



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

LUANA OLEGÁRIO DA SILVA

**USO PERINATAL DE DIETA HIPERLIPÍDICA E INIBIÇÃO NEONATAL DA
RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA: INVESTIGAÇÕES
HISTOMORFOLÓGICAS E DO COMPORTAMENTO SEMELHANTE À
ANSIEDADE EM PROLE DE RATOS**

Vitória de Santo Antão – PE

2020



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

LUANA OLEGÁRIO DA SILVA

**USO PERINATAL DE DIETA HIPERLIPÍDICA E INIBIÇÃO NEONATAL DA
RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA: INVESTIGAÇÕES
HISTOMORFOLÓGICAS E DO COMPORTAMENTO SEMELHANTE À
ANSIEDADE EM PROLE DE RATOS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Bases experimentais e clínicas da Plasticidade Fenotípica

Orientadora: Prof^a Dr^a Lígia Cristina Monteiro Galindo

Coorientadora: Prof^a Dr^a Raquel da Silva Aragão

Vitória de Santo Antão – PE

2020

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4/2018

S586u Silva, Luana Olegário da.
Uso perinatal de dieta hiperlipídica e inibição neonatal da recaptação de serotonina: investigações histomorfológicas e do comportamento semelhante à ansiedade em prole de ratos / Luana Olegário da Silva. - Vitória de Santo Antão, 2020.
103 p.; il.: color.

Orientadora: Lígia Cristina Monteiro Galindo.
Coorientadora: Raquel da Silva Aragão
Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2020.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Dieta hiperlipídica. 2. Tecido adiposo branco. 3. Inibidores de Captação de Serotonina. I. Galindo, Lígia Cristina Monteiro (Orientadora). II. Aragão, Raquel da Silva (Coorientadora). III. Título.

613.26 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-093/2020

LUANA OLEGÁRIO DA SILVA

**USO PERINATAL DE DIETA HIPERLIPÍDICA E INIBIÇÃO NEONATAL DA
RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA: INVESTIGAÇÕES
HISTOMORFOLÓGICAS E DO COMPORTAMENTO SEMELHANTE À
ANSIEDADE EM PROLE DE RATOS**

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

Aprovado em: 18/02/2020

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dra. Lígia Cristina Monteiro Galindo (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Eduardo Carvalho Lira (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dra. Isabeli Lins Pinheiro (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dra. Viviane de Oliveira Nogueira (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus que tudo sabe e que tudo planeja. A Ele que me guiou em cada passo dado e em cada decisão tomada. Por ter me dado força e fé para na caminhada até essa conquista.

Aos meus pais José Olegário e Cicera Maria, a quem eu agradeço por todo amor e pela excelente educação que me deram. A minhas irmãs, Aline e Camila Olegário, pela força e torcida. Vocês são meu porto seguro e é por vocês que eu luto todos os dias.

Aos meus primos Andresa, Vanessa, Wagner e Aline por terem me acolhido como uma irmã por mais esse período. A minha tia Jucilene que cuidou de mim como a uma filha, me acolhendo, me ouvindo, me aconselhando e sempre me dizendo que iria conseguir alcançar meus objetivos.

Ao meu noivo Héber Tiago, por entender minhas ausências e minha dedicação em grande parte do tempo a este trabalho. Por me amar e me falar todos os dias o quanto sou capaz de realizar meus sonhos.

Aos meus companheiros de jornada no mestrado, Carla, Gabriela, Tafnes, Isael, Taís, Ravi e Ramon. Obrigada por terem tornado esse processo mais prazeroso e harmonioso.

A Professora Lígia Galindo pelo olhar humano e compreensivo, pelos ensinamentos, exemplos e conselhos que sempre iam além do âmbito profissional. Agradeço por todas as vezes em que a senhora reconheceu cada tarefa realizada com esforço. Esse reconhecimento me fez ter cada vez mais vontade de cumprir meus objetivos.

A Professora Raquel Aragão pelo auxílio em diversos momentos e por ser presente no decorrer desse processo.

As minhas queridas estagiárias Talita e Larissa, pelo auxílio na realização desse trabalho com empenho e dedicação. Pelas horas em experimentos, pelos fins de semana de trabalho.

Aos meus amigos Letícia, Alessandra, Lucas, Macelle, Yan, Carol Ramos, Wenícios, Renata, Carol Cadete, Erika, Thaynan, Jacqueline, Henrique Tavares, Henrique, Bárbara e Sabrina, por estarem ao meu lado, me acalmando e torcendo pelo meu sucesso.

Ao Professor Valdemiro Amaro Júnior, coordenador do Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, bem como seu técnico Alluanan, pelo auxílio essencial nos experimentos.

Ao Professor Eduardo Lira, coordenador do Laboratório de Neuroendocrinologia e Metabolismo da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, pela disponibilidade na realização de análises indispensáveis a este trabalho.

Aos órgãos de fomento CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil), pelo apoio na realização dessa pesquisa.

RESUMO

O consumo perinatal de dieta hiperlipídica/hipercalórica (DHH) tem sido associado a alterações na disponibilidade sináptica de serotonina (5-HT) e/ou expressão de seus receptores. O sistema serotoninérgico possui gênese precoce, sendo responsável pelas modulações da homeostase energética e dos comportamentos emocionais. Em contrapartida, o aumento da disponibilidade sináptica de 5-HT através do uso de inibidores seletivos da recaptação, pode alterar a expressão fenotípica de características morfofisiológicas e comportamentais. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar se o uso neonatal de fluoxetina atenua os efeitos deletérios da administração perinatal de DHH sobre o comportamento semelhante à ansiedade e caracterização adipocitária em prole de ratos. Ratas Wistar receberam dieta controle ou DHH durante a gestação e lactação. Ao nascimento, quatro subgrupos experimentais foram formados randomicamente: dieta controle + salina (C-S), dieta controle + fluoxetina (C-F), DHH + salina (DHH-S) e DHH+ fluoxetina (DHH-F). A intervenção farmacológica ocorreu do 1 ao 21º dia pós-natal (DPN), por via subcutânea e as análises relacionadas à composição corporal, comportamento semelhante à ansiedade, bem como a caracterização do perfil lipídico e histomorfometria do tecido adiposo branco (TAB) ocorreram aos 30 e 60 dias de vida. Os resultados demonstraram que mesmo com ausência de diferenças no peso corporal das nutrízes ($p=0.44$), o consumo perinatal de DHH promoveu hiperglicemia ($p=0.04$), hipertrigliceridemia ($p=0.04$), diminuição dos níveis séricos de HDL ($p=0.0001$) e maior acúmulo de tecido adiposo branco (TAB) abdominal total ($p=0.01$). O efeito do maior aporte calórico na fase perinatal foi observado na prole no grupo DHH-S, que apresentou maior peso corporal na lactação ($p=0.01$), bem como maior acúmulo de TAB abdominal total ($p=0.01$). Em relação ao uso neonatal de fluoxetina, especificamente no grupo DHH-F, houve menor peso corporal neonatal ($p=0.01$), aos 30 ($p=0.01$) e 60 dias ($p=0.01$) de vida, além de menores pesos absoluto ($p=0.03$) e relativo ($p=0.001$) de TAB retroperitoneal ($p=0.01$), menor peso absoluto de TAB mesentérico ($p=0.04$), além de diminuição dos pesos absoluto ($p=0.002$) e relativo de TAB abdominal total ($p=0.001$) na prole jovem. Foi observado ainda nos animais aos 30 dias de vida, níveis séricos menores de triglicerídeos ($p=0.002$) e maior hiperatividade no campo aberto, a partir da maior distância percorrida ($p=0.005$) e menor tempo imóvel ($p=0.01$). Aos 60 dias de vida, foi observado no mesmo grupo menores pesos absolutos de TAB retroperitoneal ($p=0.01$) e perirenal ($p=0.01$), aumento dos níveis séricos de HDL ($p=0.008$) e diminuição da hiperatividade a partir da

redução da distância percorrida ($p=0.02$). Em conclusão, o uso neonatal de fluoxetina atenuou os efeitos deletérios do consumo perinatal de dieta hiperlipídica/hipercalórica, promovendo redução no peso corporal e no acúmulo de TAB, bem como a melhora do perfil lipídico, além da modulação da hiperatividade.

Palavras-chave: Dieta hiperlipídica. Inibidor seletivo de recaptação de serotonina. Tecido adiposo branco. Comportamento emocional.

ABSTRACT

Perinatal consumption of a high-fat/high-calorie diet (HHD) has been associated with changes in the synaptic availability of serotonin (5-HT) and /or expression of its receptors. The serotonergic system has early genesis, being responsible for energy homeostasis modulation and emotional behaviors. In contrast, the higher synaptic availability of 5-HT caused by selective serotonin reuptake inhibition, may alter the phenotypic expression of morphophysiological and behavioral characteristics. Thus, the aim of the present study was to investigate whether the neonatal use of fluoxetine attenuates the deleterious effects of perinatal HFD administration on anxiety-like behavior and adipocyte characterization in the offspring of rats. Wistar rats received a Control Diet or HHD during pregnancy and lactation. At birth, four experimental subgroups were randomly created: Control Diet + Saline (C-S), Control Diet + Fluoxetine (C-F), HHD + Saline (HHD-S) and HHD + Fluoxetine (HHD-F). The pharmacological intervention took place from 1st through 21st postnatal day (PND). When the offspring had 30 and 60 days of life were performed analyzes related to body composition, anxiety-like behavior, lipid profile characterization and white adipose tissue (WAT) histomorphometry. The results showed that even there were no differences in the body weight of the breastfeeding dams that received control or HHD ($p=0.44$), perinatal consumption of HHD promoted hyperglycemia ($p=0.04$), hypertriglyceridemia ($p=0.04$), decreased serum HDL levels ($p=0.0001$) and greater accumulation of total abdominal white adipose tissue (WAT) ($p=0.01$) in this group. Regarding to offspring, the effect of the perinatal high fat and caloric intake of the HHD-S group was a higher body weight during lactation ($p=0.01$) as well as a greater accumulation of total abdominal WAT($p=0.01$). Concerning to selective serotonin reuptake inhibition (SSRI) by fluoxetine, specifically the HHD- F group, had lower neonatal body weight ($p=0.01$), at 30 ($p=0.01$) and 60 days ($p=0.01$) of life; lower absolute ($p=0.03$) and relative ($p=0.001$) weights of retroperitoneal WAT ($p=0.01$); lower absolute weight of mesenteric WAT ($p=0.04$) and decreased absolute ($p=0.002$) and relative weights of total abdominal WAT ($p=0.001$) among the young offspring. The offspring with 30 days of life also presented lower serum levels of triglycerides ($p=0.002$) and greater hyperactivity in the open field, with greater distance covered ($p=0.005$) and less time of immobility ($p=0.01$). In addition, the offspring of HHD-F group with 60 days of life showed lower absolute weights of retroperitoneal ($p=0.01$) and perirenal ($p=0.01$) WAT; increased serum HDL levels ($p=0.008$) and decreased hyperactivity due to reduced distance covered ($p=0.02$) in the open

field test. In conclusion, the SSRI by fluoxetine attenuated the deleterious effects of perinatal consumption of a hyperlipidic / hypercaloric diet, promoting a reduction in body weight and in the content of WAT, as well as an improvement in the serum lipid profile and addition to modulating of hyperactivity.

Keywords: High-fat diet. Selective serotonin reuptake inhibitor. White adipose tissue. Emotional behavior.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema geral da ação dos Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (ISRS)	28
Figura 2 - Desenho experimental do estudo	35
Figura 3 - Campo Aberto	36
Figura 4 - Peso corporal das nutrizes após lactação	39
Figura 5 - Glicemia em jejum, Colesterol total, HDL e Triglicerídeos das nutrizes após lactação	40
Figura 6 - Peso Corporal na Lactação, aos 30 e 60 dias da prole	43
Figura 7 - Consumo alimentar diário (CAD) aos 30 e 60 dias da prole	49
Figura 8 - Histologia do Tecido Adiposo Branco retroperitoneal na prole aos 30 dias	52
Figura 9 - Histologia do Tecido Adiposo Branco retroperitoneal na prole aos 60 dias	53
Figura 10 - Avaliação do Comportamento semelhante à ansiedade no Campo Aberto na prole aos 30 dias	55
Figura 11 - Avaliação do Comportamento semelhante à ansiedade no Campo Aberto na prole aos 60 dias	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação da Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica	34
Tabela 2 - Distribuição calórica e de macronutrientes das dietas experimentais	34
Tabela 3 - Peso em gramas e peso relativo de tecidos e órgãos de ratas dos grupos controle e DHH	41
Tabela 4 - Pesos absoluto e relativo dos órgãos e tecidos da prole aos 30 dias	46
Tabela 5 - Pesos absoluto e relativo dos órgãos e tecidos da prole aos 60 dias	48
Tabela 6 - Lipídeos séricos da prole aos 30 dias	50
Tabela 7 - Lipídeos séricos da prole aos 60 dias	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	5-Hidroxitriptamina
5-HTT ou SERT	Proteína da Membrana Plasmática do Transporte de serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptofano
5-HIAA	5-hidroxi-indolacético
5-HT_{1A}	Receptor 1A da 5-HT
5-HT_{1B}	Receptor 1B da 5-HT
5-HT_{2A}	Receptor 2A da 5-HT
5-HT_{2B}	Receptor 2B da 5-HT
5-HT_{2C}	Receptor 2C da 5-HT
AgRP	Proteína Relacionada ao Agouti
CAD	Consumo Alimentar Diário
CART	Transcrito Regulado pela Cocaína e Anfetamina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DCNT	Doenças Crônicas não-transmissíveis
DHH	Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica
DPN	Dia pós-natal
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IMC	Índice de Massa Corporal
ICV	Intracerebroventricular
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
MAO-A	Monoamino Oxidase A
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PCPA	Para-clorofenilalanina
TAB	Tecido Adiposo Branco
THP1	Triptofano Hidroxilase 1
THP2	Triptofano Hidroxilase 2
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
ZIMC	Índice de Massa Corporal para Idade

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	15
1.1 Plasticidade fenotípica e consumo de dieta hiperlipídica.....	16
1.2 Serotonina: neurodesenvolvimento, regulação do gasto energético e comportamentos emocionais	21
<i>1.2.1 Serotonina e neurodesenvolvimento.....</i>	<i>21</i>
<i>1.2.2 Síntese e funções da serotonina central e periférica.....</i>	<i>22</i>
<i>1.2.3 Serotonina, dieta hiperlipídica e comportamentos emocionais</i>	<i>24</i>
1.3 Inibição neonatal da recaptação de serotonina	26
2 PERGUNTA CONDUTORA	30
3 HIPÓTESE.....	31
4 OBJETIVOS	32
4.1 Geral.....	32
4.2 Específicos.....	32
5 MÉTODOS.....	33
5.1 Animais e grupos experimentais.....	33
5.2 Experimentos.....	35
<i>5.2.1 Peso corporal, análise da glicemia em jejum, peso dos órgãos e análise dos lipídeos séricos das nutrizes após lactação</i>	<i>35</i>
<i>5.2.2 Peso corporal e consumo alimentar diário da prole</i>	<i>35</i>
<i>5.2.3 Avaliação de Comportamento semelhante à ansiedade.....</i>	<i>36</i>
<i>5.2.4 Quantificação do peso do tecido adiposo branco e de órgãos</i>	<i>37</i>
<i>5.2.5 Processamento histológico e Histomorfometria do Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal</i>	<i>37</i>
5.3 Análise Estatística	38
6 RESULTADOS	39
6.1 Peso corporal de nutrizes após lactação	39
6.2 Glicemia em jejum e quantificação dos lipídeos séricos das nutrizes após lactação	39
6.3 Peso de tecidos e órgãos das nutrizes após lactação	41
6.4 Peso Corporal da prole durante a lactação, aos 30 e aos 60 dias	42
6.5 Pesos absoluto e relativo do tecido adiposo branco e de órgãos da prole aos 30 dias.....	44

6.6 Pesos absoluto e relativo do tecido adiposo branco e de órgãos da prole aos 60 dias.....	47
6.7 Consumo Alimentar Diário (CAD) aos 30 e 60 dias de vida.....	49
6.8 Lipídeos séricos da prole aos 30 dias.....	50
6.9 Lipídeos séricos da prole aos 60 dias.....	51
6.10 Histologia do Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal da prole aos 30 dias de vida	52
6.11 Histologia do Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal da prole aos 60 dias	53
6.12 Avaliação de Comportamento semelhante à ansiedade aos 30 dias.....	54
6.13 Avaliação de Comportamento semelhante à ansiedade aos 60 dias.....	56
7 DISCUSSÃO	58
8 CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS	66
ANEXO A - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA EM USO DE ANIMAIS – CEUA	77
APÊNDICE A – ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA	78

1 APRESENTAÇÃO

O desenvolvimento do sistema nervoso é um período sensível a insultos ambientais (RICE; BARONE, 2000). O ambiente nutricional perinatal é crucial para o desenvolvimento adequado dos organismos e alterações neste ambiente podem resultar em efeitos tardios sobre metabolismo, peso corporal, regulação do balanço energético e saúde mental (estados de ansiedade e depressão) bem como estar relacionadas ao desenvolvimento de obesidade nos descendentes (DESAI; HALES, 1997; LAWLOR et al., 2007; SULLIVAN; SMITH; GROVE, 2011). Tais efeitos, são vistos como respostas adaptativas e podem ser compreendidas no contexto da plasticidade fenotípica, onde um único genótipo pode expressar diferentes fenótipos a depender de diferentes ambientes aos quais os organismos são submetidos (COSTA-SILVA; SIMÕES-ALVES; FERNANDES, 2016; GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007; WEST-EBERHARD, 2005).

A nutrição perinatal, especificamente a exposição à dieta hiperlipídica, é capaz de influenciar vias centrais de neurotransmissores como o sistema serotoninérgico (SULLIVAN et al., 2012). Este sistema se origina precocemente durante o desenvolvimento embrionário sendo responsável pela regulação de tecidos neurais e não neurais (SULLIVAN; SMITH; GROVE, 2011; WHITAKER-AZMITIA, 2001; WHITAKER-AZMITIA; AZMITIA, 1986). A serotonina (5-Hidroxitriptamina, 5-HT) atua no controle da homeostase energética agindo sobre os receptores 5-HT_{1B}, que inibem os neurônios que expressam neuropeptídeo Y (NPY) e proteína relacionada ao gene agouti (AgRP), os quais são orexigênicos (WYLER et al., 2017). Simultaneamente, a 5-HT liga-se aos receptores 5-HT_{2C} promovendo a expressão dos peptídeos anorexígenos Proopiomelanocortina (POMC) e transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART) (VOIGT; FINK, 2015; WYLER et al., 2017). Dessa forma, por um duplo mecanismo, a 5-HT sinaliza para redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (HEISLER et al., 2006; VOIGT; FINK, 2015).

Em relação aos estados emocionais, os neurônios serotoninérgicos que se projetam através do núcleo dorsal da rafe são considerados os mais relevantes na modulação do comportamento emocional (REN et al., 2018; TEISSIER et al., 2015). Adicionalmente, o consumo de dieta hiperlipídica durante a gestação e/ou lactação tem sido associado ao aumento do comportamento semelhante à ansiedade na prole de roedores e primatas não-humanos, sendo esses sintomas associados a alterações na disponibilidade serotoninérgica, bem como na expressão de seus receptores, além de aumento no peso corporal e hiperglicemia (BILBO; TSANG, 2010; THOMPSON et al., 2017; ZEMDEGS et al., 2016). Dessa forma, a

exposição precoce a este tipo de aporte nutricional poderia favorecer o surgimento de alterações metabólicas e comportamentais tardias (KIYOHARA; YOSHIMASU, 2009; SULLIVAN et al., 2012).

Nesse contexto, os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), fármacos amplamente utilizados para o tratamento de ansiedade e depressão (ORNOY; KOREN, 2018), tem como alvo a proteína transportadora de 5-HT e promovem aumento da disponibilidade sináptica desta monoamina (BRUMMELTE et al., 2017; LEVY et al., 2019). Sua utilização em períodos críticos do desenvolvimento tem promovido na prole maior controle do consumo alimentar, associado ao menor ganho de peso corporal, melhora do perfil adipocitário e do comportamento semelhante à ansiedade (DA SILVA et al., 2014; GALINDO et al., 2015; PINHEIRO et al., 2017a). Desse modo, a inibição seletiva da recaptação da serotonina pode atuar como indutora de ‘plasticidade’, reativando a capacidade da 5-HT de mediar a plasticidade do desenvolvimento, ao invés de ser tida como ‘fator de risco’ (BRUMMELTE et al., 2017; KRAUS et al., 2017).

Considerando os efeitos negativos em termos metabólicos, comportamentais e na disponibilidade sináptica de 5-HT advindos do consumo elevado de dieta hiperlipídica (LIANG et al., 2016; SULLIVAN et al., 2010; THOMPSON et al., 2017), bem como a modulação dessa disponibilidade pelo uso de ISRS em períodos críticos como fator atenuante das alterações citadas (SILVA et al., 2014, 2019; GALINDO et al., 2015), a presente dissertação visa investigar se o uso neonatal de fluoxetina, um difundido ISRS pode atenuar os efeitos deletérios da administração perinatal da dieta hiperlipídica sobre o comportamento semelhante à ansiedade e a histomorfometria dos adipócitos em prole de ratos.

1.1 Plasticidade fenotípica e consumo de dieta hiperlipídica

As circunstâncias atuais envolvendo os hábitos alimentares e consequências negativas na saúde da população se iniciaram com uma mudança notável nos comportamentos alimentares, descrita desde a segunda metade do século XX (CLARO et al., 2015; POPKIN, 2015). As modificações no consumo alimentar envolvem a transição de padrões alimentares saudáveis para prejudiciais e mórbidos, podendo resultar em obesidade (FERRETTI; MARIANI, 2017).

Tal cenário pode ser verificado em países desenvolvidos e naqueles em desenvolvimento, incluindo o Brasil (CLARO et al., 2015). A obesidade representa o problema nutricional de maior ascensão na população mundial observado nos últimos anos (CEMBRANEL et al., 2017), sendo definida como acúmulo excessivo de gordura, que pode representar um risco para a saúde (FISBERG et al., 2016; SCHNEIDER et al., 2017). Adicionalmente, as instituições de saúde como a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) utilizam diferentes pontos de corte para classificação de obesidade em diversas faixas etárias. Em relação às crianças e adolescentes, consideram-se obesos os que apresentam escore Z do índice de massa corporal para idade (ZIMC) $>+3$ e $>+2$, respectivamente (OMS, 2007a, 2007b). Quanto aos adultos, o ponto de corte é de $\geq 30\text{kg/m}^2$ a partir do IMC (OMS, 1995), bem como para os idosos (OPAS, 2001).

A emergência dessa condição que quase triplicou mundialmente desde 1975, atingindo mais de 650 milhões de pessoas de todas as faixas etárias em 2016 (OMS, 2018), acompanhou o declínio da desnutrição comum em crianças e adultos nas décadas iniciais do século passado (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003; TUDISCO et al., 1985). Mesmo presente em indivíduos de todos os ciclos da vida independentemente de sexo, raça ou classe social (CEMBRANEL et al., 2017), a obesidade representa o fator de risco mais importante na infância e adolescência devido ao tratamento complexo, alta probabilidade de persistência na vida adulta, bem como associação com doenças metabólicas de início precoce (FISBERG et al., 2016). Estima-se que existam cerca de 124 milhões de crianças e adolescentes obesos no mundo (NCD RISK FACTOR COLLABORATION, 2017).

A obesidade é ainda um problema de saúde pública complexo pois engloba etiologia multifatorial, envolvendo fatores genéticos, ambientais e comportamentais (FERRETTI; MARIANI, 2017). Dentre esses fatores, o balanço energético positivo é considerado um determinante diretamente associado ao acúmulo de gordura e, consequentemente, ao maior ganho de peso (SCHNEIDER et al., 2017; SILVA et al., 2019). Estas modificações na composição corporal apresentam estreita relação com a transição nutricional que considera aspectos como a urbanização, desenvolvimento das tecnologias bem como produção e distribuição alimentar, resultando em uma sociedade sedentária e com acesso a uma maior variedade de alimentos, que nem sempre está associada à escolhas mais saudáveis (CLERGET-FROIDEVAUX; SACHS, 2017; POPKIN, 2015). Diante disso, é evidente a diminuição do consumo de leguminosas, vegetais e grãos em todas as regiões e países. Tais alimentos tem sido substituídos pelo produtos ultraprocessados que são pobres em minerais e

vitaminas, ao mesmo tempo que são ricos em açúcares, sódio, carboidratos refinados e gordura (LI et al., 2017; POPKIN; ADAIR; NG, 2012; SILVA et al., 2019).

Tem sido observado ao longo do tempo o aumento do consumo calórico total advindo de carboidratos e gorduras saturadas (CEMBRANEL et al., 2017). Este último macronutriente é responsável pelas propriedades sensoriais de muitos alimentos, contribuindo para o prazer alimentar, de modo que seu consumo corresponde a cerca de 35% da ingestão calórica diária na dieta ocidental (DÍAZ-URBINA et al., 2018; DREWNOWSKI, 1997). No Brasil, foi observado um aumento na participação de alimentos fonte de carboidratos e gordura na ingestão de indivíduos de diversas faixas etárias. Crianças menores de 5 anos residentes em Pernambuco demonstraram a preferência pelo consumo de alimentos ricos em açúcar e gordura, além de reduzido consumo de frutas e verduras (DE FARIAS; OSÓRIO, 2005). De forma semelhante, crianças menores de 4 anos moradoras da Bahia que apresentaram um alto consumo de embutidos, fast-food e molhos, sendo esse padrão alimentar associado à obesidade nos indivíduos estudados (GOMES et al., 2017).

Um estudo realizado no Rio de Janeiro incluindo adolescentes com idade entre 12-18 anos, observou consumo elevado de alimentos de alta densidade energética, como pizza e refrigerantes (ANDRADE; PEREIRA; SICHIERI, 2003), bem como observado em adolescentes de 14-19 anos em Cuiabá (RODRIGUES et al., 2016). O elevado consumo de doces e refrigerantes foi observado em adultos e idosos brasileiros, com idade ≥ 18 anos e ≥ 60 anos, respectivamente (CLARO et al., 2015). Quanto aos períodos específicos, como a gestação, um estudo observou a preferência pelo consumo de salgados, pastéis e pizzas, por um grupo de gestantes adolescentes e adultas residentes no Rio de Janeiro (BAIÃO; DESLANDES, 2010). Da mesma forma, gestantes residentes em São Paulo com idade entre 18-24 anos informaram a troca da refeição principal por lanches ricos em gordura e sódio duas vezes por semana (GOMES et al., 2015). Desse modo, a preferência por alimentos altamente calóricos parece ser uma característica humana universal (DREWNOWSKI, 1997).

Adicionalmente, a escolha por alimentos calóricos pode ser um padrão primário para o desenvolvimento de síndromes relacionadas à obesidade (DREWNOWSKI; KURTH; HOLDEN-WILTSE, 1992; LUDWIG et al., 2018), como as doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT's), a saber, patologias cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo 2, dislipidemias, distúrbios osteomusculares e alguns tipos de câncer (POPKIN, 2015; FERRETTI; MARIANI, 2017), bem como transtornos do humor como depressão e ansiedade

(LI et al., 2017). Esse conjunto de doenças leva ao óbito cerca de 41 milhões de pessoas por ano (OMS, 2018), podendo diversas manipulações no início da vida, incluindo a dietética, promover impactos negativos sobre os desfechos materno-fetais, como o aumento da susceptibilidade a muitas dessas DCNT's (CLERGET-FROIDEVAUX; SACHS, 2017; FISBERG et al., 2016).

Nesse contexto, a programação fetal é caracterizada por respostas adaptativas do feto à condições ambientais durante as etapas iniciais da vida (VELASCO et al., 2017). O ambiente nutricional perinatal é crucial para o desenvolvimento adequado da prole e alterações neste ambiente podem resultar em efeitos tardios sobre metabolismo, peso corporal, regulação do balanço energético e na saúde mental gerando estados como a ansiedade e depressão (DESAI; HALES, 1997; SULLIVAN; SMITH; GROVE, 2011). Adicionalmente, alterações nutricionais no ambiente perinatal podem estar relacionadas ao aumento do risco dos descendentes em desenvolver obesidade (LAWLOR et al., 2007).

Sendo assim, observa-se que os hábitos alimentares e condições nutricionais nas fases cruciais da vida, podem ter um papel fundamental nas respostas adaptativas do organismo (COSTA-SILVA; SIMÕES-ALVES; FERNANDES, 2016; VELASCO et al., 2017). Tais respostas podem ser entendidas no contexto da plasticidade fenotípica, reconhecida como a capacidade dos organismos de expressar diferentes fenótipos a partir de um único genótipo, a depender dos estímulos ambientais aos quais são submetidos (SCHMID; GUILLAUME, 2017; WEST-EBERHARD, 2005). Essa capacidade de expressar fenótipos diversos geralmente ocorre como uma estratégia evoluída usada por muitas espécies para potencializar sua adequação em uma variedade de ambientes (GLUCKMAN; HANSON; LOW, 2011), ocasionando mudanças na morfologia e/ou fisiologia do organismo sem que haja mudanças genéticas (COSTA-SILVA; SIMÕES-ALVES; FERNANDES, 2016; WEST-EBERHARD, 2005).

Fatores ambientais que atuam durante os períodos críticos podem modular ou interromper etapas cruciais do desenvolvimento (GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007). A dependência de processos críticos de desenvolvimento temporais e regionais pode fazer com que os sinais de plasticidade operem preferencialmente durante os períodos iniciais da vida, podendo afetar um único órgão ou todo um sistema (GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007; RICE; BARONE, 2000). Entre os fatores mais documentados, encontra-se a alteração no aporte calórico no período perinatal, como possível causa de alterações metabólicas maternas, que promovem adaptações no crescimento e desenvolvimento dos

descendentes (LEVIN; DUNN-MEYNELL, 2002; STEARNS; JONG; NEWMAN, 1991; WEST-EBERHARD, 1986, 2005).

Em estudos experimentais, especificamente em roedores, a prole de nutrízes alimentadas com DHH durante a gestação e lactação apresentou menor peso ao nascer e maior peso corporal durante o desenvolvimento pós-natal, bem como aumento do consumo alimentar e da massa de tecidos adiposo retroperitoneal e epididimal (MELO et al., 2014). Animais de 21 dias de vida demonstraram aumento na adiposidade corporal, caracterizada pela hipertrofia dos adipócitos, bem como prejuízo no desenvolvimento do músculo esquelético e alterações metabólicas associadas à resistência à insulina (BAYOL; SIMBI; STICKLAND, 2005). Animais adultos também demonstraram maiores consumo alimentar, peso corporal, hipercolesterolemia e glicemia elevada (VELASCO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2011).

Ao desmame, a prole de camundongos alimentados com DHH na lactação adquiriu maiores peso corporal e massa absoluta e relativa de tecido adiposo branco (TAB) epididimal e inguinal em comparação ao grupo controle (LIANG et al., 2016). As diferenças mantiveram-se na idade adulta, o que foi associado à resistência à insulina (LIANG et al., 2016). Esses desfechos sugerem que o risco de desenvolvimento de doenças e distúrbios metabólicos tardios dependem das condições iniciais de vida (GLUCKMAN; HANSON; LOW, 2011). Os mecanismos envolvidos exibem a inflamação crônica na prole mediada possivelmente pelos aumentos dos ácidos graxos livres circulantes e dos níveis sistêmicos de citocinas inflamatórias (IL-6, IL-1 β), bem como da leptina, insulina, glicose e triglicerídeos séricos maternos, além de alterações no sistema serotoninérgico, seguido da passagem de citocinas pela placenta para compartimentos fetais, resultando em um desenvolvimento neuroendócrino alterado na prole (BOLTON; BILBO, 2014; SULLIVAN et al., 2015). Dessa forma, o desequilíbrio metabólico causado pela inflamação em etapas precoces da vida, pode alterar permanentemente a trajetória do desenvolvimento cerebral e metabólico do feto (BOLTON; BILBO, 2014).

Nesse sentido, observa-se o elevado consumo populacional de alimentos ricos em gordura, bem como a influência negativa do consumo perinatal de dieta hiperlipídica no desenvolvimento de alterações em termos de metabolismo e da composição corporal nos descendentes (LIANG et al., 2016; MELO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2011).

1.2 Serotonina: neurodesenvolvimento, regulação do gasto energético e comportamentos emocionais

1.2.1 Serotonina e neurodesenvolvimento

O sistema serotoninérgico é um dos primeiros sistemas monoaminérgicos a surgir durante o desenvolvimento (MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017) e seus neurônios são alguns dos primeiros a se diferenciarem (AZMITIA, 2001). Os corpos neuronais deste sistema aglomeram-se formando núcleos na rafe, região mediana do tronco cerebral. Os neurônios localizados em núcleos caudais da rafe se projetam para a medula espinhal, enquanto os neurônios localizados rostralmente se projetam para o prosencéfalo (GASPAR; CASES; MAROTEAUX, 2003; HORNUNG, 2003).

Tal sistema possui gênese precoce, em torno do 10-13º dia de gestação em roedores (HENDRICKS et al., 2003) e a sua maturação ocorre até o 21º dia pós-natal (DPN), (BARROS et al., 2018; GASPAR; CASES; MAROTEAUX, 2003). Esse período faz parte da janela para a maturação do sistema nervoso que se estende até o 40º DPN (SILVA et al., 2015). No encéfalo humano, os neurônios serotoninérgicos são evidentes a partir da 5ª semana gestacional, evoluindo rapidamente até a 10ª semana de gestação (BRUMMELTE et al., 2017; SUNDSTRÖM et al., 1993; WHITAKER-AZMITIA, 2001). Os níveis encefálicos de 5-HT são transitórios, aumentando desde a gestação até os dois primeiros anos de vida em humanos, seguidos pelo estabelecimento dos níveis por volta dos 4-5 anos de vida, concomitantemente ao fim do período crítico inicial nesses indivíduos (HEDNER et al., 1986; KEPSEK; HOMBERG, 2015).

As projeções serotoninérgicas, as quais são amplamente distribuídas, são capazes de modular a atividade dos neurônios em todas as regiões cerebrais, incluindo diferentes sistemas funcionais (motores, somatossensitivos, límbico) (DAUBERT; CONDRON, 2010; HORNUNG, 2003). Logo após o surgimento dos neurônios serotoninérgicos, a 5-HT passa a atuar na autorregulação dos seus próprios neurônios e na maioria dos circuitos neuronais encefálicos (BORUE, CHEN, 2007), sendo essencial para alguns processos como proliferação, migração, diferenciação e sinaptogênese neuronais (BONNIN; LEVITT, 2011; MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017; WHITAKER-AZMITIA et al., 1996). A capacidade de regulação do desenvolvimento de suas células alvo é mediada pela ativação direta dos cerca de 14 subtipos específicos de receptores, os quais diferem em seus padrões de expressão no cérebro de mamíferos (CARHART-HARRIS; NUTT, 2017; HOMBERG, 2012;

WHITAKER-AZMITIA et al., 1996). Sendo assim, a concentração de 5-HT disponível para ativação de receptores é provavelmente um parâmetro importante para o desenvolvimento normal do cérebro (BONNIN; LEVITT, 2011).

A fonte de 5-HT no embrião muda ao longo do tempo, de uma fonte exógena (placentária) para uma fonte endógena (neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe) (BONNIN; LEVITT, 2011). Nesse local, a 5-HT é sintetizada e liberada, podendo armazenar cerca de um terço de todos os neurônios serotoninérgicos (HORNUNG, 2003; PAWLUSKI; LI; LONSTEIN, 2019). Essa mudança durante o desenvolvimento permite que o cérebro embrionário se torne progressivamente dependente de sua própria produção de 5-HT (BONNIN; LEVITT, 2011). Nesse sentido, a importância da 5-HT na modulação da neurogênese, especialmente no início da vida (KRAUS et al., 2017), sugere que uma disfunção na disponibilidade e na transmissão serotoninérgica nesse período poderia modificar a plasticidade do organismo, levando a alterações morfológicas, fisiológicas e funcionais duradouras (DAUBERT; CONDRON, 2010).

1.2.2 Síntese e funções da serotonina central e periférica

Periféricamente, a 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano (AZMITIA, 2001). Essa síntese é limitada pela enzima triptofano hidroxilase 1 (TPH1) que converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP), sendo transformado em 5-HT (PAWLUSKI; LI; LONSTEIN, 2019), e subsequentemente metabolizado pela monoamina oxidase A (MAO-A) para o ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) (MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017). Essa monoamina modula funções centrais e periféricas (OH et al., 2015). Sua atuação pode ocorrer localmente em circuitos neurais e parácrinos, apresentando uma função variável a depender do tecido em questão (OH et al., 2015). No sistema nervoso central onde se encontra cerca de 2% da 5-HT corporal, a síntese é limitada pela enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH2) e esse neurotransmissor afeta o processamento sensorial, o controle cognitivo, a atividade motora, os comportamentos emocionais e também modula o comportamento alimentar e gasto energético (CARHART-HARRIS; NUTT, 2017; LESCH; WAIDER, 2012; WATANABE et al., 2016).

Em relação ao comportamento alimentar, o consumo de alimentos pode ser considerado um comportamento regulado, cuja função é fornecer energia para os tecidos

corporais, caracterizando um processo crítico para a sobrevivência (PINHEIRO et al., 2017b). Esse comportamento caracteriza a maneira como as pessoas se alimentam, sendo influenciado por interação entre eventos psicológicos (percepção da fome, desejos, sensações hedônicas) e operações comportamentais (ingestão de refeições baseadas nas escolhas do grupo social e variações sazonais dos alimentos), além do ambiente nutricional nos períodos críticos de desenvolvimento, que podem modular o comportamento alimentar a longo prazo (OLIVEIRA; SOUZA; MANHÃES-DE-CASTRO, 2011; SPENCER, 2013). Adicionalmente, as escolhas alimentares, quando inadequadas, podem interferir na qualidade de vida favorecendo o desenvolvimento de DCNT's (SPENCER, 2013).

O hipotálamo é considerado o centro de detecção e resposta a sinais de fome e saciedade, pois recebe aferentes vagais do trato gastrointestinal, pâncreas, fígado e tecido adiposo, integrando posteriormente essa informação periférica com informações centrais (PINHEIRO et al., 2017b; SOUZA; CASTRO; NOGUEIRA, 2003). Seus núcleos arqueado, ventromedial, dorsomedial e paraventricular e a área lateral estão associados à regulação do balanço energético (LEVIN; DUNN-MEYNELL, 2002; PINHEIRO et al., 2017b). O período crítico de diferenciação e maturação dessa estrutura é pós-natal e durante esse período, o hipotálamo é vulnerável a influências ambientais que podem modificar tanto a sua estrutura quanto a sua função (SOUZA; CASTRO; NOGUEIRA, 2003).

No âmbito da regulação de consumo/gasto energético, a 5-HT age sobre os receptores 5-HT_{1B} hipotalâmicos inibindo a expressão de peptídeos orexigênicos, a saber, neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP) (HEISLER et al., 2006; WYLER et al., 2017). Destes, o NPY no núcleo arqueado do hipotálamo que se projeta para o núcleo paraventricular, é mais proeminentemente envolvido no balanço energético (LEVIN; DUNN-MEYNELL, 1997). Ao mesmo tempo, a 5-HT liga-se aos receptores hipotalâmicos 5-HT_{2C} promovendo a expressão do peptídeo anorexigênico (Proopiomelanortina - POMC), o que sinaliza para redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (HEISLER et al., 2006; VOIGT; FINK, 2015). Estudos sugerem que a 5-HT atua como um neurotransmissor anorexígeno e, a administração intracerebroventricular direta de para-clorofenilalanina (PCPA), um inibidor de TPH2, na dose de 3 mg diluído em 12ul/g de solução salina, induziu hiperfagia após 3 dias de aplicações em ratos, acompanhando o aumento de peso corporal nas primeiras duas semanas de tratamento (BREISCH; ZEMLAN; HOEBEL, 1976). De forma semelhante, a injeção intracerebroventricular de 5-HT em ratos, produziu redução da ingestão de carboidratos (LEIBOWITZ; WEISS; SUH, 1990). Já em camundongos, a baixa

disponibilidade de 5-HT hipotalâmica foi relacionada à hiperfagia e ganho de peso (NEARY; GOLDSTONE; BLOOM, 2004).

Contudo, frente a estreita relação entre 5-HT e o consumo/gasto energético, devem-se considerar os fatores ambientais, como a exposição à dieta hiperlipídica, como capaz de influenciar o sistema serotoninérgico (SULLIVAN; SMITH; GROVE, 2011). O consumo de tal dieta após 20 semanas promoveu a redução nos níveis plasmáticos de 5-HT, além do aumento de cerca de 40% na expressão do mRNA dos receptores 5-HT_{2C} hipotalâmicos em camundongos machos aos 224 dias de vida (HUANG; HAN; STORLIEN, 2004). A ativação desses receptores também estimulou o gasto energético através do fluxo simpático do hipotálamo para tecidos-chaves para o metabolismo como TAB, músculo esquelético, fígado e pâncreas (BRITO et al., 2007). Quanto ao TAB, centralmente, a 5-HT tem ação lipolítica e reduz a adiposidade (XU et al., 2008) e recentemente, foi demonstrado que existe um sistema funcional para síntese, recaptação e ativação dos receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C} bem como atividade da enzima TPH1 em adipócitos (STUNES et al., 2011).

Já na periferia, onde se localiza cerca de 98% da 5-HT corpórea, foi visto a atuação dessa monoamina na regulação do metabolismo de glicose e lipídios, desempenhando também um papel importante na obesidade (WATANABE et al., 2016). Em camundongos machos alimentados com dieta hiperlipídica, a injeção intraperitoneal de 5-HT administrada entre a 5-26ª semana, nas doses de 0,1mg, 0,5mg ou 1mg/Kg, inibiu o ganho de peso, hiperglicemia e resistência à insulina, impedindo ainda o aumento de adipócitos intra-abdominais (WATANABE et al., 2016). Como a 5-HT administrada periféricamente não cruza a barreira hemato-encefálica, estes achados indicam que as vias serotoninérgicas periféricas são importantes para o controle do peso corporal e da homeostase energética, acelerando o consumo de energia no músculo esquelético e atenuando a obesidade e outros distúrbios metabólicos (HARDEBO; OWMAN, 1980; WATANABE et al., 2016).

1.2.3 Serotonina, dieta hiperlipídica e comportamentos emocionais

Durante o neurodesenvolvimento, os núcleos mediano e dorsal da rafe que abrigam a grande maioria dos neurônios serotoninérgicos, são considerados os mais relevantes na modulação do comportamento emocional (TEISSIER et al., 2015). Destes núcleos, o dorsal contém 35% de 26.000 neurônios produtores de 5-HT e é a fonte predominante de inervação serotoninérgica do prosencéfalo (REN et al., 2018). Um estudo que promoveu a inibição aguda específica dos neurônios serotoninérgicos no núcleo dorsal da rafe, demonstrou um

aumento do comportamento semelhante à ansiedade em ratos machos (NISHITANI et al., 2018). Este resultado fornece evidências de que o núcleo em questão, contém subsistemas paralelos que diferem na conectividade de entrada e saída de propriedades fisiológicas de resposta e funções comportamentais (NISHITANI et al., 2018; REN et al., 2018).

Adicionalmente, as variações nos níveis de 5-HT contribuem para a programação do desenvolvimento na infância e doenças mentais com início na vida adulta (BONNIN; LEVITT, 2011), pela capacidade desse neurotransmissor de regular diversas funções como comportamentos, incluindo estados emocionais, como ansiedade e depressão (SULLIVAN et al., 2012). Nos seres humanos, a ansiedade representa um estado emocional interno e é uma consequência adaptativa natural do estresse que ajuda a lidar com o estressor (LESCH et al., 2003). Os transtornos de ansiedade são disfuncionais, crônicos, persistentes e podem piorar progressivamente se não forem tratados (LESCH et al., 2003). Em crianças, a idade média de aparecimento de transtornos de ansiedade pode variar de 6 a 14 anos, e esse início precoce pode aumentar a probabilidade de transtornos de ansiedade com sintomas mais graves em períodos posteriores, em comparação com o início durante a vida adulta (GANELLA; KIM, 2014). Já em roedores, o comportamento semelhante à ansiedade é definido como um alto nível de evitação do ambiente novo e desconhecido e aumento da reação de medo (LESCH et al., 2003).

Dados indicam que a obesidade e desordens metabólicas associadas ao consumo de dietas com alto teor de lipídeos durante a gestação e/ou lactação, tem sido associado ao aumento de ansiedade na prole de roedores (BILBO; TSANG, 2010; KANG et al., 2014; SASAKI; MCGOWANA; ERB, 2018; WINTHER et al., 2018) e primatas não-humanos (SULLIVAN et al., 2010; THOMPSON et al., 2017). A utilização dessa dieta ainda promoveu a redução da imunorreatividade serotoninérgica no córtex pré-frontal em primatas aos 330 dias de vida, predispondo fêmeas da prole ao desenvolvimento de comportamento semelhante à ansiedade (THOMPSON et al., 2017). Sendo assim, a exposição precoce a este tipo de aporte nutricional poderia favorecer o surgimento de alterações comportamentais tardias (KIYOHARA; YOSHIMASU, 2009; SULLIVAN et al., 2012).

Camundongos submetidos à dieta hiperlipídica também apresentaram aumentos no peso corporal, hiperglicemia e prejuízo na tolerância à glicose, sendo estas alterações metabólicas associadas a sintomas semelhantes à ansiedade/depressão (ZEMDEGS et al., 2016). Adicionalmente, tais fenótipos foram relacionados a menores níveis de 5-HT no hipocampo, o que pode ser resultado da maior sensibilidade ao receptor 5-HT_{1A} na rafe dorsal

(ZEMDEGS et al., 2016), estando esse receptor implicado na fisiopatologia da ansiedade e depressão (LESCH et al., 2003).

Diante dos achados, nota-se uma associação entre alterações metabólicas causadas pelo consumo de dieta hiperlipídica e desenvolvimento de distúrbios emocionais, causadas pelas mudanças na disponibilidade de 5-HT durante períodos críticos do desenvolvimento. Desta forma, especula-se que futuras gerações apresentarão aumento no risco de desenvolver desordens metabólicas associadas a problemas relacionados à saúde mental (SULLIVAN; SMITH; GROVE, 2011).

1.3 Inibição neonatal da recaptação de serotonina

Sabendo que a manipulação do ambiente no período perinatal, pode ser associado a mudanças permanentes na fisiologia e/ou estrutura de diferentes órgãos (GLUCKMAN; HANSON; BEEDLE, 2007), o estabelecimento da relação entre 5-HT e a neuroplasticidade tem levado ao aumento do interesse na manipulação do sistema serotoninérgico (KRAUS et al., 2017), buscando entender as consequências das variações na sinalização desta monoamina durante períodos críticos do desenvolvimento (BRUMMELTE et al., 2017; GARFIELD; HEISLER, 2009).

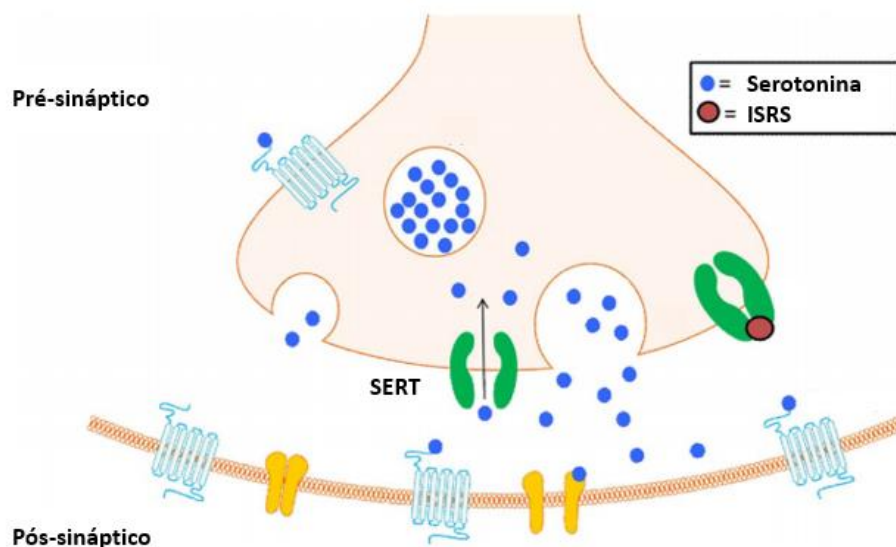
Modificações na sinalização de 5-HT podem ocorrer devido à nutrição, estresse, variações genéticas, epigenéticas ou exposição a drogas (BRUMMELTE et al., 2017; DAUBERT; CONDRON, 2010), como os Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (ISRS), que são utilizados no tratamento da depressão e ansiedade em humanos (BORUE, CHEN, 2007; MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017). Alguns ISRS comercialmente disponíveis incluem citalopram, escitalopram, fluvoxamina, paroxetina, sertralina e fluoxetina, sendo este último considerado o medicamento de referência para o tratamento de transtornos emocionais (SGHENDO; MIFSUD, 2012). Atualmente, esses fármacos são prescritos para indivíduos de diversos ciclos da vida, incluindo gestantes (BARROS et al., 2018). A prescrição dos ISRS para este público específico aumentou nos últimos 30 anos (LUGO-CANDELAS et al., 2018), acompanhando o aumento da prevalência de depressão e ansiedade durante a gravidez (ORNOY; KOREN, 2018). Ainda, é possível que o mesmo indivíduo manifeste os dois transtornos, como a ansiedade e a depressão simultaneamente, o que dissemina o uso dos ISRS (ORNOY; KOREN, 2018).

Por possuírem uma estrutura semelhante a 5-HT, os ISRS também têm como alvo a proteína transportadora de 5-HT (SERT ou 5-HTT) no neurônio pré-sináptico, reduzindo a recaptação de 5-HT e consequentemente, aumentando seus níveis na fenda sináptica (Figura 1) (BRUMMELTE et al., 2017; LEVY et al., 2019). A 5-HTT é codificada pelo gene *SLC6A4* (*Solute carrier family 6 neurotransmitter transporter serotonin member 4*) (MURPHY; LESCH, 2008). Sua expressão no cérebro se inicia concomitantemente ao surgimento de neurônios serotoninérgicos, na 5ª semana gestacional em humanos e entre o 10-13º dia embrionário em roedores, se estendendo também aos neurônios não serotoninérgicos na 12ª semana gestacional em humanos e no 17º dia embrionário em roedores (HOMBERG; SCHUBERT; GASPAR, 2010; MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017). Essa proteína regula a ação da 5-HT, modulando a transmissão sináptica e as cascatas de sinalização associadas (MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017).

A exposição ao ISRS causa a ativação prolongada dos receptores serotoninérgicos, aumentando a magnitude e a duração da atividade da 5-HT nos receptores pré- e pós-sinápticos (HOMBERG; SCHUBERT; GASPAR, 2010; MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017). Os ISRS possuem ainda, a capacidade de modular os níveis de 5-HT para o feto em desenvolvimento (PAWLUSKI; GEMMEL, 2018), através da passagem desses fármacos para o feto via placenta e, para o recém-nascido via leite materno (BORUE, CHEN, 2007; BRUMMELTE et al., 2017). Tal fato torna ainda mais importante a investigação sobre os efeitos precoces e tardios do uso perinatal dos ISRS (ORNOY; KOREN, 2018).

Adicionalmente, estudos sugerem respostas adaptativas como resultado da elevação dos níveis de 5-HT após tratamento com ISRS, em períodos críticos do desenvolvimento (KRAUS et al., 2017). A exposição neonatal à fluoxetina promoveu redução do peso corporal em ratos a partir do 11º dia de lactação, permanecendo esta redução até os 40 dias de vida (PINHEIRO et al., 2017a). O menor ganho de peso foi associado ao aumento da concentração de 5-HT e 5-HTT no hipotálamo, o que reestabeleceu os níveis de 5-HT desses animais (PINHEIRO et al., 2017a).

Figura 1 - Esquema geral da ação dos Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina



Após sua produção nos núcleos da rafe a 5-HT é armazenada em vesículas e posteriormente liberada na fenda sináptica, agindo sobre os receptores. O SERT controla sua ação a recaptando para o neurônio pré-sináptico. Os ISRS atuam se ligando ao SERT e impedindo o processo de recaptação.

Fonte: MILLARD; WESTON-GREEN; NEWELL, 2017.

Em termos de adiposidade, foi observado que ratos tratados durante a lactação com fluoxetina acumularam menos tecido adiposo branco abdominal quando submetidos à dieta hiperlipídica por 5 semanas na vida adulta (GALINDO et al., 2015). Esta menor adiposidade foi associada à maior expressão gênica do receptor 5-HT_{2C} no hipotálamo (GALINDO et al., 2015). Isto sugere que a utilização neonatal de um ISRS geraria menor tendência ao acúmulo de tecido adiposo na vida adulta, talvez pela maior atividade na via hipotalâmica das melanocortinas, mesmo em condições de maior aporte lipídico e calórico (GALINDO et al., 2015). De forma semelhante, um estudo que expôs ratos a superalimentação na lactação, seguida pelo tratamento com fluoxetina do 39º até 59º dia de vida, induziu o comportamento hipofágico e melhora do perfil adiposo com redução de massa de tecido mesentérico e epididimal e aumento do tecido adiposo marrom (SILVA et al., 2019). Tal efeito pode ser explicado, pela melhoria dos parâmetros relacionados ao balanço energético, que suprimiu a fome, a partir do aumento na disponibilidade sináptica de 5-HT (SILVA et al., 2019).

Estudos investigaram a possível relação entre o uso de ISRS no período neonatal e os comportamentos emocionais. Ratos tratados com fluoxetina durante a lactação exibiram níveis menores de comportamento semelhante à ansiedade (DA SILVA et al., 2014). Neste sentido, essas evidências sugerem que as variações na sinalização da 5-HT podem amplificar

respostas ‘positivas’ em um organismo em desenvolvimento (BRUMMELTE et al., 2017). Desse modo, fatores que modificam níveis centrais de 5-HT, como é o caso dos ISRS, podem atuar como indutores de ‘plasticidade’, reativando a capacidade da 5-HT de mediar a plasticidade do desenvolvimento, ao invés de serem ‘fatores de risco’ (BRUMMELTE et al., 2017; KRAUS et al., 2017). Essa abordagem farmacológica para redução de peso pode ser associada a novas intervenções clínicas no tratamento da obesidade (GARFIELD; HEISLER, 2009) possivelmente, levando a um melhor entendimento de como os riscos das doenças metabólicas causadas pelo consumo de dieta hiperlipídica nos períodos iniciais da vida, poderiam ser atenuados pela utilização estratégica de fármacos (SILVA et al., 2019).

2 PERGUNTA CONDUTORA

A inibição neonatal da recaptação da serotonina atenua os efeitos do uso de dieta hiperlipídica/hipercalórica durante gestação e lactação sobre o comportamento semelhante à ansiedade e a adiposidade em prole de ratos?

3 HIPÓTESE

A inibição neonatal da recaptação da serotonina atenua os efeitos do uso de dieta hiperlipídica/hipercalórica durante gestação e lactação sobre o comportamento semelhante à ansiedade e a adiposidade em prole de ratos.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar os efeitos da inibição da recaptação de serotonina durante a lactação sobre o comportamento semelhante à ansiedade e a adiposidade em prole de ratos jovem e adulta submetida à dieta hiperlipídica/hipercalórica durante gestação e lactação.

4.2 Específicos

Avaliar em prole jovem e adulta submetida à dieta hiperlipídica/hipercalórica perinatalmente e submetida à inibição neonatal da recaptação de serotonina durante a lactação:

- Peso corporal;
- Consumo alimentar diário;
- Comportamento semelhante à ansiedade;
- Quantificação de lipídeos séricos;
- Histomorfometria de adipócitos no tecido adiposo branco.

5 MÉTODOS

5.1 Animais e grupos experimentais

Ratos da linhagem Wistar provenientes da colônia do Departamento de Nutrição – UFPE foram alocados no biotério do Laboratório de Experimentação em Nutrição e Instrumentações Biomédicas - LENIB do Departamento de Nutrição – UFPE, onde aconteceram os experimentos. Os animais foram mantidos sob condições padrão de biotério, com temperatura controlada ($22\pm1^{\circ}\text{C}$) ciclo de luz de 12/12 horas invertido (escuro: 08-20h / claro: 20-08h), livre acesso à água e alimentação (Presence[®]) e, utilizados segundo a “Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos”. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, sob número 0029/2018.

Foram utilizadas 24 ratas nulíparas, com idade entre 90-120 dias e peso corporal entre 220-240g. As fêmeas passaram por um período de 5 dias de adaptação no biotério antes do acasalamento, o qual seguiu a proporção de um macho para duas fêmeas (1:2). No primeiro dia da gestação, as fêmeas foram divididas segundo a manipulação dietética apresentada nas Tabelas 1 e 2 em dois grupos experimentais: Grupo Dieta Controle (C) (Presence[®]) e Grupo Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH) (CADENA-BURBANO et al., 2017). Os roedores machos também consumiam a mesma dieta oferecida à fêmea durante o acasalamento, de modo que o roedor que havia consumido DHH em algum momento, não era utilizado para acasalar com ratas que receberam a dieta controle. Após constatação de prenhez através da evolução ponderal, as ratas foram dispostas em gaiolas individuais.

Ao nascimento da prole, no 1º DPN, cada uma das ninhadas (n=8 neonatos/ninhada) pertencentes aos grupos C e DHH foram subdivididas formando quatro subgrupos experimentais compostos por machos, em função da manipulação dietética e farmacológica que foi administrada durante a lactação: SUBGRUPO DIETA CONTROLE + SALINA (C-S): filhotes provenientes do grupo C e tratados com salina estéril (NaCl 0.9%, 10 µl/g, n=4/ninhada); SUBGRUPO DIETA CONTROLE + FLUOXETINA (C-F): filhotes provenientes do grupo C e tratados com fluoxetina (Roval[®]) diluída em salina estéril (10mg/Kg; 10 µl/g, n=4/ninhada); SUBGRUPO DIETA HIPERLIPÍDICA/HIPERCALÓRICA + SALINA (DHH-S): filhotes provenientes do grupo DHH e tratados com salina (NaCl 0.9%, 10 µl/g, n=4/ninhada); SUBGRUPO DIETA HIPERLIPÍDICA/HIPERCALÓRICA + FLUOXETINA (DHH-F): filhotes provenientes do

grupo DHH e tratados com fluoxetina (Roval[®]) diluída em salina estéril (10mg/Kg; 10 µl/g, n=4/ninhada).

A manipulação dietética foi realizada do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação e a administração de fármaco ou salina foi realizada por via subcutânea na região do dorso, diariamente, do 1º ao 21º DPN, 1 hora após o início do ciclo escuro (MATEOS et al., 2009). A partir do desmame no 22º DPN até o final dos experimentos, os animais receberam dieta controle (Presence[®]), como mostra a Figura 2.

Tabela 1 - Formulação utilizada para elaboração da Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica

Ingredientes (g)	(g/100g)
Amido de milho (87% carboidratos)	24,50
Amido dextrinizado (92% carboidratos)	8,00
Caseína (85% proteína)	25,50
Sacarose	6,17
Óleo de soja (7,61ml)	7,00
Banha animal (100% lipídeos)	19,00
Celulose	5,00
Mix mineral (AIN-93G)	3,50
Mix vitamínico	1,00
L-metionina	0,38
Bitartarato de colina	0,25
Terc-butil-hidroquinona	0,0014
Calorias (kcal/100g)	462,00

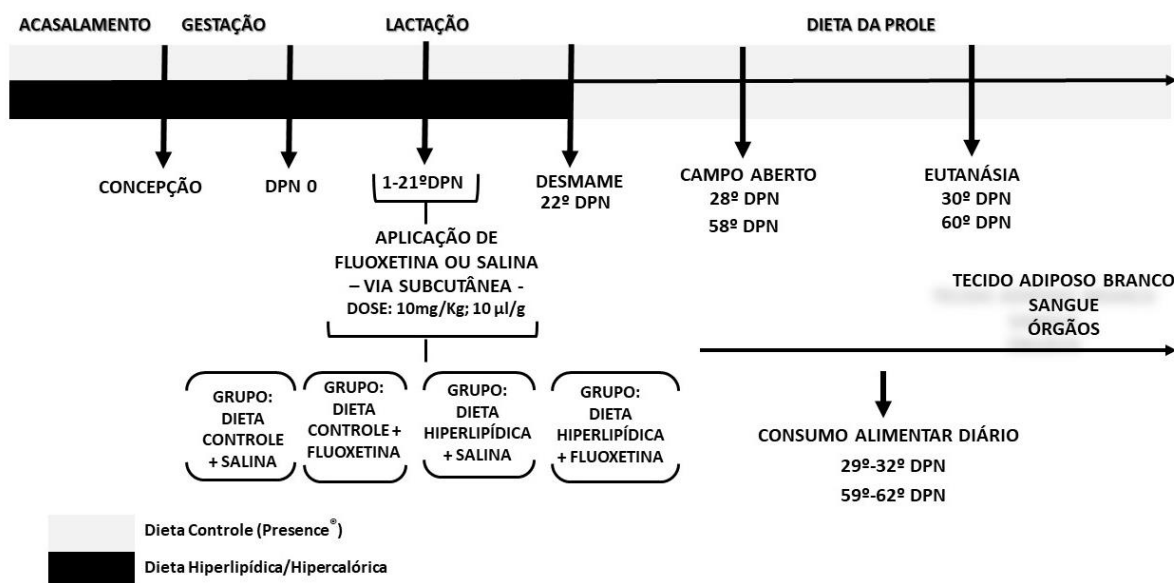
Fonte: CADENA-BURBANO et al., 2017. Os cálculos da composição centesimal foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos.

Tabela 2 - Distribuição calórica e de macronutrientes das dietas experimentais

Ingredientes	Controle Presence	Dieta Hiperlipídica/ Hipercalórica
Proteína (%Kcal)	27,0	19,0
Carboidratos (%Kcal)	61,7	30,0
Lipídeos (%Kcal)	11,3	51,0
Valor Energético	3,44	4,62
Total (VET) (Kcal/g)		

Fonte: SILVA, L.O., 2020

Figura 2 - Desenho experimental do estudo



Fonte: SILVA, L.O., 2020

5.2 Experimentos

5.2.1 *Peso corporal, análise da glicemia em jejum, peso dos órgãos e análise dos lipídeos séricos das nutrizas após lactação*

O peso corporal das nutrizas foi aferido um dia após o desmame e, logo após, as nutrizas foram submetidas a 12 horas de jejum. Após o tempo de jejum, foi realizada pequena incisão na cauda das ratas para retirada de uma gotícula de sangue que foi utilizada para aferição da glicemia através de glicosímetro (G-TECH[®]). Em seguida, as ratas foram eutanasiadas e tiveram o sangue do tronco coletado e centrifugado por cerca de 20 minutos, o soro foi retirado e armazenado em ultrafreezer (-80°C). Logo após a coleta de sangue, os órgãos encéfalo, fígado, coração, rim e supra-renal e o tecido adiposo abdominal total das fêmeas foram retirados para quantificação do seu peso úmido através de balança de precisão. O soro permaneceu congelado até a análise através de teste colorimétrico Labtest[®] do colesterol total, triglicerídeos e lipoproteína de alta densidade (HDL). O teste foi realizado segundo as instruções do fabricante. A análise dos lipídeos séricos ocorreu da mesma forma na prole aos 30 e 60 dias.

5.2.2 *Peso corporal e consumo alimentar diário da prole*

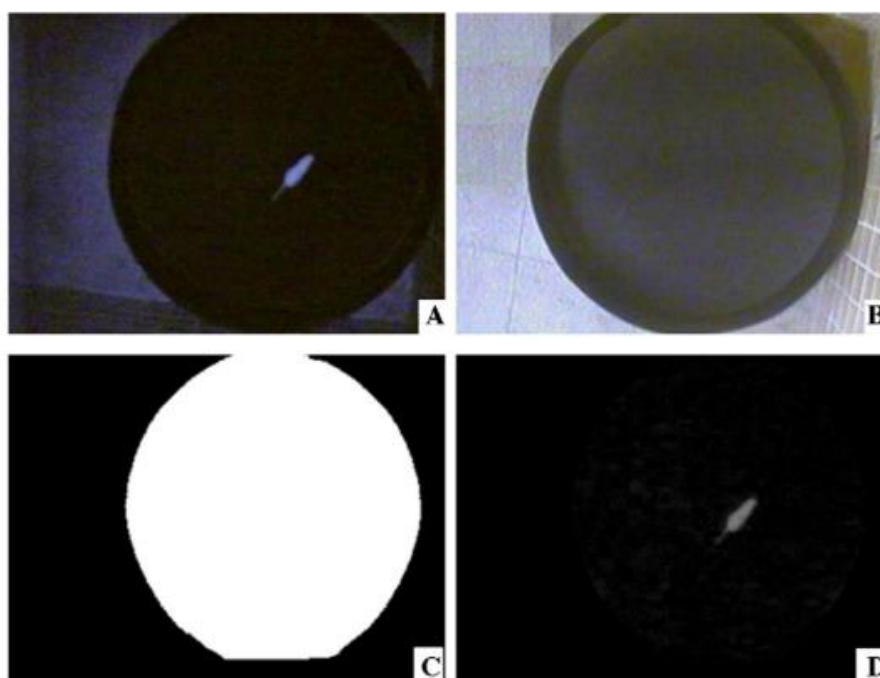
Os filhotes tiveram o peso corporal aferido diariamente durante a lactação (1º ao 21º DPN) bem como aos 30 e 60 dias de vida. Para a pesagem foi utilizada balança de precisão. O

consumo alimentar foi aferido aos 30 e 60 dias, com cada roedor ocupando uma gaiola, a partir da oferta de 80g/dia durante três dias consecutivos de dieta padrão de biotério (Presence®). O resultado foi dado pela diferença entre alimento consumido e alimento rejeitado, e expresso em consumo relativo $[(\text{Alimento consumido(g)} - \text{Alimento Rejeitado(g)}) / \text{Peso Corporal(g)}] * 100$.

5.2.3 Avaliação de Comportamento semelhante à ansiedade

A avaliação do comportamento semelhante à ansiedade foi realizada aos 28 e 58 dias de vida, através do teste do Campo Aberto. Esse aparato consiste em uma estrutura circular de aproximadamente 1m de diâmetro, delimitado por paredes de 30 cm de altura, no qual os animais foram postos por 15 minutos (Figura 3) (ARAGÃO et al., 2011), onde uma câmera capturou as imagens através do software VideoStudio®. Posteriormente, o software CaptureSeqAvi® foi utilizado para cortar o vídeo em 1.362 quadros, os quais foram sobrepostos em uma máscara criada no software Paint® que tinha a função de refletir apenas a imagem do roedor, sendo as imagens resultantes analisados em seguida pelo software MATLAB®. O comportamento semelhante à ansiedade foi inferido através da análise do tempo no centro e na periferia (s), distância percorrida (m), velocidade média (m/s), tempo imóvel (s) e número de paradas (KANG et al., 2014; PAGE; JONES; ANDAY, 2014).

Figura 3 - Campo aberto: (A) Uma visão do campo aberto com a luz apagada; (B) Uma visão do campo aberto com a luz acesa; (C) Uma máscara criada com o Software Paint®; (D) Imagem final usada para análise.



Fonte: ARAGÃO et al., 2011

5.2.4 Quantificação do peso do tecido adiposo branco e de órgãos

A pesagem dos órgãos e a coleta de tecido adiposo foram realizadas aos 30 e 60 dias de vida. Imediatamente após decapitação os tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico, inguinal, epididimal e perirenal foram coletados e quantificados através de balança de precisão.

5.2.5 Processamento histológico e Histomorfometria do Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal

Os coxins de TAB retroperitoneal foram fixados em solução tamponada de Formalina a 4% por 24-48h e armazenados em tubos criogênicos de 5ml, posteriormente, foram imersos em álcool 70% até o momento do processamento. Esta etapa consiste na troca de álcoois em concentrações crescentes (80%, 90% e 100%) por 1 hora para desidratação, diafanização através do xilol por 1h30 e impregnação e inclusão em parafina por uma noite. No dia seguinte, os cortes foram emblocados e seccionadas a 5µm por microtomia. Os cortes obtidos foram transferidos para um banho-maria a 45°C e com o auxílio de uma pinça, foram distendidos e posicionados nas lâminas, as quais secaram por cerca de 1 hora na estufa a 60°C. Em seguida, foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e montadas com aposição de lamínula (24x60mm).

As imagens histológicas foram capturadas através de microscópio óptico de campo claro (Olympus BX41[®], aumento 40x), com câmera acoplada (Olympus SC30[®]), obtendo-se 10 campos por lâmina, com resolução de 1024x768 pixels. O software utilizado para a captura das fotomicrografias foi o Soft Imaging System 5.0. Estas imagens seriam analisadas em relação ao número de adipócitos, área e perímetro através do software Image J versão 1.43 (Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA[®]). No entanto, o início dessa etapa coincidiu com o período de quarentena em todo o Brasil devido à pandemia por Covid-19, causando a paralisação das atividades presenciais nas universidades, incluindo na Universidade Federal de Pernambuco, impossibilitando a realização dessa etapa do experimento.

5.3 Análise Estatística

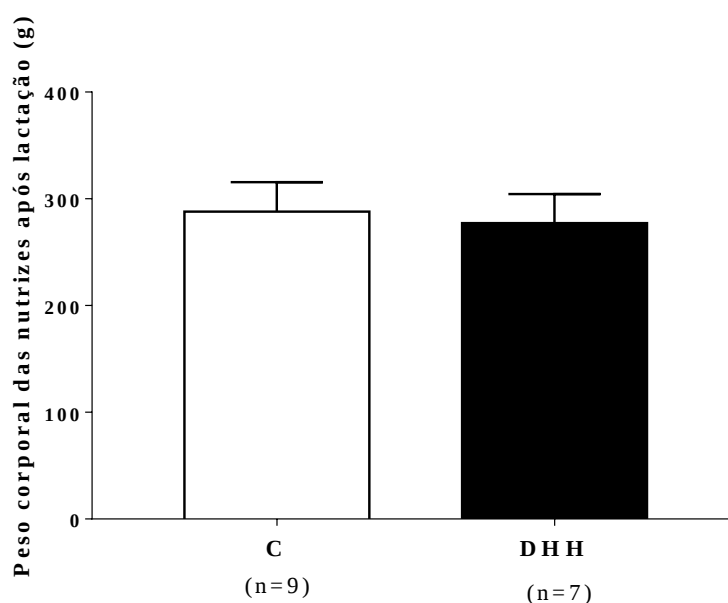
Os dados foram tabulados em planilha do software Microsoft Excel. O teste de normalidade utilizado foi Kolmogorof-Smirnov. Para análise dos dados referentes às nutrízes como o peso corporal, a glicose em jejum e os valores lipídicos foi utilizado o teste t de Student não pareado. Para comparação entre os diferentes grupos da prole, foi empregada o Teste Two Way ANOVA seguido do Tukey Pós Teste para analisar o peso corporal durante a lactação, o peso corporal aos 30 e 60 dias, consumo alimentar diário, valores lipídicos e os dados referentes ao campo aberto. No total, foram utilizadas 12 nutrízes no grupo controle e 12 nutrízes no grupo DHH. Para os dados das nutrízes o “n” representa o número absoluto de unidades experimentais. Já para as análises da prole, o “n” representa o número de ninhadas, de forma que para cada análise foi utilizada, pelo menos, uma unidade experimental de cada ninhada. Em caso de utilização de mais de uma unidade experimental da mesma ninhada, foi utilizada a média dessas unidades. Os dados foram expressos em média±desvio padrão e em todos os casos a significância estatística foi considerada, admitindo-se um nível crítico de 5%. A análise dos dados foi realizada por meio do programa estatístico GraphPad Prism ® (Graph Pad Software, versão 7.0).

6 RESULTADOS

6.1 Peso corporal de nutrizes após lactação

A análise do peso corporal das nutrizes um dia após o término da lactação não demonstrou diferença entre os grupos C e DHH ($C=288\pm27,49g$; $DHH=277,3\pm27,21g$) ($p=0.44$) (Figura 3).

Figura 4 - Peso corporal das nutrizes após lactação



Ratas *Wistar* receberam Dieta Controle (C) com 3,6 Kcal/g ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH) com 4,62 kcal/g, do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Após o desmame o peso foi mensurado. Dados expressos em MD±DP, (C=9), (DHH=7), teste t de Student não pareado.

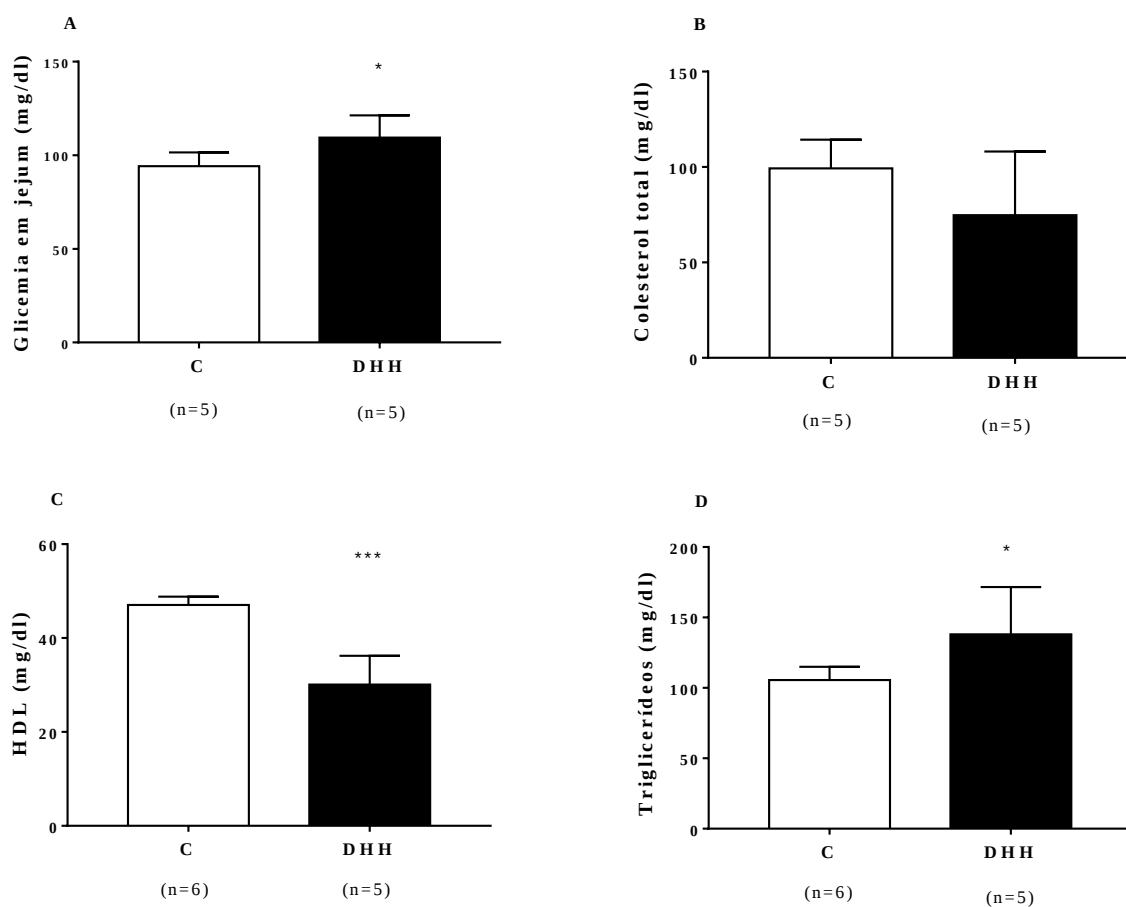
Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.2 Glicemia em jejum e quantificação dos lipídeos séricos das nutrizes após lactação

As nutrizes que consumiram DHH apresentaram maior glicemia em jejum quando comparado as ratas que receberam dieta controle durante gestação e lactação ($C=94,2\pm7,9$ mg/dl; $DHH=109,4\pm11,93$ mg/dl) ($p=0.04$) (Figura 5A). A análise dos níveis séricos de colesterol total não demonstrou diferenças significativas ($p=0.17$) ($C=99,28\pm15,05$ mg/dl; $DHH=74,76\pm33,39$ mg/dl) (Figura 5B). Em relação aos níveis séricos de HDL, as nutrizes do grupo DHH apresentaram diminuição desses níveis em relação ao grupo C

(C=47,05±1,77mg/dl; DHH=30,1±6,12mg/dl) ($p=0.0001$) (Figura 5C). Adicionalmente, houve aumento dos níveis séricos de triglicerídeos no grupo DHH em relação ao grupo C (C=105,5±9,38mg/dl; DHH=138±33,57mg/dl) ($p=0.04$) (Figura 5D).

Figura 5 - (A) Glicemia em jejum das nutrizes após lactação; (B) Colesterol total das nutrizes após lactação; (C) HDL das nutrizes após lactação (D) Triglicerídeos das nutrizes após lactação



Ratas *Wistar* receberam Dieta Controle (C) com 3,6 Kcal/g ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH) com 4.62 kcal/g do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Logo após o desmame, as ratas foram submetidas a 12 horas de jejum e tiveram a glicemia aferida logo a seguir. Um dia após o desmame, as ratas foram eutanasiadas e tiveram o sangue coletado para mensuração de frações dos lipídeos séricos. Dados expressos em MD±DP, (C=9), (DHH=7), teste t de Student não pareado.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.3 Peso de tecidos e órgãos das nutrízes após lactação

O peso absoluto do TAB abdominal total foi maior no grupo DHH quando comparado ao grupo C ($p=0.03$). Foi observado menor peso absoluto do rim esquerdo no grupo DHH ($p=0.01$). Os pesos absoluto e relativo do fígado foram menores no grupo DHH quando comparados ao grupo C ($p<0.0001$). Encéfalo, baço, coração e glândula supra-renal não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3 - Peso em gramas e peso relativo de tecidos e órgãos de ratas dos grupos controle e DHH

Variáveis	C (n=7-9)	DHH (n=6-7)
TAB Abdominal Total (g)	4,118±1,967	6,566±1,924*
TAB Abdominal Total (%)	2,126±0,99	2,471±0,66
Encéfalo (g)	1,949±0,06	1,844±0,18
Encéfalo (%)	0,7233±0,067	0,6864±0,018
Rim (g)	1,262±0,07	1,098±0,15*
Rim (%)	0,4381±0,028	0,4132±0,014
Baço (g)	0,785±0,085	0,8925±0,136
Baço (%)	0,2917±0,055	0,3414±0,071
Fígado (g)	12,95±0,741	9,75±0,94****
Fígado (%)	4,75±0,24	3,688±0,19****
Coração (g)	1,216±0,115	1,112±0,16
Coração (%)	0,4329±0,031	0,4187±0,025
Supra-renal (g)	0,046±0,007	0,040±0,007
Supra-renal (%)	0,0162±0,003	0,0154±0,002

Ratas *Wistar* receberam Dieta Controle (C) com 3,6 Kcal/g ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH) com 4.62 kcal/g, do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. As nutrízes foram eutanasiadas um dia após o desmame e durante a eutanásia, os órgãos e tecidos foram quantificados. Tecido Adiposo Branco (TAB). Dados expressos em MD±DP, (C=7-9), (DHH=6-7), teste t de Student não pareado.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

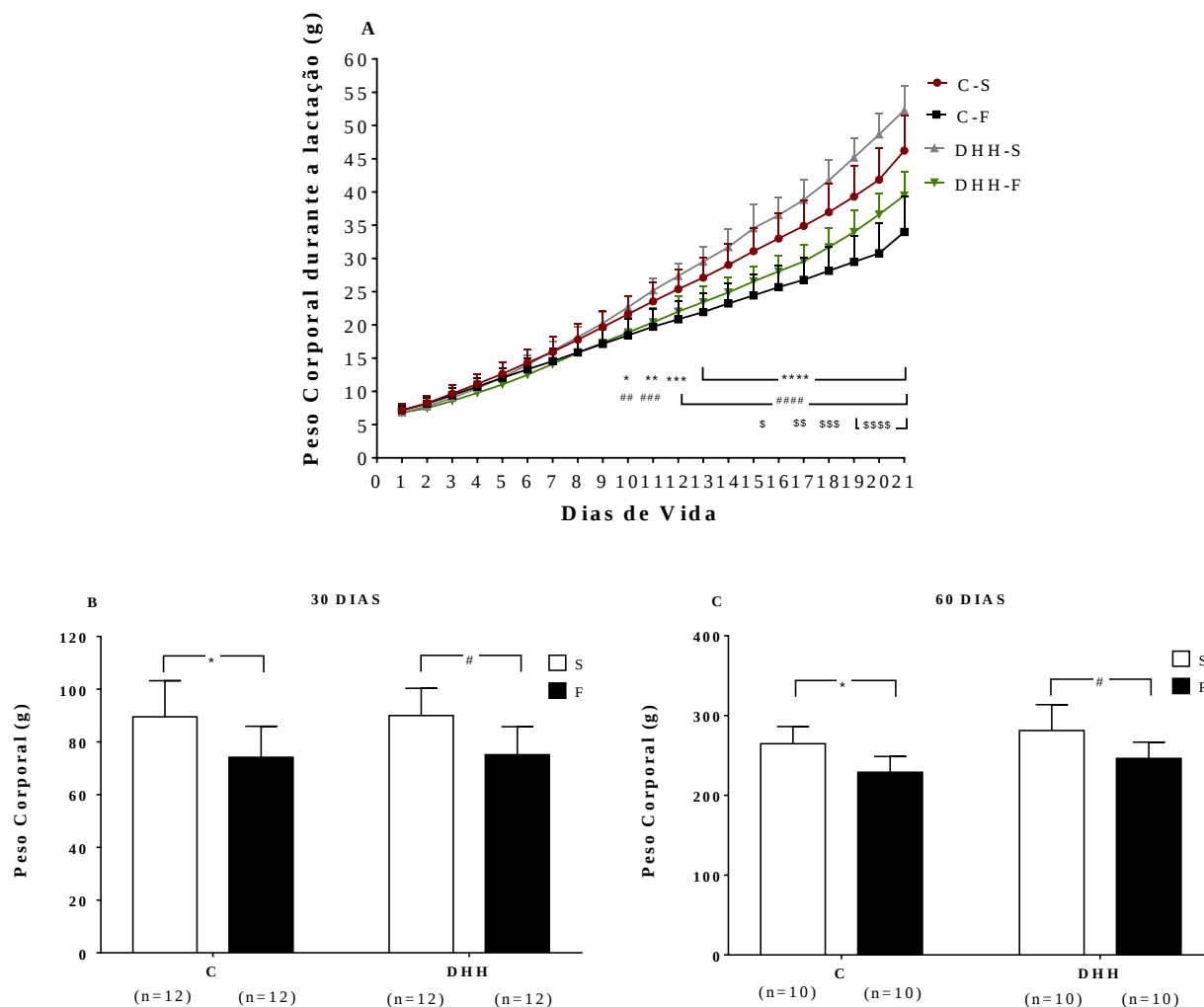
6.4 Peso Corporal da prole durante a lactação, aos 30 e aos 60 dias

A análise do peso corporal da prole durante a lactação demonstrou interação do tratamento farmacológico [$F(3,39)=17,84$] ($p<0.0001$) no menor peso corporal no grupo C-F em relação ao seu controle a partir do 10º DPN (C-S= $21,62\pm2,73$ g; C-F= $18,45\pm2,54$ g) ($p=0.01$) (Figura 6A). Esta diferença permaneceu até o final da lactação (C-S= $46,22\pm5,25$ g; C-F= $33,97\pm5,41$ g) ($p=0.00001$) (Figura 6A). Também a partir do 10º DPN, a utilização neonatal de fluoxetina foi associada ao menor peso corporal do grupo DHH-F quando o mesmo foi comparado ao grupo DHH-S (DHH-S= $46,22\pm5,25$ g; DHH-F= $33,97\pm5,41$ g) ($p=0.01$) (Figura 6A). O efeito do maior aporte calórico foi refletido no maior peso corporal do grupo DHH-S em relação ao grupo C-S a partir do 15º DPN (C-S= $31,08\pm3,50$ g; DHH-S= $34,55\pm3,65$ g) ($p=0.01$) (Figura 6A).

Aos 30 dias de vida houve efeito da inibição da recaptação da serotonina tanto sobre o grupo C-F (C-S= $89,55\pm13,69$ g; C-F= $74,16\pm11,76$ g) ($p=0.01$) quanto sobre o grupo DHH-F, que mantiveram menor peso corporal em relação aos seus controles (DHH-S= $90,02\pm10,35$ g; DHH-F= $75,41\pm10,66$ g) ($p=0.01$) (Figura 6B).

A interação entre o tratamento farmacológico e os grupos experimentais continuou aos 60 dias de vida [$F(1,36)=4.96$] ($p=0.03$). Nesta idade o tratamento farmacológico continuou promovendo um menor peso corporal dos grupos C-F (C-S= $266,3\pm21,64$ g; C-F= $228,9\pm19,75$ g) ($p=0.01$) e DHH-F (DHH-S= $281,2\pm32,48$ g; DHH-F= $246,3\pm20,4$ g) ($p=0.01$) em relação aos seus controles (Figura 6C).

Figura 6 - (A) Peso Corporal na Lactação; (B) Peso corporal aos 30 dias da prole; (C) Peso corporal aos 60 dias da prole



Ratas *Wistar* receberam Dieta Controle (C, 3,6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). Dados expressos em MD±DP, (A): (C-S, n=12), (C-F, n=12), (DHH-S, n=10), (DHH-F, n=10), Two Way ANOVA, Tukey Pós Teste. (B): (C-S, n=12), (C-F, n=12), (DHH-S, n=12), (DHH-F, n=12), Two Way Anova, Tukey Pós Teste (C): (C-S, n=10), (C-F, n=10), (DHH-S, n=10), (DHH-F, n=10), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. *Representa diferença entre C-S e C-F; #Diferença entre DHH-S e DHH-F; \$Diferença entre C-S e DHH-S.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.5 Pesos absoluto e relativo do tecido adiposo branco e de órgãos da prole aos 30 dias

Analisando os coxins de TAB, foi observada a interação do uso neonatal de fluoxetina sobre o peso absoluto do TAB epididimal [$F(1,19)=11,02$] ($p=0.003$), bem como do consumo da DHH [$F(1,19)=14,71$] ($p=0.001$) com esse coxim apresentando valores menores no grupo C-F quando comparado aos grupos C-S ($p=0.008$) e DHH-F ($p=0.007$) (Tabela 4).

O peso absoluto do TAB retroperitoneal demonstrou interação farmacológica [$F(1,21)=22,04$] ($p=0.0001$) na análise intergrupo, expressando valores menores no grupo C-F em relação ao C-S ($p=0.006$), além de valor menor no grupo DHH-F quando comparado ao grupo DHH-S ($p=0.03$) (Tabela 4). De forma semelhante, o peso relativo do TAB retroperitoneal demonstrou interação da DHH [$F(1,21)=27,2$] ($p<0.0001$) e do fármaco [$F(1,21)=6,372$] ($p=0.01$) demonstrando menor valor no grupo C-F em relação ao C-S ($p=0.04$), e no grupo DHH-F comparado ao seu controle ($p=0.001$) (Tabela 4).

A análise do peso absoluto do TAB mesentérico também demonstrou interação do uso neonatal com o tratamento farmacológico [$F(1,19)=5,774$] ($p=0.02$) e a análise intergrupo evidenciou valor menor no grupo DHH-F em comparação ao grupo DHH-S ($p=0.04$) (Tabela 4). A comparação do peso relativo do TAB perirenal demonstrou interação entre este e o consumo perinatal da dieta experimental [$F(1,18)=7,015$] ($p=0.01$), com valor menor no grupo DHH-S quando comparado ao C-S ($p=0.01$) (Tabela 4).

A ANOVA demonstrou interação da intervenção farmacológica sobre o TAB total [$F(1,19)=18,67$] ($p=0.0004$) (Tabela 4). Para este parâmetro, a análise intergrupo evidenciou valores menores no grupo DHH-F quando comparado ao grupo DHH-S ($p=0.002$). De forma semelhante, houve interação da DHH [$F(1,17)=14,61$] ($p=0.01$) e da interação farmacológica [$F(1,17)=6,797$] ($p=0.01$) sobre o peso relativo do TAB abdominal total, com valor menor no grupo DHH-F em comparação ao DHH-S ($p=0.001$) e valor maior no grupo DHH-S quando comparado ao C-S ($p=0.01$) (Tabela 4). Não foram identificadas diferenças no peso absoluto ou relativo do tecido adiposo inguinal (Tabela 4).

Na análise do peso absoluto dos órgãos, houve interação do uso neonatal da fluoxetina e o peso do rim esquerdo [$F(1,18)=17,61$] ($p=0.0005$), com valor menor no grupo DHH-F quando comparado ao seu controle ($p=0.009$) (Tabela 4). Da mesma forma, houve interação entre o peso do fígado e a intervenção farmacológica [$F(1,19)=12,16$] ($p=0.002$), com valores menores do peso desse órgão no grupo C-F em comparação ao C-S ($p=0.01$) (Tabela 4). Foi

demonstrado também interação entre peso da glândula supra-renal e a inibição neonatal da recaptação da serotonina [$F(1,17)=5,145$] ($p=0.03$), com o grupo DHH-F apresentando valor menor em comparação ao grupo C-F ($p=0.04$) (Tabela 4). Já na análise do peso relativo dos órgãos, houve interação apenas entre o peso da glândula supra-renal e a intervenção farmacológica [$F(1,20)=6,716$] ($p=0.01$), com valor maior no grupo C-F em comparação ao seu controle ($p=0.006$) (Tabela 4). Não foram observadas diferenças nos pesos absoluto e relativo do encéfalo, baço e coração (Tabela 4).

Tabela 4 - Pesos absoluto e relativo dos órgãos e tecidos da prole aos 30 dias

Variáveis	C-S (n=6-7)	C-F (n=6-7)	DHH-S (n=5-6)	DHH-F (n=5-6)
TAB Inguinal (g)	0,2278±0,08	0,144±0,08	0,2852±0,13	0,2146±0,03
TAB Inguinal (%)	0,355±0,133	0,213±0,128	0,348±0,148	0,306±0,06
TAB Epididimal (g)	0,1323±0,02	0,0786±0,019**	0,158±0,03	0,138±0,02&&
TAB Epididimal (%)	0,180±0,02	0,143±0,03	0,207±0,04	0,181±0,02
TAB Retroperitoneal (g)	0,1147±0,02	0,059±0,02**	0,124±0,03	0,073±0,01#
TAB Retroperitoneal (%)	0,132±0,02	0,090±0,02*	0,174±0,02	0,103±0,02##
TAB Mesentérico (g)	0,2735±0,15	0,300±0,11	0,3522±0,04	0,1692±0,05#
TAB Mesentérico (%)	0,282±0,14	0,385±0,13	0,393±0,66	0,233±0,05
TAB Perirenal (g)	0,051±0,013	0,034±0,007	0,0408±0,02	0,0254±0,002
TAB Perirenal (%)	0,072±0,006	0,054±0,009	0,047±0,022\$	0,036±0,007
TAB Abdominal Total (g)	0,9592±0,17	0,757±0,15	1,264±0,31	0,7368±0,11##
TAB Abdominal Total (%)	1,174±0,167	1,084±0,112	1,516±0,21\$	1,037±0,17##
Encéfalo (g)	1,563±0,056	1,526±0,03	1,533±0,04	1,44±0,11
Encéfalo (%)	1,983±0,14	2,213±0,14	1,874±0,17	2,155±0,19
Rim (g)	0,5382±0,23	0,4737±0,053	0,5448±0,03	0,4306±0,07##
Rim (%)	0,649±0,06	0,6858±0,07	0,6234±0,07	0,599±0,04
Baço (g)	0,2826±0,03	0,2583±0,01	0,2898±0,07	0,2366±0,05
Baço (%)	0,3501±0,04	0,3981±0,03	0,338±0,07	0,383±0,05
Fígado (g)	5,08±0,58	4,12±0,28*	4,729±0,60	4,186±0,50
Fígado (%)	5,41±0,21	5,76±0,47	6,02±0,51	5,53±0,97
Coração (g)	0,4942±0,04	0,4477±0,04	0,577±0,04	0,4936±0,06
Coração (%)	0,597±0,06	0,622±0,06	0,647±0,07	0,619±0,07
Supra-renal (g)	0,014±0,002	0,017±0,004	0,014±0,001	0,012±0,001&
Supra-renal (%)	0,015±0,002	0,024±0,007**	0,017±0,002	0,017±0,003

Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3,6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). No 30º DPN, após eutanásia, os pesos de órgãos e tecidos foram mensurados. Tecido Adiposo Branco (TAB). Dados expressos em MD±DP. (C-S, n=6-7), (C-F, n=6-7), (DHH-S, n=5-6), (DHH-F, n=5-6), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. *Representa diferença entre C-S e C-F; #Diferença entre DHH-S e DHH-F; \$Diferença entre C-S e DHH-S; &Diferença entre C-F e DHH-F.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.6 Pesos absoluto e relativo do tecido adiposo branco e de órgãos da prole aos 60 dias

Houve interação entre o peso absoluto do TAB retroperitoneal e o uso neonatal da fluoxetina [$F(1,17)=18,81$] ($p=0.0004$), com valor menor no grupo DHH-F quando comparado ao grupo DHH-S ($p=0.01$) (Tabela 5).

O peso absoluto do TAB perirenal apresentou interação da dieta experimental [$F(1,17)=14,91$] ($p=0.0001$) e da inibição neonatal da recaptção de serotonina [$F(1,17)=10,8$] ($p=0.004$), com menor valor desse coxim no grupo C-S ($p=0.004$) quando comparado ao DHH-S, além do menor valor no grupo DHH-F quando comparado ao seu controle ($p=0.01$) (Tabela 5). De forma semelhante, foi observada a interação da DHH [$F(1,17)=10,6$] ($p=0.004$) no peso relativo do TAB perirenal, com menor valor no grupo C-F quando comparado ao grupo DHH-F ($p=0.02$) (Tabela 5). Não foram identificadas diferenças no peso dos demais coxins adiposos analisados (Tabela 5).

Em relação aos órgãos, houve interação entre o peso absoluto do fígado e o consumo perinatal de DHH [$F(1,17)=7,282$] ($p=0.001$), com o pós-teste evidenciando valor maior no grupo DHH-F quando comparado ao grupo C-F ($p=0.03$) (Tabela 5). Não foram evidenciadas diferenças no peso dos demais órgãos analisados (Tabela 5).

Tabela 5 - Pesos absoluto e relativo dos órgãos e tecidos da prole aos 60 dias

Variáveis	C-S (n=5)	C-F (n=5-6)	DHH-S (n=5)	DHH-F (n=5-7)
TAB Inguinal (g)	1,44±0,35	1,103±0,43	1,577±0,79	0,944±0,18
TAB Inguinal (%)	0,594±0,19	0,485±0,16	0,563±0,25	0,449±0,11
TAB Epididimal (g)	1,61±0,30	1,05±0,17	1,90±0,61	1,47±0,40
TAB Epididimal (%)	0,655±0,14	0,505±0,09	0,682±0,18	0,623±0,10
TAB Retroperitoneal (g)	1,252±0,38	0,6588±0,12	1,412±0,59	0,6492±0,15[#]
TAB Retroperitoneal (%)	0,510±0,15	0,336±0,11	0,516±0,21	0,277±0,05
TAB Mesentérico (g)	1,251±0,27	1,115±0,26	1,306±0,21	0,9702±0,15
TAB Mesentérico (%)	0,505±0,10	0,591±0,16	0,478±0,10	0,415±0,07
TAB Perirenal (g)	0,166±0,06	0,122±0,04	0,3482±0,09^{\$}	0,1846±0,08[#]
TAB Perirenal (%)	0,069±0,02	0,055±0,02	0,128±0,04	0,176±0,11^{&}
TAB Abdominal Total (g)	7,939±2,03	5,415±0,88	8,394±2,45	6,879±2,50
TAB Abdominal Total (%)	3,259±1,06	2,261±0,21	3,037±0,84	2,593±0,49
Encéfalo (g)	1,749±0,15	1,765±0,09	1,803±0,10	1,738±0,12
Encéfalo (%)	0,710±0,07	0,816±0,01	0,655±0,06	0,746±0,07
Rim (g)	1,177±0,17	1,05±0,13	1,263±0,21	1,168±0,15
Rim (%)	0,474±0,03	0,4890±0,03	0,454±0,03	0,474±0,01
Baço (g)	0,7286±0,54	0,563±0,10	0,5874±0,09	0,5087±0,04
Baço (%)	0,282±0,18	0,268±0,05	0,211±0,01	0,206±0,03
Fígado (g)	11,0±1,14	9,75±1,34	11,82±2,32	12,61±1,14^{&}
Fígado (%)	4,45±0,42	4,72±0,2	4,23±0,35	4,72±0,23
Coração (g)	1,025±0,12	0,9087±0,07	1,206±0,24	0,993±0,14
Coração (%)	0,414±0,03	0,429±0,03	0,433±0,04	0,433±0,04
Supra-renal (g)	0,0324±0,006	0,0232±0,01	0,0328±0,004	0,0355±0,01
Supra-renal (%)	0,013±0,002	0,011±0,004	0,011±0,002	0,015±0,004

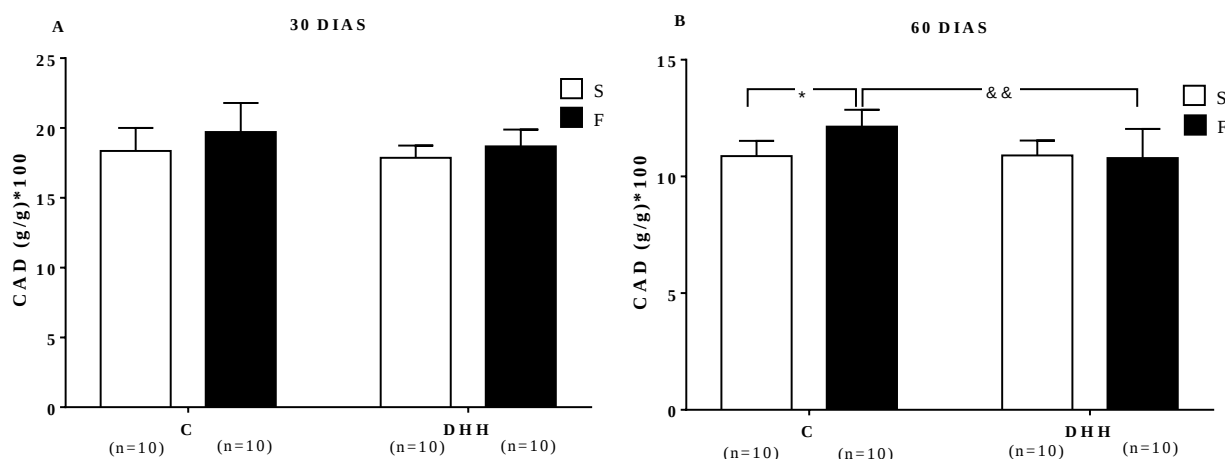
Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3,6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). No 60º DPN, após eutanásia, os pesos de órgãos e tecidos foram mensurados. Tecido Adiposo Branco (TAB). Dados expressos em MD±DP, (C-S, n=5), (C-F, n=5-6), (DHH-S, n=5), (DHH-F, n=5-7). Two Way Anova, Tukey Pós Teste. *Representa diferença entre C-S e C-F; #Diferença entre DHH-S e DHH-F; \$Diferença entre C-S e DHH-S; &Diferença entre C-F e DHH-F. Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.7 Consumo Alimentar Diário (CAD) aos 30 e 60 dias de vida

Não houve interação entre as intervenções nutricional e farmacológica e o CAD na prole aos 30 dias de vida (Figura 7A).

A avaliação do CAD na prole aos 60 dias demonstrou interação da DHH [$F(1,36)=4,529$] ($p=0.04$) e do tratamento farmacológico [$F(1,36)=5,911$] ($p=0.02$) no maior consumo alimentar no grupo C-F quando comparado ao C-S (C-S= $10,87\pm0,65$; C-F= $12,13\pm0,72$) ($p=0.01$). Além disso, o grupo DHH-F apresentou menor consumo alimentar em comparação ao grupo C-F (C-F= $12,13\pm0,72$; DHH-F= $10,79\pm1,24$) ($p=0.006$) (Figura 7B).

Figura 7 - (A) Consumo alimentar diário (CAD) aos 30 dias de vida; (B) CAD aos 60 dias de vida da prole.



Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3.6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4.62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). Do 28º até o 32º DPN e do 58º até o 62º DPN o consumo alimentar diário foi mensurado. Dados expressos em MD±DP. (A): (C-S, n=10), (C-F, n=10), (DHH-S, n=10), (DHH-F, n=10), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. (B): (C-S, n=10), (C-F, n=10), (DHH-S, n=10), (DHH-F, n=10), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. *Representa diferença entre C-S e C-F; &Diferença entre C-F e DHH-F.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.8 Lipídeos séricos da prole aos 30 dias

A análise do colesterol total demonstrou interação da DHH [F(1,18)=3,183] e da intervenção farmacológica [F(1,18) =41,75] ($p<0.0001$) com o pós-teste evidenciando valores maiores no grupo C-F quando comparado ao C-S ($p<0.0001$) (Tabela 6). De forma semelhante, foi visto o aumento dos níveis séricos desse parâmetro no grupo DHH-F em comparação ao seu controle ($p=0.01$) (Tabela 6).

Quando analisado o HDL foi visto a interação do consumo perinatal de DHH [F(1,15) =23,02] ($p<0.00002$) no aumento dos níveis séricos de HDL no grupo DHH-S quando comparado ao C-S ($p=0.04$) (Tabela 6). Também foi observado que o grupo DHH-F apresentou maiores níveis de HDL em relação ao grupo C-F ($p=0.006$) (Tabela 6).

Houve interação entre os níveis de triglicerídeos e o uso da fluoxetina na lactação [F(1,17)=42,75] ($p<0.0001$), promovendo na prole jovem menores níveis no grupo C-F quando comparado ao C-S ($p=0.0006$) (Tabela 6). O mesmo foi observado no grupo DHH-F quando comparado ao seu controle ($p=0.002$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Lípidios séricos da prole aos 30 dias

Variáveis	C-S (n=5-6)	C-F (n=5-6)	DHH-S (n=5-6)	DHH-F (n=5-6)
Colesterol Total (mg/dL)	64,85±3,39	81,55±5,75****	71,72±6,65	82,18±2,91[#]
HDL (mg/dL)	32,52±5,90	34,7±5,54	46,75±5,23^{\$}	49,22±6,31^{&&}
Triglicerídeos (mg/dL)	309,9±46,69	157,4±24,73***	283,7±31,76	158,4±69,86^{##}

Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3.6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4.62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina neonatal (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina neonatal (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina neonatal (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina neonatal (DHH-F). No 30º DPN, após decapitação, o sangue foi coletado e as frações lipídicas foram analisadas. Dados expressos em MD±DP, (C-S, n=5-6), (C-F, n=5-6), (DHH-S, n=5-6), (DHH-F, n=5-6), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. *Representa diferença entre C-S e C-F; # Diferença entre DHH-S e DHH-F; \$Diferença entre C-S e DHH-S; &Diferença entre C-F e DHH-F.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.9 Lipídeos séricos da prole aos 60 dias

As análises do colesterol total [$F(1,16) = 1,644$] ($p=0.21$) e dos triglicerídeos séricos [$F(1,16) = 0,1973$] ($p=0.66$) não demonstraram interação entre os grupos experimentais (Tabela 7). Quando analisado o HDL foi visto a interação da DHH [$F(1,15) = 7,48$] ($p=0.01$), com o grupo DHH-F apresentando valores maiores em comparação ao grupo C-F ($p=0.008$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Lipídeos séricos da prole aos 60 dias

Variáveis	C-S (n=5)	C-F (n=5)	DHH-S (n=5)	DHH-F (n=5)
Colesterol Total (mg/dL)	71,84±19,02	65,66±6,39	70,46±8,92	50,04±11,6
HDL (mg/dL)	42,8±8,23	28,5±2,73	41,82±12,68	53,72±14,54^{&&}
Triglicerídeos (mg/dL)	72,62±24,9	66,36±18,63	71,74±28,64	76,42±35,29

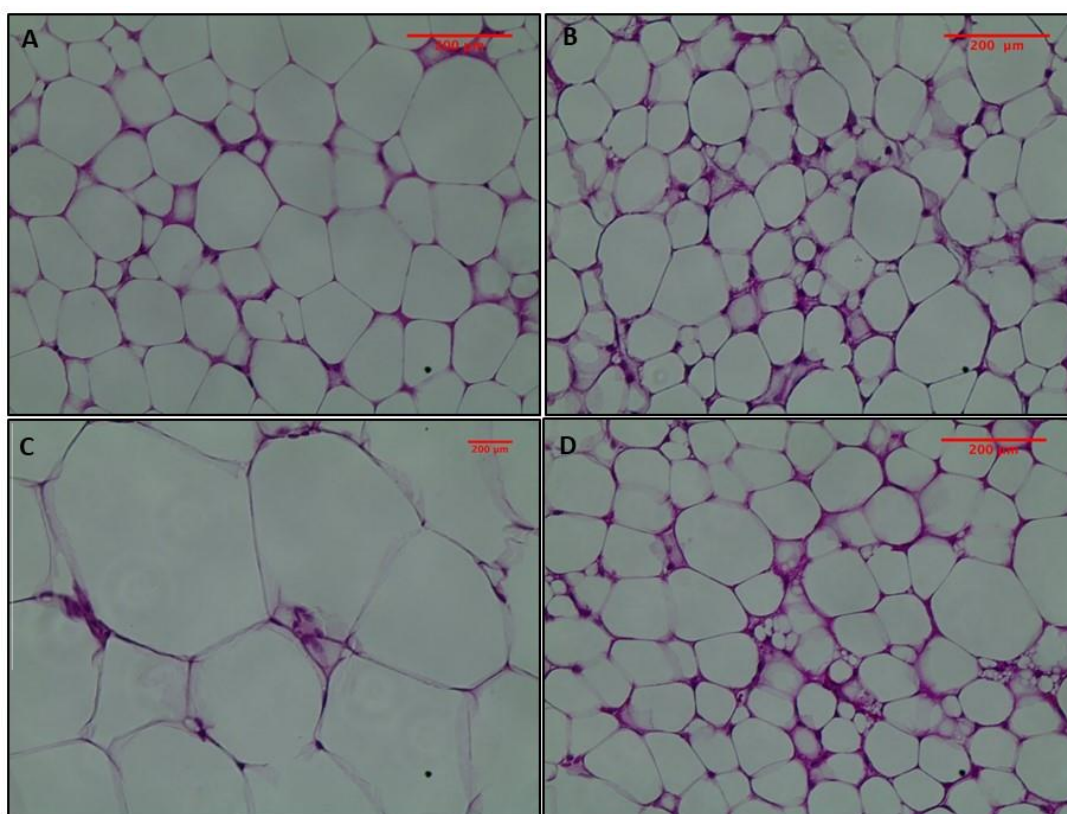
Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3.6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4.62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). No 60º DPN, após decapitação, o sangue foi coletado e as frações lipídicas foram analisadas. Dados expressos em MD±DP, (C-S, n=5), (C-F, n=5), (DHH-S, n=5), (DHH-F, n=5), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. &Diferença entre C-F e DHH-F.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.10 Histologia do Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal da prole aos 30 dias de vida

Aparentemente, o tamanho dos adipócitos do TAB retroperitoneal do grupo DHH-S é maior em comparação aos outros grupos. As fotos serão analisadas quanto ao número de adipócitos, área e perímetro.

Figura 8 - (A) Histologia do TAB retroperitoneal aos 30 dias no grupo C-S; (B) Histologia do TAB retroperitoneal aos 30 dias no grupo C-F; (C) Histologia do TAB retroperitoneal aos 30 dias no grupo DHH-S; (D) Histologia do TAB retroperitoneal aos 30 dias no grupo DHH-F



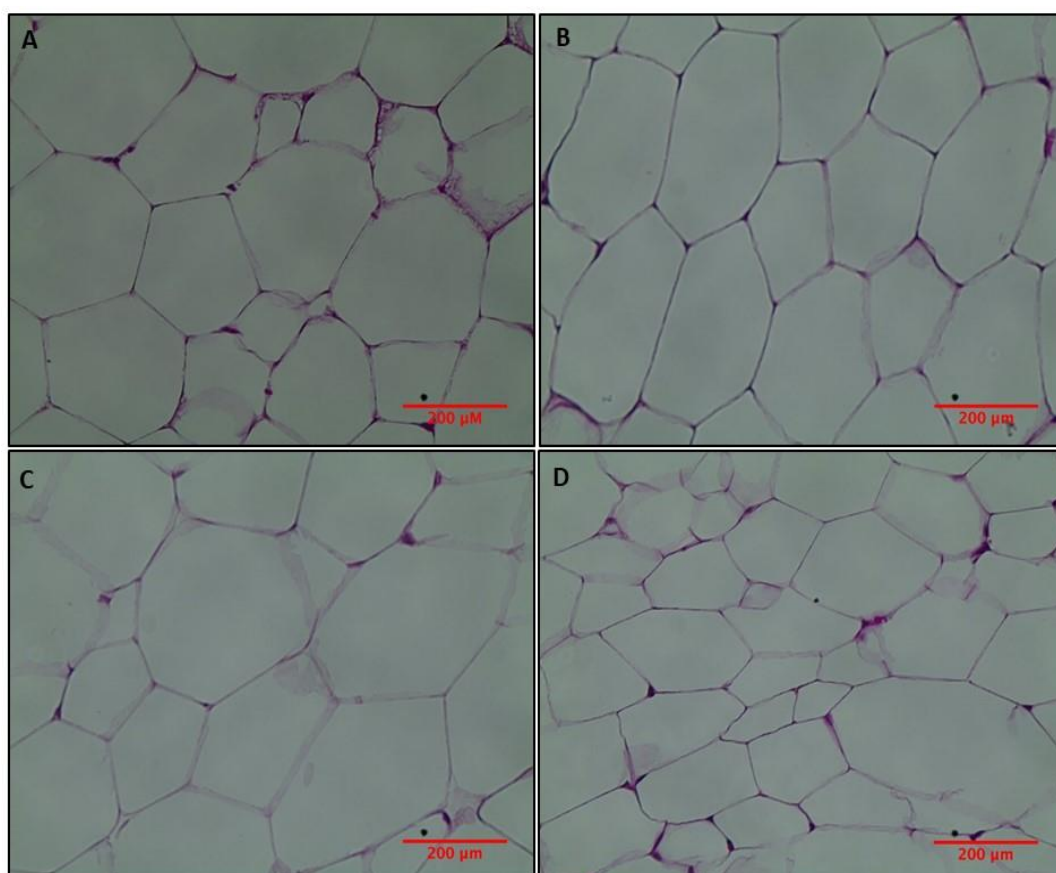
Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3.6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4.62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10μl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10μl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). No 30º DPN, após eutanásia, o TAB retroperitoneal foi mensurado e passou por processamento histológico e coloração com Hematoxilina-Eosina. Tecido Adiposo Branco (TAB). (C-S, n=6), (C-F, n=7), (DHH-S, n=6), (DHH-F, n=7).

Fonte: SILVA, L.O., 2020

6.11 Histologia do Tecido Adiposo Branco Retroperitoneal da prole aos 60 dias

Não foram observadas possíveis diferenças claramente visíveis. As fotos serão analisadas quanto ao número de adipócitos, área e perímetro.

Figura 9 - (A) Histologia do TAB retroperitoneal aos 60 dias de vida no grupo C-S; (B) Histologia do TAB retroperitoneal aos 60 dias de vida no grupo C-F; (C) Histologia do TAB retroperitoneal aos 60 dias de vida no grupo DHH-S; (D) Histologia do TAB retroperitoneal aos 60 dias de vida no grupo DHH-F.



Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3.6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hiperclórica (DHH, 4.62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10μl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10μl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hiperclórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hiperclórica + Fluoxetina (DHH-F). No 60º DPN, após eutanásia, o TAB retroperitoneal foi mensurado e passou por processamento histológico e coloração com Hematoxilina-Eosina. Tecido Adiposo Branco (TAB). (C-S, n=5), (C-F, n=6), (DHH-S, n=5), (DHH-F, n=6).

Fonte: SILVA, L.O., 2020

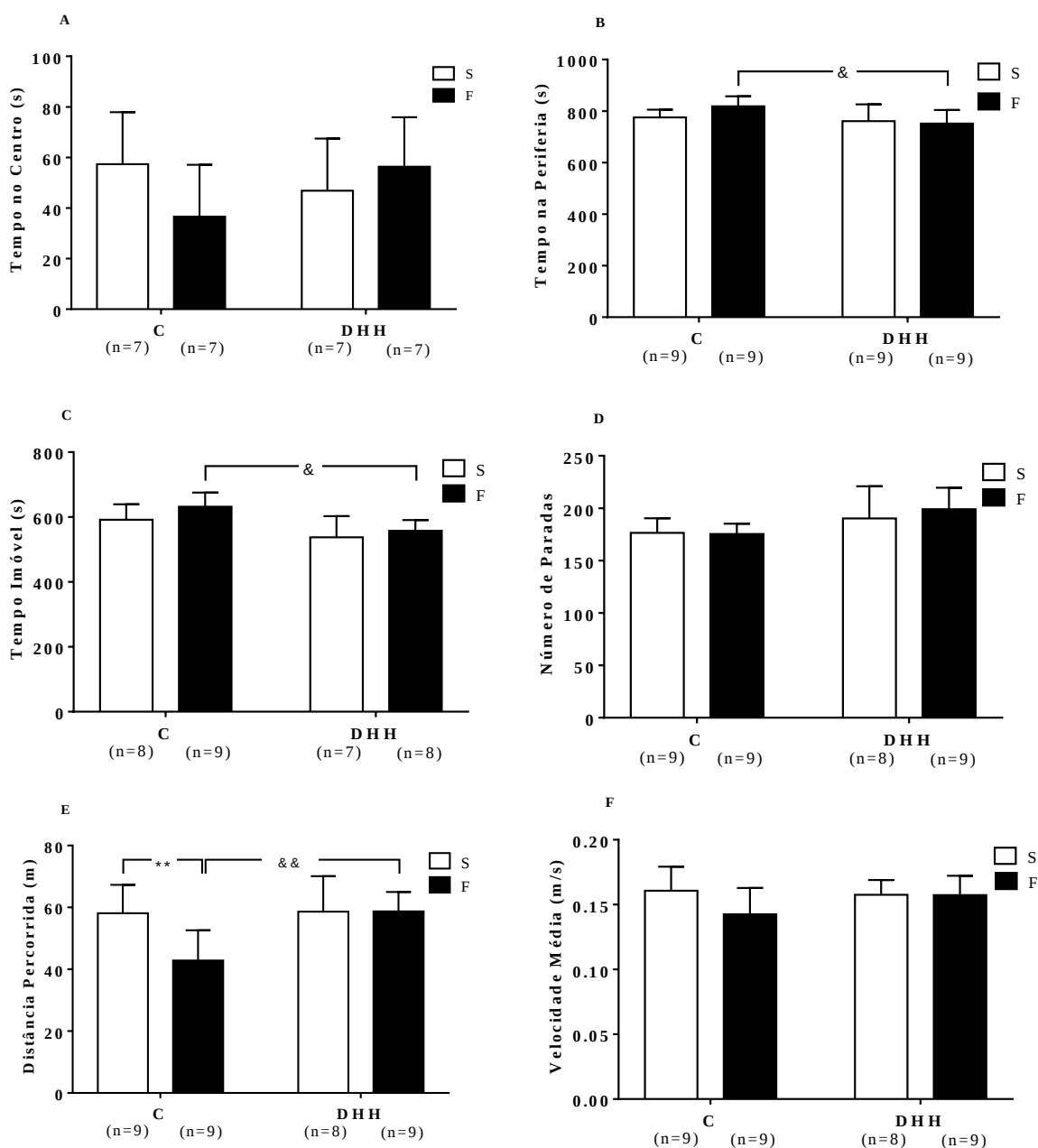
6.12 Avaliação de Comportamento semelhante à ansiedade aos 30 dias

Não houve interação da DHH [$F(1,24) = 0,5331$] ($p=0.47$) e da intervenção farmacológica [$F(1,24) = 0,3578$] ($p=0.55$) sobre o tempo no centro do campo aberto (Figura 10A). Quanto ao tempo na periferia o grupo DHH-F permaneceu por menor tempo na periferia em comparação ao grupo C-F (C-F=818,5±38,99s; DHH-F=751,3±52,81) ($p=0.03$) (Figura 10B).

Em relação ao tempo imóvel o grupo DHH-F apresentou menor imobilidade em comparação ao grupo C-F (C-F=631,7±43,58s; DHH-F=557,8±32,88s) ($p=0.01$) (Figura 10C). A análise do número de paradas não demonstrou interação entre os grupos experimentais de interesse [$F(1,31) = 0,5352$] (Figura 10D).

Quanto a distância percorrida, houve interação do uso neonatal de fluoxetina [$F(1,31)=6,826$] ($p=0.001$), bem como do consumo da DHH [$F(1,31)=5,831$] ($p=0.02$), com o pós-teste evidenciando a menor distância percorrida no grupo C-F quando comparado ao grupos C-S (C-S=58,1±9,19m; C-F=42,81±9,78m) ($p=0.007$) (Figura 10E). Já o grupo DHH-F apresentou maior distância percorrida em comparação ao grupo C-F (C-F=42,81±9,78m; DHH-F=58,72±6,24m) ($p=0.005$) (Figura 9E). Não houve interação da DHH [$F(1,31)=2,607$] ($p=0.11$) e do uso neonatal de fluoxetina [$F(1,31)=1,036$] ($p=0.12$) quando analisada a velocidade média (Figura 10F).

Figura 10 - Avaliação do Comportamento semelhante à ansiedade no Campo Aberto aos 30 dias: (A) Tempo no Centro (s); (B) Tempo na periferia (s); (C) Tempo Imóvel (s); (D) Número de Paradas; (E) Distância Percorrida (m) e (F) Velocidade Média (m/s).



Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3,6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4.62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). No 28º DPN os animais foram avaliados por 15 minutos no Campo Aberto. Dados expressos em MD±DP, (C-S, n=7-9), (C-F, n=7-9), (DHH-S, n=7-9), (DHH-F, n=7-9), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. *Representa diferença entre C-S e C-F; & Diferença entre C-F e DHH-F.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

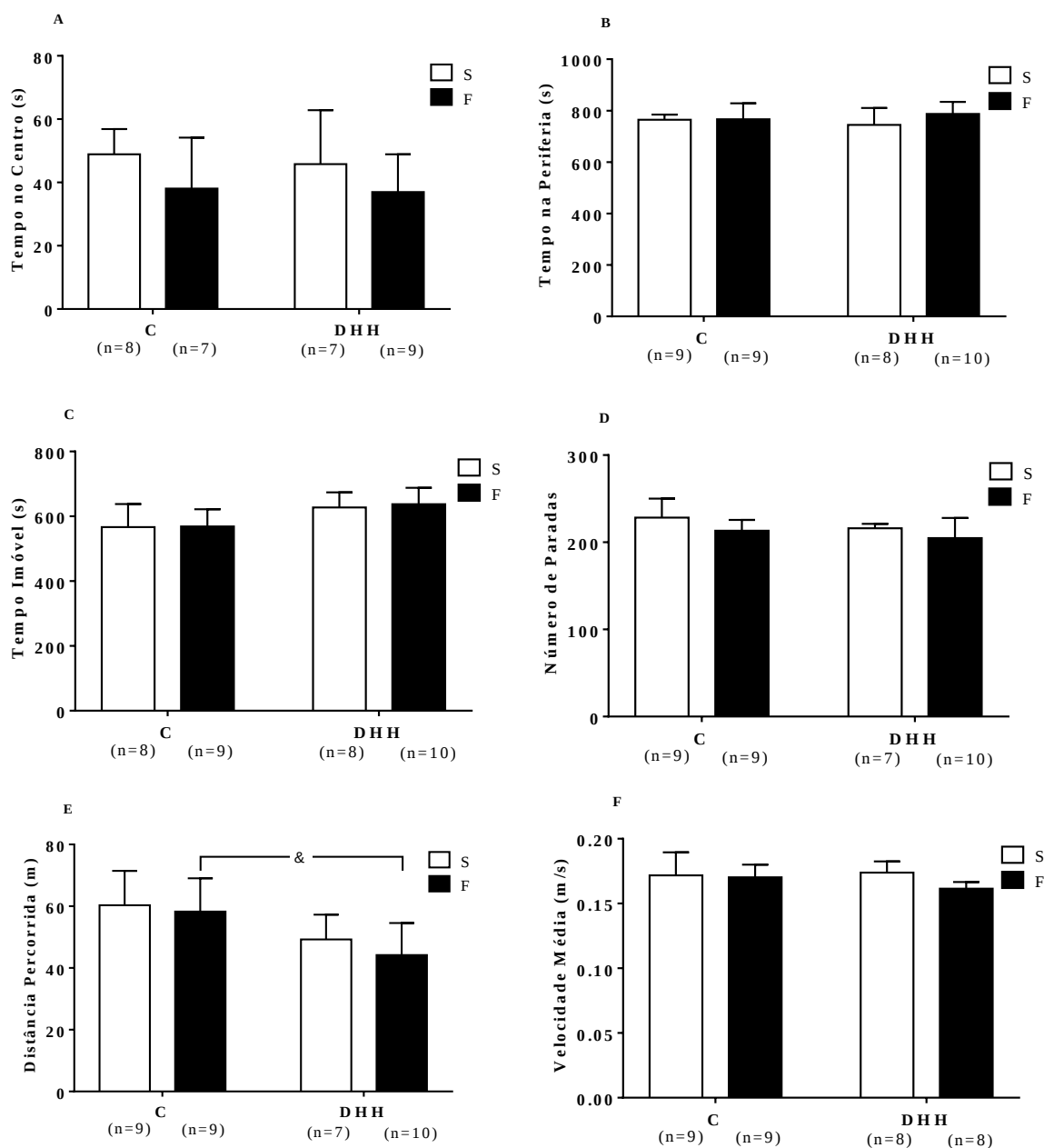
6.13 Avaliação de Comportamento semelhante à ansiedade aos 60 dias

Aos 60 dias também não houve interação da DHH [$F(1,28) = 4,152$] ($p=0.05$) e da intervenção farmacológica [$F(1,28) = 0,1933$] ($p=0.66$) sobre o tempo no centro do campo aberto (Figura 11A). O mesmo ocorreu ao analisar o tempo na periferia em relação ao consumo perinatal de DHH [$F(1,32) = 1,658$] ($p=0.20$) e ao tratamento farmacológico [$F(1,32) = 0,0017$] ($p=0.96$) (Figura 11B).

Também não houve interação da DHH [$F(1,31) = 0,1027$] ($p=0.75$) e da intervenção farmacológica [$F(1,31) = 1,72$] ($p=0.18$) sobre o tempo imóvel (Figura 11C). O mesmo foi observado ao analisar o número de paradas em relação ao consumo perinatal de DHH [$F(1,31) = 4,576$] ($p=0.40$) e ao uso de fluoxetina na lactação [$F(1,31) = 2,902$] ($p=0.09$) (Figura 11D).

Houve interação do uso neonatal de fluoxetina [$F(1,31) = 12,89$] ($p=0.001$) sobre a distância percorrida, com o pós-teste evidenciando uma menor distância percorrida no grupo DHH-F quando comparado ao grupo C-F (C-F=58,28±10,79m;DHH-F=44,2±10,37m) ($p=0.02$) (Figura 11E). Não houve interação da DHH [$F(1,30) = 3,077$] ($p=0.08$) e da intervenção farmacológica [$F(1,30) = 0,6971$] ($p=0.41$) quando analisada a velocidade média (Figura 11F).

Figura 11 - Avaliação do Comportamento semelhante à ansiedade no Campo Aberto aos 60 dias: (A) Tempo no Centro (s); (B) Tempo na periferia (s); (C) Tempo Imóvel (s); (D) Número de Paradas; (E) Distância Percorrida (m) e (F) Velocidade Média (m/s).



Ratas Wistar receberam Dieta Controle (C, 3,6 Kcal/g) ou Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica (DHH, 4,62 kcal/g) do 1º dia de gestação até o 21º dia de lactação. Do 1º ao 21º DPN, em cada ninhada (n=8), metade dos filhotes foi tratada com salina estéril (NaCl 0.9%, 10µl/g, n=4/ninhada) e outra metade com fluoxetina (10mg/Kg, 10µl/g, n=4/ninhada), constituindo os seguintes subgrupos: Dieta Controle + Salina (C-S); Dieta Controle + Fluoxetina (C-F); Dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Salina (DHH-S) e dieta Hiperlipídica/Hipercalórica + Fluoxetina (DHH-F). No 58º DPN os animais foram avaliados por 15 minutos no Campo Aberto. Dados expressos em MD±DP, (C-S, n=8-9), (C-F, n=7-9), (DHH-S, n=7-8), (DHH-F, n=8-10), Two Way Anova, Tukey Pós Teste. &Diferença entre C-F e DHH-F.

Fonte: SILVA, L.O., 2020

7 DISCUSSÃO

O consumo frequente de DHH tem sido observado em indivíduos de todas as faixas etárias, o que torna a utilização desse modelo experimental válido para investigar os desfechos metabólicos e comportamentais relacionados em estudos pré-clínicos. A utilização da dieta experimental foi eficaz para promover alterações na composição corporal e no perfil bioquímico da nutriz, bem como na composição corporal da prole. Já a inibição neonatal da recaptação de 5-HT promoveu efeitos em termos de composição corporal, perfil lipídico e atividade locomotora, sobretudo na prole jovem.

O consumo perinatal de DHH promoveu alterações na glicemia e conteúdo de lipídeos séricos em nutrizes após o desmame, além de maior acúmulo de TAB abdominal e diminuição dos pesos do rim e do fígado, embora não tenha sido observado maior ganho de peso corporal nas mesmas. Em termos de peso corporal, nossos achados corroboram com outros estudos em roedores que também não encontraram aumento no peso corporal em nutrizes consumidoras de DHH (CADENA-BURBANO et al., 2017; LIANG et al., 2016). A ausência de diferenças nesse parâmetro pode estar relacionada a um mecanismo de ponto de ajuste no peso corporal, no qual a redução ou elevação deste, ocorre em resposta a alterações na ingestão alimentar e no gasto energético, com o objetivo de manter um peso corporal alvo (CADENA-BURBANO et al., 2017). Desse modo, no presente estudo, a inexistência de diferenças no peso corporal das nutrizes pode ter ocorrido pelo equilíbrio entre aporte e gasto energéticos, mesmo frente ao maior aporte energético-calórico.

Entretanto, em contraste, alguns estudos encontraram aumento no peso corporal (SASAKI et al., 2014; SASAKI; MCGOWANA; ERB, 2018; WINTHER et al., 2018) e outros estudos não observaram alterações nos níveis de glicose e triglicerídeos séricos (LIANG et al., 2016; NILSSON et al., 2016) em nutrizes, pelo consumo de DHH no mesmo período. Adicionalmente, um estudo que também observou o menor peso do fígado em fêmeas que consumiram dieta hiperlipídica, atribuiu o achado à degradação geral dos tecidos que facilitam a gliconeogênese com aminoácidos, visto que não foram encontradas fibroses ou esteatose, de modo que a hipoplasia pode não afetar suas funções (NILSSON et al., 2016). Nesse sentido, os dados maternos encontrados sugerem que o ganho de peso corporal nas nutrizes consumidoras de DHH, pode não ser necessário para que ocorram alterações metabólicas associadas à modificações na composição corporal e morfológicas em órgãos.

Com relação ao TAB, os resultados deste estudo concordaram com estudos que observaram o maior acúmulo de TAB abdominal (POMAR et al., 2017), bem como resistência à insulina (FUSCO et al., 2019) em nutrízes consumidoras de DHH. O conteúdo de gordura na dieta é considerado um dos principais determinantes da adiposidade corporal e sobretudo, dietas contendo mais de 30% da energia total advinda de gordura, tem sido associadas ao desenvolvimento da obesidade e alterações metabólicas relacionadas (HARIRI; THIBAULT, 2010). Esse fato pode ser atribuído a sua alta eficiência alimentar (gramas de ganho de peso corporal/kJ de alimento consumido), bem como ao efeito da energia da gordura gerar maior ganho de peso corporal do que a energia proveniente de fontes não lipídicas (HARIRI; THIBAULT, 2010). Os achados do presente estudo também podem ser associados ao estresse homeostático causado por um balanço energético positivo sustentado o que leva, ao acúmulo excessivo de gordura nos adipócitos (células de primeira escolha para armazenamento e utilização de energia) e, como consequência, provoca sua expansão em número (hiperplasia) e em tamanho (hipertrofia) (REILLY; SALTIEL, 2017). Como esforço do organismo para restaurar a homeostase, pode ocorrer um novo ponto de ajuste para peso corporal, além de alterações nos níveis circulantes de glicose e lipídios (REILLY; SALTIEL, 2017).

O presente estudo evidenciou que a prole submetida ao maior aporte energético-calórico perinatalmente apresentou maior ganho de peso corporal na lactação e maior adiposidade aos 30 e 60 dias de vida. Já a inibição seletiva da recaptação da serotonina através da fluoxetina, promoveu redução do peso corporal nas idades avaliadas, maior consumo alimentar diário na prole adulta, melhora nos níveis séricos de triglicerídeos e HDL e redução do acúmulo de TAB retroperitoneal, epididimal, mesentérico e TAB abdominal total aos 30 dias, bem como aos 60 dias nos coxins de TAB retroperitoneal e perirenal, além de maior atividade locomotora, sendo estes resultados mais evidentes na prole jovem.

Os achados referentes ao peso corporal concordam com estudos que apontam o consumo perinatal de DHH como responsável pelo maior ganho de peso corporal na prole (CADENA-BURBANO et al., 2017; LIANG et al., 2016; MELO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2011; WINTHER et al., 2018). Em relação ao uso neonatal de fluoxetina, também a partir da utilização desse fármaco do 1-21º DPN, Silva et al., 2014, Galindo et al., 2015 e Pinheiro et al., 2017 observaram a diminuição do peso corporal dos neonatos a partir do 10º, 8º e 11º DPN, respectivamente. Os resultados concordam com estudos que também observaram o menor ganho de peso corporal nos animais tratados com fluoxetina aos 60 dias de vida (DA

SILVA et al., 2014, 2015). O uso de ISRS pode promover ainda, um efeito prolongado, como visto no estudo de Galindo et al., 2015, com menor ganho de peso corporal nos animais de 180 dias de vida tratados neonatalmente com fluoxetina. Estudos relacionam a diminuição do peso corporal a partir da ISRS ao aumento da disponibilidade sináptica de 5-HT no SNC, mediando uma relação inversa com o consumo de energia o que promove, perda de peso e redução na ingestão de alimentos, bem como o estímulo à saciedade (BARROS et al., 2018; VOIGT; FINK, 2015).

O presente estudo não observou diferenças no consumo alimentar da prole aos 30 dias de vidas, porém, aos 60 dias os animais que receberam dieta controle associada à fluoxetina tiveram maior consumo alimentar que o seu controle e que os animais que receberam DHH associada à manipulação farmacológica. Estes dados não coincidem com estudos que observaram aumento na ingestão na prole de nutrízes consumidoras de DHH (MELO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2011). A literatura tem evidenciado a ligação entre obesidade materna e risco aumentado de dependência alimentar na prole, associada à desregulação da dopamina pré-sináptica no núcleo accumbens, região relacionada ao prazer e recompensa (EDLOW, 2017). Em relação ao uso de fluoxetina, nossos dados não corroboram com os de Pinheiro et al., 2017a que, seguindo protocolo de jejum de 3 horas seguido de aplicação de dose aguda de fluoxetina em roedores de 40 dias de vida, não observaram diferenças na ingestão alimentar de roedores submetidos ao tratamento farmacológico e dieta padrão de biotério. Da mesma forma, Silva et al., 2014 após submeterem animais de 45 dias de vida apenas a jejum de 3 horas não observaram alteração promovida para utilização neonatal do fármaco. Outro estudo de Silva et al., 2015 também não encontrou diferenças ao analisar o consumo alimentar aos 7, 14, 21 e 40 dias de vida em roedores submetidos à administração de fluoxetina neonatalmente.

Adicionalmente, a inibição neonatal da recaptação da serotonina promoveu redução do consumo alimentar em ratos com 180 (GALINDO et al., 2015) e 60 dias de vida (DA SILVA et al., 2019). Dessa forma, os estudos sugerem que diferenças obtidas no peso corporal, poderiam não estar relacionadas à ingestão alimentar e sim à modificações no gasto energético (por exemplo, maior temperatura corporal em resposta ao frio; maior atividade da Uncoupling Protein-1 (UCP-1) no tecido adiposo marrom) induzidas pela manipulação farmacológica neonatal do sistema serotoninérgico (DA SILVA et al., 2014, 2015). Silva et al., 2015 também afirmam que a dose e duração da administração da fluoxetina são variáveis que podem afetar seu efeito na ingestão de alimentos. Em sua revisão sistemática incluindo

estudos experimentais que utilizaram ISRS, Barros et al., 2018 apontam a heterogeneidade de métodos de avaliação do consumo alimentar, como uma barreira para associar diretamente a redução de peso corporal à diminuição da ingestão de alimentos.

Em termos de adiposidade, os resultados encontrados concordaram com estudos que observaram maior acúmulo de TAB na prole jovem e adulta a partir do consumo perinatal de DHH (BAYOL; SIMBI; STICKLAND, 2005; LIANG et al., 2016; MELO et al., 2014). O efeito da DHH no aumento de TAB, pode ser observado mesmo em estudos que não ofertam essa dieta no período perinatal. Um estudo que analisou os efeitos do consumo de 3 dietas com 10%, 32% e 45% de lipídios durante 6 meses em ratos machos desmamados, observou maior acúmulo de TAB a partir do consumo da dieta com maior conteúdo lipídico (GHIBAUDI et al., 2002). Roedores machos que receberam DHH por 9 semanas na idade adulta, exibiram maior acúmulo de TAB retroperitoneal e interescapular, bem como níveis plasmáticos mais elevados de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , e IL-6, caracterizando um processo de inflamação crônica (AVTANSKI et al., 2019).

Quanto ao uso de ISRS, nosso modelo experimental mostra o efeito da fluoxetina em atenuar o acúmulo de TAB na prole, mesmo que ela seja tenha recebido maior aporte energético-calórico na fase perinatal. Utilizando o mesmo fármaco no período neonatal em roedores, Galindo et al., 2015 também observaram menor acúmulo de TAB retroperitoneal. O mesmo foi visto no estudo de Silva et al., 2015, no qual obtiveram menor acúmulo de TAB mesentérico e epididimal, após uso de ISRS no período neonatal. Após induzir obesidade na prole, Silva et al., 2019 também observaram a diminuição dos pesos absoluto e relativo dos coxins de TAB mesentérico e epididimal em roedores de 60 dias tratados com fluoxetina na idade jovem. Esse último estudo sugeriu que a inibição da recaptação neonatal de 5-HT, pode alterar a composição corporal como forma de “pré-adaptação” à superalimentação em períodos tardios, ajudando a manter o equilíbrio energético dentro dos limites normais, apesar da supernutrição (DA SILVA et al., 2019). Finalmente, os resultados relacionados ao peso corporal, adiposidade e consumo alimentar verificados neste estudo, em conjunto, sugerem que a ISRS pode promover o desenvolvimento de um fenótipo magro, podendo ocorrer mesmo sem a diminuição do consumo alimentar.

Neste estudo a prole jovem dos grupos que receberam dieta controle ou DHH associada à manipulação farmacológica apresentaram maiores níveis séricos de colesterol total e menores níveis séricos de triglicerídeos em relação aos animais que receberam apenas a

manipulação dietética. Já os grupos submetidos à DHH tiveram maiores níveis de HDL que seus controles. Na prole adulta, apenas o HDL manteve-se aumentado entre os animais que receberam DHH associada à fluoxetina perinatalmente em relação aos animais que receberam dieta controle associada à manipulação farmacológica. Os desfechos encontrados concordam parcialmente com estudos que observaram dislipidemias na prole advinda do consumo de DHH perinatal. Em roedores, foram observados os aumentos de triglicerídeos séricos (CAN et al., 2012), de colesterol total e de lipoproteína de baixa densidade (LDL) na prole (OLIVEIRA et al., 2011). Abordando os efeitos do uso neonatal de ISRS, o presente estudo observou a melhora do perfil lipídico a partir da diminuição dos níveis séricos de triglicerídeos e aumento dos níveis séricos de HDL nos roedores tratados com fluoxetina. Os resultados reforçam a hipótese inicial de que os ISRS podem induzir respostas positivas no organismo em desenvolvimento (BRUMMELTE et al., 2017).

Nossos achados concordam com os resultados obtidos por Silva et al., 2019 que também observaram a diminuição dos níveis séricos de triglicerídeos nos animais tratados com fluoxetina advindos de superalimentação. Adicionalmente, também foi observado a redução do colesterol total e da glicose em estado alimentado nos mesmos animais (SILVA et al., 2019). De forma semelhante, Galindo et al., 2015 observaram resistência aos efeitos hipercolesterolêmicos de uma dieta hipercalórica administrada na vida adulta, a partir da inibição neonatal da recaptação de 5-HT. Poucas evidências demonstram a associação entre 5-HT e o metabolismo dos lipídios de forma esclarecedora. No entanto, os dados obtidos neste estudo reforçam a hipótese de que existe um sistema serotoninérgico periférico independente, no qual a regulação da concentração de lipídios no sangue controlada pela captação e liberação em vários tecidos, como o fígado, pode ocorrer através da ação de diferentes receptores serotoninérgicos, como o 5HT_{2B} (WATANABE et al., 2016). Este receptor, por sua vez, está relacionado a melhora da lipólise nos adipócitos, bem como a gliconeogênese nos hepatócitos através da 5-HT derivada do intestino em roedores (SUMARA et al., 2012).

Ainda em roedores, utilizando o LP533401 para inibir a TPH1, bloqueando a síntese intestinal de 5-HT na dose de 12,5 mg/kg/dia, foi observado a diminuição do colesterol total e de triglicerídeos nos animais tratados, sobretudo nos que consumiram DHH (PAN et al., 2019). Os autores associaram esse resultado a diminuição da expressão do receptor 5-HT_{1A} no hipocampo, bem como a melhora do comportamento semelhante à depressão, visto que distúrbios emocionais estão relacionados a alterações metabólicas e a variações na expressão do receptor citado (PAN et al., 2019). Por outro lado, Silva et al., 2019 atribuíram os achados

nos perfis lipídico e glicídico à possível regulação central dos níveis de 5-HT, ocorrendo em resposta a alterações nos níveis hormonais (insulina, leptina e grelina), que controlam as reservas de energia do corpo, além de serem necessários para a sinalização hipotalâmica, sendo esta responsável pela regulação da disponibilidade de combustíveis para o organismo.

Em relação aos resultados obtidos a partir do campo aberto, vale salientar que o método utilizado neste estudo foi projetado inicialmente em 1934 e seguindo diversos ajustes, tornou-se amplamente utilizado para testes comportamentais, com a capacidade de analisar diversas variáveis (ARAGÃO et al., 2011; HALL, 1934). A prole jovem submetida à DHH associada ao tratamento farmacológico obteve menor tempo na periferia, menor imobilidade e maior distância percorrida que animais que receberam dieta controle associada à fluoxetina. Já a prole adulta submetida à DHH associada à fluoxetina apresentou apenas redução da distância real em relação ao seu controle. Estes achados demonstram o efeito da manipulação farmacológica neonatal na prole jovem submetida ao uso perinatal de maior aporte energético-calórico, pois esta parece se movimentarem mais durante o teste.

Não coincidindo com os nossos achados, estudos observaram o maior comportamento semelhante à ansiedade na prole de nutrízes consumidoras de DHH (KANG et al., 2014; PAGE; JONES; ANDAY, 2014; SASAKI et al., 2013). Outros estudos apontam para o desenvolvimento do comportamento semelhante à ansiedade em roedores de forma dependente da idade, sendo encontrado sobretudo na prole adulta (GIRIKO et al., 2013; PELEG-RAIBSTEIN; LUCA; WOLFRUM, 2012; SASAKI et al., 2013), em comparação à prole jovem (SPEIGHT et al., 2017). Nesse sentido, Sasaki et al., 2014 afirmam que perfis distintos de comportamentos podem se desenvolver entre animais jovens e adultos como resposta ao estresse, sendo essas diferenças possivelmente relacionadas à maior reatividade ao estresse na fase inicial da vida em comparação à idade adulta.

Nesse contexto, podemos considerar a hipótese de que o comportamento abordado em roedores evolui a partir do desmame (DPN 22-24) (ALBANI et al., 2015), embora possa apresentar-se de forma não definitiva na prole jovem (GANELLA; KIM, 2014). Essa maior variabilidade no comportamento semelhante à ansiedade no primeiro mês de vida, pode se manifestar através de variações nos mecanismos exploratórios, especificamente, pelo aumento no desejo de explorar lugares novos e uma capacidade de avaliação de risco subdesenvolvida em roedores jovens (ALBANI et al., 2015). Deve-se considerar ainda nesses últimos, a

imaturidade funcional do hipocampo, região relacionada aos comportamentos emocionais que só atinge a maturidade no final da quarta semana pós-natal (GANELLA; KIM, 2014).

Quanto aos parâmetros que denotam maior atividade locomotora que pode ser interpretada como hiperatividade, vale salientar que esta condição envolve sintomas generalizados como desatenção e impulsividade (SULLIVAN et al., 2015). Influências ambientais durante períodos iniciais da vida também são importantes para o seu desenvolvimento (FERNANDES et al., 2012). Estudos associam essa condição ao consumo materno de DHH, bem como aos níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias e à sobrevivência neuronal embrionária reduzida em regiões cerebrais críticas para a regulação comportamental, como o hipocampo (EDLOW, 2017; FERNANDES et al., 2012; KANG et al., 2014). Além disso, o consumo materno de DHH pode perturbar os neurocircuitos e neurotransmissores hipotalâmicos da prole como, por exemplo, as vias serotoninérgica e dopaminérgica que também estão envolvidas no estabelecimento de hiperatividade e que, portanto, tornam esta associação plausível (FERNANDES et al., 2012).

Em relação ao uso de ISRS, estudos têm demonstrado divergências quanto ao efeito comportamental observado. Uma revisão observou que ISRS aplicados em doses variáveis em roedores de diferentes idades, foram pouco eficazes como redutores do comportamento semelhante à ansiedade no campo aberto (PRUT; BELZUNG, 2003). Já Speight et al., 2017 observando a maior distância percorrida em roedores no 23º DPN, afirmaram que este dado, poderia ser interpretado como redutor do comportamento semelhante à ansiedade em roedores. Tratando dos efeitos na composição corporal, metabólicos e comportamentais obtidos de forma variável nas idades avaliadas no presente estudo, deve-se considerar o grande número de sistemas influenciados pela 5-HT que geralmente dificultam a análise de fenótipos resultantes do uso de ISRS em períodos críticos. Borue et al., 2007 afirmam que os efeitos da inibição da recaptação de 5-HT podem ser sutis no cérebro em desenvolvimento, podendo se tornar aparentes apenas na idade adulta em roedores. Como nossos resultados foram observados de forma mais aguda na prole jovem, vê-se a necessidade de novos estudos que esclareçam os efeitos da ISRS neonatal em aspectos metabólicos e comportamentais a curto, médio e longo prazo.

8 CONCLUSÃO

A inibição neonatal da recaptação de 5-HT, através da fluoxetina, atenuou os efeitos deletérios do consumo perinatal de dieta hiperlipídica/hipercalórica, promovendo reduções no peso corporal e no acúmulo de TAB, bem como a melhora do perfil lipídico, demonstrando ainda um efeito modulador nos parâmetros indicadores da hiperatividade obtidos a partir do campo aberto nas idades avaliadas. Sendo assim, desenvolvimento de distúrbios metabólicos na nutriz consumidora de DHH, pode não ocorrer de forma dependente ao ganho de peso corporal, bem como alterações no peso corporal e na adiposidade na prole, podem ocorrer independente das variações na ingestão alimentar. Esses resultados sugerem o desenvolvimento de adaptações fenotípicas induzida pela inibição neonatal da recaptação de 5-HT em períodos críticos, resultando em uma melhor capacidade de adaptação metabólica mesmo frente ao maior aporte energético-calórico advindo do consumo perinatal de DHH.

REFERÊNCIAS

- ALBANI, S. H. et al. Behavior in the elevated plus maze is differentially affected by testing conditions in rats under and over three weeks of age. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, Lausanne, Switzerland, v. 9, p. 1–10, 2015.
- ANDRADE, R. G.; PEREIRA, R. A.; SICHIERI, R. Consumo alimentar de adolescentes com e sem sobrepeso do Município do Rio de Janeiro TT - Food intake in overweight and normal-weight adolescents in the city of Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1485–1495, 2003.
- ARAGÃO, R. DA S. et al. Automatic system for analysis of locomotor activity in rodents-A reproducibility study. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, Netherlands, v. 195, n. 2, p. 216–221, 2011.
- AVTANSKI, D. et al. Characterization of inflammation and insulin resistance in high-fat diet-induced male C57BL/6J mouse model of obesity. **Animal Models and Experimental Medicine**, Hoboken, New Jersey, v. 00, p. 1–7, 2019.
- AZMITIA, E. C. Modern views on an ancient chemical: Serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. **Brain Research Bulletin**, New York, v. 56, n. 5, p. 413–424, 2001.
- BAIÃO, M. R.; DESLANDES, S. F. Práticas alimentares na gravidez: um estudo com gestantes e puérperas de um complexo de favelas do Rio de Janeiro (RJ, Brasil). **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, n. suppl 2, p. 3199–3206, 2010.
- BARROS, M. DA L. D. et al. Long term effects of neonatal exposure to fluoxetine on energy balance: A systematic review of experimental studies. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, Netherlands, v. 833, p. 298–306, 2018.
- BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil : tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, p. 181–191, 2003.
- BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; STICKLAND, N. C. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **Journal of Physiology**, Cambridge, London, v. 567, n. 3, p. 951–961, 2005.
- BILBO, S. D.; TSANG, V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **The FASEB Journal**, Hoboken, New Jersey, v. 24, n. 6, p. 2104–2115, 2010.
- BOLTON, J. L.; BILBO, S. D. Developmental programming of brain and behavior by perinatal diet: focus on inflammatory mechanisms. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, Neuilly-sur-Seine, France, v. 16, n. 3, p. 307–320, 2014.
- BONNIN, A.; LEVITT, P. Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain. **Neuroscience**, New York, v. 197,

p. 1–7, 2011.

BORUE, CHEN, G. Developmental Effects of SSRI's – Lessons learned from Animal Studies. **International Journal of Developmental Neuroscience**, Hoboken, New Jersey, v. 25, n. 6, p. 341–347, 2007.

BREISCH, S.; ZEMLAN, F.; HOEBEL, B. Hyperphagia and Obesity Following Serotonin Depletion by Intraventricularp-Chlorophenylalanine. **Science**, New York, v. 192, n. 4237, p. 382–385, 1976.

BRITO, M. N. et al. Differential activation of the sympathetic innervation of adipose tissues by melanocortin receptor stimulation. **Endocrinology**, Los Angeles, California, v. 148, n. 11, p. 5339–5347, 2007.

BRUMMELTE, S. et al. Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. **Neuroscience**, New York, v. 342, p. 212–231, 2017.

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**, Abingdon, England, v. 22, n. 2, p. 98–109, 2017.

CAN, Ö. D. et al. The effect of simvastatin treatment on behavioral parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. **Behavioural Pharmacology**, London, v. 23, n. 5–6, p. 582–592, 2012.

CARHART-HARRIS, R. L.; NUTT, D. J. Serotonin and brain function: A tale of two receptors. **Journal of Psychopharmacology**, Thousand Oaks, California, v. 31, n. 9, p. 1091–1120, 2017.

CEMBRANEL, F. et al. Relação entre consumo alimentar de vitaminas e minerais, índice de massa corporal e circunferência da cintura: um estudo de base populacional com adultos no Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 12, p. 1–17, 2017.

CLARO, R. M. et al. Consumo de alimentos não saudáveis relacionados a doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 257–265, 2015.

CLERGET-FROIDEVAUX, M.-S.; SACHS, L. M. High-Fat Diet and Pregnancy: Are You Ready To Take Risks for Your Offspring? **Endocrinology**, Thousand Oaks, California, v. 158, n. 9, p. 2716–2718, 2017.

COSTA-SILVA, J. H.; SIMÕES-ALVES, A. C.; FERNANDES, M. P. Developmental origins of cardiometabolic diseases: Role of the maternal diet. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, Switzerland, v. 7, p. 1–8, Nov. 2016.

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

DESAI, M.; HALES, C. N. Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. **Biological Reviews**, Cambridge, London, v. 72, n. 2, p. 329–348, 1997.

DÍAZ-URBINA, D. et al. Effects of a high-fat diet on behavioral eating patterns. **Acta Colombiana de Psicología**, Bogotá, v. 21, n. 1, p. 95–115, 2018.

DREWNOWSKI A, KURTH C, HOLDEN-WILTSE J, S. J. Food preferences in human obesity: carbohydrates versus fats. **Appetite**, London, v. 18, n. 3, p. 207–21, 1992.

DREWNOWSKI, A. Why do we like fat? **Journal of the American Dietetic Association**, New York, v. 97, n. 7, p. S58–62., 1997.

EDLOW, A. G. Maternal obesity and neurodevelopmental and psychiatric disorders in offspring. **Prenatal Diagnosis**, New York, v. 37, n. 1, p. 95–110, 2017.

FARIAS, G.; OSÓRIO, M. M. Alimentary profile of under-five year old children. **Revista de Nutricao**, Campinas, v. 18, n. 6, p. 793–802, 2005.

FERNANDES, C. et al. Prenatal exposure to maternal obesity leads to hyperactivity in offspring. **Molecular Psychiatry**, Houndmills, Basingstoke, UK, v. 17, p. 1159–1160, 2012.

FERRETTI, F.; MARIANI, M. Simple vs. complex carbohydrate dietary patterns and the global overweight and obesity pandemic. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, Switzerland, v. 14, n. 10, 2017.

FISBERG, M. et al. Obesogenic environment – intervention opportunities. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 92, n. 3, p. S30–S39, 2016.

FUSCO, S. et al. Maternal insulin resistance multigenerationally impairs synaptic plasticity and memory via gametic mechanisms. **Nature Communications**, London, v. 10, n. 1, p. 1–17, 2019.

GALINDO, L. C. M. 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**, Hoboken-NJ, v. 46, p. 76–81, 2015.

GANELLA, D. E.; KIM, J. H. Developmental rodent models of fear and anxiety: From neurobiology to pharmacology. **British Journal of Pharmacology**, London, v. 171, n. 20, p. 4556–4574, 2014.

GARFIELD, A. S.; HEISLER, L. K. Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. **Journal of Physiology**, Cambridge, London, v. 587, n. 1, p. 49–60, 2009.

GASPAR, P.; CASES, O.; MAROTEAUX, L. The developmental role of serotonin: News from mouse molecular genetics. **Nature Reviews Neuroscience**, London, v. 4, n. 12, p. 1002–1012, 2003.

GHIBAUDI, L. et al. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. **Obesity Research**, Baton-Rouge, Luisiana, v. 10, n. 9, p. 956–963, 2002.

GIRIKO, C. Á. et al. Delayed physical and neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in the rat offspring of dams fed a high-fat diet. **International Journal of Developmental Neuroscience**, Hoboken, New Jersey, v. 31, n. 8, p. 731–739, 2013.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S. Early life events and their consequences for later disease: A life history and evolutionary perspective. **American Journal of Human Biology**, New York, v. 19, p. 1–19, 2007.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; LOW, F. M. The role of developmental plasticity and epigenetics in human health. **Birth Defects Research**, Hoboken, New Jersey, v. 93, p. 12–18, 2011.

GOMES, C. DE B. et al. Hábitos de alimentação em mulheres grávidas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 7, p. 325–332, 2015.

GOMES, K. E. P. DE S. et al. Food consumption pattern and obesity in preschool children in Feira de Santana, Bahia, Brazil. **Revista de Nutricao**, Campinas, v. 30, n. 5, p. 639–650, 2017.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, Baltimore, Maryland, v. 18, n. 3, p. 385–403, 1934.

HARDEBO, J. E.; OWMAN, C. Barrier mechanisms for neurotransmitter monoamines and their precursors at the blood-brain interface. **Annals of Neurology**, New York, v. 8, n. 1, p. 1–11, 1980.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 23, n. 2, p. 270–299, 2010.

HEDNER, J. et al. Developmental Variations in CSF Monoamine Metabolites during Childhood. **Biology of the Neonate**, Basel, Switzerland, v. 49, p. 190–197, 1986.

HEISLER, L. K. et al. Serotonin Reciprocally Regulates Melanocortin Neurons to Modulate Food Intake. **Neuron**, Cambridge, v. 51, n. 2, p. 239–249, 2006.

HENDRICKS, T. et al. Accordingly, neonatal fluoxetine-treated animals had altered adult emotional behavior, having a tendency towards anxiety and depression-related phenotypes. **Neuron**, Cambridge, v. 37, n. 2, p. 233–247, 2003.

HOMBERG, J. Serotonin and decision making processes. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, New York, v. 36, n. 1, p. 218–236, 2012.

HOMBERG, J. R.; SCHUBERT, D.; GASPAR, P. New perspectives on the neurodevelopmental effects of SSRIs. **Trends in Pharmacological Sciences**, Barking, England, v. 31, n. 2, p. 60–65, 2010.

HORNUNG, J.-P. The human raphe nuclei and the serotonergic system. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, Amsterdam, v. 26, n. 4, p. 331–43, 2003.

HUANG, X. F.; HAN, M.; STORLIEN, L. H. Differential expression of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor mRNAs in mice prone, or resistant, to chronic high-fat diet-induced obesity. **Molecular Brain Research**, Amsterdam, v. 127, n. 1–2, p. 39–47, 2004.

KANG, S. S. et al. Dietary intervention rescues maternal obesity induced behavior deficits and neuroinflammation in offspring. **Journal of Neuroinflammation**, London, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2014.

KEPSEK, L.-J.; HOMBERG, J. R. The neurodevelopmental effects of serotonin: A behavioural perspective. **Behavioral Brain Research**, Amsterdam, v. 277, p. 3–13, 2015.

KIYOHARA, C.; YOSHIMASU, K. Molecular epidemiology of major depressive disorder. **Environmental Health and Preventive Medicine**, London, v. 14, n. 2, p. 71–87, 2009.

KRAUS, C. et al. Serotonin and neuroplasticity – Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v. 77, p. 317–326, 2017.

LAWLOR, D. A. et al. Epidemiologic evidence for the fetal overnutrition hypothesis: Findings from the Mater-University study of pregnancy and its outcomes. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, Maryland, v. 165, n. 4, p. 418–424, 2007.

LEIBOWITZ, S. F.; WEISS, G. F.; SUH, J. S. Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin's inhibitory effect on feeding behavior. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, New York, v. 37, n. 4, p. 735–742, 1990.

LESCH, K. P. et al. Anxiety-related traits in mice with modified genes of the serotonergic pathway. **European journal of pharmacology**, Amsterdam, v. 480, n. 1–3, p. 185–204, 2003.

LESCH, K. P.; WAIDER, J. Serotonin in the Modulation of Neural Plasticity and Networks: Implications for Neurodevelopmental Disorders. **Neuron**, Cambridge, v. 76, n. 1, p. 175–191, 2012.

LEVIN, B. E.; DUNN-MEYNELL, A. A. Dysregulation of arcuate nucleus preproneuropeptide Y mRNA in diet-induced obese rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, Maryland, v. 272, n. 5, p. 1365–1370, 1997.

LEVIN, B. E.; DUNN-MEYNELL, A. A. Maternal obesity alters adiposity and monoamine function in genetically predisposed offspring. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, Maryland, v. 283, n. 5, p. 1087–1093, 2002.

LEVY, M. J. F. et al. 5-HTT independent effects of fluoxetine on neuroplasticity. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

LI, Y. et al. Dietary patterns and depression risk: A meta-analysis. **Psychiatry Research**, Amsterdam, v. 253, p. 373–382, 2017.

LIANG, X. et al. Maternal high-fat diet during lactation impairs thermogenic function of brown adipose tissue in offspring mice. **Scientific Reports**, London, v. 6, p. 1–12, 2016.

LIBERATI, A. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. **Journal of Clinical Epidemiology**, Amsterdam, v. 62, n. 10, p. 1–34, 2009.

LUDWIG, D. S. et al. Dietary fat: From foe to friend? **Science**, New York, v. 362, n. 6416, p. 764–770, 2018.

LUGO-CANDELAS, C. et al. Associations between brain structure and connectivity in infants and exposure to selective serotonin reuptake inhibitors during pregnancy. **JAMA Pediatrics**, Chicago, v. 172, n. 6, p. 525–533, 2018.

MATEOS, S. S. et al. Circadian levels of serotonin in plasma and brain after oral administration of tryptophan in rats. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, Copenhagen, Denmark, v. 104, n. 1, p. 52–59, 2009.

MELO, A. M. et al. Hypothalamic endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in offspring of mice dams fed high-fat diet during pregnancy and lactation. **Metabolism: Clinical and Experimental**, New York, v. 63, n. 5, p. 682–692, 2014.

MILLARD, S. J.; WESTON-GREEN, K.; NEWELL, K. A. The effects of maternal antidepressant use on offspring behaviour and brain development: Implications for risk of neurodevelopmental disorders. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, Fayetteville, New York, v. 80, p. 743–765, 2017.

MURPHY, D. L.; LESCH, K. P. Targeting the murine serotonin transporter: Insights into human neurobiology. **Nature Reviews Neuroscience**, London, v. 9, n. 2, p. 85–96, 2008.

NCD RISK FACTOR COLLABORATION. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975–2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. **The Lancet**, Reino Unido, v. 390, p. 2627–2642, 2017.

NEARY, N. M.; GOLDSTONE, A. P.; BLOOM, S. R. Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 153–160, 2004.

NILSSON, J. et al. A low-carbohydrate high-fat diet decreases lean mass and impairs cardiac function in pair-fed female C57BL/6J mice. **Nutrition & Metabolism**, London, v. 13, n. 79, p. 1–12, 2016.

NISHITANI, N. et al. Manipulation of dorsal raphe serotonergic neurons modulates active coping to inescapable stress and anxiety-related behaviors in mice and rats. **Neuropsychopharmacology**, London, v. 44, n. 4, p. 721–732, 2018.

OH, C.-M. et al. Regulation of systemic energy homeostasis by serotonin in adipose tissues. **Nature Communications**, London, v. 6, n. 1, p. 1–12, 2015.

OLIVEIRA, L. DOS S.; SOUZA, S. L. DE; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Behavioral satiety sequence : an experimental model for studying feeding behavior. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 619–628, 2011.

OLIVEIRA, T. W. S. et al. A perinatal palatable high-fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adult rats. **Lipids**, Hoboken, New Jersey, v. 46, n. 11, p. 1071–1074, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Physical status**: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: OMS, 1995.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Encuesta Multicêntrica**: salud, bien estar y envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe. Washington: OPAS, 2001.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Growth reference data for 0–5 years**. Geneva: OMS, 2007a.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Child growth standards**: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for height and body mass index-for-age: methods and development. Geneva: OMS, 2007b.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Noncommunicable diseases**. Geneva: OMS, 2018.

ORNOY, A.; KOREN, G. Selective serotonin reuptake inhibitor use in pregnant women; pharmacogenetics, drug-drug interactions and adverse effects. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, London, v. 14, n. 3, p. 247–259, 2018.

PAGE, K. C.; JONES, E. K.; ANDAY, E. K. Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, Maryland, v. 306, n. 8, p. 527–537, 2014.

PAN, Q. et al. Selective inhibition of intestinal 5-HT improves neurobehavioral abnormalities caused by high-fat diet mice. **Metabolic Brain Disease**, New York, v. 34, p. 747–761, 2019.

PAWLUSKI, J. L.; GEMMEL, M. Perinatal SSRI medications and offspring hippocampal plasticity: interaction with maternal stress and sex. **Hormones**, Athens, Greece, v. 17, n. 1, p. 15–24, 2018.

PAWLUSKI, J. L.; LI, M.; LONSTEIN, J. S. Serotonin and motherhood: From molecules to mood. **Frontiers in Neuroendocrinology**, Orlando, n. 53, p. 1–13, abr. 2019.

PELEG-RAIBSTEIN, D.; LUCA, E.; WOLFRUM, C. Maternal high-fat diet in mice programs emotional behavior in adulthood. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam., v. 233, n. 2, p. 398–404, 2012.

PINHEIRO, I. L. et al. Neonatal fluoxetine exposure modulates serotonergic neurotransmission and disturb inhibitory action of serotonin on food intake. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 357–358, p. 65–70, 2017a.

PINHEIRO, I. L. et al. Perinatal serotonergic activity: A decisive factor in the control of food intake. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 535–544, 2017b.

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

POPKIN, B. M. Nutrition Transition and the Global Diabetes Epidemic. **Current Diabetes Reports**, Philadelphia, v. 15, n. 9, 2015.

POPKIN, B. M.; ADAIR, LI. S.; NG, S. W. Now and then: The Global Nutrition Transition: The Pandemic of Obesity in Developing Countries. **Nutrition Reviews**, Washington, v. 70, n. 1, p. 3–21, 2012.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam v. 463, p. 3–33, 2003.

REILLY, S. M.; SALTIEL, A. R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. **Nature Reviews Endocrinology**, London, v. 13, n. 11, p. 633–643, 2017.

REN, J. et al. Anatomically defined and functionally distinct dorsal raphe serotonin sub-systems. **Cell**, Cambridge, Massachusetts, v. 175, n. 2, p. 1–16, 2018.

RICE, D.; BARONE, S. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. **Environmental Health Perspectives, North Carolina**, v. 108, p. 511–523, 2000.

RODRIGUES, P. R. M. et al. Multiple risk behaviors for non-communicable diseases and associated factors in adolescents. **Revista de Nutricao**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 185–197, 2016.

SASAKI, A. et al. Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. **Neuroscience**, New York, v. 240, p. 1–12, 2013.

SASAKI, A. et al. Maternal high-fat diet alters anxiety behavior and glucocorticoid signaling in adolescent offspring. **Neuroscience**, New York, v. 272, p. 92–101, 2014.

SASAKI, A.; MCGOWANA, P. O.; ERB, S. A study of the effects of maternal high fat diet on behavioural responses to acute and repeated administrations of cocaine in rat offspring. **Neuroscience Letters**, Limerick, Ireland, v. 673, p. 157–162, 2018.

SCHMID, M.; GUILLAUME, F. The role of phenotypic plasticity on population differentiation. **Heredity**, London, v. 119, n. 4, p. 214–225, 2017.

SCHNEIDER, B. C. et al. Diet and body fat in adolescence and early adulthood: a systematic review of longitudinal studies. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 5, p. 1539–1552, 2017.

- SGHENDO, L.; MIFSUD, J. Understanding the molecular pharmacology of the serotonergic system: Using fluoxetine as a model. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 64, n. 3, p. 317–325, 2012.
- SILVA, A. I. et al. Fluoxetine treatment of rat neonates significantly reduces oxidative stress in the hippocampus and in behavioral indicators of anxiety later in postnatal life. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 92, n. 4, p. 330–337, 2014.
- SILVA, A. I. et al. Fluoxetine induces lean phenotype in rat by increasing the brown/white adipose tissue ratio and UCP1 expression. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, New York, v. 47, n. 4, p. 309–318, 2015.
- SILVA, A. I. et al. Body composition, biochemical, behavioral and molecular alterations in overfed rats after chronic exposure to SSRI. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 356, p. 62–70, 2019.
- SILVA, F. M. O. DA et al. Fatores ambientais associados à obesidade em população adulta de um município brasileiro de médio porte. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 5, p. 1–14, 2019.
- SOUZA, S. L. DE; CASTRO, R. M. DE; NOGUEIRA, M. I. Comportamento alimentar neonatal. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 3, n. 3, p. 241–246, 2003.
- SPEIGHT, A. et al. Exposure to a maternal cafeteria diet changes open-field behaviour in the developing offspring. **International Journal of Developmental Neuroscience**, Hoboken, New Jersey, v. 57, p. 34–40, 2017.
- SPENCER, S. J. Perinatal programming of neuroendocrine mechanisms connecting feeding behavior and stress. **Frontiers in Neuroscience**, Lausanne Switzerland, v. 7, p. 1–13, 2013.
- STEARNS, S.; DE JONG, G.; NEWMAN, B. The effects of phenotypic plasticity on genetic correlations. **Trends in Ecology and Evolution**, Barking, England, v. 6, n. 4, p. 122–126, 1991.
- STUNES, A. K. et al. Adipocytes express a functional system for serotonin synthesis, reuptake and receptor activation. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, Oxford v. 13, n. 6, p. 551–558, 2011.
- SULLIVAN, E. L. et al. Chronic Consumption of a High Fat Diet During Pregnancy Causes Perturbations in the Serotonergic System and Increased Anxietylike Behavior in Nonhuman Primate Offspring. **Journal of Neuroscience**, Baltimore, Maryland, v. 30, n. 10, p. 3826–3830, 2010.
- SULLIVAN, E. L. et al. The Impact of Maternal High-Fat Diet Consumption on Neural Development and Behavior of Offspring. **International journal of obesity supplements**, London, v. 2, p. S7–S13, 2012.
- SULLIVAN, E. L. et al. Maternal high-fat diet programming of the neuroendocrine system and behavior. **Hormones and Behavior**, New York, v. 76, p. 153–161, 2015.

SULLIVAN, E. L.; SMITH, M. S.; GROVE, K. L. Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. **Neuroendocrinology**, Basel, Switzerland, v. 93, n. 1, p. 1–8, 2011.

SUMARA, G. et al. Gut-derived serotonin is a multifunctional determinant to fasting adaptation. **Cell Metabolism**, Cambridge, Massachusetts, v. 16, p. 588–600, 2012.

SUNDSTRÖM, E. et al. Neurochemical differentiation of human bulbospinal monoaminergic neurons during the first trimester. **Developmental Brain Research**, Amsterdam, v. 75, n. 1, p. 1–12, 1993.

TEISSIER, A. et al. Activity of raphe serotonergic neurons controls emotional behaviors. **Cell Reports**, Cambridge, Massachusetts, v. 13, n. 9, p. 1965–1976, 2015.

THOMPSON, J. R. et al. Exposure to a high-fat diet during early development programs behavior and impairs the central serotonergic system in juvenile non-human primates. **Frontiers in Endocrinology**, Lausanne, Switzerland, v. 8, p. 1–19, 2017.

TUDISCO, E. S. et al. Comparação do padrão alimentar de mães de baixo nível sócio-econômico durante a fase de lactação e após o desmame. **Revista de Saude Publica**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 133–145, 1985.

VELASCO, P. C. et al. Maternal intake of trans -unsaturated or interesterified fatty acids during pregnancy and lactation modifies mitochondrial bioenergetics in the liver of adult offspring in mice. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, London, v. 118, n. 1, p. 41–52, 2017.

VOIGT, J.-P.; FINK, H. Serotonin controlling feeding and satiety. **Behavioral Brain Research**, Amsterdam, v. 277, p. 14–31, 2015.

WATANABE, H. et al. Serotonin Improves High Fat Diet Induced Obesity in Mice. **PloS one**, San Francisco, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2016.

WEST-EBERHARD, M. J. Alternative adaptations, speciation, and phylogeny (A Review). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 83, n. 5, p. 1388–1392, 1986.

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic Accommodation Adaptive Innovation. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, New Jersey, v. 304, p. 610–618, 2005.

WHITAKER-AZMITIA, P. M. et al. Serotonin as a developmental signal. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 73, p. 19–29, 1996.

WHITAKER-AZMITIA, P. M. Serotonin and brain development: Role in human developmental diseases. **Brain Research Bulletin**, Phoenix, v. 56, n. 5, p. 479–485, 2001.

WHITAKER-AZMITIA, P. M.; AZMITIA, E. C. Autoregulation of fetal serotonergic neuronal development: Role of high affinity serotonin receptors. **Neuroscience Letters**, Limerick, Ireland, v. 67, n. 3, p. 307–312, 1986.

WINTHER, G. et al. Maternal high-fat diet programs offspring emotional behavior in adulthood. **Neuroscience**, New York, v. 388, p. 87–101, 2018.

WYLER, S. C. et al. Serotonergic control of metabolic homeostasis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, Lausanne, Switzerland, v. 11, p. 1–9, 2017.

XU, Y. et al. 5-HT₂CRs Expressed by Pro-Opiomelanocortin Neurons Regulate Energy Homeostasis. **Neuron**, Cambridge, Massachusetts, v. 60, n. 4, p. 582–589, 2008.

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

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



**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones 2126 8840 | 2126 8351
www.ccb.ufpe.br

Recife, 19 de junho de 2018.

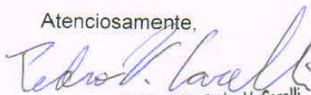
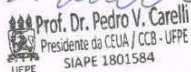
Ofício nº 43/18

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

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

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/08/2018 a 28/02/2020
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogênicos
Nº de animais	160
Peso/Idade	220g/ 90-120 dias
Sexo	Macho (130) fêmea (30)
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE

Atenciosamente,

APÊNDICE A – ARTIGO DE REVISÃO SISTEMÁTICA

TITLE: Maternal exposure to high-fat diet modifies anxiety-like/depression-like behaviors and compounds of Serotonergic System in offspring: a preclinical systematic review

AUTHORS: Luana Olegário da Silva^a, Raquel da Silva Aragão^{a,b,c,e}, Manuella da Luz Duarte Barros^b, Kelli Nogueira Ferraz-Pereira^{a,e}, Isabeli Lins Pinheiro^{c,e}, Lígia Cristina Monteiro Galindo^{d,a,e}.

AFFILIATIONS:

^aGraduate Program in Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

^bGraduate Program in Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife – PE, Brazil.

^cPhysical Education and Sport Sciences Nucleus, Universidade Federal de Pernambuco, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

^d Department of Anatomy, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^e Unity of Studies in Nutrition and Phenotypic Plasticity, Department of Nutrition, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

Corresponding author: Lígia Cristina Monteiro Galindo, Centro de Biociências, Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Moraes Rego, nº1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil. E-mail: ligia.mgalindo@ufpe.br

ABSTRACT

Maternal nutrition affects offspring physiology and behavior including susceptibility to mental health-related states. Perinatal high-fat diet (HFD) consumption has been associated with lower levels of serotonin as well as development of anxiety-like and depression-like behaviors in offspring. The aim of this systematic review was to investigate the effects of maternal high-fat diet during pregnancy and/or lactation on these behaviors and on some

aspects of the serotonergic system. Criteria for eligibility included studies of offspring of rodents and non-human primates exposed to HFD at least during pregnancy and/or lactation, offspring that showed outcomes related to anxiety-like and depression-like behaviors and to the serotonergic system. The searches were realized in the LILACS, Web of Science, Scopus and Pubmed databases. The systematic review protocol was registered on CAMARADES website. The internal validity was assessed by SYRCLE risk of bias tool. The Kappa index was used for analyzing agreement among the reviewers. In addition, the PRISMA statement was used to report this systematic review. Sixteen articles were included in this review. Most of which studied HFD prior to mating and during pregnancy and lactation. All studies analyzed outcomes related to emotional behavior; three analyzed outcomes related to serotonin system compounds. Most behavior-based studies verified the presence of depression-like and/or anxiety-like behaviors in offspring that received HFD perinatally. Further, the HFD was associated with an ambiguous expression of TPH₂ as well with reduced immunoreactivity of 5-HT in the prefrontal cortex and increased 5-HT_{1A} receptor expression in dorsal raphe.

Key-words: anxiety; depression; high-fat diet; serotonin; behavior.

Abbreviations:

HFD: high-fat diet

5-HT: 5-Hydroxytryptamine or Serotonin

TPH2: tryptophan hydroxylase 2

DR: dorsal raphe

PND: postnatal day

RT-PCR: Real-time Polymerase Chain Reaction

5-HT_{1A}AR: 5-HT_{1A} autoreceptor

cDR: caudal dorsal raphe

SERT: serotonin transporter

MnR: median raphe

PFC: prefrontal cortex

1. Introduction

Epidemiological studies point to overweight and obesity as pandemic conditions in almost every country, with about 2 billion people worldwide suffering from these conditions (1). Obesity is a multifactorial etiological problem, involving genetic, environmental and behavioral factors (2). Among these, a positive energy balance is considered a determinant directly associated with the accumulation of fat and weight gain (3,4). During pregnancy and lactation, which are considered critical periods in the development of the nervous system, nutritional environment has been shown as crucial for the proper maturation of descendants (5–7).

Recently, maternal obesity and/or maternal consumption of high-fat diets (HFD)¹ have been also proposed as risk factors for offspring mental health (8). Further, there is a correlation among inadequate perinatal nutrition, susceptibility to metabolic disorders (9,10) and mental health-related behaviors (11,12). For instance, maternal HFD consumption has been associated with anxiety-like and depression-like behaviors in offspring of rodents (12,13) and nonhuman primates (11,14). In particular, emotional aspects of behavior are regulated importantly by the neurotransmitter serotonin (5-HT)² (15,16). The increased anxiety-like behavior in offspring and nonhuman primates, with higher body weight, hyperglycemia, and a disruption in serotonin levels, and their receptors has been associated to HFD consumption during their mothers' pregnancy and lactation (12,14,17).

A few studies have related the association of serotonin system compounds and behavioral alterations in offspring to maternal HFD consumption (12,14,17). For instance, one study showed maternal HFD increased anxiety in offspring of female mice (13) and another, well delayed neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in offspring of rats (18). Further, fetuses of non-human primates whose mothers were fed with HFD had reduced tryptophan hydroxylase 2 (TPH₂)³ mRNA expression in the dorsal raphe (DR)⁴ (14). In the same study, post weaning evaluations showed increased TPH₂ mRNA expression, decreased 5-HT immunoreactivity in the prefrontal cortex and anxiety-like behavior in offspring fed with HFD (14). A significant decrease in brain levels of 5-HT has been reported in rodents after prolonged HFD consumption (19–21). In another study, adult mice that consumed HFD during 16 weeks presented anxiety-like/depressive-like symptoms plus decreased extracellular 5-HT levels in

¹ HFD: High fat diet

² 5-HT: 5-Hydroxytryptamine or Serotonin

³ TPH₂: tryptophan hydroxylase 2

⁴ DR: dorsal raphe

the hippocampus which might have resulted from increased sensitivity of the dorsal raphe 5-HT_{1A} autoreceptor (17).

Accordingly, this systematic review aims to investigate the effect of a maternal perinatal HFD on offspring through the phenotypic expression of anxiety-like and depression-like behaviors as well as HFD effect on some compounds of the serotonergic system in experimental models.

2. Material and Methods

2.1 Protocol Registration and Data Reporting

The protocol of this systematic review was published online in (<http://www.dcn.ed.ac.uk/camarades/>) on the online platform Collaborative Approach to Meta-Analysis and Animal Data Revision of Experimental Studies (CAMARADES), according to the SYRCLE (Systematic Review Center or Laboratory Animal Experimentation) (22). The authors followed the recommendations found in PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) for data reporting (23).

2.2 Eligibility Criteria

Studies that showed results related to the serotonergic system and anxiety-like/depression-like behaviors in offspring of non-human primates and rodents as well as studies that used all types of rodents, sex or age and were exposed to a high-fat diet during pregnancy and/or lactation with were included. There were no year and language limitations for the inclusion of studies. Articles that did not fit the population's eligibility criteria, intervention, comparison and outcomes were excluded (Table 1).

Table 1. Eligibility criteria for inclusion of studies

	Inclusion Criteria	Exclusion Criteria
Population	Rodents and non-human primate offspring at any age	Genetically modified animals
Intervention	Maternal exposure to high-fat diet during pregnancy and / or lactation.	Studies in which the manipulation of macronutrients or energy was carried out using liquids (for example, water with sucrose); Studies in

		which diet manipulation involved micronutrients.
Comparison	Exposure to control diets during pregnancy and / or lactation	-
Outcomes	Primary outcomes: Molecular, cellular and morphological assessments of the Serotonergic System. Secondary outcomes: Anxiety / depression-like behaviors	-

2.3 Data acquisition and study selection

The search and selection of articles was carried out between January and July 2019 by two independent reviewers (L.O.S. and M.L.D.B.). The terms "high-fat diet", "serotonin", "anxiety" and "depression" were used in DeCS (Health Sciences Descriptors) and MESH (Medical Subject Headings) to create specific search strategies for each of the databases used, as following:

- LILACS (DeCS): (high-fat diet [Words] and seroton* [Words]; high-fat diet [Words] and seroton* [Words] and anxiety [Words]; high-fat diet [Words] and seroton* [Words] and depression [Words]).
- Web of Science (MESH): TÓPICO:(high-fat diet) AND TÓPICO: (seroton*); TÓPICO:(high-fat diet) AND TÓPICO: (seroton*) AND TÓPICO: (anxiety); TÓPICO: (high-fat diet) AND TÓPICO: (seroton*) AND TÓPICO: (depression).
- Scopus (MESH): ALL (high-fat AND diet) AND (seroton*) AND (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Nonhuman")) AND (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Animal Experiment")) AND LIMIT-TO (DOCTYPE, "ar")); ALL (high-fat AND diet) AND (seroton*) AND (anxiety) (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Nonhuman")) AND (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Animal Experiment")) AND LIMIT-TO (DOCTYPE, "ar")); AND (depression) (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Nonhuman")) AND (LIMIT-TO (EXACTKEYWORD, "Animal Experiment")) AND LIMIT-TO (DOCTYPE, "ar")).
- PubMed (MESH): (high-fat diet) AND seroton*; (high-fat diet) AND seroton*) AND anxiety; (high-fat diet) AND seroton*) AND depression.

The research and selection of articles were carried out in two stages. The first corresponded to the removal of duplicates after the search and selection of studies by reading titles and abstracts. In the second phase, the full texts were read for inclusion or definitive exclusion. In cases of divergence between reviewers, a third independent reviewer was consulted (L.C.M.G.).

Data extraction occurred after full reading of the studies. The collected data were: name of the first author, year of publication, species of animal, composition of diets in terms of fat, period of intervention, weaning age, post-weaning diet and experiments carried out. In addition to the main results in the offspring related to molecular, cellular and morphological changes of the Serotonergic System (primary outcome), data related to behaviors similar to anxiety / depression (secondary outcome) were collected.

2.4 Statistical Treatment

The data collected from the studies included were organized on Microsoft Excel tables. The quality of selected studies for review was evaluated considering individual components that may have interfered with internal validity of animal experimental studies, according to the recommendations of SYRCLE's risk of bias tool as “high”, “low” or “uncertain” (24). The following items were evaluated: random sequence generation, baseline characteristics, allocation concealment, random housing, blinding of participants and personnel, random outcome assessment, blinding of outcome assessment, incomplete outcome data, selective outcome reporting and other sources of bias. Finally, to analyze the degree of agreement between the first and second reviewer, beyond what would be expected by random chance, the Kappa measure was used for risk of bias. The information in these steps was synthesized using Review Manager® software version 5.3. The composition of a diet in terms of fat was described in percent of total calories. The weaning ages and outcome assessment ages were reported in days.

3. Results

From the searches in the electronic databases, 3809 studies were identified in LILACS, Web of Science, Scopus and PUBMED. Of these, 1705 duplicates were removed and after reading of title and abstract of 2104 studies, 2062 studies were excluded. Finally, after applying inclusion and exclusion criteria (as defined in the Methods section) and fully reading the 42 eligible texts, 16 studies were included in this review (Figure 1). For the

selection of the studies, the Kappa index (concordance between reviewers) was equal to 1 (25).

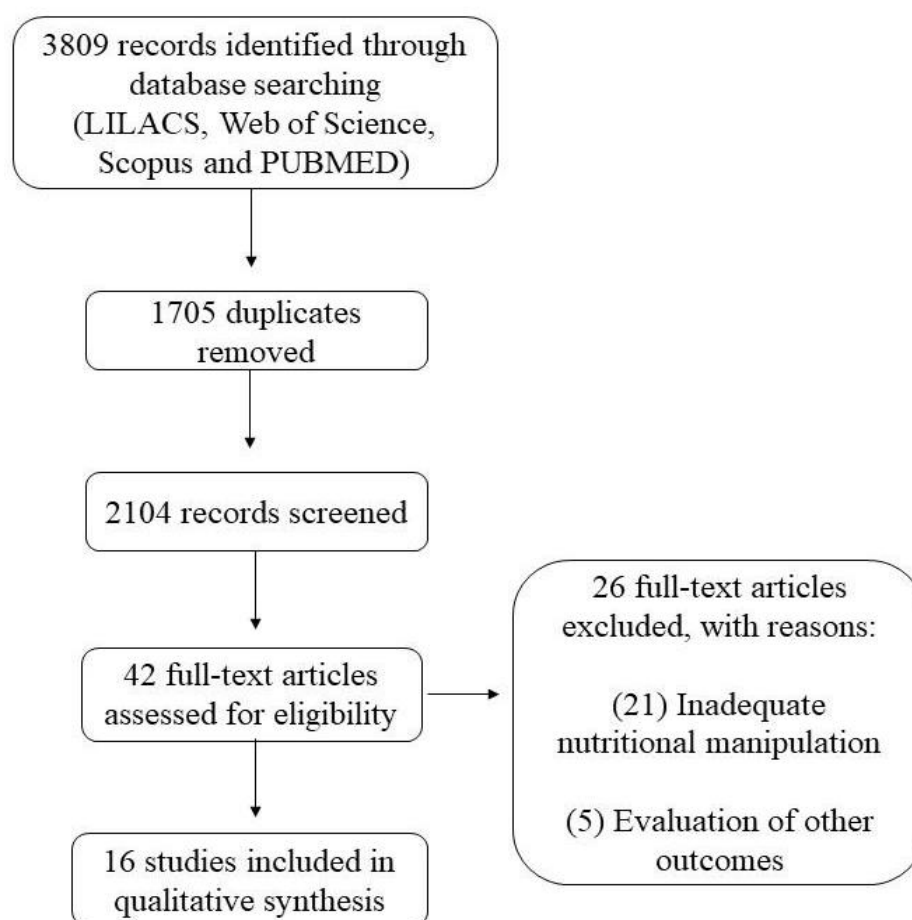


Figure 1. Flowchart of the literature search and study selection for the systematic review, in accordance with the PRISMA statement (23).

3.1 Characteristics of Studies

The main characteristics of the included studies are described in Table 2. Of the sixteen selected papers, fourteen used only rats or mice (8,13,33–36,18,26–32) and two used non-human primates (11,14). The intervention period with high-fat diet was heterogeneous among the selected studies. Eleven studies conducted the nutritional intervention before mating plus gestation and lactation (13,26,36,28–35); three studies offered HFD during pregnancy and lactation (8,11,14); one study used this kind of diet just during the pregnancy (27) and one used HFD only during lactation (18). In the selected studies, the total fat concentration varied between 32 and 60%. Of these, eight studies offered a diet containing 60% of energy from fat (13,27–29,31,34–36), one offered 58% (32), one offered 52% (18),

two offered 45% (30,33), one offered 43.2% (26), one offered 40% (8), one offered 36.6% (14) and one offered 32% (11). On the other hand, for the amount of fat in the control diets, the values varied from 8.21 to 15.7% of energy from fat. In one study, content of energy from fat in the diet used as control was 15.7%(26); in two the content was 14.7%(14,18); in four, the fat content was 13.5% (29,31,34,35); one had 13% (11); one had 12% (8); one had 10.5% (32); four had 10% (13,27,30,36); one had 8.21% (33) and one study did not report the amount of fat present in the control diet (28).

Additionally, the variability of carbohydrates content, especially in the control diets, can influence the results. In the control diets, the carbohydrate energy content varied between 52.2% (18) and 70% (8,36). In five studies, the energy content from carbohydrates was 58% (13,29,31,34,35); in one it was 58.5% (14); one presented 63% (33); one had 63.8% (26) and five studies did not inform the carbohydrate energy content in the diets in either the control diets or the HFD (11,27,28,30,32). On the other hand the HFD presented a much larger variation in energy from carbohydrates. In six studies the carbohydrate energy content was 20% (13,29,31,34–36); in one study this content was 20.9% (18); in one study it was 35% (33); in one study it was 37.6% (26); only one study presented 46% (8); and one study reported 50% plus treats that contained a further 56.2% of energy from carbohydrates (14). Five studies did not inform the content of carbohydrates (11,27,28,30,32) (Table 2).

Modifications in the neonatal nutritional environment, induced by changing the litter size, can alter body weight, anxiety-like and stress responsiveness into adulthood (37). The number of rodent pups per litter was evaluated in the selected studies and varied between 6 and 13, that is, no small or large litters were reported (Table 2). One study used 6-13 pups (26); two used 12 (34,35); one used 10 (30); one used 9 (13); one used 8-10 (8); two used 8 (18,33); one used 6 (27) and five studies did not report the number of pups per little (28,29,31,32,36). Studies that used non-human primates did not specify the number of offspring (11,14). Concerning the weaning age, this was realized between the 21st and 25th postnatal day (PND)⁵ in rodents. In one of the selected studies the weaning happened on the 25th PND (26); one on the 24th PND (32); one on the 22nd PND (18); nine on the 21st PND (8,13,27–29,31,33,35,36) and two studies did not inform the weaning age (30,34). In the two selected studies that used non-human primates, one weaned the young at approximately 240 days (8 months) (14) and the other one did not report the weaning age (11). With respect to the diet offered after weaning, in three studies the pups used the same diet used by the dam

⁵ PND: postnatal day

(HFD or Control Diet - CD ⁶) (11,14,27); eleven studies offered a control diet (8,13,35,18,26,28–33) and two studies did not report the diet used during this period (34,36).

⁶ CD: Control Diet

Table 2. Characteristics of the selected studies

Author, Year	Population	Consumption of HFD	Composition of diets: % energy from fat	Composition of diets: % energy from carbohydrate	Number of pups per litter	Age at weaning	Diet after weaning
Raygata et al, 1998 (26)	Mice (Balb/c, C3H/H, CD-1)	1wk prior to mating + Pregnancy	HFD: 43,2% CD: 15,7%	HFD: 37.6% CD: 63.8%	6-13	PND25	CD
Sullivan et al., 2010 (11)	Non-human primate (Macaca fuscata)	Pregnancy and lactation	HFD: 32% CD: 13%	HFD: NI CD: NI	NI	NI	Pups continued with the same diet (CD or HFD)
Can et al., 2012 (27)	Sprague-Dawley rats	Pregnancy	HFD: 60% CD: 10%	HFD: NI CD: NI	6	PND21	Pups continued with the same diet (HFD or CD)
Peleg-	C57BL/6N	3w prior to	HFD: 60%	HFD: NI	NI	PND21	CD

Raibstein et al., 2012 (28)	mice	mating + Pregnancy and lactation	CD: NI	CD: NI			
Giriko et al., 2013 (18)	Wistar rats (Rattus norvegicus)	Lactation	HFD: 52% STD: 14.7%	HFD: 20.9% CD: 52.2%	8	PND22	CD
Sasaki et al., 2013 (29)	Long Evans rats	4w prior to mating + Pregnancy and lactation	HFD: 60% CD: 13,5%	HFD: 20% CD: 58%	NI	PND21	CD
Kang et al., 2014 (13)	C57BL/6 mice	6w prior to mating + Pregnancy+sa me diet or switched diet during lactation	HFD: 60% CD: 10%	HFD: 20% CD: 58%	9	PND21	CD
Page et al., 2014 (30)	Sprague- Dawley rats	4w prior to mating + Pregnancy and lactation	HFD: 45% CD: 10%	HFD: NI CD: NI	10	NI	CD
Sasaki et al., 2014 (31)	Long Evans rats	4w prior to mating + Pregnancy and	HFD: 60% CD: 13,5%	HFD: 20% CD: 58%	NI	PND21	CD

		lactation					
Balsevich et al., 2015 (32)	C57BL/6 mice	6 wk prior to mating +Pregnancy until day 18±2	HFD: 58% CD: 10,5%	HFD: NI CD: NI	NI	PND24	CD
Lin et al., 2015 (33)	Sprague-Dawley rats	10 days prior to mating +Pregnancy and lactation	HFD: 45% CD: 8,21%	HFD: 35% CD: 63%	8	PND21	CD
Rincel et al., 2016 (8)	Wistar rats	Pregnancy and lactation	HFD: 39% CD: 12%	HFD: 46% CD: 70%	8-10	PND21	CD
Thompson et al., 2017 (14)	Non-human primate (Macaca fuscata)	Pregnancy + lactation	HFD: 36,6% + Treats: 35.7% CD: 14,7%	HFD: 50% + Treats: 56.2% CD: 58.5%	NI	240 days	Dam's diet (CD or HFD)
Abaish et al., 2018 (34)	Long Evans rats	3w prior to mating + Pregnancy and lactation	HFD: 60% CD: 13,5%	HFD: 20% CD: 58%	12	NI	NI
Sasaki et al., 2018 (35)	Long Evans rats	4 wk before mating +	HFD: 60%	HFD: 20%			

		Pregnancy + lactation	CD:13,5%	CD: 58%	12	PND21	CD
Winther et al., 2018 (36)	Sprague- Dawley rats	8 wk before mating +Pregnancy and lactation	HFD: 60% CD: 10%	HFD: 20% CD: 70%	NI	PND21	NI

PND=Postnatal Day; HFD=High-fat diet; CD=control diet; NI= uninformed

3.2 Effects of perinatal HFD on the Serotonergic System

Regarding to the perinatal effects of HFD on the serotonergic system, two out of the sixteen studies used immunohistochemistry and *in situ* Hybridization (ISH)(11,14) and one used Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)⁷ (8) to assess outcomes in this neurotransmission system (Table 3). Sullivan et al., 2010 (11) analyzed offspring from non-human primates during fetal period and observed increased expression of mRNA of the enzyme TPH₂ as well as 5-HT_{1A} autoreceptor (5-HT_{1A}R)⁸ in the rostral dorsal raphe (rDR) region of fetal HFD offspring but not in caudal dorsal raphe (cDR)⁹(11). Fetal expression of serotonin transporter (SERT)¹⁰ was unchanged in either the rDR and cDR (11). Additionally, hypothalamic 5-HT immunoreactivity (-ir) and SERT-ir were homogeneous in fetuses from control and HFD fed mothers (11). Thompson et al., 2017 (14) studying offspring of non-human primates, verified that maternal HFD exposure decreased percent area and density of TPH₂ mRNA expression in the dorsal raphe (DR) (14). At the same time TPH₂ mRNA expression in the median raphe (MnR)¹¹ was increased and 5-HT immunoreactivity in the prefrontal cortex was decreased with postweaning HFD (14). Besides, the percent area of 5-HT_{1A} mRNA expression was evaluated in the DR and MnR with no difference either due to maternal or post weaning diets (14). Rincel et al., 2016 (8) did not find differences in 5-HT_{1A}R gene expression in the prefrontal cortex (PFC)¹² between control and HFD fed pups suggesting that this kind of diet reverses the effects of maternal separation (8).

Table 3. Effects of maternal exposure to a high-fat diet on molecular, cellular and morphological variables of the serotonergic system in offspring

Author, Year	Experiment	Age at Experiment	Effects of maternal exposure to HFD on Serotonergic system in offspring
Sullivan et al., 2010 (11)	In situ Hybridization (ISH)	G130 days	↑ expression TPH ₂ mRNA in rDR but not in cDR in HFD group; ↑ 5-HT _{1A} R expression in rDR but not in cDR in HFD; SERT expression was unchanged in rDR and cDR between groups

⁷ RT-PCR: Real-time Polymerase Chain Reaction:

⁸ 5-HT_{1A}R: 5-HT_{1A} autoreceptor

⁹ cDR: caudal dorsal raphe

¹⁰ SERT: serotonin transporter

¹¹ MnR: median raphe

¹² PFC: prefrontal cortex

	Fluorescent immunohistochemistry (ir);		No changes in number of TPH ₂ -ir, between groups; No changes in hypothalamic SERT _{ir} /expression and 5-HT _i
Rincel et al., 2016 (8)	Real-time quantitative PCR (pups and adult offspring)	PND11	HFD pups had no changes in PFC 5-HT _{1A} Rs
Thompson et al., 2017 (14)	In situ Hybridization (ISH) Immunohistochemistry	390 days	No differences in DR and MnR 5-HT _{1A} mRNA expression due to maternal diet or post weaning diet HFD ↓ TPH ₂ mRNA expression in DR of offspring HFD ↑ THP ₂ mRNA expression in MnR and ↓ 5-HT immunoreactivity in prefrontal cortex of offspring

PND= postnatal day; G=gestation; HFD=hig-fat diet; TPH₂=Tryptophan Hydroxylase 2; 5-HT_{1A}R=5-HT_{1A} autoreceptor; rDR= rostral dorsal raphe; cDR= caudal dorsal raphe; MnR= median raphe; SERT=serotonin transporter; 5-HT=serotonina

3.3 Effects of perinatal HFD on Anxiety- and Depression- Like Behaviors

All of the 16 included studies analyzed outcomes related to emotional behaviors in offspring fed on a HFD (Table 4). Raygada et al, 1998 (26) used the Forced Swimming Test for evaluating 3 strains of female and male mice at 30 and 90 days of life, demonstrating an increase in depressive-like behavior of the female offspring that received HFD when compared to the control group. Another study revealed a rise in anxiety-like behavior among the female offspring of non-human primates on 130th PND using the Novel Objects Test (11). The same study also used the Human Intruder Test but found no significant differences (11). Can et al., 2012 (27) also observed a higher expression of depressive- and anxiety-like behaviors in offspring of male rodents using the Forced Swimming Test and the Elevated Plus Maze Test, respectively. In an evaluation of male and female rats with 90 days of life, one study found more anxiety-like behavior using the Elevated Plus Maze but not on the Open Field Test (28). Giriko et al., 2013 (18) found increased depressive-like behavior in 60-day-old male rats using the Forced Swimming Test. Sasaki et al., 2013 (29) observed an increase in anxiety-like behavior among male and female rats with 90 days of life in both the Open Field and Elevated Plus Maze. Similarly, Kang et al., 2014 (13), using the Open Field

Test, observed an increase in anxiety-like behavior in females aged 32-35 days. Page et al., 2014 (30) found in male rats with 110-118 days of life increased anxiety-like behavior using the Open Field Test. Surprisingly, Sasaki et al., 2014 (31) observed a less anxiety-like behavior in the offspring of male and female rats aged 35-45 days after being fed on a high-fat diet. In another study, when three tests were used, the Open Field Test, Forced Swimming Test and Elevated Plus Maze Test, only the latter showed a rise in anxiety-like behavior among the male rats at 385 days-ages (32). Lin et al., 2015 (33), cited an increase in depressive-like behavior through the Forced Swimming Test in 56-day-old male rats. Rincel et al., 2016 (8) found no significant differences related to emotional behavior in 120-day-old male rats assessed through the Open Field. Further Thompson et al., 2017 (14) found higher anxiety-like behavior in male and female non-human primates at 330 days of life by the Intruder Human Test and in the female offspring using the New Objects Test only. Abuaish et al., 2018 (34) found no differences in rats assessed using Ultrasonic Vocalization on the postnatal day 7. However, they found an increase in anxiety-like behavior in males and females on postnatal day 13 (34). Sasaki et al., 2018 (35) cited increased anxiety-like behavior in female rats but not in 65-day-old males, assessed through the Elevated Plus Maze. Winther et al., 2018 (36) using the Elevated Maze in 56-day old male and female rats and the Open Field and the Forced Swimming Test in 77-day-old rats observed an increase in anxiety-like behavior only in the animals evaluated by the Elevated Plus Maze.

Regarding the most common methods used to assess emotional behaviors, the most used for rodents were Open Field test in 8 out of 16 studies (8,13,28–32,36), Elevated Plus Maze in 7 out of 16 studies (27–29,31,32,35,36), the Forced Swimming Test in 6 out of 16 studies (27,29,31,32,35,36) and Ultrasonic Vocalizations test in only one study (34). In the two studies that used non-human primates, the method used for evaluating anxiety-like behavior were the Human Intruder Test and the Novel Objects Test (11,14).

Table 4. Effects of maternal exposure to a high-fat diet on anxiety- and depression-like in offspring

Author, Year	Experiment	Age at Experiment	Effects of maternal exposure to HFD on behavior in offspring
Raygada et al, 1998 (26)	Forced Swim Test		Male Balb/c - ↑ Depressive-like

		90 days 60 days 90 days 60 days 60 days	behavior CD-1 - ↑ Depressive-like behavior Female Balb/c - ↑ Depressive-like behavior C3H/H - ↑ Depressive-like behavior CD-1 - ↑ Depressive-like behavior
Sullivan et al., 2010 (11)	Human Intruder test Novel objects test	130 days	Male and Female– ND Male – ND Female - ↑ Anxiety-like behavior
Can et al., 2012 (27)	Elevated plus maze Forced Swim Test	-	Male - ↑ Anxiety-like behavior Male - ↑ Depressive-like behavior
Peleg-Raibstein et al., 2012 (28)	Open Field Elevated plus maze	90 days	Male and Female– ND Male and Female - ↑ Anxiety-like behavior
Giriko et al., 2013 (18)	Forced Swim Test	60 days	Male - ↑ Depressive-like behavior
Sasaki et al., 2013 (29)	Open Field Elevated plus maze	90 days	Male and Female - ↑ Anxiety-like behavior Male and Female - ↑ Anxiety-like behavior
Kang et al., 2014 (13)	Open Field	32-35 days	Female - ↑ Anxiety-like behavior
Page et al., 2014 (30)	Open Field	110 -118 days	Male - ↑ Anxiety-like behavior

Sasaki et al., 2014 (31)	Open Field	35-45 days	Male and Female - ↓ Anxiety-like behavior
	Elevated plus maze		Male and Female - ↓ Anxiety-like behavior
Balsevich et al., 2015 (32)	Elevated plus maze	90 days 365 days	Male - ND
			Male - ↑ Anxiety-like behavior
	Forced Swim Test		Male - ND
			Male - ND
	Open Field		Male - ND
			Male - ND
Lin et al., 2015 (33)	Forced Swim Test	56 days	Male - ↑ Depressive-like behavior
Rincel et al., 2016 (8)	Open Field	120 days	Male - ND
Thompson et al., 2017 (14)	Human Intruder test	330 days	Male and Female - ↑ Anxiety-like behavior
	Novel objects test		Female - ↑ Anxiety-like behavior
Abuaish et al., 2018 (34)	Ultrasonic Vocalization	DPN 7	Male and Female - ND
		DPN 13	Male and Female - ↑ Anxiety-like behavior
Sasaki et al., 2018 (35)	Elevated plus maze	65 days	Male - ND
			Female - ↑ Anxiety-like behavior
Winther et al., 2018 (36)	Elevated plus maze	56 days	Male and Female - Anxiety-like behavior
	Forced Swim Test	77 days	Male and Female – ND
	Open Field		Male and Female - ND

ND=uninformed

3.3 Analysis of Risk of Bias

Some authors randomized the type of animal used to compose the experimental groups (8,14,18,27,28,30,32–34,36) (Figure 2). Baseline characteristics were reported in all studies. Information about allocation of animals into the experimental groups blinding and about who was responsible for data collection was reported only in one study (18) (Figure 2). None of the studies included was clear about randomization in accommodation or selection of animals for collecting the results (Figure 2). In addition to showing the results of the included analyses all articles reported results evaluation by blinding (Figure 2). All the chosen studies also showed the results from planned analysis and blinding in relation to the evaluation of the results. In some studies, however, these results were incompletely described (8,11,14,30,33) (Figure 2). Finally, no other type of risk of bias was identified in the included studies (Figure 2).

	Random sequence generation (selection bias)	Baseline characteristics (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Random housing (performance bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Random outcomes data (attrition bias)	Blinding of outcomes assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Abuaish et al., 2018	+	+	+	?	-	-	+	+	+	+
Balsevich et al., 2015	+	+	+	?	-	?	+	+	+	+
Can et al., 2012	+	+	+	?	-	?	+	+	+	+
Giriko et al., 2013	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+
Kang et al., 2014	-	+	+	?	-	?	+	+	+	+
Lin et al., 2015	+	+	+	?	-	?	+	+	-	+
Page et al., 2014	-	+	+	?	-	?	+	+	-	+
Peleg-Raibstein et al., 2012	+	+	+	+	-	?	+	+	+	+
Raygata et al., 1998	-	-	-	?	-	?	+	+	+	+
Rincel et al., 2016	+	+	+	?	-	?	+	+	-	+
Sasaki et al., 2013	-	+	+	?	-	?	+	+	+	+
Sasaki et al., 2014	-	+	+	?	-	?	+	+	+	+
Sasaki et al., 2018	-	+	+	?	-	?	+	+	+	+
Sullivan et al., 2010	-	+	+	?	-	?	+	+	-	+
Thompson et al., 2017	+	+	+	?	-	?	+	+	-	+
Winther et al., 2018	+	+	+	?	-	?	+	+	+	+

Figure 2. Risk of bias: authors' judgments about each risk [the item bias for each included article]. + (green) low risk of bias, - (red) high risk of bias and? (yellow) fully risk of bias

4. Discussion

The results of this review demonstrated different amounts of energy from fat and from carbohydrates in the composition of the diets used as control and HFD, however the heterogeneity of these macronutrients in HFD was less than in the chow control diets. Further, the administration of HFD occurred from pre mating period until lactation and there was no additional fat content after weaning in most studies. Moreover, in relation to methodological design, litters with normal size were used. Just a few studies evaluated the interaction between HFD and compounds of the serotonergic system. The main findings with respect to the serotonergic system demonstrated that the maternal consumption of HFD was associated with an ambiguous expression of TPH2 as well with reduced immunoreactivity of 5-HT in the prefrontal cortex and increased 5-HT_{1A} receptor expression in dorsal raphe of offspring. The association between HFD and behavior was demonstrated by the higher number of included studies that analyzed behavioral characteristics and verified the presence of depression-like and/or anxiety-like behaviors in offspring that received higher amounts of fat perinatally.

In this study, the amount of energy from fat in control diets varied from 8.21 to 15.7% and in HFD varied between 32 and 60%. Small et al. (2018) (38), verified that the heterogeneity of metabolic phenotypes related to HFD reported in the literature may be in part due to the disparity in percentage of fat content (ranging from ~45% all the way up to 95%). Diets with a fat content of 40% are able to promote systemic metabolic alterations (38). Plus, in the present review the content of energy from carbohydrates varied between 52.2% and 70% in the control diets and from 20% to 50% in HFD. Especially in control diets, it is important to observe the amount and quality of the carbohydrates (39). Semi-purified low-fat control diets generally use starch as the carbohydrate source, which can produce similar levels of obesity as a HFD if the diet is powdered (39). So, the amount and source of macronutrients is an important part of the study design. Unfortunately, some selected studies neglected this aspect in terms of carbohydrate information (11,27,28,30,32).

Most of studies that were reviewed used the HFD during the beginning period of offspring development since early nutritional changes may be related to metabolic issues, such as obesity, and can be associated with states of anxiety-like and depression-like behaviors in offspring (6,40). The underlying mechanism of these alterations may be explained by the hyperglycemia present in obese pregnant mothers (41). Since maternal insulin does not cross the blood-placental barrier (42), the fetal pancreas increases insulin production as compensation for the hyperglycemic state (42). It is postulated that fetal

hyperinsulinemia, in addition to programming obesity (43), can alter the development of neural pathways that regulate energy metabolism and behaviors. Further, experimental animals exposed to high-fat diet showed a higher concentration of fatty acids, triglycerides and inflammatory cytokines, factors that signal changes in neural circuits responsible for physiological and behavioral control (6). In addition, some studies also have demonstrated the effects of a high-fat consumption on the alteration of central neurotransmitter pathways, such as the serotonergic system (17,44). Importantly, maternal over-nutrition during lactation can program post-weaning obesity in rat pups, as can neonatal overfeeding caused by reducing litter sizes and therefore competition for food (45–47). The single study that used HFD only during lactation included in this review (18) shows the importance of observing the size of the litter, especially in studies with nutritional and behavioral outcomes.

The studies reviewed that used fetuses of non-human primates associated maternal consumption of HFD with higher expression of TPH₂ mRNA and 5-HT_{1A} mRNA in the dorsal raphe (DR) (11). Additionally, offspring of non-human fed with HFD had reduced expression of TPH₂ mRNA in the dorsal raphe (DR) associated with increased THP2 mRNA in median raphe (MnR) and lower 5-HT immunoreactivity in prefrontal cortex (14). This may be attributed to a compensatory response as a result of higher expression of the 5HT_{1A} receptor in the DR, or even as a homeostatic mechanism that decreased 5-HT content (11). The selected studies may be suggesting that the effects of HFD on TPH2 and 5-HT_{1A} differ depending on the age and region of assessment. Partly corroborating these results, the use of a high-fat diet (45% lipids) for 16 weeks increased the expression of the 5-HT_{1A} auto-receptor and, consequently, decreased baseline levels of extracellular serotonin in mice with 50 days of life (17). On the other hand, according Rincel et al., (2016) maternal HFD did not cause changes in prefrontal cortex 5-HT_{1A} expression of Wistar rat offspring (8). Serotonin, notably through the 5HT-R_{1A} receptors, is necessary for proper wiring of neural circuits during development (48–52). HFD consumption is able to impair 5-HT function and anxiety-like behavior in mice (17). Further, the median and dorsal raphe nuclei, which contain the majority of serotonergic neurons that are considered the most relevant in modulating emotional behaviors (53) and the acute inhibition of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus were associated with demonstrated increased anxiety-like behavior in male rats (54).

Most of the selected studies that composes the results of this review observed the association between maternal HFD and higher expression of anxiety-like or depression-like

behaviors (11,13,33–36,14,18,26–31). Regarding emotional states, experimental studies have associated the consumption of HFD in animals of different ages with the development of anxiety-like and depression-like behaviors (17,55). This kind of diet also has been associated with lower extracellular 5-HT levels (17) and neuroinflammation, resulting from increased expression of pro-inflammatory cytokines, such as interleukin-1 β (IL-1 β) (55). Recent data has also demonstrated that 6 weeks of HFD feeding could develop moderate cytoarchitectural abnormalities and reduced neuron density in the hippocampus, which are closely related to cognitive functions and regulation of emotions (56,57). Further, HFD consumption specifically in the perinatal phase, indicates a possible increase in the susceptibility to development of hyperactivity, anxiety- and depressive-like phenotypes of the offspring, which reflects how the brain of neonates may be affected by maternal nutrition (13,18). More and more studies have indicated that HFD may cause depression-like behavior as consequence of a desensitization of a 5-HT-activated Akt/ GSK3 β signal pathway and the impairment of cell proliferation in the dentate hippocampus gyrus (58). Moreover, the depressive phenotype has been associated with decreased extracellular 5-HT levels in the hippocampus and increased sensitivity of 5-HT_{1A} autoreceptor in the dorsal raphe (17,57). In addition, data also notes the persistence of emotional disorders such as anxiety-like behavior, even after the administration, after weaning, of a chow to non-human primate offspring that received perinatal HFD, suggesting that this pattern of maternal consumption can cause permanent and long-term changes (14).

5. Conclusion

The results of this review demonstrated that maternal HFD was associated to higher phenotypic expression of depression-like and/or anxiety-like behaviors in offspring. Is known that this kind of diet is associated with fetal hyperinsulinemia (43) and inflammatory states (6) which may alter neurotransmitter pathways related to behavioral control (17,44). However, there were few studies that investigated the correlation among perinatal HFD, behavioral changes and compounds of the Serotonin System. In a nutshell, the HFD was associated with an ambiguous expression of TPH₂ as well as with reduced immunoreactivity of 5-HT in the prefrontal cortex and increased 5-HT_{1A} receptor expression in dorsal raphe, modifying the development of the Serotonergic System and possibly favoring the appearance of emotional disorders. Given that obesity, excessive weight gain, metabolic disorders and unhealthy diets rich in lipids during pregnancy have been recently hypothesized to increase the incidence of mental health disorders (59), it is necessary to

learn more about mechanisms associated with long-lasting effects of early consumption of HFD in terms of behavior and serotonergic system pathways.

Acknowledgement

We thank the following institutions for their financial support: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [425743/2018-7]; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil [88882.380498/2019-01]; Qualis A-UFPE [23076.037767/2018-43].

The English text of this paper has been revised by Sidney Pratt, Canadian, MAT (The Johns Hopkins University), RSAdip - TESL (Cambridge University).

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Lancet. A sindemia global da obesidade, desnutrição e mudanças climáticas. 2019. 116 p.
2. Ferretti F, Mariani M. Simple vs. complex carbohydrate dietary patterns and the global overweight and obesity pandemic. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(10).
3. Schneider BC, Dumith SC, Orlandi SP, Assunção MCF. Diet and body fat in adolescence and early adulthood: a systematic review of longitudinal studies. *Cien Saude Colet*. 2017;22(5):1539–52.
4. da Silva AI, Braz GRF, Silva SC de A, Pedroza AA da S, de Lima-Júnior NC, Silva TL de A, et al. Body composition, biochemical, behavioral and molecular alterations in overfed rats after chronic exposure to SSRI. *Behav Brain Res*. 2019;356:62–70.
5. Rice D, Barone S. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. *Environ Health Perspect*. 2000;108:511–23.
6. Sullivan EL, Smith MS, Grove KL. Perinatal exposure to high-fat diet programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood. *Neuroendocrinology*. Switzerland; 2011;93(1):1–8.
7. Galindo LCM, Barros M da LD, Pinheiro IL, Santana RV de C, Matos RJB de, Leandro CG, et al. Neonatal serotonin reuptake inhibition reduces hypercaloric diet effects on fat mass and hypothalamic gene expression in adult rats. *Int J Dev Neurosci*. International Society for Developmental Neuroscience; 2015;46:76–81.
8. Rincel M, Lepinay AL, Delage P, Fioramonti J, Theodoro VS, Laye S, et al. Maternal high-fat diet prevents developmental programming by early-life stress. *Transl Psychiatry*. United States; 2016;6(11):966.
9. Gluckman PD, Hanson MA, Low FM. The role of developmental plasticity and epigenetics in human health. *Birth Defects Res*. 2011;93:12–8.
10. de Velasco PC, Chicaybam G, Ramos-Filho DM, dos Santos RMAR, Mairink C, Sardinha FLC, et al. Maternal intake of trans -unsaturated or interesterified fatty acids during pregnancy and lactation modifies mitochondrial bioenergetics in the liver of adult offspring in mice . *Br J Nutr*. 2017;118(1):41–52.

11. Sullivan EL, Grayson B, Takahashi D, Robertson N, Maier A, Bethea CL, et al. Chronic consumption of a high fat diet during pregnancy causes perturbations in the Serotonergic System and increased anxietylike behavior in nonhuman primate offspring. *J Neurosci*. 2010;30(10):3826–3830.
12. Bilbo SD, Tsang V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. *FASEB J*. 2010;24(6):2104–15.
13. Kang SS, Kurti A, Fair DA, Fryer JD. Dietary intervention rescues maternal obesity induced behavior deficits and neuroinflammation in offspring. *J Neuroinflammation*. 2014;11(1):1–12.
14. Thompson JR, Valleau JC, Barling AN, Franco JG, DeCapo M, Bagley JL, et al. Exposure to a high-fat diet during early development programs behavior and impairs the central serotonergic system in juvenile non-human primates. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:1–19.
15. Cahart-Harris R, Nutt D. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. *J Psychopharmacol*. 2017;31(9):1091–120.
16. Strasser B, Gostner JM, Fuchs D. Mood, food, and cognition role of tryptophan and serotonin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2016;19(1):55–61.
17. Zemdegs J, Quesseveur G, Jarriault D, Pénicaud L, Fioramont X, Guiard BP. High-fat-diet induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice. *Br J Pharmacol*. 2016;173:2095–110.
18. Giriko CÁ, Andreoli CA, Mennitti LV, Hosoume LF, Souto TDS, Silva AV Da, et al. Delayed physical and neurobehavioral development and increased aggressive and depression-like behaviors in the rat offspring of dams fed a high-fat diet. *Int J Dev Neurosci*. International Society for Developmental Neuroscience; 2013;31(8):731–9.
19. Derkach K V., Bondareva VM, Chistyakova O V., Berstein LM, Shpakov AO. The effect of long-term intranasal serotonin treatment on metabolic parameters and hormonal signaling in rats with high-fat diet/low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes. *Int J Endocrinol*. 2015;245459:1–17.
20. Huang X-F, Huang X, Han M, Chen F, Storlien L, Lawrence AJ. 5-HT_{2A/2C} receptor and 5-HT transporter densities in mice prone or resistant to chronic high-fat diet-induced obesity: a quantitative autoradiography study. *Brain Res*. 2004;1018(2):227–35.
21. Krishna S, Lin Z, Serre CB de La, Wagner JJ, Harn DH, Pepples LM, et al. Time-dependent behavioral, neurochemical, and metabolic dysregulation in female C57BL/6 mice caused by chronic high- fat diet intake. *Physiol Behav*. 2016;157:196–208.
22. de Vries RBM, Hooijmans CR, Langendam MW, van Luijk J, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, et al. A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. *Evidence-based Preclin Med*. 2015;1(1):1–9.
23. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):1–34.
24. Hooijmans CR, Rovers M M, de Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. BMC Medical Research Methodology; 2014;14(43):1–9.
25. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*. 1977;33(1):159–74.
26. Raygada M, Cho E, Hilakivi-Clarke L. High maternal intake of polyunsaturated fatty acids during pregnancy in mice alters offsprings' aggressive behavior, immobility in

- the swim test, locomotor activity and brain protein kinase C activity. *J Nutr.* 1998;128(12):2505–11.
27. Can ÖD, Ulupinar E, Özkay ÜD, Yegin B, Öztürk Y. The effect of simvastatin treatment on behavioral parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. *Behav Pharmacol.* 2012;23(5–6):582–92.
 28. Peleg-Raibstein D, Luca E, Wolfrum C. Maternal high-fat diet in mice programs emotional behavior in adulthood. *Behav Brain Res. Elsevier B.V.*; 2012;233(2):398–404.
 29. Sasaki A, de Vega WC, St-Cyr S, Pan P, McGowan PO. Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. *Neuroscience. IBRO*; 2013;240:1–12.
 30. Page KC, Jones EK, Anday EK. Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2014;306(8):527–37.
 31. Sasaki A, de Vega W, Sivanathan S, St-Cyr S, McGowan P. Maternal high-fat diet alters anxiety behavior and glucocorticoid signaling in adolescent offspring. *Neuroscience. IBRO*; 2014;272:92–101.
 32. Balsevich G, Baumann V, Uribe A, Chen A, Schmidt M V. Prenatal Exposure to Maternal Obesity Alters Anxiety and Stress Coping Behaviors in Aged Mice. *Neuroendocrinology.* 2016;103(3–4):354–68.
 33. Lin CC, Shao B, Huang HJ, Zhou YL, Lin YS. Maternal high fat diet programs stress-induced behavioral disorder in adult offspring. *Physiol Behav. Elsevier Inc.*; 2015;152:119–27.
 34. Abuaish S, Spinieli RL, McGowan PO. Perinatal high fat diet induces early activation of endocrine stress responsivity and anxiety-like behavior in neonates. *Psychoneuroendocrinology.* 2018;98:11–21.
 35. Sasaki A, McGowan PO, Erb S. A study of the effects of maternal high fat diet on behavioural responses to acute and repeated administrations of cocaine in rat offspring. *Neurosci Lett. Elsevier Ireland Ltd*; 2018;673:157–62.
 36. Winther G, Elfving B, Müller HK, Lund S, Wegener G. Maternal High-fat Diet Programs Offspring Emotional Behavior in Adulthood. *Neuroscience.* 2018;388:87–101.
 37. Spencer SJ, Tilbrook A. Neonatal overfeeding alters adult anxiety and stress responsiveness. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(8):1133–1143.
 38. Small L, Brandon AE, Turner N, Cooney GJ. Modeling insulin resistance in rodents by alterations in diet: what have high-fat and high-calorie diets revealed? *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2018;314(3):E251–65.
 39. Desmarchelier C, Ludwig T, Scheundel R, Rink N. Diet-induced obesity in ad libitum-fed mice: food texture overrides the effect of macronutrient composition. *Br J Nutr.* 2013;109(8):1518–27.
 40. Lawlor DA, Smith GD, O’Callaghan M, Alati R, Mamun AA, Williams GM, et al. Epidemiologic evidence for the fetal overnutrition hypothesis: Findings from the Mater-University study of pregnancy and its outcomes. *Am J Epidemiol.* 2007;165(4):418–24.
 41. Leung TW, Lao TT. Placental size and large-for-gestational-age infants in women with abnormal glucose tolerance in pregnancy. *Diabet Med A J Br Diabet Assoc.* 2000;17(1):48–2.
 42. Oken E, Gillman MW. Fetal origins of obesity. *Obes Res.* 2003;11(4):496–506.
 43. Simerly RB. Hypothalamic substrates of metabolic imprinting. *Physiol Behav.*

- 2008;94(1):79–89.
44. Kim M, Bae SJ, Lim K-M. Impact of High Fat Diet-induced Obesity on the Plasma Levels of Monoamine Neurotransmitters in C57BL/6 Mice. *Biomol & Therapeutics*. 2013;21(6):476–80.
 45. Smith KL, Patterson M, Dhillon WS, Patel SR, Semjonous NM, Gardiner J V, et al. Neuropeptide S stimulates the hypothalamo–pituitary–adrenal axis and inhibits food intake. *Endocrinology*. 2006;147(7):3510–3518.
 46. Morris MJ, Velkoska E, Cole TJ. Central and peripheral contributions to obesity-associated hypertension: impact of early overnourishment. *Exp Physiol*. 2005;90:697–702.
 47. Rodel HG, Prager G, Stefanski V, Holst D V, Hudson R. Separating maternal and litter-size effects on early postnatal growth in two species of altricial small mammals. *Physiol Behav*. 2008;93(4–5):826–834.
 48. Gaspar P, Cases O, Maroteaux L. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(12):1002–12.
 49. Cohen-Cory S, Kidane AH, Shirkey NJ, Marshak S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Dev Neurobiol*. 2010;70(5):271–288.
 50. Migliarini S, Pacini G, Pelosi B, Lunardi G, Pasqualetti M. Lack of brain serotonin affects postnatal development and serotonergic neuronal circuitry formation. *Mol Psychiatry*. 2013;18(10):1106–1118.
 51. Homberg JR, Molteni R, Calabrese F, Riva MA. The serotonin–BDNF duo: developmental implications for the vulnerability to psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;43:35–47.
 52. Rebello TJ, Yu Q, Goodfellow NM, Caffrey MK, Cagliostro, Teissier A, et al. Postnatal day 2 to 11 constitutes a 5-HT-sensitive period impacting adult mPFC function. *J Neurosci*. 2014;34(37):12379–12393.
 53. Teissier A, Chemiakine A, Inbar B, Bagchi S, Ray RS, Palmiter RD, et al. Activity of raphe serotonergic neurons controls emotional behaviors. *Cell Rep*. 2015;13(9):1965–1976.
 54. Nishitani N, Nagayasu K, Asaoka N, Yamashiro M, Andoh C, Nagai Y, et al. Manipulation of dorsal raphe serotonergic neurons modulates active coping to inescapable stress and anxiety-related behaviors in mice and rats. *Neuropsychopharmacology*. Springer US; 2018;44(4):721–32.
 55. Almeida-Suhett C, Graham A, Chen Y, Deuster P. Behavioral changes in male mice fed a high-fat diet are associated with IL-1B expression in specific brain regions. *Physiol Behav*. 2017;169:130–40.
 56. Arcego D., Toniazzo A., Krolow R, Lampert C, Berlitz C, Dos Santos Garcia E, et al. Impact of high-fat diet and early stress on depressive-like behavior and hippocampal plasticity in adult male rats. *Mol Neurobiol*. 2017;6:1–14.
 57. Wu H, Liu Q, Kalavagunta PQ, Huang Q, Lv W, An X, et al. Normal diet vs high fat diet - a comparative study: behavioral and neuroimmunological changes in adolescent male mice. *Metabolic Brain Dis*. 2018;33(1):177–90.
 58. Papazoglou IK, Jean A, Gertler A, Taouis M, Vacher CM. Hippocampal GSK3 β as a molecular link between obesity and depression. *Mol Neurobiol*. 2014;52(1):363–374.
 59. Rivera HM, Christiansen KJ, Sullivan EL. The role of maternal obesity in the risk of neuropsychiatric disorders. *Front Neurosci*. Switzerland; 2015;9(194):1–16.