentados em média e erro padrão. Para demonstrar a diferença entre a ingestão alimentar dos grupos experimentais, os valores foram transformados em calorias e relativizado pelo peso corporal de cada animal, multiplicado por 100 [(g consumida x cal)/peso do animal) x 100]. Além disso, para comparar a quantidade de alimento ingerido pelos grupos normonutridos e desnutridos em resposta aos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2, os dados foram expressos em porcentagem relacionada à ingestão alimentar dos grupos que receberam aplicação de água destilada. Para as diferenças estatísticas foram utilizados os testes: T *student* para a ingestão alimentar aos 60 dias de vida e o two-way ANOVA seguido por Bonferroni pós-teste, para os demais experimentos (peso corporal, ingestão alimentar em

resposta aos agonistas D_1 e D_2 e teste de motivação). O nível de significância foi considerado P i gual ou menor que 0,05. Todos os dados foram analisados usando o programa GraphPad Prism 5, versão 7.

Resultados

Efeito da desnutrição perinatal sobre o peso corporal e ingestão de dieta palatável.

O peso corporal dos animais desnutridos se manteve significantemente menor comparado com os animais normonutridos dos 30 até os 120 dias de vida (normonutridos, 296,9 ± 6,5g, n=30, *versus* desnutrido 260,4 ± 1,64g, n=30, **p<0,01, ***p<0.001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste) (Figura 1). Os animais expostos à dieta hipoprotéica durante o período de gestação e lactação ingeriram uma maior quantidade de alimento palatável comparado com o grupo normonutrido durante o período de teste. Os dados foram transformados em calorias e relativizado pelo peso corporal de cada animal (normonutridos, 26,8 ± 0,3, n=30 *versus* desnutrido 40,7 ± 0,3, n=30, *p<0,05, Test *T student* para comparação entre grupos) (Figura 2).

Ação anoréctica dos agonistas dopaminérgicos D1 e D2 nos animais controle e desnutridos.

A aplicação dos agonistas D1 e D2 reduziu o consumo de dieta palatável durante 60 minutos nos grupos normonutrido e desnutrido (normonutrido, 8,8 ± 1,18; 3,0 ± 0,45, n=10, ***p<0,001, *versus* desnutrido 21,1 ± 0,19; 4,8 ± 0,45, n=10, ***p<0,001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Entretanto, o efeito anoréctico do agonista D1 foi atenuado nos animais expostos à dieta hipoprotéica durante o período de gestação e lactação (normonutrido, 8,8 ± 1,18, n=10, desnutrido, 21,1 ± 0,19, n=10, $^{\#}$ p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Comparado com os animais tratados com água destilada, o agonista D1 inibiu em 57% a ingestão alimentar no grupo normonutridos e a mesma dose da droga, reduziu apenas em 27% a quantidade de alimento ingerido pelos animais desnutridos. Não houve diferença estatisticamente significante na quantidade de alimento ingerido entre o grupo normonutrido e desnutrido que receberam aplicação do agonista dopaminaérgico D_2 (normonutrido, 14,77 ± 0.30, n=10 *versus* desnutrido, 15,01 ± 0,45, n=10). Para demonstrar a diferença da ingestão alimentar entre os animais controle e desnutridos em resposta aos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2, os

dados de consumo foram transformados em porcentagem relacionada à ingestão alimentar dos grupos que receberam aplicação de água destilada. **(**Figura 3).

Teste de Motivação

Avaliação do número de pausas e direção reversa, o tempo de latência para sair da caixa inicial e para reagir a caixa alvo.

Os animais desnutridos apresentaram menor número de pausas nas sessões 5 e 10 quando comparado com o grupo normonutrido (normonutrido, 1,90 ± 0,1; 0,8 ± 0,13, n=10 *versus* desnutrido, 1,00 ± 0,0; 0,11 ± 0,11, n=10, **p<0,01, *p<0,05, , two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste) (Figura 4A). Nas sessões 5, 6, 7 e 9, os animais desnutridos apresentaram menor número de direções reversas do que o grupo normonutrido (normonutrido, 1,00 ± 0,0; 1,20 ± 0,20; 1,17 ± 0,54; 1,13 ± 0,13, n=10 *versus* desnutrido 0,11 ± 0,11; 0,22 ± 0,15; 0,33 ± 0,17; 0,44 ± 0,18, n=10, **p<0,001 e *p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste) (Figura 4B). Em relação ao tempo de latência para sair da caixa inicial e para atingir a caixa alvo, não foi encontrado diferença estatisticamente significante entre os grupos experimentais analisados (Figura 4C e 4D).

Avaliação do tempo de latência para consumir a recompensa.

Durante as sessões de adaptação (sessões 1, 2 e 3), os animais desnutridos mostraram um maior tempo de latência para comer a recompensa quando comparado com o grupo normonutrido (normonutrido, 162,30 ± 0,90; 120,40 ± 0,90; 27,30 ± 0,30, n=10 *versus* desnutrido, 224,00 ± 1,00; 177,50 ± 0,90; 48,00 ± 0,48, n=10, ***p<0,001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste) (Figura 5 A). No entanto, na sessão 5, a qual faz parte do período de pré-exposição, os animais desnutridos apresentaram um menor tempo de latência para comer a recompensa comparado ao grupo normonutrido (normonutrido, 82,60 ± 0,74, n=10 *versus* desnutrido, 51,00 ± 0,60, n=10, *p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Durante o período de aprendizado, na sessão 8, os animais desnutridos também apresentaram um menor tempo de latência para comer a recompensa comparado ao grupo normonutrido (normonutrido, 48,30 ± 0,65, n=10 *versus* desnutrido, 17,44 ± 0,49, n=10, *p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste) (Figura 5B). Durante as sessões 10 e 11, não foi

encontrada diferença estatisticamente significante no tempo de latência para consumir a recompesa entre os animais normonutridos e desnutridos (Figura 5B).

Velocidade dos animais controle e desnutrido

No período de pré-exposição, a velocidade dos animais controle e desnutridos não apresentaram diferença estatisticamente significante. Durante a fase de incentivo a aprendizagem (sessões 7, 8 e 9), os animais desnutridos apresentaram uma velocidade maior em todas nas sessões analisadas comparado ao grupo normonutrido (normonutrido, 8,03 ± 0,26; 8,23 ± 0,26; 11,58 ± 0,29, n=10 *versus* desnutridos, 13,85 ± 0,39; 13,95 ± 0,23; 15,71 ± 0,30, n=10, ***p< 0,001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Os animais desnutridos mantiveram essa diferença quando treinados, durante as sessões 10 e 11, comparado ao grupo normonutrido (normonutrido, 12,66 ± 0,28; 12,87 ± 0,27, n=10 *versus* desnutrido, 16,83 ± 0,30; 14,73 ± 0,30, n=10, ***p<0,001 e *p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste) (Figura 6).

Efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre a motivação e o aprendizado dos animais normonutrido e desnutrido no teste de motivação

A aplicação dos agonistas dopaminérgicos D_1 aumentou a velocidade dos animais normonutrido e desnutrido durante as sessões 10 (Figura 7A) e 11 (Figura 7B) no teste de motivação (normonutrido, 17,93 ± 0,22; 19,01 ± 0,23, n=10 *versus* desnutrido, 19,01 ± 0,23; 18,65 ± 0,25, n=10, ***p<0,001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Em contrapartida, a aplicação do agonista dopaminérgico D2 reduziu a velocidade dos animais normonutrido e desnutrido durante as sessões 10 (Figura 7A) e 11 (Figura 7B) no teste de motivação (normonutrido, 5,00 ± 0,16; 5,00 ± 0,17, n=10 *versus* desnutrido, 5,00 ± 0,16; 6,47 ± 0,11, n=10, ***p<0,001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Quando os valores foram comparados com os animais nomonutrido que receberam a mesma dose do agonista D_1, o grupo desnutrido apresentou uma maior velocidade em ambas sessões no teste de motivação (normonutrido, 17,93 ± 0,22; 19,01 ± 0,23, n=10 *versus* desnutrido, 19,01 ± 0,23; 18,65 ± 0,25, n=10, $^{\#\#}$p<0,01, $^{\#\#\#}$p<0,001, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Não foi encontrado diferença estatisticamente significante na velocidade entre os animais normonutridos e desnutridos após aplicação do agonista D2.

Discussão

A desnutrição perinatal contribui para o aumento no consumo de alimentos palatáveis por reduzir a ação hipofágica do receptor dopaminérgico D_1 e estimula o componente motivacional do comportamento alimentar frente ao estímulo de recompensa, constatado pela maior velocidade para executar a tarefa completa e pela redução no número de distrações durante o teste de motivação.

O cérebro durante a fase de desenvolvimento é extremamente vulnerável a diferentes tipos de agressões (Morgane *et al*., 2002). Os efeitos deletérios são evidenciados por diferentes paradigmas experimentais, tais como estresse pré-natal (Vallée *et al*., 1997), separação materna (Lehmann *et al*., 1999), hipernutrição (Alsio *et al*., 2010) e desnutrição durante fases precoces da vida (Lopes de Souza *et al*., 2008). Essas manipulações induzem o desenvolvimento de desordens neurais que podem ser responsáveis por uma série de disfunções observadas em indivíduos adultos (Valdomero *et al*., 2006; 2007).

No presente estudo, a desnutrição proteica no período perinatal promoveu redução do peso corporal dos animais, corroborando com os estudos de Smart; Preece, (1973), Plagemann *et al.*(2000), Remmers *et al.*(2008) e Orozco-Solis *et al.* (2009). O baixo peso ao nascer está relacionado ao elevado risco para desenvolvimento de obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares na vida adulta (Hales; Barker, 1992; Patel; Srinivasan, 2010). A causa mais frequente de alterações do peso corporal em períodos precoces da vida é o aporte nutricional materno durante o período de gestação e lactação (Page *et al.*, 2009).

Nesta pesquisa, os animais que tiveram um baixo peso ao nascer apresentaram também alto consumo de alimentos palatáveis na vida adulta. Em estudos experimentais onde houve restrição proteica durante o período de gestação e lactação também ocorreu hiperfagia (Vickers *et al*., 2000; Desai *et al*., 2005; Bellinger et al., 2006) e uma elevada preferência por alimentos ricos em açúcar e gordura (Bellinger *et al*., 2004; Bellinger;Langley-Evans, 2005). Vários neurotransmissores e peptídeos atuam em regiões do sistema nervoso central como, hipotálamo, núcleo *accumbens*, área tegmentar ventral e hipocampo, as quais fazem parte de uma rede complexa de sinais que estão intimamente relacionadas ao comportamento alimentar (Erlanson-Albertsson, 2005; Magni *et al.*, 2009; Lutter; Eric, 2009). Cripps *et al.* (2009) observaram que a expressão de RNAm de peptídeos reguladores da ingestão alimentar e o sistema de proteínas sinalizadoras do balanço energético são alterados pela manipulação da dieta materna durante a gestação e lactação, pois animais que sofreram restrição proteica durante o período perinatal, apresentam aumento na expressão de neuropeptídeos

hipotalâmicos orexigênicos (NPY e AgRP) e redução na expressão dos anorexigênicos (POMC e CART) (Orozco-solis et al., 2009; 2010).

O acesso a alimentos palatáveis é considerado atualmente um dos preditores de desordens metabólicas, entre elas a obesidade (Berridge; Kringelbach, 2008). A preferência por esse tipo de alimento está associada a respostas hedônicas, como a motivação, a palatabilidade e o prazer (Yamamoto, 2006; Berridge; Kringelbach, 2008). A dopamina participa desses mecanismos através da ação dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 (Cooper *et al*. 2006; Volkow, 2008).

No presente estudo, foi observado que a administração aguda de agonistas dos receptores D_1 e D_2 promoveu redução do consumo de alimentos palatáveis independente do historico nutricional dos animais avaliados. O efeito dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre o controle do apetite já está bem fundamentado na literatura. Segundo alguns estudos, esses receptores atuam na saciedade por mediar a ação inibitória que a dopamina têm sobre o consumo de alimentos através da ativação de neurônios localizados em núcleos hipotalâmicos, como o lateral e ventromedial (Volkow, 2008; Johnson; Kenny 2010; Beaulieu; Gainetdinov, 2011). Porém existe uma escassez de pesquisas que demonstrem a ação desses receptores em organismos submetidos à desnutrição durante o período de gestação e lactação.

A desnutrição perinatal reduziu a ação hipofágica do receptor dopaminérgico D_1. No entanto, tal efeito não foi observado após aplicação do agonista para o receptor D_2. Apesar de ser escasso os estudos do efeito da desnutrição sobre os receptores dopaminérgicos, já foi relatado níveis elevados de dopamina encefálica em animais desnutridos (Valdomero *et al*., 2007), fato que poderia diminuir a sensibilidade de ligação aos seus receptores, neste caso, ao receptor dopaminérgico D_1. Foi observado também que a desnutrição perinatal alterou o sistema serotoninérgico em ratos adultos desnutridos durante o período da gestação e lactação. Eles apresentaram resistência ao efeito hipofágico do agonista 5-$HT_{1B,}$ resultando um elevado consumo alimentar desses animais com histórico de desnutrição perinatal (Lopes de Souza *et al*., 2008; Orozco-Solis, Matos *et al*., 2010).

A fim de compreender melhor os circuitos neurais envolvidos no comportamento alimentar e possíveis alterações derivadas da desnutrição perinatal, além do consumo alimentar, a presente pesquisa destaca o papel dos receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 nos diferentes aspectos comportamentais como motivação e aprendizado. Alguns estudos destacam que a desnutrição perinatal está relacionada, tanto em ratos como em humanos a déficit de aprendizado (Wang; Xu, 2007; Ranade; Rose *et al*., 2008).

A agressão nutricional no início da vida prejudica a formação do hipocampo, estrutura encefálica que contem neurônios que além de desempenhar um papel essencial no processo de memória e aprendizado (Morgane *et al.*, 2002), também está envolvido nos processos motivacionais, particularmente àqueles relacionados ao controle da alimentação e comportamento alimentar (Tracy, 2001).

O protocolo de treinamento utilizado neste estudo permitiu verificar a motivação do animal frente ao estímulo de recompensa. E através deste, constatou-se que a desnutrição perinatal não determinou diferença em relação ao tempo de latência para sair da caixa inicial e ao tempo para chegar na caixa alvo, porém induziu um maior tempo para iniciar o consumo da recompensa durante as sessões de adaptação, podendo indicar atraso de aprendizado promovido pela desnutrição. Entretanto, quando houve atividade repetida pelo treinamento, esse déficit foi minimizado; como observado durante o período de pré-exposição (sessão 5) e na fase de incentivo ao aprendizado (sessão 8), onde a desnutrição perinatal contribuiu para um menor tempo de latência para consumir a recompensa. Crianças com baixo peso ao nascer que mostraram ligeira perda na capacidade cognitiva recuperaram tal déficit ao longo do tempo (Richards; Hardy *et al.*, 2001; Kar; Rao; Chandramouli, 2008). Estes resultados demonstram que apesar de a desnutrição promover alterações no sistema nervoso, estas podem ser revertidas ao longo da vida. Por outro lado, o presente estudo apresenta dados opostos aqueles relatados por Landon *et al.* (2007) que observou prejuízos na capacidade de adaptação a tarefas com reforço em ratos com histórico de restrição alimentar. Esses dados conflitantes podem ser devido ao tipo de desnutrição, pois no estudo de Landon *et al.* (2007) foi realizada restrição do valor energético, enquanto no presente estudo, temos a desnutrição proteica.

Outro aspecto importante observado com o protocolo de treinamento é que a desnutrição perinatal aumenta o comportamento motivacional do animal diante de uma recompensa alimentar, pois ao se avaliar a velocidade para executar a tarefa completa, ou seja, percorrer todo trajeto e reagir a recompensa, constatou-se que os animais desnutridos mantiveram uma velocidade maior a partir da fase de incentivo ao aprendizado (sessão 7) até a última sessão realizada em comparação aos normonutridos, e também apresentaram menor número de pausas e de direções reversas, indicando menor distração.

Ao analisar a motivação associada à ação dos agonistas dopaminérgicos, observou-se que a aplicação do agonista do receptor D_1 nas últimas sessões do teste, resultou numa maior velocidade no teste de motivação. No entanto, o efeito da desnutrição perinatal potencializou o efeito do agonista D1, exacerbando essa velocidade e a motivação para adquirir a

recompensa. Segundo alguns autores o receptor dopaminérgico D_1 pode contribuir para a motivação do apetite e desempenha um importante papel no aumento do incentivo para adquirir recompensas naturais, como por exemplo, o alimento palatável (Wang *et al,*. 2007; Robinson *et al*., 2005; Del Parigi*et al.*, 2003; Volkow, 2008; Vucetic, 2010). A função do receptor D_1 relacionada ao componente motivacional do comportamento alimentar parece ser mediada por neurônicos situados, dentre outras áreas, no núcleo a*ccumbens*, pálido ventral, estriado ventral, área tegmentar ventral, córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala (Beaulieu; Gainetdinov, 2011). Essas regiões formam o sistema de recompensa alimentar (Patel; Srinivasan, 2010), o qual está predominantemente localizado no sistema corticomesolímbico e são estimuladas principalmente pela ingestão de alimentos ricos em gordura ou carboidratos (Erlanson-Albertsson, 2005).

Independente da dieta oferecida durante a gestação e lactação, os animais da presente pesquisa apresentaram uma menor velocidade durante o teste de motivação após aplicação do agonista D_2. Como os receptores dopaminérgicos D_2 estão localizados predominantemente em núcleos hipotalâmicos, como o lateral e ventromedial, alguns autores (Estevinho; Fortunato, 2003; Vucetic; Reyes, 2010) sugerem que sua ação está particularmente voltada à saciedade e não a motivação. Por isso, eles atuam principalmente inibindo o consumo de alimentos, controlando tamanho, duração e frequência das refeições (Estevinho, 2003; Volkow, 2008; Davis *et al*., 2009; Johnson; Kenny 2010; Beaulieu; Gainetdinov, 2011).

Os receptores D_2 também atuam sobre a atividade locomotora, sendo expressos em neurônios pré e pós sinápticos (Missale *et al*., 1998; Sibley, 1999; De Mei *et al*., 2009). A ativação dos primeiros geralmente causa uma diminuição na liberação de dopamina, que resulta em diminuição da atividade locomotora, enquanto que a ativação de receptores pós-sinápticos estimula a locomoção (Li *et al*., 2010; Balthazar, 2010). Além disso, os receptores D_2 pré-sinapticos são ativados com uma menor concentração de agonista em relação aos pós-sinápticos. Dessa forma, o agonista pode induzir um efeito bifásico, levando à diminuição da atividade locomotora em doses baixas e ativação em altas doses (Fan *et al*., 2010; Jackson *et al*., 2010). Nesta pesquisa, a dose do agonista D_2 (Quinpirole – 0,3mg/kg) utilizada foi a mesma empregada na maioria dos estudos que avaliaram a função desse tipo de receptor sobre o comportamento alimentar (Cooper; Al-Naser, 2006; Baladi; France, 2010), sendo considerada uma dose baixa, porém ideal para atuar na saciedade e reduzir comportamentos esteriotipados (Halford; Wanninayake; Blundell, 1998; Rodgers; Holch; Tallett, 2010).

Ao se realizar uma comparação intergrupo, a desnutrição perinatal não induziu diferença significativa entre a velocidade atingida durante o teste de motivação após aplicação

do agonista dopaminérgico D_2, sugerindo que possivelmente os receptores dopaminérgicos D_2 não estão envolvidos na alteração existente no comportamento alimentar dos organismos com histórico de desnutrição perinatal. Existem estudos que demonstram que esse tipo de receptor se encontra alterado, em níveis mais baixos, em animais e humanos obesos (Volkow; Wang; Baler, 2008; Johnson; Kenny 2010).

Conclusão

A desnutrição perinatal estimula os componentes motivacionais do comportamento alimentar e reduz a ação hipofágica do receptor dopaminérgico D_1, contribuindo para o aumento do consumo de alimentos palatáveis. Dessa forma, a desnutrição perinatal é capaz de elevar os níveis de dopamina encefálica e gerar mudanças adaptativas e/ ou compensatórias do receptor D_1 na idade adulta. A redução da ação hipofágica deste receptor, por sua vez, prejudica a via anoréctica do sistema da dopamina e pode estar relacionada a hipótese que fundamenta o surgimento da obesidade a partir de insultos perinatais.

Referências

Alsiö, j. et al. Dopamine d1 receptor gene expression decreases in the nucleus accumbens upon long-term exposure to palatable food and differs depending on diet-induced obesity phenotype in rats, Neuroscience. *v.*171, p.779–787. 2010.

Baladi, M.G.; France C.P. ting high-fat chow increases the sensitivity of rats to quinpirole-induced discriminative stimulus effects and yawning. Behav Pharmacol, v.21, n.7, p.615-20.

Balthazar, C.H. *et al*. Effects of blockade of central dopamine D1 and D2 receptors on thermoregulation, metabolic rate and running performance. Pharmacol Rep, v.62, n.1, p.54-61. 2010.

Beaulieu J.M.; Gainetdinov R.R. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. Pharmacological Reviews. Vol. 63, No. 1. P. 182-217. 2011.

Bellinger, L.; Langley-Evans, S.C. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. Clin. Sci., v.109, p.413– 420. 2005.

Bellinger, L.; Lilley, C.;Langley-Evans, S.C. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. Br. J. Nutr.,v. 92, p.513–520. 2004.

Bellinger, L.;Sculley, D.V.; Langley-Evans, S.C. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. Int. J. Obes. (Lond.), v.30, p.729–738. 2006.

Berridge, K. C.; Kringelbach, M. L. Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. *Psychopharmacology (Berl)* [S.I.], v. 199, n. 3, p. 457-80, Aug 2008.

Bouret, S.G.; Simerly, R.B. Developmental programming of hypothalamic feeding circuits. Clin Genet, v.70, n.4, p.295-301, 2009.

Coll, A.P.; Farooqi, I.S.; O'rahilly, S. The hormonal control of food intake. Cell, n.129, p.251–262. 2007.

Cooper, S. J.; H. A. Al-Naser. Dopaminergic control of food choice: contrasting effects of SKF 38393 and quinpirole on high-palatability food preference in the rat. Neuropharmacology, v.50, n.8, Jun, p.953-63. 2006.

Cripps, R. L. *et al.* Programming of hypothalamic neuropeptide gene expression in rats by maternal dietary protein content during pregnancy and lactation. Clin Sci (Lond) [S.I.], v. 117, n. 2, p. 85-93, Jul 2009.

Davis, C. *et al*. Dopamine for "Wanting" and Opioids for "Liking": A Comparison of Obese Adults With and Without Binge Eating. Obesity. *n.*17, p.1220–1225. 2009.

Delahaye, F. *et al*. Maternal perinatal undernutrition drastically reduces postnatal leptin surge and affects the development of arcuate nucleus proopiomelanocortin neurons in neonatal male rat pups. Endocrinology, v.149, p.470–475. 2008.

De Mei, C., *et al*. Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. Curr Opin Pharmacol *n.*9, p.53–58. 2009.

Del Parigi, D. A. *et al*. Are we addicted to food? Obesity research, v.11, p.493–495. 2003.

Desai, M.; Gayle, D.; Babu, J.; Ross, M.G. Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., v.288, p.91–96. 2005.

Erlanson-Albertsson, C. How palatable food disrupts appetite regulation. Basic Clin Pharmacol Toxicol [S.I.], v. 97, n. 2, p. 61-73, Aug 2005.

Estevinho, M.F.; Fortunato, J.M.S. Dopamina e Receptores. Revista Portuguesa Psicossomática, v.5, n.1, p.21-31, 2003.

Fan X.; Xu M.; Hess E.J. D2 dopamine receptor subtype-mediated hyperactivity and amphetamine responses in a model of ADHD. Neurobiol Dis, v.37, n.1, p.228-36. 2010.

Finucane, M., M. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9・1 million participants. Lancet , *v.* 377, p.557–67. 2011.

Garcia, A.P. *et al*. Moderate caloric restriction during gestation results in lower arcuate nucleus NPY- and αMSH-neurons and impairs hypothalamic response to fed/fasting conditions in weaned rats. Diabetes, Obesity and Metabolism, v.12, p.403–413, 2010.

Giraudo, S.Q. *et al*. Maternal high fat feeding and gestational dietary restriction: Effects on offspring body weight, food intake and hypothalamic gene expression over three generations in mice. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 2010.

Hales, C.N.; Barker, D.J. Type 2 (non-insulindependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. Diabetologia, v.35, n.7, p.595-601. 1992.

Halford, J.C.G.; Wanninayake, S.C.; Blundell J.E. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the Diagnosis of Drug Action on Food Intake. Pharmacology Biochemistry and Behavior, v.61, n.2, p.159–168. 1998.

Jackson, M.J. *et al*.The dopamine D(2) receptor partial agonist aplindore improves motor deficits in MPTP-treated common marmosets alone and combined with L-dopa. J Neural Transm, v.117, n.1, p.55-67. 2010.

Kar, B.R.; Rao, S.L.; Chandramouli, B.A. Cognitive development in children with chronic protein energy malnutrition. Behav Brain Func, n.24, p.4:31. 2008.

Landon, J. *et al.* Global undernutrition during gestation influences learning during adult life. Learn Behav [S.I.], v. 35, n. 2, p. 79-86, May 2007.

Lehmann, J. *et al*. The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. Pharmacol Biochem Behav, v.64 p.705–715. 1999.

Li S.M. *et al*. Yawning and locomotor behavior induced by dopamine receptor agonists in mice and rats. Behav Pharmacol, v.21, n.3, p.171-81. 2010.

Lopes De Souza, *et al*. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. European Journal of Neuroscience, v. 27, p. 1400-1408, 2008.

Lutter, M.; Eric, J. Nestler. Homeostatic and Hedonic Signals Interact in the Regulation of Food Intake. The Journal of Nutrition, v.139, p.629–632. 2009.

Magni, P. *et al.* Feeding behavior in mammals including humans. Ann N Y Acad Sci [S.I.], v. 1163, p. 221-32, Apr 2009.

Missale, C. *et al*. Dopamine receptors: from structure to function. Physiol Rev. *n.*78, p.189–225. 1998.

Morgane, J.P.; Mokler, D.J.; Galler, J.R. Effect of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. Neuroscience and biobehavioral reviews, v.26, n.4, p. 471-83. 2002.

Mokler, J.D. *et al*. Stress induced changes in extracellular dopamine And serotonin in the medial prefrontal cortex and Dorsal hippocampus of prenatally malnourished Rats. Brain research, v.1148, Mai, p. 226–233. 2007.

Orozco-Sólis, R. et al. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. Physiology & Behavior, v. 96, p. 481-492, 2009.

Orozco-Solís, *et al*. Perinatal nutrient restriction induces long-lasting alterations in the circadian expression pattern of genes regulating food intake and energy metabolism. International Journal of Obesity, v. 9, p. 1-11, 2010.

Page, K. C. *et al.* Maternal and postweaning diet interaction alters hypothalamic gene expression and modulates response to a high-fat diet in male offspring. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol [S.I.], v. 297, n. 4, p. R1049-57, Oct 2009.

Palou, M. *et al*. Moderate caloric restriction in lactating rats programs their offspring for a better response to HF diet feeding in a sex-dependent manner. J Nutr Biochem. 2010 Oct 20.

Patel, M.S.; Srinivasan, M. Metabolic Programming Due to Alterations in Nutrition in the Immediate Postnatal Period. The Journal of nutrition, v.140, p.658–661, 2010.

Pecina, S. *et al.* Hyperdopaminergic mutant mice have higher "wanting" but not "liking" for sweet rewards. J Neurosci [S.I.], v. 23, n. 28, p. 9395-402, Oct 15 2003.

Johnson, P.,M.; Kenny, P.,J. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. Nature Neuroscience. v. 13, n.5. 2010.

Plagemann, A. *et al.* Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. J Nutr [S.I.], v. 130, n. 10, p. 2582-9, Oct 2000.

Ranade, S. C. *et al.* Different types of nutritional deficiencies affect different domains of spatial memory function checked in a radial arm maze. Neuroscience [S.I.], v. 152, n. 4, p. 859-66, Apr 9 2008.

Remmers, F. *et al.* Neonatal food restriction permanently alters rat body dimensions and energy intake. Physiol Behav [S.I.], v. 95, n. 1-2, p. 208-15, Sep 3 2008.

Richards, M. *et al.* Birth weight and cognitive function in the British 1946 birth cohort: longitudinal population based study. BMJ [S.I.], v. 322, n. 7280, p. 199-203, Jan 27 2001.

Robinson, S. *et al.* Distinguishing whether dopamine regulates liking, wanting, and/or learning about rewards. Behav Neurosci [S.I.], v. 119, n. 1, p. 5-15. 2005.

Rodgers, R.J. ; P. Holch; A.J. Tallett. Behavioural satiety sequence (BSS): Separating wheat from chaff in the behavioural pharmacology of appetite. Pharmacol Biochem Behav, v.97, n.1, p.3-14. 2010.

Sibley, D.R. New insights into dopaminergic receptor function using antisense and genetically altered animals. Annu Rev Pharmacol Toxicol, *n.*39, p.313–341. 1999.

Smart, J. L.; Preece, J. Maternal behavior of undernourished mother rats. Anim Behav [S.I.], v. 21, n. 3, p. 613-9, Aug 1973.

Tracy, A.; Jarrard, L.; Davidson. The hippocampus and motivation revisited: appetite and activity. Behavioural Brain Research, v. 127, p.13–23. 2001.

Valdomero, A., D. F. Bussolino, *et al.* Perinatal protein malnutrition enhances rewarding cocaine properties in adult rats. Neuroscience, v.137, n.1, p.221-9. 2006.

Valdomero, A., *et al*. Increased rewarding properties of morphine in perinatally protein-malnourished rats. Neuroscience, *v.*150 p.449–458. 2007.

Vallée, M., *et al*. Prenatal stress induces high anxiety and posnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. J Neurosci,17:2626–2636. 1997.

Velkoska, E.; Morris, M.J. Mechanisms behind early life nutrition and adult disease outcome. World J Diabetes, v.15, n.2, p.127-32. 2011.

Vickers, M.H. *et al*. 2000. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. American journal of physiology. Endocrinology and metabolismo, v.279, p.83–87. 2000.

Volkow, N., *et al*. Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: Possible contributing factors. Neuroimage, v.1, n.42, p.1537–1543. 2008.

Vucetic, Z.; Reyes, T.M. Central dopaminergic circuitry controlling food intake and reward: implications for the regulation of obesity. WIREs Systems Biology and Medicine, v.2, p.577-593. 2010.

Wang, L.; Xu, R. J. The effects of perinatal protein malnutrition on spatial learning and memory behaviour and brain-derived neurotrophic factor concentration in the brain tissue in young rats. Asia Pac J Clin Nutr [S.I.], v. 16 Suppl 1, p. 467-72, 2007.

Wynne, K. *et al.* Appetite control. J Endocrinol [S.I.], v. 184, n. 2, p. 291-318, Feb 2005.

Yamamoto, T. Neural substrates for the processing of cognitive and affective aspects of taste in the brain. Arch Histol Cytol [S.I.], v. 69, n. 4, p. 243-55, Dec 2006.

FIGURAS

Figura 1

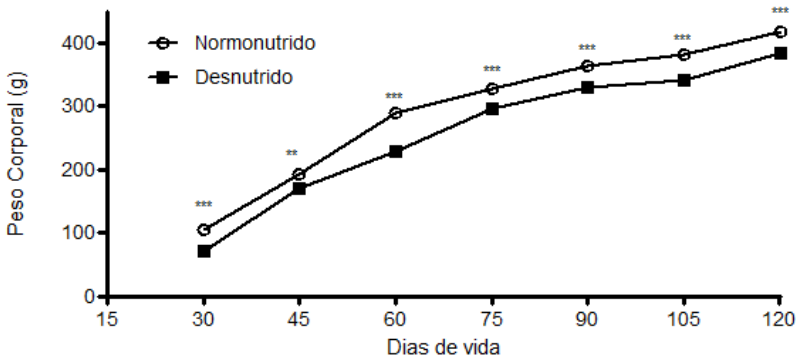

Figura 1. Peso corporal médio dos filhotes machos nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. Ao desmame, os filhotes foram alimentados com dieta padrão de biotério. Os dados representam média ± SEM com n= 30 para animais controle e n=30 para animais desnutridos. A análise foi realizada entre 30 e 120 dias de vida. As diferenças no peso corporal entre o controle e os animais desnutridos são estatisticamente significativas com **P <0,01 em 45 dias e ***P <0,001 em todas as outras idades analisadas (two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). g = grama.

Figura 2

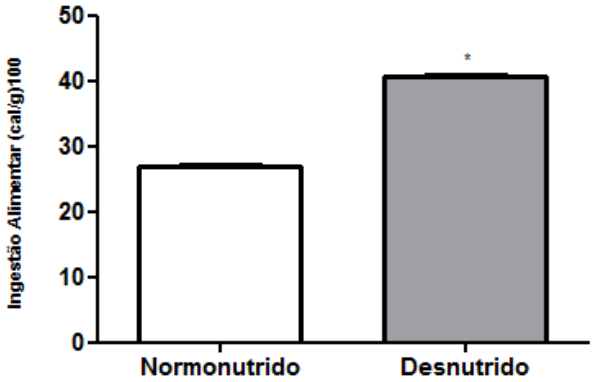

Figura 2**.** Ingestão alimentar dos filhotes machos, aos 60 dias de vida, nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. Cada barra representa a quantidade média de alimento palatável ingerido durante três dias consecutivos aos 60 dias de vida. Valor expresso em calorias por grama do peso corporal de cada animal. Dados correspondem à média ± SEM com n = 30 para animais controle e n = 30 para animais desnutridos. Test *T student* para comparação entre grupos * P <0,05.

Figura 3

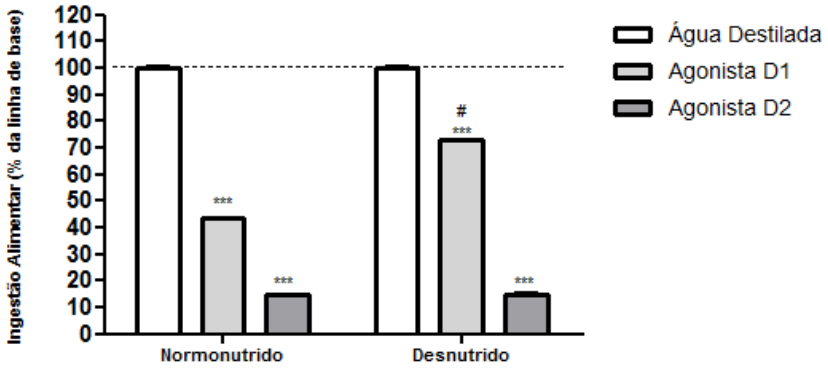

Figura 3. Efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre o consumo de alimento palatável em animais que foram submetidos à desnutrição perinatal. O efeito hipofágico dos agonistas D_1 e D_2 foi determinado aos 100 dias de vida de animais nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. Foram utilizados 10 animais para cada grupo experimental analisado, os quais receberam dose aguda dos agonistas D1 (3 mg/kg), D2 (0,3mg/kg) ou água destilada (1ml/kg). Os dados correspondem à quantidade de dieta palatável consumida em 60 minutos de teste, os quais foram expressos como porcentagem da quantidade de alimento consumido pelos animais que receberam aplicação de água destilada (linha de base). *** $p < 0,001$ quando os valores foram comparados com os animais que receberam aplicação de água destilada do mesmo grupo e $^{\#}$ $p< 0,05$ quando os valores foram comparados com os animais nomonutrido que receberam a mesma dose do agonista D_1 (two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste). Não houve diferença estatisticamente significante na quantidade de alimento ingerido entre o grupo normonutrido e desnutrido que receberam aplicação do agonista D_2.

Figura 4

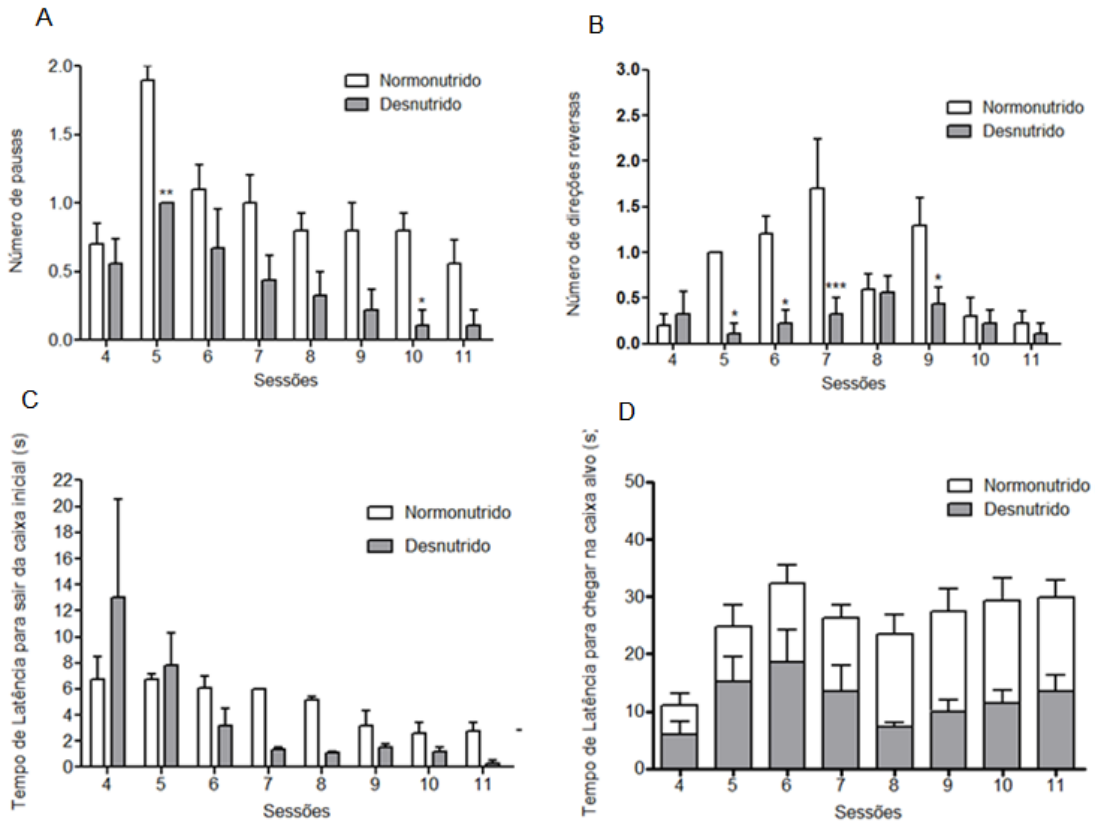

Figure 4. Efeito da desnutrição perinatal sobre o número e duração de distrações durante do teste de motivação dos 70 aos 92 dias de vida de animais nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. (A) Número de pausas (B) Número de direções reversas (C) Tempo de latência para sair da caixa inicial (D) Tempo de latência para chegar a caixa alvo. Dados correspondem à média ± SEM com n=10 para animais normonutrido e n=10 para animais desnutridos, ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste.

Figura 5

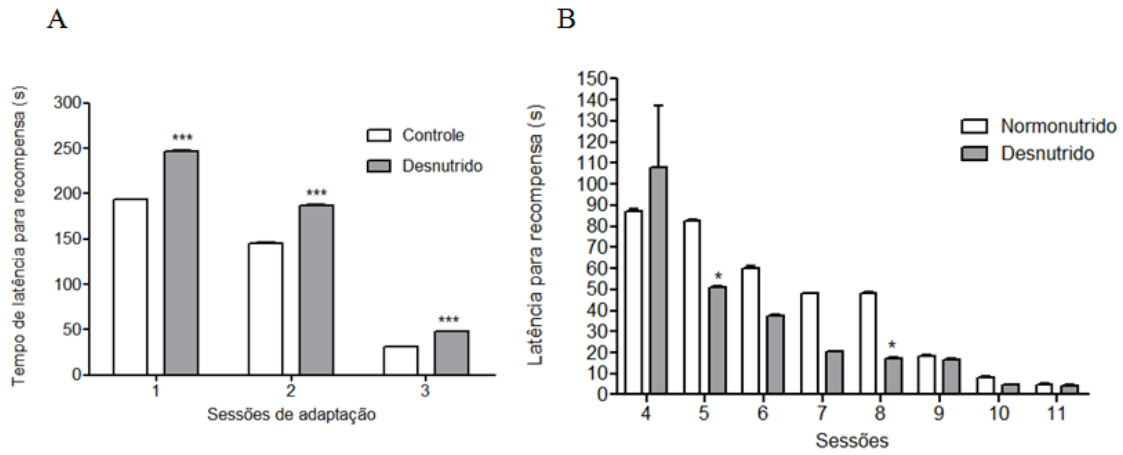

Figure 5. Efeito da desnutrição perinatal sobre o tempo de latência para consumir a recompensa durante do teste de motivação dos 70 aos 92 dias de vida de animais nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. (A) Tempo de latência para consumir a recompensa durante o período de adaptação (sessões 1-3) (B) Tempo de latência para consumir a recompensa durante as sessões 4-11. Dados correspondem à média ± SEM com n=10 para animais normonutrido e n=10 para animais desnutridos, ***p<0,001, *p<0,05, two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste.

Figura 6

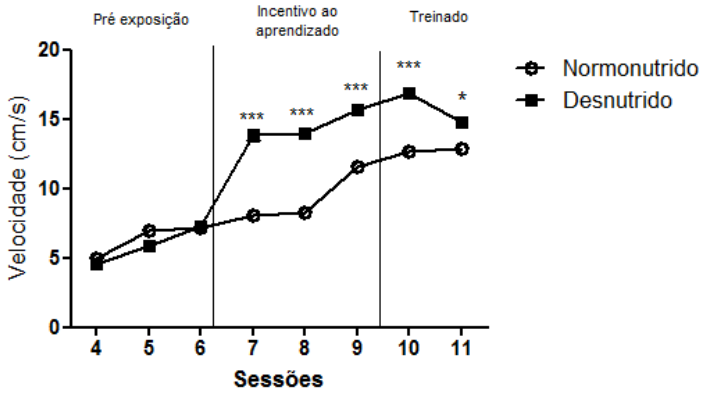

Figure 6. Efeito da desnutrição perinatal sobre a velocidade no teste de motivação realizado aos 70 aos 92 dias de vida de animais nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. Dados correspondem à média ± SEM. Two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste. *** p <0.001, * p<0,05.

Figura 7

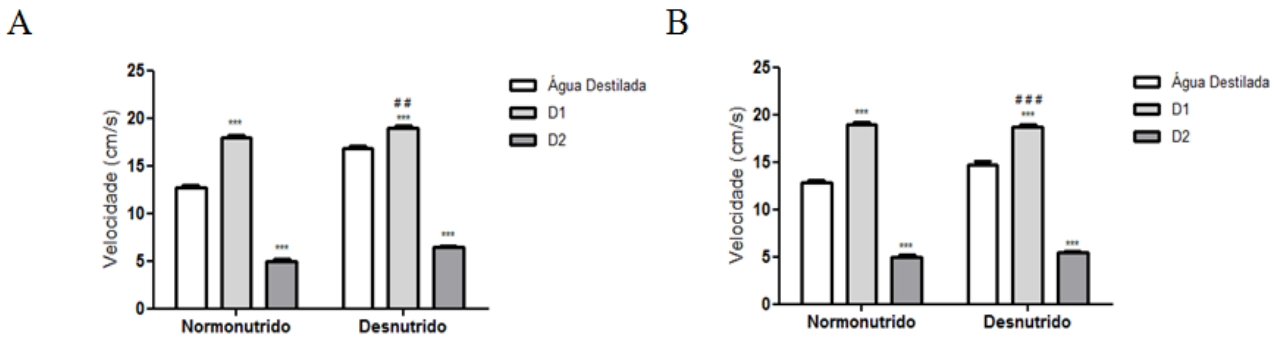

Figura 7 A-B. Efeito dos agonistas dopaminérgicos D_1 e D_2 sobre a motivação e aprendizado dos animais normonutrido e desnutrido durante o teste de motivação. O teste foi realizado dos 70 aos 92 dias de vida dos animais nascidos de fêmeas alimentadas com uma dieta normoproteica (caseína 17%) ou hipoproteica (caseína 8%) durante o período de gestação e lactação. (A) Velocidade dos animais normonutridos e desnutridos, durante a 10º sessão do teste de motivação, após aplicação da dose aguda dos agonistas dopaminérgicos D1 (3mg/kg, n=10), D2 (0,3 mg/kg, n=10) ou água destilada (1ml/kg, n=10). (B) Velocidade dos animais normonutridos e desnutridos, durante a 11º sessão do teste de motivação, após aplicação da dose aguda dos agonistas dopaminérgicos D1 (3mg/kg, n=10), D2 (0,3 mg/kg, n=10) ou água destilada (1ml/kg, n=10). Dados correspondem à média ± SEM. *** p <0.001 quando os valores foram comparados com os animais que receberam aplicação de água destilada do mesmo grupo e $^{###}$ p<0,05 quando os valores foram comparados com os animais nomonutrido que receberam a mesma dose do agonista D_1. Two-way ANOVA para medidas repetidas seguido por Bonferroni pós-teste. Não foi encontrado diferença estatisticamente significante na velocidade entre os animais normonutridos e desnutridos após aplicação do agonista D2.

Figura 8

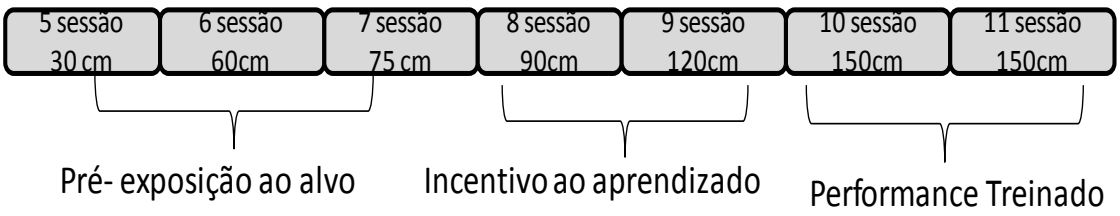

Figura 8. Esquema de treino do teste de motivação.

Tabelas

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.

Constituintes	Dieta hipoprotéica (8%)	Dieta normoprotéica (17%)	Dieta Palatável (21%)
G %	100,00	100,0	100,00
Proteínas	**8,10**	**17,30**	**23,36**
Carboidrato	75,10	65,90	48,50
Lipídios	7,00	7,00	15,33
Fibras	5,00	5,00	2,72
Vitaminas	1,00	1,00	1,00
Minerais	3,50	3,50	3,50
Metionina	0,30	0,30	0,30
% Kcal	**362,48**	**363,44**	**421,41**

A dieta rica em gorduras foi elaborada no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. *As vitaminas e mistura mineral foram formulados de acordo com a recomendação da AIN-93G para dietas de roedores [PG Reeves, Nielsen FH, Fahey GC Jr, 1993].

Tabela 2. Informação Nutricional do Alimento palatável*

Porção de 30g (2 unidades)	
Quantidade por porção	
Valor calórico	**147 kcal**
Carboidratos	**19g**
Açúcares	10g
Proteínas	1,8g
Gorduras totais	**7,3g**
Gorduras saturadas	3,4g
Gorduras trans	0,3g
Fibra alimentar	1,1g
Sódio	63mg

(*) Informações contidas na embalagem do produto: Chocookies Chocolate-Nabisco

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesse estudo reforçam relatos anteriores, os quais demonstram que a desnutrição durante períodos iniciais de vida induzem adaptações neurais que são responsáveis pelas alterações observadas no comportamento alimentar em animais adultos, dentre eles o aumento do consumo de alimento palatável.

O receptor dopaminérgico D_1 atua na regulação do apetite, sendo um dos principais responsáveis pela sensação de motivação e preferência por alimentos ricos em açucar e gordura. A presente pesquisa demonstrou que a desnutrição perinatal estimula os componentes motivacionais do comportamento alimentar e reduz a ação hipofágica do receptor D1.

Esse fato colabora com o meio científico a demonstrar mais um mecanismo neural e comportamental que está relacionado ao fenômeno da plasticidade fenotípica e possibilita novas investigações que aprofundem os conhecimentos celulares e moleculares a cerca do receptor dopaminérgico D_1 e sua relação com ambiente nutricional precoce.

6. REFERÊNCIAS

Ahmed, M. L., K. K. Ong, *et al.* Childhood obesity and the timing of puberty. Trends Endocrinol Metab, v.20, n.5, Jul, p.237-42. 2009.

Alsiö, j. *Et al*. Dopamine d1 receptor gene expression decreases in the nucleus accumbens upon long-term exposure to palatable food and differs depending on diet-induced obesity phenotype in rats, Neuroscience. *v.*171, p.779–787. 2010.

Araki, K. Y., S. Fujimura, *et al.* Characterization of mouse striatal precursor cell lines expressing functional dopamine receptors. Dev Neurosci, v.28, n.6, p.518-27. 2006.

Bateup H.S., *et al.* Distinct subclasses of medium spiny neurons differentially regulate striatal motor behaviors. Proc Natl Acad Sci USA. v. 107, p.14845–14850. 2010.

Bateup, H.S., *et a*l. Cell type-specific regulation of DARPP-32 phosphorylation by psychostimulant and antipsychotic drugs. Nat Neurosci. v.11, p.932–939. 2008.

Beaulieu J.M.; Gainetdinov R.R. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. Pharmacological Reviews. Vol. 63, No. 1. P. 182-217. 2011.

Bellinger, L., C. Lilley, *et al.* Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. Br J Nutr, v.92, n.3, Sep, p.513-20. 2004.

Ben-Jonathan, N. e R. Hnasko. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. Endocr Rev, v.22, n.6, Dec, p.724-63. 2001.

Berridge, K. C. e M. L. Kringelbach. Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. Psychopharmacology (Berl), v.199, n.3, Aug, p.457-80. 2008.

Berthoud, H. R. Homeostatic and non-homeostatic pathways involved in the control of food intake and energy balance. Obesity (Silver Spring), v.14 Suppl 5, Aug, p.197S-200S. 2006.

Bouret, S. G. Early life origins of obesity: role of hypothalamic programming. J Pediatr Gastroenterol Nutr, v.48 Suppl 1, Mar, p.S31-8. 2009.

Breier, B. H., M. H. Vickers, *et al.* Fetal programming of appetite and obesity. Mol Cell Endocrinol, v.185, n.1-2, Dec 20, p.73-9. 2001.

Carlsson, A. e B. Waldeck. A fluorimetric method for the determination of dopamine (3-hydroxytyramine). Acta Physiol Scand, v.44, n.3-4, Dec 15, p.293-8. 1958.

Castaneda, T. R., J. Tong, *et al.* Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. Front Neuroendocrinol, v.31, n.1, Jan, p.44-60.

Coll, A. P., I. S. Farooqi, *et al.* The hormonal control of food intake. Cell, v.129, n.2, Apr 20, p.251-62. 2007.

Cooper, S. J. e H. A. Al-Naser. Dopaminergic control of food choice: contrasting effects of SKF 38393 and quinpirole on high-palatability food preference in the rat. Neuropharmacology, v.50, n.8, Jun, p.953-63. 2006.

Cooper, S.,J.; Al-Naser, H.,A.; Clifton, P.,G. The anorectic effect of theselective dopamine D1-receptor agonist A-77636 determined by meal patternanalysis in free-feeding rats. European journal of pharmacology, v.532, n.3,p.253-7. 2006.

Crunelle, C.L. *et al*. Cannabinoid-1 receptor antagonist rimonabant (SR141716) increases striatal dopamine D2 receptor availability. Addict Biol. 2011.

De Mei C, *et al*. Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. Curr Opin Pharmacol *n.*9, p.53–58. 2009.

Delahaye, F., C. Breton, *et al.* Maternal perinatal undernutrition drastically reduces postnatal leptin surge and affects the development of arcuate nucleus proopiomelanocortin neurons in neonatal male rat pups. Endocrinology, v.149, n.2, Feb, p.470-5. 2008.

Desai, M. *et al.* Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [S.I.], v. 288, n. 1, p. R91-6, Jan 2005.

Dobbing, J. The Influence of Early Nutrition on the Development and Myelination of the Brain. Proc R Soc Lond B Biol Sci, v.159, Feb 18, p.503-9. 1964.

Edwards, L. J. e I. C. Mcmillen. Maternal undernutrition increases arterial blood pressure in the sheep fetus during late gestation. J Physiol, v.533, n.Pt 2, Jun 1, p.561-70. 2001.

Erlanson-Albertsson, C. (2005). "How palatable food disrupts appeti regulation."Basic Clin Pharmacol Toxicol 97(2): 61-73.

Estevinho, M.F.; Fortunato, J.M.S. Dopamina e Receptores. Revista Portuguesa Psicossomática**,** v.5, n.1, p.21-31, 2003.
Fulton, S. Appetite and reward. Front Neuroendocrinol, v.31, n.1, Jan, p.85-103.

Garcia, A. P., M. Palou, *et al.* Moderate caloric restriction during gestation results in lower arcuate nucleus NPY- and alphaMSH-neurons and impairs hypothalamic response to fed/fasting conditions in weaned rats. Diabetes Obes Metab, v.12, n.5, May, p.403-13. 2010.

Gluckman, P. D. e M. A. Hanson. Developmental origins of disease paradigm: a mechanistic and evolutionary perspective. Pediatr Res, v.56, n.3, Sep, p.311-7. 2004.

Gluckman, P. D., M. A. Hanson, *et al.* Predictive adaptive responses in perspective. Trends Endocrinol Metab, v.19, n.4, May-Jun, p.109-10; author reply 112. 2008.

Godfrey, K. M. e D. J. Barker. Fetal nutrition and adult disease. Am J Clin Nutr, v.71, n.5 Suppl, May, p.1344S-52S. 2000.

Greengard, P. The neurobiology of dopamine signaling. Biosci Rep, v.21, n.3, Jun, p.247-69. 2001.

Ha, A. I.-N.; S. J. Cooper. A-68930, a novel, potent dopamine D1 receptor agonist: a microstructural analysis of its effects on feeding and other behaviour in the rat. Behav Pharmacol, v.5, n.2, Apr, p.210-218. 1994.

Halford, J.C.G.; Wanninayake, S.C.; Blundell J.E. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the Diagnosis of Drug Action on Food Intake. Pharmacology Biochemistry and Behavior, v.61, n.2, p.159–168. 1998.

Han, J. C., D. A. Lawlor, *et al.* Childhood obesity. Lancet, v.375, n.9727, May 15, p.1737-48.

Hemmings, H. C., Jr., P. Greengard, *et al.* DARPP-32, a dopamine-regulated neuronal phosphoprotein, is a potent inhibitor of protein phosphatase-1. Nature, v.310, n.5977, Aug 9-15, p.503-5. 1984.

Iversen, S. D. e L. L. Iversen. Dopamine: 50 years in perspective. Trends Neurosci, v.30, n.5, May, p.188-93. 2007.

Johnson; P.M; Kenny, P.,J. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. Nature Neuroscience. v. 13, n.5. 2010.

Kebabian, J. W. e D. B. Calne. Multiple receptors for dopamine. Nature, v.277, n.5692, Jan 11, p.93-6. 1979.

Kebabian, J. W., G. L. Petzold, *et al.* Dopamine-sensitive adenylate cyclase in caudate nucleus of rat brain, and its similarity to the "dopamine receptor". Proc Natl Acad Sci U S A, v.69, n.8, Aug, p.2145-9. 1972.

Kelley, A. E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. Neurosci Biobehav Rev, v.27, n.8, Jan, p.765-76. 2004.

Kelley, A. E. e K. C. Berridge. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. J Neurosci, v.22, n.9, May 1, p.3306-11. 2002.

Khalid, T.; Richard, J.; Anthony, S. Neuropharmacology of learned flavor preferences. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. v. 97, p.55–62. 2010.

Kippin, T. E., K. K. Szumlinski, *et al.* Prenatal stress enhances responsiveness to cocaine. Neuropsychopharmacology, v.33, n.4, Mar, p.769-82. 2008.

Kishi, T. e J. K. Elmquist. Body weight is regulated by the brain: a link between feeding and emotion. Mol Psychiatry, v.10, n.2, Feb, p.132-46. 2005.

Koob, G. F. e N. D. Volkow. Neurocircuitry of addiction. Neuropsychopharmacology, v.35, n.1, Jan, p.217-38.

Koplan, J. P., C. T. Liverman, *et al.* Preventing childhood obesity: health in the balance: executive summary. J Am Diet Assoc, v.105, n.1, Jan, p.131-8. 2005.

Lau, C. e J. M. Rogers. Embryonic and fetal programming of physiological disorders in adulthood. Birth Defects Res C Embryo Today, v.72, n.4, Dec, p.300-12. 2004.

Lenard, N. R. e H. R. Berthoud. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. Obesity (Silver Spring), v.16 Suppl 3, Dec, p.S11-22. 2008.

Lopes De Souza *et al*. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. European Journal of Neuroscience, v. 27, p. 1400-1408, 2008.

Lutter, M.; Eric, J. Nestler Homeostatic and Hedonic Signals Interact in the Regulation of Food Intake. The Journal of Nutrition, v.139, p.629–632. 2009.

Magalhães CP, et al. (2010) "Biological control of alimentary behavior: the role of Serotoninergic system."Nutritional Neuroscience. 3: 1-10.

Magni, P., E. Dozio, *et al.* Feeding behavior in mammals including humans. Ann N Y Acad Sci, v.1163, Apr, p.221-32. 2009.

Manjarrez, G. G., G. G. Chagoya, *et al.* Early nutritional changes modify the kinetics and phosphorylation capacity of tryptophan-5-hydroxylase. Int J Dev Neurosci, v.12, n.8, Dec, p.695-702. 1994.

Martín-García, E. et al.New operant model of reinstatement of food-seeking behavior in mice. Psychopharmacology (Berl). v.215 .n.1, p.49-70. 2011.

Mccance, R. A. e E. M. Widdowson. The determinants of growth and form. Proc R Soc Lond B Biol Sci, v.185, n.78, Jan 22, p.1-17. 1974.

Meister, B. Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. Physiol Behav, v.92, n.1-2, Sep 10, p.263-71. 2007.

Missale, C., S. R. Nash, *et al.* Dopamine receptors: from structure to function. Physiol Rev, v.78, n.1, Jan, p.189-225. 1998.

Morgane, P. J., R. Austin-Lafrance, *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosci Biobehav Rev, v.17, n.1, Spring, p.91-128. 1993.

Morgane, P. J., D. J. Mokler, *et al.* Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. Neurosci Biobehav Rev, v.26, n.4, Jun, p.471-83. 2002.

Morton, G. J., D. E. Cummings, *et al.* Central nervous system control of food intake and body weight. Nature, v.443, n.7109, Sep 21, p.289-95. 2006.

Moura, A. S., C. C. Franco De Sa, *et al.* Malnutrition during lactation as a metabolic imprinting factor inducing the feeding pattern of offspring rats when adults. The role of insulin and leptin. Braz J Med Biol Res, v.35, n.5, May, p.617-22. 2002.

Muhlhausler, B. S., C. L. Adam, *et al.* Increased maternal nutrition alters development of the appetite-regulating network in the brain. FASEB J, v.20, n.8, Jun, p.1257-9. 2006.

Neve, K. A., J. K. Seamans, *et al.* Dopamine receptor signaling. J Recept Signal Transduct Res, v.24, n.3, Aug, p.165-205. 2004.

Nishi, A., Snyder, G.L., Greengard, .P. Bidirectional regulation of DARPP-32 phosphorylation by dopamine. J Neurosci. v. 17, p.8147–8155. 1997.

Ohtani, N., T. Goto, *et al.* Dopamine modulates cell cycle in the lateral ganglionic eminence. J Neurosci, v.23, n.7, Apr 1, p.2840-50. 2003.

Oliveira *et al*. Effects of early weaning on the circadian rhythm and behavioral satiety sequence in rats. Behavioural Processes (Print), v. 86, p. 119-124, 2011.

Orozco-Solís et al. Perinatal nutrient restriction induces long-lasting alterations in the circadian expression pattern of genes regulating food intake and energy metabolism. International Journal of Obesity, v. 9, p. 1-11, 2010.

Palou, A. e C. Pico. Leptin intake during lactation prevents obesity and affects food intake and food preferences in later life. Appetite, v.52, n.1, Feb, p.249-52. 2009.

Patel, M. S. e M. Srinivasan. Metabolic programming due to alterations in nutrition in the immediate postnatal period. J Nutr, v.140, n.3, Mar, p.658-61.

Pecina, S. *et al.* Hyperdopaminergic mutant mice have higher "wanting" but not "liking" for sweet rewards. *J Neurosci* [S.I.], v. 23, n. 28, p. 9395-402, Oct 15 2003.

Pierce, K. L., R. T. Premont, *et al.* Seven-transmembrane receptors. Nat Rev Mol Cell Biol, v.3, n.9, Sep, p.639-50. 2002.

Plagemann, A., T. Waas, *et al.* Hypothalamic neuropeptide Y levels in weaning offspring of low-protein malnourished mother rats. Neuropeptides, v.34, n.1, Feb, p.1-6. 2000.

Rice, D. e S. Barone, Jr. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. Environ Health Perspect, v.108 Suppl 3, Jun, p.511-33. 2000.

Sanchez, J., T. Priego, *et al.* Oral supplementation with physiological doses of leptin during lactation in rats improves insulin sensitivity and affects food preferences later in life. Endocrinology, v.149, n.2, Feb, p.733-40. 2008.

Seeman, P. Targeting the dopamine D2 receptor in schizophrenia. Expert Opin Ther Targets. v. 10, p.515–531. 2006.

Sibley, D. R. New insights into dopaminergic receptor function using antisense and genetically altered animals. Annu Rev Pharmacol Toxicol, v.39, p.313-41. 1999.

Silveira, P. P., A. K. Portella, *et al.* Both infantile stimulation and exposure to sweet food lead to an increased sweet food ingestion in adult life. Physiol Behav, v.93, n.4-5, Mar 18, p.877-82. 2008.

Spiller, K., Z. X. Xi, *et al.* The selective dopamine D3 receptor antagonists SB-277011A and NGB 2904 and the putative partial D3 receptor agonist BP-897 attenuate methamphetamine-enhanced brain stimulation reward in rats. Psychopharmacology (Berl), v.196, n.4, Mar, p.533-42. 2008.

Svenningsson, P., A. Nishi, *et al.* DARPP-32: an integrator of neurotransmission. Annu Rev Pharmacol Toxicol, v.44, p.269-96. 2004.

Tarazi, F.I. Neuropharmacology of dopamine receptors: Implications in neuropsychiatric diseases. SQU Journal For Scientific Research Medical Sciences**,** v.3, p.87-104. 2001.

Timmerman, W., *et al*. The effect of enantiomers of the dopamine agonist N-0437 on food consumption and yawning behaviour in the rat. Eur. J. Pharmacol, v.174, p.107-114. 1989.

Valdomero, A., D. F. Bussolino, *et al.* Perinatal protein malnutrition enhances rewarding cocaine properties in adult rats. Neuroscience, v.137, n.1, p.221-9. 2006.

Van Dieren, S., J. W. Beulens, *et al.* The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, v.17 Suppl 1, May, p.S3-8.

Verge, D. e A. Calas. Serotoninergic neurons and serotonin receptors: gains from cytochemical approaches. J Chem Neuroanat, v.18, n.1-2, Feb, p.41-56. 2000.

Vickers, M. H., B. H. Breier, *et al.* Sedentary behavior during postnatal life is determined by the prenatal environment and exacerbated by postnatal hypercaloric nutrition. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v.285, n.1, Jul, p.R271-3. 2003.

Volkow. N. *et al*. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity . Trends in Cognitive Sciences, v. 15, n. 1. 2010.

Vucetic Z; Reyes T.M Central dopaminergic circuitry controlling food intake and reward: implications for the regulation of obesity. WIREs Systems Biology and Medicine, v.2, p.577-593. 2010.

Wardle, J. Eating behaviour and obesity. Obes Rev, v.8 Suppl 1, Mar, p.73-5. 2007.

Warner, M. J. e S. E. Ozanne. Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. Biochem J, v.427, n.3, May 1, p.333-47.

Wiggins, R. C., G. Fuller, *et al.* Undernutrition and the development of brain neurotransmitter systems. Life Sci, v.35, n.21, Nov 19, p.2085-94. 1984.

Woods, S. C., E. C. Lotter, *et al.* Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. Nature, v.282, n.5738, Nov 29, p.503-5. 1979.

World health organization. Obesity and overweight. Fact Sheet, n.311. Geneva: World Health Organization; 2006

Zheng, H., N. R. Lenard, *et al.* Appetite control and energy balance regulation in the modern world: reward-driven brain overrides repletion signals. Int J Obes (Lond), v.33 Suppl 2, Jun, p.S8-13. 2009.

Zhu, H., S. Clemens, *et al.* Expression and distribution of all dopamine receptor subtypes (D(1)-D(5)) in the mouse lumbar spinal cord: a real-time polymerase chain reaction and non-autoradiographic in situ hybridization study. Neuroscience, v.149, n.4, Nov 23, p.885-97. 2007.

Zhu, H., S. Clemens, *et al.* Unaltered D1, D2, D4, and D5 dopamine receptor mRNA expression and distribution in the spinal cord of the D3 receptor knockout mouse. J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol, v.194, n.11, Nov, p.957-62. 2008.

9. ANEXOS

ANEXO A

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 30 de setembro de 2010.

Ofício nº 317/10

Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPE
Para: **Profª.: Sandra Lopes de Souza**
Departamento: Departamento de Anatomia
Processo nº 23076.034632/2010-79

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, ***"Efeito do agonista dopaminérgico D1 no comportamento alimentar de ratos programados nutricionalmente durante o período perinatal."***

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Atenciosamente,

Observação: Origem dos animais: Biotério de Nutrição da UFPE; Animais: Ratos: Linhagem: Wistar; Sexo: Machos; Idade: 1(um) à 120(cento e vinte) dias; Nº de Animais previsto no projeto: 80(oitenta) ratos.

Profa. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA
UFPE

CCB: Integrar para desenvolver

ANEXO B

Editorial Manager(tm) for Nutritional Neuroscience
Manuscript Draft
Manuscript Number: NNS56

Title: THE EFFECT OF DOPAMINE D-1 AGONIST ON FEEDING BEHAVIOR IN RATS: A SYSTEMATIC
REVIEW

Article Type: Review

Keywords: Dopamine D1; Feeding Behavior; Receptors.

Corresponding Author: Paula Honório de Melo Martimiano, Masters degree in Pathology

Corresponding Author's Institution:

First Author: Paula Honório de Melo Martimiano, Masters degree in Pathology

Order of Authors: Paula Honório de Melo Martimiano, Masters degree in Pathology;Queliane Gomes da Silva Carvalho, Masters degree in Pathology;Sandra Lopes Souza, Postdoctoral in neuroscience;Raul Manhães Castro, Doctorate degree in Life Sciences;Manuela Figueiroa Freitas, Doctorate degree in Nutrition

Manuscript Region of Origin: BRAZIL

Abstract: Objective: To undertake a systematic review of the action of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats. Method: The systematic review was performed by online databases: Pubmed, Old Medline, Medline, Lilacs, SciELO and Science Direct. Studies that used only non-selective dopamine D-1 agonist; articles about two dopamine agonists acting on D1 receptors; studies that evaluated the food consumption through sucrose solutions, sodium chloride or the animal's response to the device reward; articles with animals underwent surgery or metabolic abnormalities; review articles and clinical trials were excluded. Results: Initially, 95 references in Medline, 181 in Pubmed, 3371 in Science Direct were found. However, no reference was found in SciELO, Old Medline and Lilacs. 12 of which were selected. Discussion: The heterogeneity of the studies did not allow the realization of a statistical meta-analysis. Despite the variety of methods and different clinical situations on animals, most selected studies suggested the anorexic effect of dopamine D-1 agonist on feeding behavior in rats.