

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Larissa de Souza Correia

**EXPOSIÇÃO PRECOCE AO AMBIENTE ENRIQUECIDO INFLUENCIA A
INGESTÃO ALIMENTAR DE RATOS WISTAR JOVENS**

RECIFE

2022

LARISSA DE SOUZA CORREIA

**EXPOSIÇÃO PRECOCE AO AMBIENTE ENRIQUECIDO INFLUENCIA A
INGESTÃO ALIMENTAR DE RATOS WISTAR JOVENS**

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito para obtenção de grau
de graduação em Nutrição
Área de concentração: Nutrição

Orientador(a): Profa. Dra. Elizabeth do Nascimento

Coorientador(a): Profa. Dra. Isabeli Lins Pinheiro

RECIFE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Correia, Larissa de Souza.

Exposição precoce ao ambiente enriquecido influencia a ingestão alimentar de ratos wistar jovens / Larissa de Souza Correia. - Recife, 2022.

42 : il.

Orientador(a): Elizabeth do Nascimento

Cooorientador(a): Isabeli Lins Pinheiro

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Nutrição - Bacharelado, 2022.

Inclui referências, anexos.

1. Enriquecimento Ambiental. 2. Consumo alimentar. 3. Peso corporal. 4. Ratos wistar. I. Nascimento, Elizabeth do. (Orientação). II. Pinheiro, Isabeli Lins. (Coorientação). III. Título.

500 CDD (22.ed.)

**EXPOSIÇÃO PRECOCE AO AMBIENTE ENRIQUECIDO INFLUENCIA A
INGESTÃO ALIMENTAR DE RATOS WISTAR JOVENS**

Monografia apresentada ao Curso de
Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito para obtenção de grau
de graduação em nutrição

Área de concentração: Nutrição

Aprovado em: 27 /10 / 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^º. Dra. Isabeli Lins Pinheiro (Coorientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^º. Dra. Gisélia de Santana Muniz
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^º. Dra. Ligia Cristina Monteiro Galindo
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por todas as oportunidades e conquistas da minha vida, durante toda minha trajetória até chegar na UFPE tive sua benção e companhia.

Gratidão aos meus amigos que me apoiaram durante todo o curso, minha rotina e aprendizados não seriam os mesmos sem o suporte emocional dessas pessoas. Gratidão em especial a Eduardo Carvalho, Gersiane Benigno, Marina Dias e Noah Luís pela parceria desde o início, foi muito importante ter vocês comigo.

Aos meus pais, Luiz e Lucinda e à minha avó Selma por todo o esforço que eles fazem para garantir meu bem-estar e qualidade de vida, além de todo amor, eu jamais terei como agradecer por tudo isso, Deus me deu a família que eu pedi. Eu sou o que sou hoje, determinada, esforçada e apaixonada pelo que faço, porque tive exemplos maravilhosos de perseverança e determinação dentro da minha casa.

À minha irmã Laiz que sempre me motivou, me inspirou com sua coragem e me mostrou que sou capaz de tudo que eu quiser, você é meu orgulho; Ao meu irmão Luís Henrique por ter me ensinado a correr atrás dos nossos sonhos e sempre me lembrar como a vida vale a pena, amo vocês.

Gratidão ao meu namorado, João Góes, por ter me escutado e me dado total suporte em todas as etapas dessa minha incrível trajetória, gratidão por me fazer enxergar meu próprio potencial, amo você.

Gratidão às minhas colegas Aline e Lívia pela parceria, elas que participaram de todas as etapas desse projeto junto comigo, enfrentando todas as dificuldades durante essa caminhada.

Meus agradecimentos ao departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e a todos os professores envolvidos na minha construção profissional, todo meu conhecimento e trabalho é resultado de uma rede de apoio muito grande. Gratidão também à Unidade de Nutrição e Plasticidade Fenotípica por ceder o espaço que me proporcionou aprender e aprimorar minhas técnicas e com isso foi possível o desenvolvimento desse estudo tão importante.

Por último, mas não menos importante, gratidão à professora Isabeli Lins pela assistência desde o início e à professora Elizabeth Nascimento por fazer parte da construção desse trabalho.

Viva a ciência, Viva a Universidade Federal de Pernambuco.

RESUMO

O enriquecimento ambiental é descrito como um ambiente de criação de animais modificado para promover benefícios, aumentando o bem-estar dos animais através de uma gaiola com vários objetos como rodas, brinquedos, níveis de altura, escadas, favorecendo melhorias nos aspectos sensoriais, motores, cognitivos e sociais. A ingestão alimentar é influenciada por diversos fatores, dentre eles temos alguns neurotransmissores que são estimulados pelo enriquecimento ambiental que durante as fases iniciais da vida atuam diretamente no controle central da ingestão alimentar. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o peso corporal e a ingestão alimentar de ratos *wistar* jovens submetidos ao ambiente enriquecido. Foram utilizados 32 ratos *wistar* provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. Os animais foram randomizados em ninhadas com oito filhotes por nutriz a partir do 1º dia após o nascimento. Neste dia, foram formados os grupos experimentais: ambiente enriquecido (n=11), com animais alojados em gaiolas grandes com objetos e roda, e ambiente controle (n=11), com animais alojados em gaiolas controle sem objetos e roda. Os dois grupos receberam dieta padrão de biotério (NUVILAB) e ficaram nesta condição ambiental até o 30º dia de vida. Nas nutrizas o peso corporal foi mensurado semanalmente nas três primeiras semanas de lactação, e nos filhotes foram realizadas as análises de acompanhamento da massa corporal durante a lactação e após o desmame. Após a saída do ambiente enriquecido foi realizado o consumo alimentar. Os resultados indicam que a exposição ao ambiente enriquecido durante o período de lactação não foi capaz de promover alteração no peso corporal das nutrizas e dos filhotes durante a lactação e após o desmame. Pelo exposto, pode-se deduzir que o ambiente enriquecido não alterou o peso corporal nem das nutrizas e nem dos descendentes em comparação com os animais mantidos em gaiolas padrão. Por outro lado, se observou que o consumo alimentar dos filhotes alojados em ambiente enriquecido foi maior após o processo de desmame e mudança no tipo de alojamento quando comparado com os animais controles que foram alojados durante todo o estudo em ambiente padrão de biotério. Esta prática pode estar associada a um ambiente promotor de prática de atividade física e exploração durante a infância e adolescência.

Palavras-chave: Enriquecimento Ambiental; Consumo Alimentar; Peso Corporal; Ratos wistar.

ABSTRACT

Environmental enrichment is described as an animal husbandry environment modified to promote benefits, increasing the welfare of animals through a cage with various objects such as wheels, toys, height levels, stairs, favoring improvements in sensory, motor, cognitive and social. Food intake is influenced by several factors, among them we have some neurotransmitters that are stimulated by environmental enrichment that during the early stages of life act directly on the central control of food intake. Thus, the aim of the study was to evaluate the body weight and food intake of young Wistar rats submitted to the enriched environment. Thirty-two Wistar rats from the colony of the Department of Nutrition at UFPE were used. The animals were randomized into litters with eight pups per nursing mother from the 1st day after birth. On this day, the experimental groups were formed: enriched environment (n=11), with animals housed in large cages with objects and wheel, and control environment (n=11), with animals housed in control cages without objects and wheel. Both groups received a standard animal house diet (NUVILAB) and remained in this environmental condition until the 30th day of life. In nursing mothers, body weight was measured weekly in the first three weeks of lactation, and in the pups, body mass monitoring analyzes were performed during lactation and after weaning. After leaving the enriched environment, food consumption was performed. The results indicate that exposure to the enriched environment during the lactation period was not able to promote changes in the body weight of nursing mothers and pups during lactation and after weaning. From the above, it can be deduced that the enriched environment did not change the body weight of either the nursing mothers or the offspring compared to animals kept in standard cages. On the other hand, it was observed that the food consumption of the pups housed in an enriched environment

was higher after the weaning process and change in the type of housing when compared to the control animals that were housed throughout the study in a standard animal facility. This practice may be associated with an environment that promotes physical activity and exploration during childhood and adolescence.

Keywords: Body weight; Environmental Enrichment; Food Consumption; Wistar rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Layout - semana 1

Figura 2: Layout - semana 2

Figura 3: Layout - semana 3

Figura 4: Layout - semana 4

Figura 5: Delineamento Experimental

Figura 6: Comparação entre gaiola do ambiente enriquecido e gaiola padrão

Figura 7: Gaiola do Ambiente Enriquecido - Imagem do comedouro

Figura 8: Comedouro para análise da ingestão alimentar

Figura 9: Peso corporal materno no início da lactação (g) e ao final da lactação

Figura 10: Peso corporal dos filhotes (g) comparação entre ambiente controle e ambiente enriquecido

Figura 11: Consumo alimentar absoluto (g) comparação entre ambiente controle e ambiente enriquecido.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE: Ambiente Enriquecido

DOHaD: Hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença

NPY: Neuropeptídeo Y

OMS: Organização Mundial da Saúde

POMC: Próopiomelanocortina

SNC: Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Período crítico do desenvolvimento	14
2.2 Ambiente Enriquecido Precoce	16
2.3 Ingestão alimentar	18
3 OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo Geral:	21
3.2 Objetivos Específicos:	21
4. METODOLOGIA	22
4.1 Animais	22
4.2 Manipulação Ambiental	22
Figura 1: Layout - semana 1	23
Figura 2: Layout - semana 2	23
Figura 3: Layout - semana 3	24
Figura 4: Layout - semana 4	24
Figura 5: Delineamento Experimental	24
4.3 Grupos Experimentais	25
Figura 6: Comparação entre gaiola do ambiente enriquecido e gaiola padrão	25
4.4 Análises experimentais	26
4.4.1. Acompanhamento da Massa Corporal	26
4.4.2. Avaliação da Ingestão Alimentar dos filhotes	26
Figura 7: Gaiola do Ambiente Enriquecido – Imagem do comedouro	26
Figura 8: Comedouro para análise da ingestão alimentar	27
5 RESULTADOS	28
Figura 9: Peso corporal materno no início da lactação (g) e ao final da lactação.	28
Figura 10: Peso corporal dos filhotes (g) comparação entre ambiente controle e ambiente enriquecido.	29
Figura 11: Consumo alimentar absoluto (g) comparação entre ambiente controle e ambiente enriquecido.	30
6 DISCUSSÃO	31
REFERÊNCIAS	36

INTRODUÇÃO

O período crítico de desenvolvimento do sistema nervoso constitui um momento em que processos fisiológicos de formação do organismo apresentam aceleração, diminuição ou término de suas atividades em um curto período (CHAKRABORTY et al., 2021), tornando-o mais vulnerável às influências emanadas pelo ambiente. Apesar do neurodesenvolvimento de roedores e humanos apresentarem diferenças, marcadores desta faixa de grande importância apresentam-se similarmente em ambos, caracterizando que estudos em roedores são válidos e muito bem estabelecidos (RICE & BARONE, 2000). Em humanos, ocorre entre a fase pré-natal até os cinco primeiros anos de vida. Mas, em roedores, estudos avaliam que o período crítico ocorre durante as fases de gestação e lactação (CADENA-BURBANO et al., 2019). A Hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença (DOHaD), propõe que os períodos iniciais da vida são altamente influenciados pelo meio ambiente, e, que, estas influências podem contribuir para alterações em curto e longo prazo nas características fisiológicas e morfológicas do organismo (SILVEIRA et al., 2007).

Segundo o DOHaD, os indivíduos estão sujeitos a interferências que ocorrem devido ao meio ambiente, pode-se observar na sociedade atual um padrão de vida obesogênico e por isso as estratégias adotadas pelos órgãos de saúde pública são modificadas de acordo com a necessidade da população. Epidemiologicamente ocorreu uma importante mudança não só no Brasil, mas no mundo, visto que, doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como hipertensão, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares constituem um problema de saúde pública devido a sua grande prevalência (BIANCO-MIOTTO et al., 2017). As DCNT's podem ser evitadas através da adoção de medidas preventivas, especialmente nas fases iniciais da vida (HANSON & GLUCKMAN, 2011).

Marinho e colaboradores (2016) relataram que o padrão alimentar da população sofreu mudanças o que levou a prevalência da obesidade. Além disso, o estilo de vida ocidentalizado é conhecido pela alta prevalência de ingestão de alimentos calóricos e a pouca prática de atividade física (MAINARDI et al., 2010).

O enriquecimento ambiental caracteriza-se por um ambiente de criação de animais modificado para promover benefícios aos habitantes. Diversas

oportunidades comportamentais podem surgir, como um resultado do enriquecimento ambiental, promovendo um enriquecimento, não somente comportamental, mas também aumentando o bem-estar dos animais através de um ambiente agradável (CAMARGO GARBIN et al., 2012). Existem diversas maneiras de realizar um enriquecimento ambiental, há protocolos que consistem em adicionar objetos das mais diversas formas e cores (SZTAINBERG; CHEN, 2010). Os objetos escolhidos podem variar de acordo com o experimento, sendo os mais utilizados as rodas de correr, interessante para os roedores se exercitarem; iglus, que permitem que o animal se esconda; túneis e barras de metal também são ferramentas muito utilizadas (CAMARGO GARBIN et al., 2012).

Os benefícios propostos pelo uso do enriquecimento ambiental são diversos, desde melhorias comportamentais a mudanças no metabolismo dos animais (SLATER & CAO, 2015). O ambiente enriquecido (AE) conseguiu promover o aumento do gasto energético e diminuição na adiposidade, este mesmo trabalho confirmou alterações em animais que passaram quatro semanas no AE, foi possível concluir que estes animais apresentaram maior resistência ao desenvolvimento da obesidade (SLATER & CAO, 2015).

Para além disso, durante as fases de gestação e de aleitamento, a estimulação do ambiente pode promover benefícios a eventos biológicos do neurodesenvolvimento, como aumentar fatores de crescimento e aprimorar circuitos motores como reflexo de endireitamento (SCHUCH et al., 2016). Por fim, tivemos como pergunta avaliar se a exposição precoce ao ambiente enriquecido no período de lactação influencia no controle peso corporal e ingestão alimentar de ratos *wistar* jovens.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Período crítico do desenvolvimento

A composição do Sistema Nervoso Central (SNC) tem seu início na embriogênese, um momento bem importante é chamado de neurogênese, porque é nessa faixa de desenvolvimento que ocorre a modulação neuronal, aonde as células do cérebro e da coluna vertebral vão se expressando (RICE & BARONE, 2000). Estudos reforçam a dinamicidade deste momento, a plasticidade do desenvolvimento faz com que os indivíduos apresentem uma flexibilidade que tem como um dos fatores de maior influência o meio ambiente em que ele está inserido (GLUCKMAN et al., 2011).

As fases iniciais da vida vêm sendo estudadas ao longo dos anos por pesquisadores em todo mundo baseados na Hipótese da Origem Fetal de Doenças da Vida Adulta (DOHaD), grande estudo que tem como seu início o grande interesse na plasticidade fenotípica e seus efeitos importantes no desenvolvimento de doenças. O DOHaD defende a ideia de que uma predisposição genética e o ambiente precoce podem influenciar as respostas do organismo para se adaptar ao ambiente e podem favorecer o aparecimento de patologias na vida adulta (WELLS, 2014). Visto que, a neuroplasticidade é definida como a capacidade dinâmica do Sistema Nervoso Central (SNC) de se moldar estruturalmente e funcionalmente frente a um acontecimento ou lesão (ISMAIL et al., 2017).

O período crítico do desenvolvimento é um processo que está relacionado com a Hipótese da Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença, a programação do desenvolvimento aborda como os eventos iniciais da vida, juntamente à influência do meio que o indivíduo está inserido, afetam a probabilidade do desenvolvimento de doenças em longo prazo (SILVEIRA et al., 2007; GLUCKMAN et al., 2011; BIANCO-MIOTTO et al., 2017). Em humanos, o período crítico do desenvolvimento ocorre entre a fase pré-natal até os cinco primeiros anos de vida, e em roedores é caracterizado durante o período da gestação e lactação (MORGANE et al., 1978).

Diversos mecanismos são estudados com o objetivo de entender como ocorre o processo da plasticidade, dentre as principais hipóteses relacionadas a esta adaptação do indivíduo temos a comunicação hormonal vinda da placenta para o feto, bem como os sinais hormonais passados para o recém-nascido no momento da

lactação, além da grande influência do meio ambiente na expressão genética do organismo (SILVEIRA et al., 2007).

O cérebro é um órgão que possui diversas unidades chamadas de neurônios, estes formam diversas conexões e o resultado destas junções são as sinapses. No entanto, a modulação deste cérebro não é baseada apenas na composição genética do indivíduo, este também é influenciado pelo ambiente ao qual este organismo está inserido (CHAKRABORTY et al., 2021).

A comunicação entre duas células neuronais acontece através das sinapses, este processo ocorre de forma rápida e concomitante em diversas regiões do cérebro apesar de existirem trilhões de sinapses algumas permanecem sem conexões por um período de tempo. Logo, a aplicação de estímulo externos, como o ambiente enriquecido possui grande potencial para modulação neuronal e em seguida maturação, este é o mecanismo conhecido como plasticidade sináptica (CHAKRABORTY et al., 2021). Nos eventos pré e pós-natais, o sistema nervoso dos ratos ainda está passando pelo processo de diferenciação (MORGANE et al., 1978), logo, interferências nesta faixa de desenvolvimento podem levar a uma programação metabólica, isso corrobora com os estudos importantes de Waterland & Garza (1999) que utilizam o termo “*imprinting* metabólico” relatando que uma alteração durante o período crítico do desenvolvimento tem forte influência a longo prazo no desenvolvimento.

Neste período conhecido como período crítico, o sistema nervoso central está no seu melhor momento de desenvolvimento. Dessa forma, intervenções benéficas ou maléficas que ocorram nesta janela podem influenciar irreversivelmente no organismo do indivíduo (CHAKRABORTY et al., 2021). As conexões e formações dos neurônios possuem maior intensidade no momento crítico do desenvolvimento devido à plasticidade neuronal desta faixa, momento ideal para otimização do aprendizado e intervenções benéficas (CHAKRABORTY et al., 2021). Para além disso, SILVEIRA e colaboradores (2007) relatam que o ambiente tem influência não somente em fatores genéticos, mas também aspectos comportamentais e morfológicos.

Os estudos em humanos entendem que o ambiente ao qual os indivíduos são expostos pode ser um fator determinante para hábitos, não somente alimentares, mas também de estilo de vida, Sijtsma e colaboradores (2015) investigaram em

humanos a relação entre IMC dos pais e sua repercussão nos filhos. Neste estudo, os autores observaram que o maior IMC parental estava relacionado com maior IMC e maior circunferência da cintura nos filhos, além da associação entre elevado IMC materno e maior tempo de comportamento sedentário nos filhos (SIJTSMA et al., 2015). Outros estudos também encontraram associação entre IMC parental e o IMC de seus filhos, filhos com ambos os pais sobrepeso/obesos tiveram maior IMC quando comparados com filhos de pais com peso na faixa de eutrofia (CADENAS-SANCHEZ et al., 2017).

Estudos relacionam, ainda em humanos, que os menores níveis de atividade física em escolares estão relacionados com maior percentual de gordura, além disso, a prática de atividades físicas pode criar uma proteção metabólica nos indivíduos contra doenças crônicas como obesidade e cardiovasculares (SIJTSMA et al., 2015).

Pesquisas e estudos sobre a Hipótese da Origem Desenvolvimentista (DOHad) da Saúde e da Doença se tornaram extremamente importante para entender os mecanismos que ocorrem na plasticidade, assim como, atuar precocemente em possíveis patologias, a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2004 reconheceu o DOHad como estudos com grande potencial para a área de saúde pública e suas estratégias (SILVEIRA et al., 2007).

2.2 Ambiente Enriquecido Precoce

O cientista Hebb, no ano de 1940, utilizou o termo enriquecimento ambiental como estudo experimental após observar que seus ratos de estimação apresentaram melhorias em aspectos comportamentais quando comparados com seus ratos de laboratório (HEBB, 1947).

Pigliucci, Murren e Schlichting (2006) conceituam o termo plasticidade fenotípica como “a capacidade de um único genótipo para dar origem a vários fenótipos quando expostos a condições ambientais” (PIGLIUCCI et al., 2006). Sendo assim, o ambiente ao qual o indivíduo é exposto durante o período crítico tem papel primordial em seu desenvolvimento saudável (HEGDE; MITRA., 2020).

O enriquecimento ambiental é compreendido como uma combinação de estímulos complexos, que utilizam objetos podendo promover também a presença

de outros animais capazes de influenciar aspectos morfofuncionais do sistema nervoso em função do aumento da estimulação sensorial, cognitiva, motora e interação social (GELFO et al., 2011). A neuroplasticidade ocorre devido à modulação de mecanismos importantes como a genética, componentes celulares e moleculares do indivíduo (ISMAIL et al., 2017), dessa forma, o ambiente enriquecido é considerado um modelo legítimo com a finalidade de explorar a capacidade e complexidade cerebral (GELFO et al., 2011), além de promover efeitos benéficos quando vivenciado desde o nascimento.

O estilo de vida em indivíduos jovens pode ter uma grande influência na permanência na prática de atividade física ao longo da vida (DJORDJIC et al., 2016). A pouca ou nenhuma prática de atividade física caracteriza o comportamento sedentário, e é atualmente preocupante em consequência do aumento de crianças acometidas com sobrepeso e obesidade no mundo (CADENAS-SANCHEZ et al., 2017). Doenças crônicas como hipertensão, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares se tornaram um problema de saúde pública devido a sua grande prevalência (BIANCO-MIOTTO et al., 2017). Desta forma, um contexto saudável com uma alimentação balanceada e a prática regular de atividade física se tornam fatores protetores para o desenvolvimento de doenças (NOCE et al., 2021).

Entende-se como enriquecimento ambiental quando três pilares deste protocolo são modificados, o primeiro é a estrutura ambiental, esta nova estrutura vai promover que variadas atividades possam ser realizadas pelo animal, o segundo pilar do ambiente enriquecido: novas atividades, e o terceiro pilar: aspecto social, neste ambiente existe a possibilidade do contato de mais de um animal no convívio social (CAMARGO GARBIN et al., 2012).

O ambiente enriquecido tem sido adicionado à lista de atividades físicas, e, quando comparado com um protocolo de exercício físico, promove estimulações cognitivas, sensoriais, físicas e sociais (MAINARDI et al., 2010). Sabe-se que a prática de exercício físico apresenta inúmeras implicações benéficas no indivíduo como aumento da plasticidade neuronal (LEE et al., 2016). Um estudo de Serra e colaboradores (2020) relatou que tanto o protocolo de atividade física quanto o de exercício físico foram capazes de promover melhora de funções cognitivas, sendo considerados importantes formas de estudar a plasticidade de eventos neurológicos.

Mainardi e colaboradores (2013) observaram que animais que foram submetidos ao AE tiveram em seus neurônios hipotalâmicos aumento de POMC e diminuição de NPY, que possuem íntima relação com a ingestão alimentar. Observou-se que o protocolo de exercício físico sem o enriquecimento ambiental não obteve mudança nas sinapses hipotalâmicas como nos animais do enriquecimento ambiente, demonstrando que a estimulação sensorial, social e motora tem grande relevância nos rearranjos neurais. Este mesmo estudo aborda que, caso a estimulação do AE for encerrada, algumas dessas alterações benéficas não são mantidas (MAINARDI et al., 2013). Vale salientar que segundo o estudo de Camargo Garbin e colaboradores (2012) dois fatores são importantes quando o ambiente enriquecido é aplicado, a idade do roedor e a duração da exposição, visto que, existe uma janela de maior desenvolvimento, o período crítico, do indivíduo.

2.3 Ingestão alimentar

Dentro dos diversos fatores que podem influenciar a programação metabólica de um indivíduo, os hábitos de alimentação e prática de atividade física possuem grande importância. Marinho e colaboradores (2016) relataram que no ano de 2010 a dieta inadequada e atividade física insuficiente se encontravam como fator de risco na contribuição de alterações metabólicas, bem como para a morte (NOCE et al., 2021).

A saúde de um indivíduo leva em conta diversos aspectos da alimentação, os macronutrientes se dividem em carboidratos, que são os componentes da dieta constituídos por açúcares em sua forma de monossacarídeo, dissacarídeo ou polissacarídeos. As proteínas representam outra classe compostas por ligações de aminoácidos, e os lipídeos são formados por glicerol e ácidos graxos (VENN, 2020).

A microbiota intestinal está relacionada com a metabolização dos componentes da dieta, estes componentes quando são digeridos geram metabólitos no lúmen intestinal. Estes metabólitos atuam na interação com neurônios entéricos através da sinalização neural ativando quimiorreceptores, e esta cadeia de relações pode influenciar a expressão gênica do indivíduo devido a mecanismos da epigenética, tornando a composição da alimentação um fator primordial na programação do início da vida (BIANCO-MIOTTO et al., 2017).

O controle central da alimentação é realizado por vários sistemas, sendo o hipotálamo um importante regulador da ingestão alimentar (VALASSI et al., 2008). Os sinais periféricos agem diretamente no hipotálamo, onde seus neurônios controlam a ingestão de alimentos através da produção de neuropeptídeos envolvidos com a ativação das vias de controle orexígenas e anorexígenas de acordo com o estado nutricional do organismo (SWART et al., 2002).

Os neurotransmissores exercem um papel importante na ingestão alimentar, sua função ocorre através do mecanismo de reforçar os sinais de saciedade, bem como reduzindo o tamanho das refeições (BACQUÉ-CAZENAVE et al., 2020), o mecanismo da diminuição da ingestão alimentar está atrelado aos neurônios proopiomelanocortina (POMC) e neuropeptídeo Y (NPY), onde neurotransmissores estão envolvidos na despolarização e hiperpolarização destes neurônios que são anorexígenos (HEISLER et al., 2006; GALINDO et al., 2015).

Em ratos, o desenvolvimento dos circuitos neuronais reguladores de apetite ocorre no final da gestação e continuam após o nascimento, sendo suscetível a mudanças ambientais, como a nutrição (VELKOSKA; MORRIS, 2011). O ato de se alimentar pode ser facilmente influenciado pelo ambiente de criação do indivíduo, em que, qualquer intervenção no período crítico do desenvolvimento pode desencadear mudanças importantes na ingestão (Beale et al., 2011).

Deste modo, mudanças em períodos iniciais da vida, especialmente no período crítico do desenvolvimento, podem causar grande influência nos níveis de neurotransmissores, e estes podem levar a mudanças na expressão gênica hipotalâmica e na ingestão alimentar, influenciando em longo prazo na vida adulta (GALINDO et al., 2015). Rodríguez-Ortega e colaboradores (2019) avaliaram em seu estudo experimental que a aplicação do ambiente enriquecido em ratos adolescentes levou a uma redução na ingestão de sacarose, que corresponde a ingestão de alimentos palatáveis, na vida adulta. Na segunda parte do experimento animais adultos do grupo foram submetidos ao AE e, mesmo fora da faixa de maior plasticidade do SNC, foi observado uma redução duradoura da ingestão de sacarose, confirmando o papel modulador do AE (RODRÍGUEZ-ORTEGA et al., 2019).

O estudo de Mainardi e colaboradores (2010) após avaliar o efeito do ambiente enriquecido observou seu papel em induzir uma reprogramação do set-

point hipotalâmico em responder sinais orexígenos enviados pela leptina, peptídeo que tem função importante na regulação da ingestão alimentar (MAINARDI et al., 2010). Na literatura encontra-se que a leptina foi descoberta em 1940, o entendimento de sua função foi ocorrendo ao longo dos estudos, a leptina atua na supressão do apetite através de seu papel transmitindo informação ao cérebro a respeito do depósito de energia do organismo (ESPINOZA et al., 2021).

Outro fator importante é que o ambiente enriquecido, devido à sua estimulação, possui uma relação com o controle da ingestão alimentar. Este ambiente promove uma melhor ação de neurônios POMC, e uma inibição de neurônios NPY, atuando respectivamente sobre respostas anorexígenas, que reduzem a ingestão alimentar e aumentam o gasto de energia, e orexígenas, que estimulam a ingestão alimentar e reduzem o gasto energético (MAINARDI et. al., 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Identificar a influência da intervenção com ambiente enriquecido durante a lactação sobre aspectos fenotípicos de ratos *wistar* jovens e de suas genitoras

3.2 Objetivos Específicos:

- Mensurar o peso corporal das nutrizes e da prole durante a lactação; e nos filhotes também após o desmame
- Avaliar a ingestão alimentar dos filhotes após o desmame.

4. METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados 32 roedores da linhagem *Wistar* provenientes da colônia do Departamento de Nutrição – UFPE. Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Anatomia – UFPE sob condições padrão de biotério com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12 horas (escuro: 6:00h às 18:00h /claro: 18:00h às 6:00h), livre acesso a água e a alimentação (ração comercial Nuvilab com 3.6 kcal/grama; 66% de carboidratos; 24% de proteína e 10% de lipídios) e acomodados em gaiolas de polipropileno (49x34x16cm). Os procedimentos executados neste projeto foram realizados de acordo com as recomendações éticas da “Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos”. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPE (processo nº 0083/2021).

As fêmeas nulíparas com idades entre 90 e 120 dias de vida, apresentando peso corporal de aproximadamente 220g a 250g, foram acasaladas na proporção de duas fêmeas (n=7) para um macho (n=3). O dia de nascimento dos animais foi considerado o dia 0 (zero), um dia após o nascimento foi considerado o 1º dia pós-natal (DPN) dos animais para normatização de todas as ninhadas utilizadas no estudo. A partir do DPN 1, as ratas nutrizas e seus filhotes foram randomizados em ninhadas com oito filhotes por nutriz. Apenas os filhotes machos foram utilizados na composição final dos grupos experimentais, e as filhotes fêmeas foram apenas utilizadas para composição do número de filhotes por ninhada.

4.2 Manipulação Ambiental

O ambiente controle foi realizado em gaiolas padrão de biotério (49x34x16cm). O protocolo de ambiente enriquecido foi adaptado do modelo proposto por Mainardi e colaboradores (2010). O ambiente enriquecido foi realizado em uma gaiola grande (60x50x42cm) desenvolvida com uma estrutura de aramado contendo vários comedouros para ração, uma roda de corrida, escadas, abrigos e túneis que foram reposicionados a cada três dias e completamente substituídos por outros uma vez por semana. Nas duas condições ambientais, cada gaiola abrigou uma lactante com 8 filhotes durante o período de lactação.

Quadro 1. Organização espacial das gaiolas de ambiente enriquecido por semana de experimentos.

Período		Lactação		Pós-desmame
	Semana 1 (PND1 - 7)	Semana 2 (PND8 - 14)	Semana 3 (PND15 - 21)	Semana 4 (PND22- 30)
Materiais AE	Layout 1	Layout 2	Layout 3	Layout 4
Gangorra	-	-	1	1
Roda	-	1*	1	1
Túnel Copo	1	1	1	1
Túnel Gangorra	2	2	-	1
Plataforma	1	1	1	1
Rampa	1	1	1	1
Gaiola Alimentação	1	1	1	1



Figura 1: Layout - semana 1

Fonte: próprio autor



Figura 2: Layout - semana 2

Fonte: próprio autor



Figura 3: Layout - semana 3

Fonte: próprio autor



Figura 4: Layout - semana 4

Fonte: próprio autor

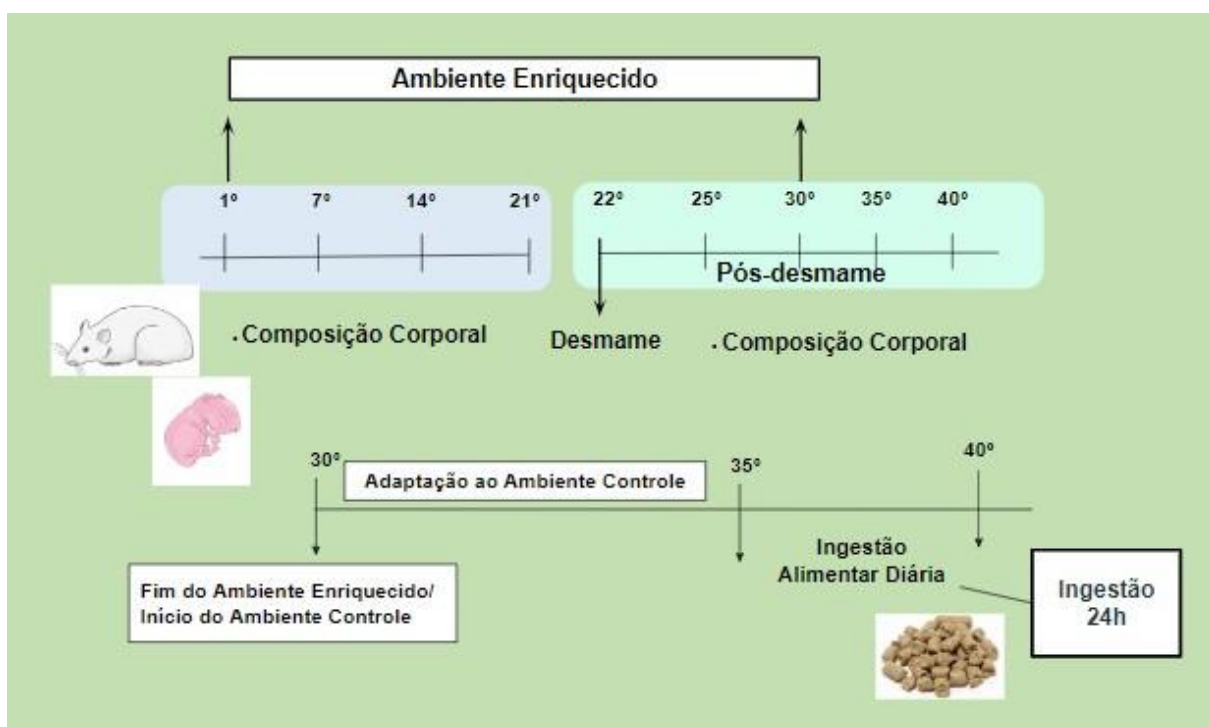


Figura 5: Delineamento Experimental

Fonte: próprio autor

4.3 Grupos Experimentais

Os grupos experimentais foram organizados de acordo com a manipulação ambiental em:

- Ambiente Controle: Filhotes e rata nutriz foram alojados em uma gaiola controle a partir do 1º dia até o 30º dia de vida pós-natal (AC; n=11).
- Ambiente Enriquecido: Filhotes e rata nutriz foram alojados em uma gaiola enriquecida a partir do 1º dia até o 30º dia de vida pós-natal (AE; n=11).

Em ambas as condições, do 1º dia após o nascimento, considerado o dia pós-natal (PND) 1, cada gaiola abrigou 8 filhotes e 1 nutriz. No 22º dia de vida, as ratas fêmeas adultas foram removidas, e apenas os animais machos permaneceram no ambiente enriquecido. Após a remoção da nutriz, 4 animais foram mantidos na gaiola, preferencialmente os animais machos, até o dia das análises (PND 30). As filhotes fêmeas foram apenas utilizadas para compor a gaiola quando necessário. No 31º dia de vida, todos os filhotes machos foram transferidos para gaiola controle individual com livre acesso a água e ração, e, após 5 dias de adaptação foram iniciadas as análises do período pós-desmame.



Figura 6: Comparação entre gaiola do ambiente enriquecido e gaiola padrão

Fonte: próprio autor

4.4 Análises experimentais

4.4.1. Acompanhamento da Massa Corporal

A massa corporal (g) das ratas nutrizas foram obtidas na lactação e a massa corporal dos filhotes foram obtidas nos dias 1, 7, 14 e 21. Após o desmame, foi registrada nos dias 25, 30, 35 e 40. Para o registro da massa corporal foi utilizada balança semi-analítica (Bel® modelo L2102).

4.4.2. Avaliação da Ingestão Alimentar dos filhotes

Ao longo do estudo, os animais dos dois grupos experimentais foram alojados em gaiolas que continham um comedouro semelhante para evitar possíveis influências na alimentação.

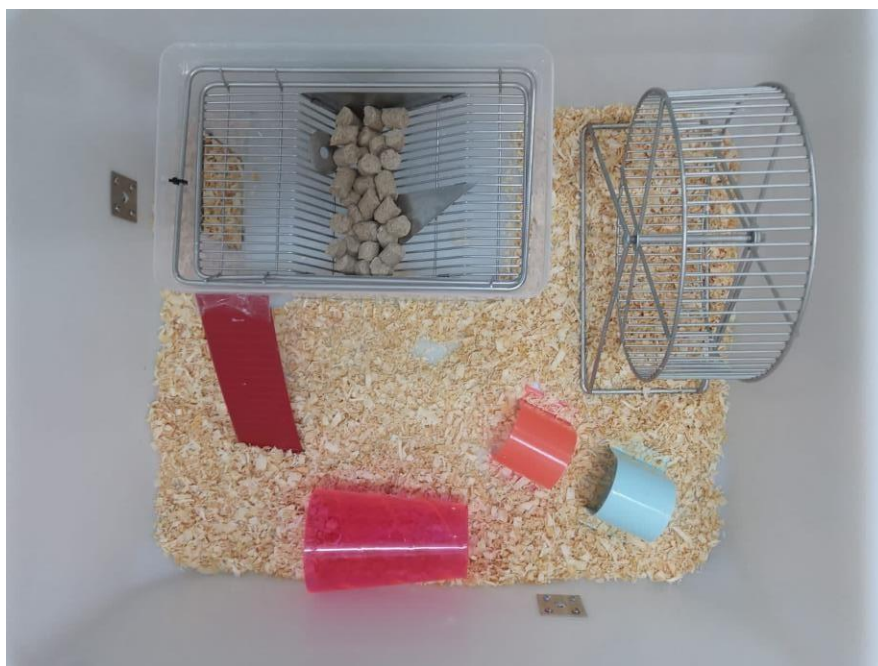


Figura 7: Gaiola do Ambiente Enriquecido – Imagem do comedouro

Fonte: próprio autor



Figura 8: Comedouro para análise da ingestão alimentar

Fonte: próprio autor

A Ingestão Alimentar (g) foi realizada nos filhotes diariamente por 5 dias consecutivos, nos dias 36, 37, 38, 39 e 40, sendo obtida pela diferença entre a quantidade de ração oferecida e a rejeitada no período de 24 horas utilizando balança semi-analítica (Bel® modelo L2102). Esta avaliação foi realizada no horário de 14:00 horas.

4.5 Análise Estatística

Os dados coletados foram armazenados em planilhas no software Excel. A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizado a análise de variância ANOVA *Two-way* medidas repetidas para avaliar o peso corporal e ingestão alimentar, o ambiente e o tempo foram usados como fatores para as análises. O pós-teste de Bonferroni foi utilizado para evidenciar as diferenças entre os grupos. O nível de significância estatística foi estabelecido com o valor de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas no programa GraphPad Prism® versão 7 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

5 RESULTADOS

5.1 Peso corporal materno na lactação

Foi observado que não houve alteração no peso corporal das nutrizes ao longo das três semanas de lactação na comparação entre os dois grupos experimentais. O ANOVA *two way* não apresentou interação [$F(2, 15)=0.07119$; $p=0,9316$].

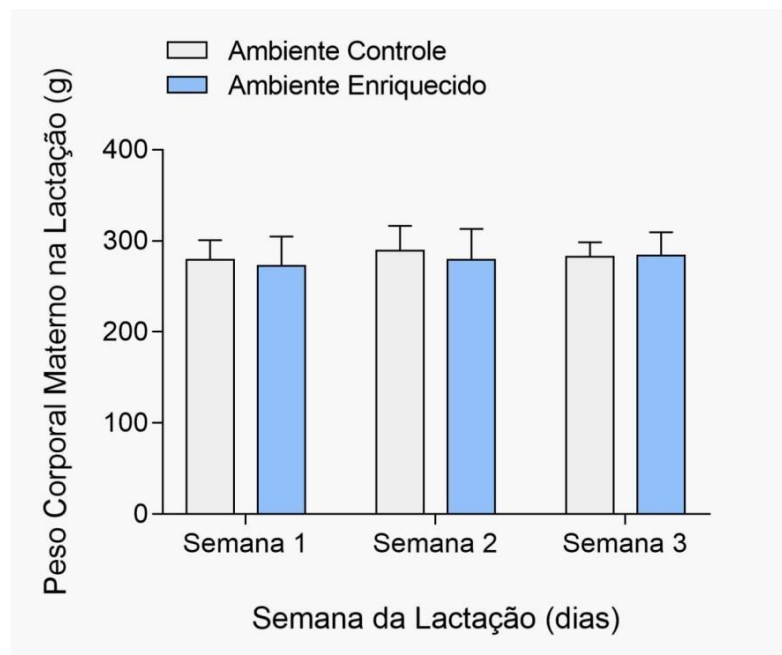


Figura 9: Peso corporal materno no início da lactação (g) e ao final da lactação. Grupo ambiente controle (n=3) e grupo ambiente enriquecido (n=4). Teste ANOVA *two way* seguido do pós-teste de Bonferroni. Nível de significância $p<0,05$.

5.2 Peso corporal dos filhotes

O ANOVA *two way* não apresentou uma interação significativa entre os dois grupos experimentais em relação ao ganho de peso corporal [$F(7, 70)=0.4373$; $p=0,8755$]. No entanto, apresentou significância apenas em relação a idade dos animais [$F(7, 70)=1092$; $p<0,0001$]. Já em relação ao ambiente de alojamento dos animais não foi observada significância estatística [$F(1, 10)=0.1149$; $p=0,7416$].

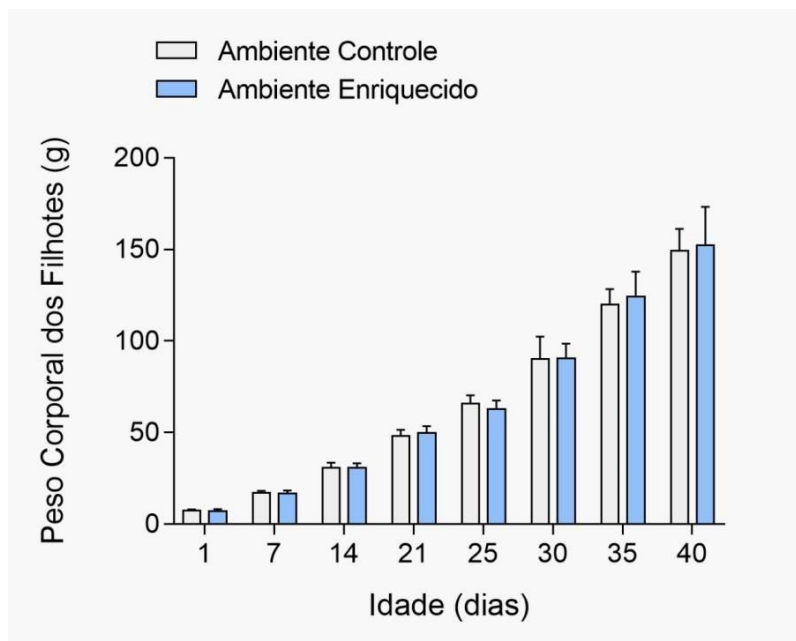


Figura 10: Peso corporal dos filhotes (g) comparação entre ambiente controle e ambiente enriquecido. Grupo ambiente controle (n=11) e ambiente enriquecido (n=11). Teste ANOVA *two way* medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni. Nível de significância $p < 0,05$.

5.3 Consumo alimentar dos filhotes

O ANOVA *two way* apresentou uma interação significativa entre os dois grupos experimentais em relação ao consumo alimentar [$F(4, 40) = 3.329$; $p = 0,0191$]. A partir do teste de variância de duas vias (ANOVA *two way*) seguido do pós-teste de Bonferroni observou-se significância em relação à idade, [$F(4, 40) = 9.303$; $p < 0,0001$], e em relação ao ambiente de alojamento [$F(1, 10) = 11.68$; $p = 0,0066$]. Os animais do grupo ambiente enriquecido apresentaram um maior consumo alimentar nos dias 38, 39 e 40 ($p < 0,0383$; $p < 0,0120$ e $p < 0,0069$).

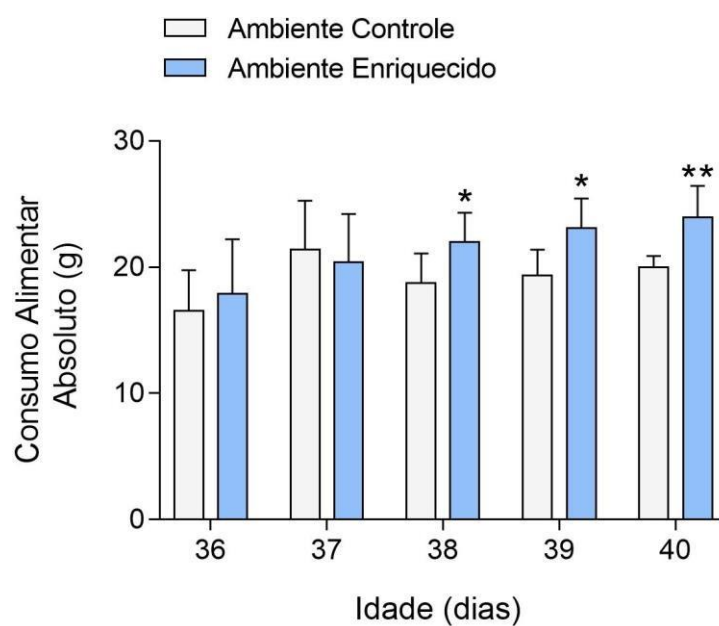


Figura 11: Consumo alimentar absoluto (g) comparação entre ambiente controle e ambiente enriquecido. Grupo ambiente controle (n=11) e ambiente enriquecido (n=11). Teste ANOVA *two way* medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,005$. Nível de significância $p < 0,05$.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo foi observado que a exposição ao ambiente enriquecido durante o período de lactação não foi capaz de promover alteração no peso corporal das nutrízes e dos filhotes durante a lactação e após o desmame. No entanto, observamos nas últimas duas semanas que o consumo alimentar dos filhotes alojados em ambiente enriquecido (AE) foi maior que os animais controles que foram alojados durante todo o estudo em ambiente padrão de biotério.

Um estudo recente observou que existe uma diferença no cuidado de mães que foram submetidas ao ambiente enriquecido durante a gestação para mães de gaiolas padrão, comportamentos maternos como lambe os filhotes durante a primeira semana de vida foi observado por maior tempo e maior frequência no primeiro grupo citado (NOGUEZ et al., 2021). Este comportamento semelhante também foi observado no trabalho de Santana Muniz e colaboradores (2014) com a realização da prática de exercício físico voluntário em ratas durante o período de adaptação, gestação e nas primeiras semanas de lactação. A metodologia adotada dividiu as ratas em controle, inativas, ativas e muito ativas, antes da gestação, e durante o período de gestação e lactação, a prática de atividade física foi mínima tanto nas mães ativas e muito ativas.

Diferente do encontrado no presente estudo, o estudo de Santana Muniz e colaboradores (2014) encontraram elevado ganho de peso corporal no grupo muito ativo, mas ao observar as fêmeas do grupo ativo foi observado que o peso corporal se manteve em um padrão bem semelhante aos pares sedentário e controle. Porém, quando foi realizado o coeficiente de correlação de Pearson entre número de filhotes e ganho de peso corporal não houve significância encontrada.

O nosso estudo identificou que o alojamento em ambiente enriquecido durante o período de desenvolvimento do sistema nervoso, a lactação, não foi capaz de promover alteração no peso corporal dos filhotes. Semelhante aos nossos resultados, o estudo de Tsai e colaboradores (2002) com animais de três linhagens diferentes submetidos ao ambiente enriquecido desde a 3ª semana de vida até a 15ª semana, também não encontraram diferença significativa no peso corporal quando comparados ao grupo que foram mantidos em gaiolas padrão de biotério (TSAI et al., 2002). Outro estudo prévio com protocolo e resultados que se assemelham ao

nosso foi o desenvolvido por Mainardi e colaboradores (2010). Neste estudo os autores submetem animais a ambiente enriquecido do nascimento ao 50º. dia e não encontraram diferença no peso corporal (MAINARDI et al., 2010).

McQuaid e colaboradores (2018) utilizando filhotes machos em ambiente enriquecido (provido de túneis, abrigos e rodas, contando com a mudança de layout semanalmente) a partir do 21º dia de vida, primeiro dia após o desmame, durante seis semanas observou nos animais do AE que durante as quatro primeiras semanas não houve diferença significativa, corroborando com nosso estudo. A redução no peso corporal ocorreu apenas após a 5ª e 6ª semana (MCQUAID et al., 2018). Dessa forma, entende-se que os existem diversos fatores que podem influenciar na resposta do ambiente enriquecido ao organismo como o tempo de exposição, a idade, bem como o tipo de protocolo que foi utilizado.

Apesar da inobservância de mudança significativa no peso corporal das nutrízes e filhotes em nosso estudo, Noguez e colaboradores (2021) destacou a importância da aplicação de um protocolo de exercício físico durante o período crítico do desenvolvimento, como a gestação, pois os dados apontam que a prática de exercício proporciona benefícios aos filhotes, assim como, melhora no desempenho de reflexos motores e sensoriais, bem como aumento na proliferação celular (SCHUCH et al., 2016; SERRA et al., 2020).

Li e colaboradores (2016), avaliaram a atividade locomotora de filhotes expostos ao ambiente enriquecido desde o 1º dia de vida. A atividade foi medida antes do desmame, e não houve uma diferença significativa entre os grupos (LI et al., 2016) este fato pode explicar possivelmente porque em nosso estudo não houve diferença no peso corporal entre os filhotes de ambiente enriquecido e do ambiente controle. Os estudos analisados concordam que não foram encontradas diferenças significativas de peso corporal quando comparados os animais de ambiente enriquecido com o ambiente controle em seus diversos protocolos realizados, apesar de encontrarmos na literatura alguns estudos que indicam que o ambiente enriquecido pode levar à menor peso corporal nos animais (ZAIAS et al., 2008).

A maior hipótese para explicação de tais dados é devido ao tempo de exposição, supõe-se que um maior tempo de exposição seria capaz de causar mudanças no peso corporal.

Quanto aos dados do consumo alimentar, observamos que os filhotes alojados em ambiente enriquecido tiveram maior consumo aos 38, 39 e 40 dias de vida, após o processo de desmame. A mudança no tipo de alojamento, quando comparado com os animais controles que foram alojados durante todo o estudo em ambiente padrão de biotério, pode levar a alteração na ingestão alimentar. No estudo de Mainardi e colaboradores (2010), foram analisados animais machos que foram alojados em AE ao 50º dia de vida e transferidos para gaiolas padrão de biotério onde foram mantidos até o 80º dia de vida, este estudo encontrou um aumento significativo na média da ingestão alimentar dos animais que foram transferidos do ambiente enriquecido para o AC (MAINARDI et al., 2010). Por outro lado, Zeeni e colaboradores (2015) não encontraram diferença na ingestão energética de ratos adultos em ambientes enriquecidos.

Diversos fatores podem estar atrelados a esse maior consumo, visto que mudança de ambiente parece ser um agente estressor causado pelo encerramento do estímulo, que era ofertado no ambiente enriquecido, culminando em aumento de comportamentos ansiosos, o fato do animal ter um ambiente promotor de prática de atividade física e exploração durante a infância e adolescência foi importante para a manutenção do consumo alimentar, no entanto, quando exposto na idade adulta a um ambiente hostil, esse animal apresenta aumento do consumo de alimentos (MAINARDI et al., 2010).

Vanisree e Thamizhoviya (2021) demonstraram em seu estudo que o ambiente enriquecido foi importante na redução de comportamento depressivos/ansiosos em animais que passaram pelo estresse crônico de imobilização (VANISREE; THAMIZHOVIYA, 2021). Dessa forma, quando ocorre a troca de um ambiente que promove uma diminuição no padrão de ansiedade para um ambiente desprovido de qualquer estímulo que pode promover aumento no nível de ansiedade, levando a maior ingestão alimentar.

O conjunto de estudos na literatura aponta que a estimulação ambiental tem sido uma recomendação das diretrizes que promovem o bem estar animal (SIMPSON; KELLY, 2011), assim como, tem sido advogada como um modelo que melhora o rigor e reprodutibilidade das pesquisas sem interferir nas variabilidades das características fenotípicas, mas com influência na neuroplasticidade cerebral (KENTNER et al, 2021). Como perspectivas futuras, pretendemos realizar outras

avaliações da composição corporal, visto que apenas o peso é insuficiente para avaliar a distribuição de gordura e quantidade de massa magra, por exemplo. Igualmente mensurar neuropeptídeos relacionados à ingestão alimentar visto que o ambiente enriquecido está associado a neuroplasticidade cerebral.

7 CONCLUSÃO

Pelo exposto, pode-se deduzir que o ambiente enriquecido não alterou o peso corporal das nutrízes e dos descendentes em comparação com os animais mantidos em gaiolas padrão. Por outro lado, se observou que o consumo alimentar dos filhotes alojados em ambiente enriquecido foi maior após o processo de desmame e mudança no tipo de alojamento quando comparado com os animais controles que foram alojados durante todo o estudo em ambiente padrão de biotério. Esta prática pode estar associada a um ambiente promotor de prática de atividade física e exploração durante a infância e adolescência. Como perspectivas futuras, pretendemos realizar outras avaliações da composição corporal, visto que apenas o peso é insuficiente para avaliar a distribuição de gordura e quantidade de massa magra, por exemplo. Igualmente mensurar neuropeptídeos relacionados à ingestão alimentar visto que o ambiente enriquecido está associado a neuroplasticidade cerebral.

REFERÊNCIAS

1. BACQUÉ-CAZENAVE, J.; BHARATIYA, R.; BARRIÈRE, G.; et al. Serotonin in animal cognition and behavior. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1-23, 2020.
2. BEALE, K. E. L.; MURPHY, K. G.; HARRISON, E. K.; et al. Accurate measurement of body weight and food intake in environmentally enriched male wistar rats. **Obesity**, v. 19, n. 8, p. 1715-1721, 2011. Nature Publishing Group.
3. BIANCO-MIOTTO, T.; CRAIG, J. M.; GASSER, Y. P.; VAN DIJK, S. J.; OZANNE, S. E. Epigenetics and DOHaD: From basics to birth and beyond. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 5, p. 513-519, 2017.
4. CADENA-BURBANO, E. V. et al. A maternal high-fat/high-caloric diet delays reflex ontogeny during lactation but enhances locomotor performance during late adolescence in rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 8305, n. August, p. 1-12, 2017.
5. CADENAS-SANCHEZ C, HENRIKSSON P, HENRIKSSON H, DELISLE NYSTRÖM C, POMEROY J, RUIZ JR, ORTEGA FB, LÖF M. Parental body mass index and its association with body composition, physical fitness and lifestyle factors in their 4-year-old children: results from the MINISTOP trial. **European Journal Of Clinical Nutrition** 71(10):1200-1205, 2017.
6. CAMARGO GARBIN, L.; RESENDE FALEIROS, R.; DO LAGO, L. A. enriquecimento ambiental em roedores utilizados para a experimentação animal: revisão de literatura. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 10, n. 2, p. 153, 2012.
7. CHAKRABORTY, R.; VIJAY KUMAR, M. J.; CLEMENT, J. P. Critical aspects of neurodevelopment. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 180, n. December 2020, p. 107415, 2021.
8. DJORDJIC, V.; RADISAVLJEVIC, S.; MILANOVIC, I.; et al. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative in Serbia: A prevalence of overweight and obesity among 6-9-year-old school children. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 29, n. 9, p. 1025-1030, 2016.

9. Espinoza García AS, Martínez Moreno AG, Reyes Castillo Z. The role of ghrelin and leptin in feeding behavior: Genetic and molecular evidence. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)*. 2021 Nov;68(9):654-663.
10. FLETCHER, P. J.; BURTON, M. J. Microstructural analysis of the anorectic action of peripherally administered 5-HT. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 24, n. 4, p. 1133-1136, 1986.
11. GALINDO, L. C. M.; BARROS, M. DA L. D.; PINHEIRO, I. L.; et al. Neonatal serotonin reuptake inhibition reduces hypercaloric diet effects on fat mass and hypothalamic gene expression in adult rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 46, p. 76-81, 2015. International Society for Developmental Neuroscience.
12. GELFO, F.; CUTULI, D.; FOTI, F.; et al. Enriched Environment Improves Motor Function and Increases Neurotrophins in Hemicerebellar Lesioned Rats. , 2011.
13. GLUCKMAN, P. D., et al. Towards a new developmental synthesis: adaptive developmental plasticity and human disease. *LANCET*, v. 373, p.1654-1657, 2009
14. HANSON, M.; GLUCKMAN, P.D. Developmental origins of noncommunicable disease: population and public health implications. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 94, (supl nº 6), 1754S1758S, 2011.
15. HEBB, D. O. (1947). The effects of early experience on problem solving at maturity. *The American Psychologist*, 2, 306-307
16. HEISLER LK, JOBST EE, SUTTON GM, ZHOU L, BOROK E, THORNTON-JONES Z, LIU HY, ZIGMAN JM, BALTHASAR N, KISHI T, LEE CE, ASCHKENASI CJ, ZHANG CY, YU J, BOSS O, MOUNTJOY KG, CLIFTON PG, LOWELL BB, FRIEDMAN JM, HORVATH T, BUTLER AA, ELMQUIST JK, COWLEY MA. Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. *Neuron*. 2006 Jul 20;51(2):239-49.
17. HEGDE, A., & MITRA, R. (2020). Environment and early life: Decisive factors for stress-resilience and vulnerability. *International Review of Neurobiology*.
18. ISMAIL, F. Y.; FATEMI, A.; JOHNSTON, M. V. Cerebral plasticity: Windows of opportunity in the developing brain. **European Journal of Paediatric Neurology**, v. 21, n. 1, p. 23-48, 2017.

19. KENTNER, A. C.; SPENO, A. V.; DOUCETTE, J.; RODERICK, R. C. The contribution of environmental enrichment to phenotypic variation in mice and rats. **eNeuro**, v. 8, n. 2, p. 1-10, 2021.
20. LEE, J.-M.; PARK, J.-M.; SONG, M. K.; KIM, Y. J.; KIM, Y.-J. Comparison of the behavioral effects of exercise and high fat diet on cognitive function in adolescent rats. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 12, n. 6, p. 520-525, 2016.
21. LI, K. A.; LUND, E. T.; VOIGT, J. P. W. The impact of early postnatal environmental enrichment on maternal care and offspring behaviour following weaning. **Behavioural Processes**, v. 122, p. 51-58, 2016.
22. MAINARDI, M.; SCABIA, G.; VOTTARI, T.; et al. A sensitive period for environmental regulation of eating behavior and leptin sensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 38, p. 16673-16678, 2010.
23. MAINARDI, M., PIZZORUSSO, T., & MAFFEI, M. (2013). Environment, Leptin Sensitivity, and Hypothalamic Plasticity. **Neural Plasticity**, 2013, 1-8.
24. MARASHUI, V et al, Effects of different forms of environmental on behavioral, endocrinological, and immunological parameters in male mice. **Hormones and Behavior**, v,43, p, 281-292, 2003.
25. MARINHO, F.; PASSOS, V. M. DE A.; FRANÇA, E. B. Novo século, novos desafios: mudança no perfil da carga de doença no Brasil de 1990 a 2010. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Único de Saúde do Brasil**, v. 25, n. 4, p. 713-724, 2016.
26. MCQUAID, R. J.; DUNN, R.; JACOBSON-PICK, S.; ANISMAN, H.; AUDET, M. C. Post-weaning environmental enrichment in male CD-1 mice: Impact on social behaviors, corticosterone levels and prefrontal cytokine expression in adulthood. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. July, p. 1-11, 2018.
27. MORGANE, P.J. et al. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rats. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v. 2, p. 137 - 230, 1978.

28. NOCE, A.; ROMANI, A.; BERNINI, R. Dietary intake and chronic disease prevention. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 2-5, 2021.
29. NOGUEZ, P.; CORIA-AVILA, G. A.; GARCÍA-GARCÍA, F.; et al. Maternal behavior , novelty confrontation , and subcortical c-Fos expression during lactation period are shaped by gestational environment. **Behavioural Brain Research**, v. 412, n. January, 2021.
30. PIGLIUCCI, M., MURREN, C. J., & SCHLICHTING, C. D. (2006). Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology*, 209(Pt. 12), 2362-2367.
31. RICE D, BARONE S Jr. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect.* 2000 Jun;108 Suppl 3(Suppl 3):511-33.
32. RODRÍGUEZ-ORTEGA, E.; ALCARAZ-IBORRA, M.; DE LA FUENTE, L.; CUBERO, I. Protective and therapeutic benefits of environmental enrichment on binge-like sucrose intake in C57BL/6J mice. **Appetite**, v. 138, n. March, p. 184-189, 2019.
33. SANTANA MUNIZ, G.; BESERRA, R.; DA SILVA, G. DE P.; et al. Active maternal phenotype is established before breeding and leads offspring to align growth trajectory outcomes and reflex ontogeny. **Physiology and Behavior**, v. 129, p. 1-10, 2014.
34. SERRA, F. T.; ARAUJO, B. H. S.; PLACENCIA, E. V. D.; et al. Enriched environment and exercise effects on parvalbumin expression and distribution in the hippocampal formation of developing rats. **Brain Research Bulletin**, v. 160, n. April, p. 85-90, 2020.
35. SCHUCH, C. P.; DIAZ, R.; DECKMANN, I.; et al. Early environmental enrichment affects neurobehavioral development and prevents brain damage in rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. **Neuroscience Letters**, v. 617, p. 101-107, 2016.
36. SIJTSMA, A.; SAUER, P. J. J.; CORPELEIJN, E. Parental correlations of physical activity and body mass index in young children- the GECKO Drenthe

- cohort. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**, v. 12, n. 1, p. 1-7, 2015.
37. SILVEIRA, P. P.; PORTELLA, A. K.; GOLDANI, M. Z.; BARBIERI, M. A. Origens desenvolvimentistas da saúde e da doença (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 6, p. 494-504, 2007.
 38. SIMPSON, J.; KELLY, J. P. The impact of environmental enrichment in laboratory rats — Behavioural and neurochemical aspects &. **Behavioural Brain Research**, v. 222, n. 1, p. 246-264, 2011.
 39. SLATER, A. M.; CAO, L. A protocol for housing mice in an enriched environment. *Journal of Visualized Experiments*, v. 2015, n. 100, p. 1-8, 2015.
 40. SUTTON, E. F.; GILMORE, L. A.; DUNGER, D. B.; et al. Developmental Programming: State-of-the-Science and Future Directions. **Obesity**, v. 24, n. 5, p. 1018-1026, 2016.
 41. SWART, I.; JAHNG, J. W.; OVERTON, J. M.; HOUP, T. A. Hypothalamic NPY, AGRP, and POMC mRNA responses to leptin and refeeding in mice. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 283, n. 5, p. 1020-1026, 2002.
 42. SZTAINBERG, Y.; CHEN, A. An environmental enrichment model for mice. **Nature Protocols**, v. 5, n. 9, p. 1535-1539, 2010. Nature Publishing Group.
 43. TSAI, P. P.; PACHOWSKY, U.; STELZER, H. D.; HACKBARTH, H. Impact of environmental enrichment in mice. 1: Effect of housing conditions on body weight, organ weights and haematology in different strains. **Laboratory Animals**, v. 36, n. 4, p. 411-419, 2002.
 44. VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 2, p. 158-168, 2008.
 45. VANISREE, A. J.; THAMIZHOVIYA, G. Enriched Environment Minimizes Anxiety/Depressive-Like Behavior in Rats Exposed to Immobilization Stress and Augments Hippocampal Neurogenesis (In Vitro). **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 71, n. 10, p. 2071-2084, 2021.

46. VENN BJ. Macronutrients and Human Health for the 21st Century. *Nutrients*. 2020 Aug 7;12(8):2363.
47. VEGA, C. C.; REYES-CASTRO, L. A.; BAUTISTA, C. J.; et al. Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 4, p. 712-719, 2015. Nature Publishing Group.
48. VELKOSKA, E. Mechanisms behind early life nutrition and adult disease outcome. **World Journal of Diabetes**, v. 2, n. 8, p. 127, 2011.
49. WATERLAND, R. A., & GARZA, C. (1999). Potencial mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69 (2), 179 – 197.
50. WELLS, J. C. K. Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity: Implications for the programming of obesity. **Evolution, Medicine and Public Health**, v. 2014, n. 1, p. 109-121, 2014.
51. ZAIAS, J. et al. Social and physical environmental enrichment differentially affect growth and activity of preadolescent and adolescent male rats. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 47, n. 2, p. 30-34, 2008.
52. ZEENI, N.; BASSIL, M.; FROMENTIN, G.; et al. Environmental enrichment and cafeteria diet attenuate the response to chronic variable stress in rats. **Physiology and Behavior**, v. 139, p. 41-49, 2015.
53. ZHANG, J.; CHEN, D.; SWEENEY, P.; YANG, Y. An excitatory ventromedial hypothalamus to paraventricular thalamus circuit that suppresses food intake. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 2020.

ANEXOS



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

Recife, 22 de dezembro de 2021

Ofício nº 93/21

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

Para: **Prof. Isabeli Lins Pinheiro**

Centro Acadêmico de Vitória

processo nº0083/2021

Certificamos que a proposta intitulada **"Indução de obesidade materna com dieta de cafeteria na lactação: repercussões da intervenção com ambiente enriquecido precoce sobre a ingestão alimentar, a densidade neuronal da serotonina e do transportador de serotonina em ratos jovens"**, de **registrado com o nº 0083/2021** sob a responsabilidade da **Prof: Isabeli Lins Pinheiro** Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 21/12/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	21/12/2021 a 31/12/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	110 animais
Peso/Idade	220 - 260 g / 90 e 120 dias
Sexo	Machos (90) e fêmeas (20)
Origem: Biotério de Criação	Biotério/Colônia de criação do Departamento de Nutrição/UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério de experimentação animal do Departamento de Anatomia da UFPE