



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA**

**CYNTHYA MYLLENA MARTINS SILVA**

**ESTUDO DOS PARÂMETROS SOMÁTICOS, MASTIGATÓRIOS E  
IMUNORREATIVIDADE DO SERT NOS NÚCLEOS TRIGEMINAIS  
MASTIGATÓRIOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

**VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

**2023**

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

**CYNTHYA MYLLENA MARTINS SILVA**

**ESTUDO DOS PARÂMETROS SOMÁTICOS, MASTIGATÓRIOS E**  
**IMUNORREATIVIDADE DO SERT NOS NÚCLEOS TRIGEMINAIS**  
**MASTIGATÓRIOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

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.

**Orientadora:** Kelli Nogueira Ferraz  
Pereira Althoff

**Coorientadora:** Isabeli Lins Pinheiro

**VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

**2023**



CYNTHYA MYLLENA MARTINS SILVA

**ESTUDO DOS PARÂMETROS SOMÁTICOS, MASTIGATÓRIOS E  
IMUNORREATIVIDADE DO SERT NOS NÚCLEOS TRIGEMINAIS  
MASTIGATÓRIOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação 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: 28/04/2023

**BANCA EXAMINADORA**

Lígia Cristina Monteiro Galindo (Presidente)  
Universidade Federal de Pernambuco

Raquel da Silva Aragão (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

Diego Cabral Lacerda  
Profº. Dr. Em Nutrição (Examinador Externo)  
Universidade Federal da Paraíba

## RESUMO

O aumento do peso corporal pode ser associado a alterações da função mastigatória. Em condições de sobrepeso e obesidade, o controle do balanço energético é claramente desregulado e a modulação serotoninérgica parece contribuir significativamente para o ganho de peso. Este estudo visa avaliar o efeito da obesidade induzida pela redução do tamanho da ninhada nos parâmetros somáticos, mastigatórios e imunorreatividade do transportador de serotonina (SERT) nos núcleos trigeminais mastigatórios. O estudo, realizado com ratos da linhagem Wistar, foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (0026/2019). Ratas foram acasaladas na proporção de 2 fêmeas para 1 macho e mantidas em condições padrão de biotério. Foram utilizados 48 ratos machos Wistar albinos (*Rattus Norvegicus*) provenientes de ratas progenitoras da colônia do Biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Setenta e duas horas após o nascimento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Controle (C; 9 filhotes por nutriz; n=24) ou superalimentado (SA; 3 animais por nutriz; n=24). Foi realizada a aferição do peso corporal no 3°, 7°, 14°, 21° e 30° dia de vida pós-natal. O consumo alimentar durante a mastigação foi realizado a partir da diferença do peso inicial e final da ração ofertada. A análise da mastigação através da filmagem foi realizada nos 22° e 29° dias de vida pós-natal. No 30° dia de vida, animais (C; n=16; SA, n=16) foram sacrificados através da decapitação, onde foi dissecado e pesado tecido adiposo branco. E depois também aos 30 dias de vida, foi feita a perfusão transcárdica em outros animais (C; n=8; SA, n=8), onde foi retirado o encéfalo do animal para realização da imunohistoquímica com o objetivo da quantificação de neurônios SERT no núcleo trigeminal mesencefálico mais adiante. Em nossos resultados, o grupo superalimentado apresentou maior peso corporal, a partir do décimo quarto dia de vida (mediana=33,18, IIQ=34,73-30,92.  $p<0,001$ ), maiores quantidades de gorduras inguinal (média±dp=0,855±0,158,  $p<0,001$ ), epididimal (média± dp= 0,120±0,046,  $p<0,001$ ), mesentérica (mediana= 0,879, IIQ=1,142-0,722,  $p<0,001$ ) e retroperitoneal (média± dp=0,106±0,05,  $p=0,017$ ), assim como maior consumo alimentar durante a mastigação aos 22 dias pós-natal (mediana=0,665, IIQ=0,825-0,490,  $p=0,018$ ). O grupo superalimentado também apresentou menor número de sequências mastigatórias, bem como menor quantidade de ciclos mastigatórios e menor taxa mastigatória. Além disso, houve menor expressão de neurônios SERT-IR no núcleo trigeminal mesencefálico, quando comparado com o grupo controle. Deste modo, concluímos que ratos com obesidade induzida pela supernutrição neonatal apresentam maior peso corporal, maiores quantidades de tecido adiposo branco, maior consumo alimentar durante a mastigação, menor atividade rítmica mastigatória e menor expressão de SERT. Esperamos que os achados deste estudo auxiliem no desenvolvimento de estratégias terapêuticas eficazes para o controle e redução da obesidade.

**Palavras-chave:** obesidade; transportador de serotonina; mastigação; redução da ninhada; plasticidade do desenvolvimento

## ABSTRACT

The increase in body weight can be associated with changes in masticatory function. Under overweight and obese conditions, the control of energy balance is clearly deregulated and serotonergic modulation appears to contribute significantly to weight gain. This study aims to evaluate the effect of obesity induced by litter size reduction on somatic and masticatory parameters and serotonin transporter immunoreactivity (SERT) in masticatory trigeminal nuclei. The study, carried out with Wistar rats, was submitted and approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of the Federal University of Pernambuco (0026/2019). Rats were mated at a ratio of 2 females to 1 male and kept under standard vivarium conditions. Forty-eight male Wistar albino rats (*Rattus Norvegicus*) from progenitor rats from the vivarium colony of the Nutrition Department of the Federal University of Pernambuco were used. Seventy-two hours after birth, the animals were randomly distributed into two groups: Control (C; 9 pups per nursing mother; n=24) or overfed (SA; 3 animals per nursing mother; n=24). Body weight was measured on the 3rd, 7th, 14th, 21st and 30th day of postnatal life. Food consumption during mastication was performed based on the difference in the initial and final weight of the feed offered. The analysis of chewing through filming was performed on the 22nd and 29th days of postnatal life. On the 30th day of life, animals (C; n=16; SA, n=16) were sacrificed by decapitation, where white adipose tissue was dissected and weighed. And then also at 30 days of life, transcardial perfusion was performed in other animals (C; n=8; SA, n=8), where the animal's brain was removed to perform immunohistochemistry in order to quantify SERT neurons in the mesencephalic trigeminal nucleus later on. In our results, the overfed group presented higher body weight, from the fourteenth day of life onwards (median=33.18, IQR=34.73-30.92,  $p<0.001$ ), higher amounts of inguinal fat (mean  $\pm$  sd=0.855 $\pm$ 0.158,  $p<0.001$ ), epididymal (mean  $\pm$  sd= 0.120 $\pm$ 0.046,  $p<0.001$ ), mesenteric (median=0.879, IQR=1.142-0.722,  $p<0.001$ ) and retroperitoneal (mean  $\pm$  sd=0.106  $\pm$ 0.05,  $p=0.017$ ), as well as higher food consumption during mastication at 22 postnatal days (median=0.665, IQR=0.825-0.490,  $p=0.018$ ). The overfed group also had a lower number of chewing sequences, as well as fewer chewing cycles and a lower chewing rate. In addition, there was a lower expression of SERT-IR neurons in the mesencephalic trigeminal nucleus, when compared to the control group. Thus, we conclude that rats with obesity induced by neonatal supernutrition have higher body weight, higher amounts of white adipose tissue, higher food consumption during mastication, lower rhythmic masticatory activity and lower SERT expression. We hope that the findings of this study will help in the development of effective therapeutic strategies for the control and reduction of obesity.

**Keywords:** obesity; serotonin transporter; chewing; litter size; development plasticity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Curva de velocidade do desenvolvimento do sistema nervoso no encéfalo de humanos e ratos .....	13
<b>Figura 2:</b> Representação esquemática dos núcleos do tronco cerebral envolvidos nos movimentos orofaciais e suas conexões.....	20
<b>Figura 3:</b> Bregma do corte histológico cerebral do rato.....	21
<b>Figura 4:</b> Biossíntese da serotonina.....	22
<b>Figura 5:</b> Filmagem do animal para análise dos parâmetros motores da mastigação.....	33
<b>Figura 6:</b> Marcação dos neurônios SERT no núcleo trigeminal mesencefálico.....	37
<b>Figura 7:</b> Análise do peso corporal dos filhotes nos 3°, 7°, 14°, 21° e 30° DN, nos grupos Superalimentado e Controle.....	38
<b>Figura 8:</b> (A) Consumo alimentar durante a mastigação grupo Superalimentado e grupo Controle de machos Wistar albinos no 22° dia pós natal. (B) Consumo alimentar durante a mastigação grupo Superalimentado e grupo Controle de machos Wistar albinos no 30° dia pós natal.....	39
<b>Figura 9:</b> Peso das gorduras do grupo Superalimentado e grupo Controle de machos Wistar albinos no 30° dia pós natal (A) Gordura Inguinal; (B) Gordura epididimal; (C) Gordura mesentérica; (D) Gordura perirrenal; (E) Gordura retroperitoneal.....	44
<b>Figura 10:</b> Efeito da redução do tamanho da ninhada sobre a quantidade de neurônios SERT-IR no núcleo trigeminal mesencefálico de ratos aos 30 dias de vida.....	45

## LISTA DE ABREVIÇÕES

C Controle

CGP Centro Gerador de Padrão

CONSEA Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal DM2 Diabetes Mellitus tipo 2

DOHaD Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Peróxido de Hidrogênio

IMC Índice de Massa Corporal

ISRS Inibidor Seletivo de Recaptação de Serotonina NVII Nervo Facial

Nvmot Núcleo Motor Trigeminal

Nvsnpq Núcleo Sensorial Principal do Trigêmeo Nvmes Núcleo Mesencefálico Trigeminal

SA Superalimentado

SERT Transportador de Serotonina SNC Sistema Nervoso Central

5-HT Serotonina

5-HTP 5-hidroxitriptofano

5-HIAA Ácido 5-hidroindolacético

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
1.1 Delimitação do Problema.....	9
1.2 Revisão da Literatura .....	11
1.2.1 Plasticidade Fenotípica e Obesidade .....	11
1.2.2 Modelo experimental de obesidade por redução da ninhada neonatal	15
1.2.3 Mastigação .....	17
1.2.3.1 Complexo Nuclear Trigeminal Mesencefálico .....	20
1.2.4 Sistema Serotoninérgico , Mastigação e Obesidade .....	21
1.2.5 SERT .....	25
<b>2. HIPÓTESE</b> .....	<b>28</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
3.1 GERAL: .....	29
3.2 ESPECÍFICOS: .....	29
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>30</b>
4.1 Animais e grupos experimentais .....	30
4.2 Análise do Peso Corporal.....	31
4.3 Análise do consumo alimentar durante a mastigação e movimentos mandibulares mastigatórios .....	32
4.4 Quantificação do tecido adiposo .....	33
4.5 Imunorreatividade ao SERT nos núcleos trigeminais - Perfusão Transcardíaca do Encéfalo.....	34
4.5.1 Criosseção do encéfalo .....	35
4.5.2 Imunohistoquímica para o Transportador de Serotonina .....	35
4.5.3 Preparação das Lâminas .....	36
4.5.4 Contagem de Neurônios.....	36
4.6 Análise estatística .....	37
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
5.1 Peso Corporal.....	38
5.2 Consumo Alimentar durante a mastigação .....	38
5.3 Movimentos mandibulares mastigatórios .....	39
Avaliador 1 Avaliador 2.....	40
Mediana IIQ Mediana IIQ ICC.....	40
Controle Supernutrido .....	42
mastigatórias.....	42
mastigatórias (s)# .....	42
5.4 Peso das gorduras .....	43
5.5 Expressão de SERT no núcleo trigeminal mesencefálico.....	45
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>50</b>



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Delimitação do Problema

A plasticidade fenotípica consiste na capacidade de um organismo de reagir aos desafios impostos pelo ambiente, modificando a sua forma, estado, movimento ou padrão de atividade (Wells et al., 2011, 2014). Diante disso, alguns estudos têm demonstrado que variações ambientais na vida precoce podem levar às mudanças fenotípicas com repercussões permanentes nos sistemas fisiológicos (Toscano et al., 2008; Ferraz et al., 2015). O sobrepeso e a obesidade são tidos como fatores ambientais capazes de gerar repercussões na saúde geral do indivíduo ( Mayoral et al., 2020).

O sobrepeso e a obesidade infantil são graves problemas de saúde pública (Franco et al., 2010; Souza et al., 2018). Mundialmente, cerca de 43 milhões de crianças com menos de 5 anos de idade estão com sobrepeso (De Onis; Borghi, 2010). A doença afeta 13,2% das crianças entre 5 e 9 anos acompanhadas no Sistema Único de Saúde (SUS), e pode trazer consequências preocupantes ao longo da vida. Nessa faixa etária, 28% das crianças apresentam excesso de peso, um sinal de alerta para o risco de obesidade ainda na infância ou no futuro. Entre os menores de 5 anos, o índice de sobrepeso é de 14,8%, sendo 7% já apresentando obesidade (Ministério da Saúde, 2021). No estado de Pernambuco, um estudo realizado em 2021 com crianças e adolescentes entre 7 e 12 anos mostrou um padrão alimentar específico do grupo obeso (Santos, 2021). Dentre os fatores associados ao sobrepeso e obesidade, o consumo alimentar é reconhecido como uma das principais causas (Rossi et al., 2019; White et al., 2015).

Evidências apontam uma relação entre o consumo exacerbado de alimentos industrializados com o aumento da prevalência do sobrepeso e obesidade ( Krebs et al., 2014). Além deste fato, alguns autores propõem que o aumento do peso corporal pode ser associado a alterações da função mastigatória (Li et al., 2011; Soares et al., 2017). Indivíduos que

apresentam dificuldade no processo mastigatório têm uma tendência a modificar a sua dieta, evitando alimentos de consistência mais firme e preferindo alimentos moles e pastosos (Friedlander et al., 2007).

A maturação da função mastigatória ocorre durante um período crítico de desenvolvimento do sistema nervoso central, concomitante com a maturação morfológica e funcional do complexo craniofacial (Silva, 2018). Uma mastigação eficiente depende não somente da integridade das estruturas orofaciais envolvidas nesse processo, como também da interação harmônica entre seus constituintes fisiológicos centrais e periféricos (Yadav, 2011).

Dentre os fatores relacionados à maturação da mastigação durante o período crítico, destaca-se a serotonina (Azmitia, 2007). Em preparações do tronco encefálico, a serotonina (5-HT) despolariza motoneurônios trigeminais e aumenta a excitabilidade neuronal (Galli, 2013). Os motoneurônios trigeminais inervam os músculos de abertura e fechamento mandibular. Além disso, a serotonina também influencia o final da divisão celular, assim como a diferenciação de tecidos-alvo das projeções serotoninérgicas (Buznicov et al., 2001; Galli, 2013). A mediação da 5-HT sobre esses eventos celulares ocorre tanto em tecidos neurais quanto em outros tecidos, como as estruturas crânio-faciais, dentais e musculares (Silva, 2018).

Diante do exposto, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito da obesidade induzida por redução do tamanho da ninhada nos parâmetros somáticos, mastigatórios e imunorreatividade do transportador de serotonina (SERT) nos núcleos trigeminais mastigatórios. Assim, podemos testar a hipótese que a obesidade induzida pela redução do tamanho da ninhada neonatal promove o aumento dos parâmetros somáticos e diminuição dos parâmetros mastigatórios e expressão do SERT nos núcleos trigeminais mastigatórios. Os achados do estudo poderão fornecer informações sobre o papel do sistema serotoninérgico em modelo experimental de obesidade; bem como a função desempenhada pela serotonina e o transportador de serotonina na modulação da mastigação.

## 1.2 Revisão da Literatura

### 1.2.1 Plasticidade Fenotípica e Obesidade

O fenômeno que vincula eventos vividos *no útero* com a predisposição a doenças na idade adulta é denominado "plasticidade fenotípica" e se refere à capacidade de um organismo de reagir aos desafios ambientais com uma mudança na forma, estado, movimento ou taxa de atividade sem alterações genéticas (Velasquez, 2020; Oliveira, 2016) . Também pode ser definida como a capacidade de um genótipo único exibir uma gama de fenótipos em resposta à variação no ambiente (Amorim, 2017).

Na visão tradicional, o ambiente refletia simplesmente as pressões de seleção atuando nos indivíduos de uma população (Simon,2010). A variação ambiental era considerada como uma “fonte de erro que reduz a precisão de estudos genéticos”(Carvalhoes, 2011). Ou seja, a visão era que o ambiente, por ser um efeito não genético, não contribui diretamente para a mudança evolutiva, uma vez que a evolução seja definida como mudança de frequência de genes de uma geração a outra (Carvalhoes, 2011). Porém, ao pensarmos em plasticidade, entendemos que o ambiente, além de selecionar variantes fenotípicas, produz as variantes por meio de sua interação com a genética. Ou seja, a variação ambiental contribui para a variação fenotípica, o substrato da seleção natural (Simon, 2010).

A fase perinatal é um período crítico de desenvolvimento do fenótipo em mamíferos, pois é a fase de maior vulnerabilidade aos fatores ambientais (Gluckman, 2007). As variações ambientais quando acontecem nesse período perinatal, podem levar a mudanças fenotípicas com repercussões permanentes no metabolismo, estrutura e função dos sistemas fisiológicos (Lacerda, 2016). O conceito de período crítico se associa à maturação do Sistema Nervoso Central (SNC) de modo linear. Um período crítico representa uma janela de desenvolvimento que não pode ser invertida ou repetida depois (Morgane,

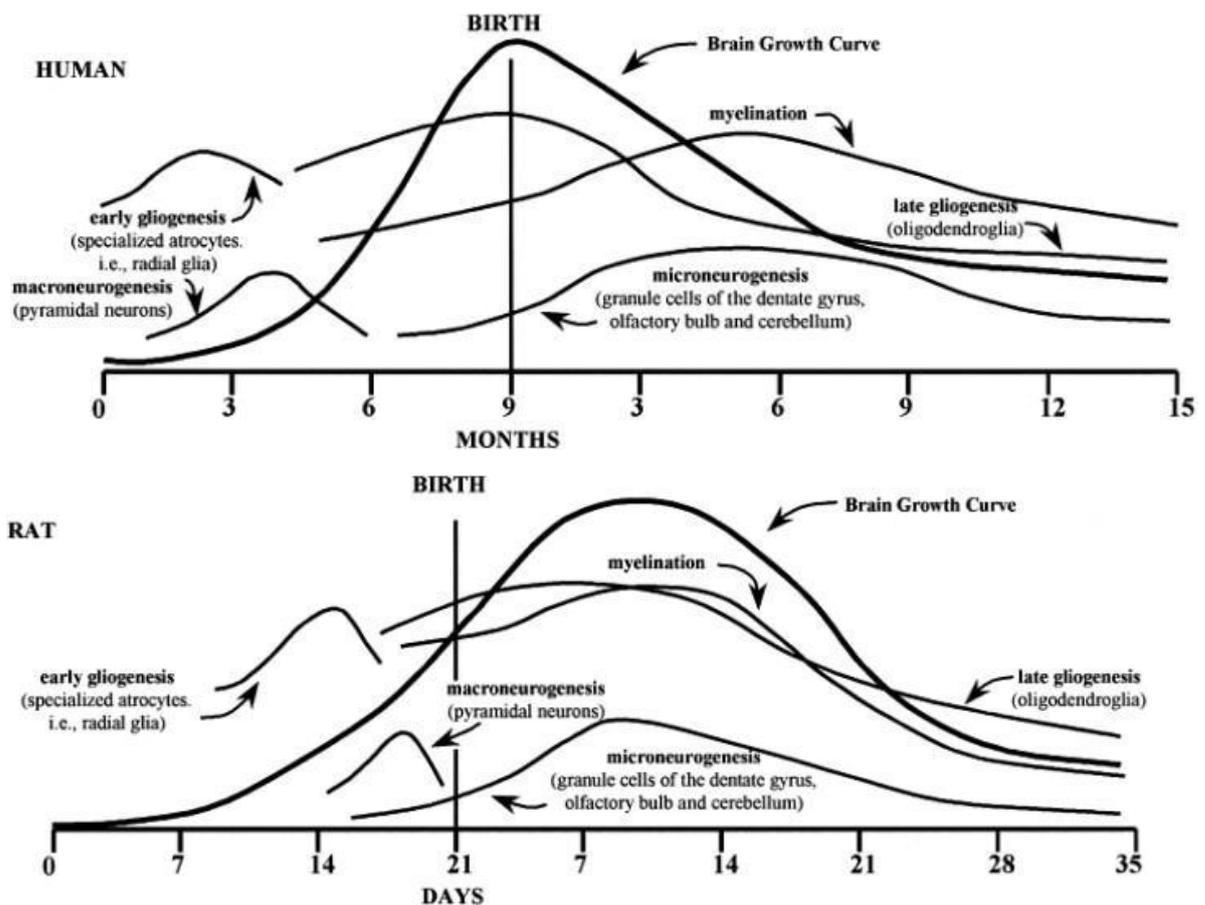
1978). Durante esta janela temporal, são extremamente sensíveis aos estímulos provindos do ambiente (Dobbing, 1970).

Nestes períodos ocorrem importantes diferenciações fenotípicas e morfofisiológicas, que permitem a adaptação ao ambiente frente às condições ambientais (Hanson; Gluckman, 2008). Durante os períodos críticos do desenvolvimento ocorre alta proliferação e migração celular (Andrezza, 2016). Assim, o organismo torna-se mais sensível a fatores ambientais nestas fases (Hanson; Gluckman, 2008). Nos humanos, o período crítico compreende a fase pré-natal, principalmente o último trimestre da gestação e tem seguimento até os cinco primeiros anos de vida. Nos roedores, essa fase perdura até as três primeiras semanas de vida pós-natal, o período de aleitamento (Morgane, 1978).

O conjunto de mecanismos envolvidos na plasticidade fenotípica é chamado de epigenética (Aguilera et al., 2010). Os processos epigenéticos são gerados através da mudança no epigenoma e expressão gênica em resposta a estímulos ambientais, sem nenhuma alteração na sequência do DNA (Wells, 2010). A plasticidade do desenvolvimento é o termo chave para compreender os mecanismos pelos quais o ambiente influencia na expressão fenotípica (Barnes, 2016). O campo que estuda esta plasticidade e suas consequências na vida adulta é conhecido como “Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença (DOHaD)” (Hanson, 2015). O DOHaD enfatiza que um mesmo estímulo ambiental pode gerar impactos diferentes na plasticidade, dependendo do período em que ocorre (Wadhwa et al., 2009). Assim, as alterações epigenéticas que ocorrem durante o período de desenvolvimento embrionário têm maior impacto do que a fase adulta, devido suas consecutivas divisões mitóticas (Aguilera et al., 2010).

O conceito de DOHaD é resultante da união de vários estudos, que sugeriram que o período de desenvolvimento fetal pode sofrer influências ambientais, alterando a susceptibilidade para doenças futuras (Schmidt; Burack; Van Lieshout, 2016). Nesse contexto, a associação entre predisposição genética e estímulo ambiental causa adaptações epigenéticas que geram consequências na vida adulta (Gluckman; Hanson, 2011). Esta programação epigenética permite que os indivíduos se adaptem a mudanças nas

condições ambientais e aumentem suas chances de sobrevivência (Silva, 2018). Assim, a epigenética é um dos mecanismos que ligam fatores ambientais à atividade genética alterada e, portanto, uma ligação óbvia entre a rápida mudança nos hábitos alimentares e os fenótipos de obesidade são observados (Ling, 2019).



**Figura 1:** Curva de velocidade do desenvolvimento do sistema nervoso no encéfalo de humanos e ratos. Adaptado de Morgane et al., 2002. (Morgane et al., 2002).

Nas últimas décadas, a obesidade tornou-se um problema crescente de saúde pública em todo o mundo (Mayoral et al., 2020). Globalmente, a prevalência de obesidade aumentou e espera-se que atinja cerca de 20% até 2025 se as tendências no índice de massa corporal (IMC) médio, que caracteriza sua distribuição populacional, continuarem (OMS, 2016).

A obesidade é uma doença crônica considerada como um importante e crescente desafio mundial à saúde. Ela é uma doença caracterizada por um alto grau de armazenamento de gordura, particularmente de tecido adiposo branco (TAB). Esse armazenamento está associado a riscos para a saúde do indivíduo, isso devido a sua relação com algumas complicações metabólicas associadas a fatores de risco tanto genéticos, como ambientais (Poston, 2007, Lopes, 2010, Bessesen, 2017).

O tecido adiposo branco é formado por adipócitos brancos, cuja principal função metabólica é a síntese e armazenamento de lipídios, primeiramente na forma de triglicerídeos (Moura, 2010). Este tecido adiposo está distribuído em diferentes regiões do organismo, sendo mais evidente os depósitos subcutâneos e o abdominal ou visceral (Monteiro, 2010). Na obesidade, a disposição de gorduras nos diferentes depósitos é desproporcional, frequentemente ocorre maior depósito na região abdominal ou visceral, processo mais intimamente relacionado a estados patológicos, como síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2 (Xavier, 2016).

De acordo com pesquisa, mais de 1,6 bilhão de adultos, acima de 18 anos, apresentavam sobrepeso, destes 650 milhões eram obesos (Jonas, 2018). Esse aumento no número de indivíduos com sobrepeso e obesidade está relacionado com um processo de mudança do padrão alimentar ocidental (Ferro, 2013). Existe predomínio, em populações de países desenvolvidos ou em desenvolvimento, de consumo de dieta rica em gorduras (particularmente as de origem animal), sal, açúcar e alimentos refinados, além de reduzida ingestão de carboidratos complexos e fibras, o que frequentemente se denomina como "dieta ocidental" (Lima, 2013), o que gera um acúmulo excessivo de tecido adiposo. Nesse acúmulo intervêm, tanto os hábitos alimentares e de estilo de vida, os fatores sociológicos e as alterações metabólicas e neuroendócrinas, como os componentes hereditários (Rosa, 2010).

O diagnóstico da obesidade é realizado a partir do parâmetro estipulado pela Organização Mundial de Saúde - o índice de massa corporal (IMC), obtido a partir da relação entre peso corpóreo (kg) e estatura (m)<sup>2</sup> dos indivíduos. Através deste

parâmetro, são considerados obesos os indivíduos cujo IMC encontra-se num valor igual ou superior a 30 kg/m<sup>2</sup> (OMS, 1995). Essa patologia sofre complicações por outras doenças, como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), esteatose hepática, doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral, dislipidemia, hipertensão, problemas de vesícula biliar, osteoartrite, apneia do sono e outros problemas respiratórios e certos tipos de câncer (endometrial, mama, ovário, próstata, fígado, vesícula biliar, rim e cólon), todos os quais podem levar a um aumento do risco de mortalidade (Purnamasari et al., 2011).

A associação entre obesidade e a função mastigatória tem sido observada, pois a função mastigatória afeta a ingestão nutricional (Machado, 2011). A função mastigatória objetiva é definida como o desempenho mastigatório, que avalia a distribuição do tamanho das partículas do alimento quando mastigado para um determinado número de golpes (Carvalho, 2010) e, portanto, seu impacto sobre a obesidade é uma grande preocupação (Tada; Miura, 2018).

### **1.2.2 Modelo experimental de obesidade por redução da ninhada neonatal**

Em roedores, o crescimento neonatal acelerado pode ser induzido pela redução do tamanho da ninhada (Vargas, 2020). A redução do tamanho da ninhada em roedores foi primeiramente demonstrada por Kennedy (1957) e tem sido usado para induzir a supernutrição na vida pós-natal imediata da prole e utilizada também para investigar as consequências do ganho de peso excessivo pós-natal (Novais, 2020). O excesso de peso no modelo de redução de ninhada é devido à ausência de competição e uma maior ingestão de leite causada por maior disponibilidade (Habbout, 2013). Além disso, aumento da concentração de gordura no leite, provocando consequências sobre a prole durante o desenvolvimento físico e neurocomportamental (Racek, 2014).

Os modelos animais induzem a obesidade de maneira semelhante à gênese da doença em humanos (Novais, 2020). O modelo experimental de obesidade por

redução na ninhada é realizado por meio da redução artificial do tamanho natural da ninhada para apenas três filhotes por ninho, os ratos criados em pequenas ninhadas recém-nascidos são submetidos a superalimentação precoce, indicada por exemplo, por hiperglicemia precoce, rápido acúmulo de gordura e obesidade (Plangemann, 2009).

Por mecanismos desconhecidos, a disposição da obesidade é preservada permanentemente, acompanhada por hiperfagia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, distúrbios diabéticos e cardiovasculares ao longo da vida (Plangemann, 2005; Boullu-Ciocca, 2005). Em diversos estudos com modelos de camundongos, machos e fêmeas, criados em ninhadas pequenas eram mais pesados e tinham mais gordura na carcaça em todas as idades do que camundongos criados em ninhadas grandes (Rinaldi, 2012).

Os circuitos neuropeptidérgicos no hipotálamo mediobasal desempenham um papel fundamental na regulação da alimentação e do peso corporal (Schwartz *et al.* 2000). Fisiologicamente, a leptina circulante e a insulina estimulam, em particular, a expressão da proopiomelanocortina neurofregigênica neurohormona (POMC), inibindo o neuropeptídeo orexigênico Y (NPY) (Cone, 2005; Horvath, 2005). A superalimentação precoce leva à desregulação permanente desses circuitos hipotalâmicos, incluindo resistência funcional à insulina e à leptina, o que pode estar por trás do aumento permanente da ingestão alimentar e do excesso de peso (Plangemann, 2009).

Os ratos submetidos à redução da ninhada apresentam um aumento significativo no peso corporal e também na ingestão calórica tanto no ciclo claro, como no escuro, adipócitos aumentados e mais numerosos (Tavares *et al.*, 2019). Também foi notada hiperinsulinemia, aumento total da síntese lipídica no fígado, resistência à insulina, intolerância à glicose (Li, 2016), hiperleptinemia e composição da microbiota intestinal alterada (Mozes *et al.*, 2013).

Em outro estudo com redução do tamanho da ninhada utilizando ratos Wistar na proporção de 4 filhotes (SA) e 10-12 filhotes (C) por lactante, foi observado ao desmame que a quantidade de gordura e de leptina havia dobrado

nos animais criados em SA, e também que a hiperinsulinemia parece desempenhar um papel fundamental para o desenvolvimento de resistência à leptina e risco de obesidade ao longo da vida destes ratos. Sendo assim, os autores sugeriram que o estado nutricional no período pós-natal imediato pode ter um impacto no risco cardiometabólico na vida adulta (Novais, 2020).

Vargas, (2020) fez uma análise dos resultados de alguns artigos científicos que utilizaram a redução da ninhada neonatal como modelo experimental de indução da obesidade. Diante dos resultados foi possível concluir que apesar das diferenças entre tamanho das ninhadas ((SA) superalimentados n: 2-4) e (controle n: 6-12) e variedade de espécies (Sprague-Dawley, Wistar, ratos suíços, ICR-CD1, C57BL/6, FVB e 129), quase todos os roedores criados em SA desenvolveram desarranjos metabólicos durante a idade adulta, com sobrepeso e aumento da adiposidade relatados entre 100% e 94% dos estudos.

Os estudos vêm focando no controle e gerenciamento do peso corporal, principalmente na melhor compreensão dos fatores que podem influenciar a saciedade e o ganho de peso. Descobertas sobre a relação entre alterações na função mastigatória e o excesso de peso em períodos críticos do desenvolvimento são as bases para o interesse crescente na utilização de modelos experimentais com excesso de peso, a fim de obter conhecimento sobre os mecanismos que induzem as alterações nos parâmetros mastigatórios, e como isto influencia no controle do apetite e da saciedade. Dessa forma, o objetivo geral deste trabalho é avaliar o efeito da obesidade induzida por redução do tamanho da ninhada nos parâmetros somáticos, mastigatórios e imunorreatividade do transportador de serotonina (SERT) nos núcleos trigeminais mastigatórios.

### **1.2.3 Mastigação**

A mastigação é a primeira etapa da digestão e tem papel importante dentre as funções do sistema estomatognático. Logo, ela é responsável pela quebra dos alimentos em partículas menores, adequadas para absorção gastrointestinal dos nutrientes (Cardoso, 2020). A mastigação participa da ativação de cascatas neuroendócrinas que permitem digestão e sinalização da saciedade (Zhu, 2013).

Além disso, o ato de mastigar propicia estímulos mecânicos para a mandíbula, o ligamento periodontal e articulação têmporo-mandibular (ATM), estimulando o crescimento e desenvolvimento orofacial (Silva, 2018).

Após o nascimento são observadas modificações importantes nos músculos mastigatórios, quando o padrão de ingestão de alimentos se altera da sucção para a mastigação (Figueiredo, 2010). A transição no comportamento alimentar reflete a maturação tanto neuromuscular, como também a maturação funcional da mastigação, ambas ocorrem durante o período crítico do desenvolvimento, particularmente na gestação e lactação (Lacerda, 2019). No décimo segundo dia de vida pós-natal, pode-se observar nos ratos os primeiros movimentos mastigatórios e ingestão de alimentos sólidos. Contudo, apenas no vigésimo primeiro dia de vida pós-natal desses animais é finalizado o amadurecimento motor da mastigação (Pinheiro, 2013).

Os parâmetros motores da mastigação podem ser avaliados de acordo com o protocolo proposto por Ferraz-Pereira e colaboradores (Ferraz-Pereira et al., 2015). De acordo com este protocolo, os seguintes parâmetros motores podem ser avaliados: sequência da mastigação, duração do período de incisão, duração do período da mastigação rítmica e número de ciclos mastigatórios. O período de incisão é caracterizado por sucessivas incisões e da condução do alimento para a parte posterior da cavidade oral, quando se inicia o período da mastigação rítmica (Ferraz-Pereira et al., 2015). No período da mastigação rítmica iniciam-se os ciclos mastigatórios, movimentos regulares de abrir e fechar a mandíbula, destinados a promover a trituração e pulverização do alimento (Ferraz-Pereira et al., 2015). Além disso, outro parâmetro analisado trata-se da frequência mastigatória, definido pela quantidade de ciclos mastigatórios executados durante o período de mastigação rítmica (Lacerda et al., 2017).

Os circuitos que controlam o padrão dos movimentos mandibulares durante a mastigação estão localizados dentro de uma pequena região do tronco encefálico definida rostralmente pelo núcleo motor do trigêmeo e caudalmente pelo núcleo facial (NVII) (Tanaka et al., 1999), esta região é conhecida por centro gerador de



Fonte: Kolta, 2010.

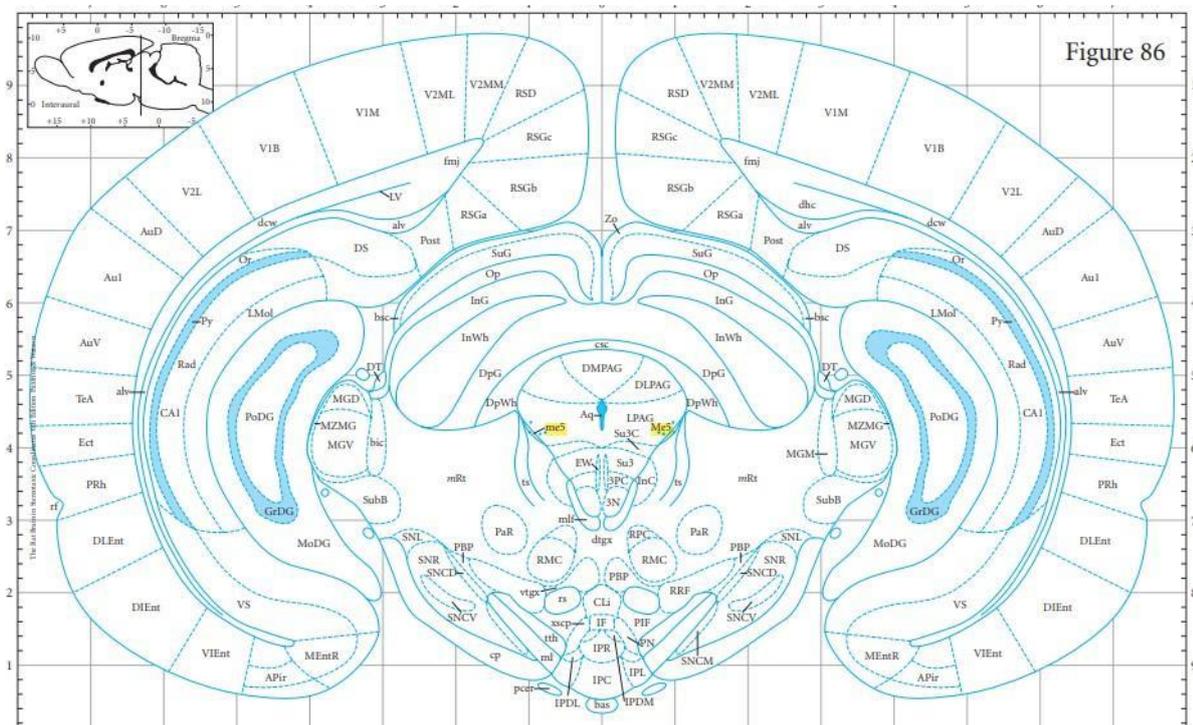
**Figura 2:** Representação esquemática dos núcleos do tronco cerebral envolvidos nos movimentos orofaciais e suas conexões.

### 1.2.3.1 Complexo Nuclear Trigeminal Mesencefálico

A alimentação envolve movimentos oromotores organizados (por exemplo, mastigação e deglutição) guiados por muitos fatores, incluindo a entrada constante de informações sensoriais da boca (Grill, 2012). O núcleo mesencefálico do trigêmeo é um local de retransmissão central para a transmissão de entrada sensorial da cavidade oral para coordenar os movimentos orofaciais da mandíbula, face e pescoço durante a mastigação e deglutição (Lazarov, 2002). O núcleo sensorial trigeminal mesencefálico (Me5) recebe aferentes sensoriais proprioceptivos do nervo trigêmeo dos fusos musculares que fecham a mandíbula e dos ligamentos periodontais, e inerva o núcleo motor do trigêmeo, que está relacionado ao reflexo mandíbula-espasmódico (Yokoyama, 2013). Ele também recebe inervação hipotalâmica histaminérgica e orexigênica que facilita o comportamento mastigatório (Lazarov, 2005). O Me5 também projeta suas fibras nos núcleos tuberomamilaes (TMN) no hipotálamo posterior (Ericson et al., 1991), lesões nesse núcleo alteram o comportamento alimentar e afetam a memória espacial envolvida no comportamento de busca de alimentos (Figura 3) (Ishii et al., 2010).

O núcleo mesencefálico contém populações de células aferentes primárias que inervam fusos musculares nos músculos de fechamento da mandíbula e nos mecanorreceptores periodontais ao redor das raízes dos dentes (Dumoulin, 2018). Os mecanorreceptores que inervam as raízes apicais dos dentes molares e incisivos estão agrupados em um único núcleo do tronco encefálico, o núcleo mesencefálico. Estudos mostraram que o sistema trigeminal se desenvolve muito cedo no embrião do roedor. Células do núcleo mesencefálico são derivados da crista neural que migram das pregas neurais mesencéfalo para sua localização final dentro do

rombencéfalo rostral durante os dias 8-11 gestacional (Dumoulin, 2018).



**Figura 3:** Bregma do corte histológico cerebral do rato. Fonte: **The Rat Brain,**

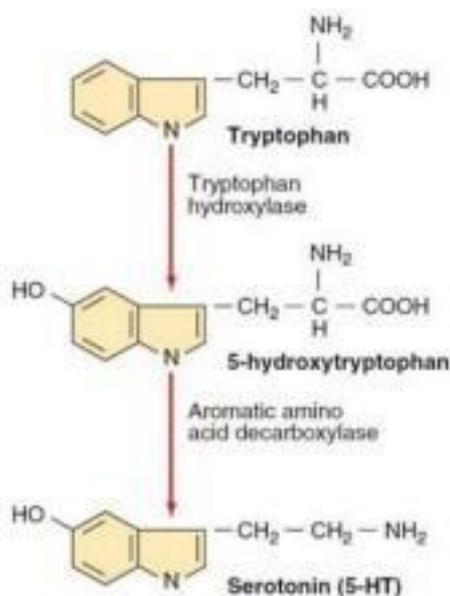
Praxinos e Watson, 2007.

### 1.2.4 Sistema Serotoninérgico , Mastigação e Obesidade

O sistema serotoninérgico exerce um papel bem conhecido sobre a homeostase orgânica. Além de atuar sobre a modulação da motilidade gastrointestinal e função plaquetária, a serotonina (5-HT) participa efetivamente da regulação hidroeletrólítica, modulando a sede e o apetite, ingestão alimentar, balanço energético, regulação da emoção e processos do controle comportamental (Mohammad-Zadeh; Moses; Gwaltney-Brant, 2008). A 5-HT foi descoberta pela Rapport em 1942 e foi isolada do soro bovino e chamada de "serotonina" por seu efeito vasoconstritor (Mercado, 2010). A serotonina é encontrada cerca de 95% nas células enterocromafins do trato gastrointestinal, sendo o restante encontrado nas plaquetas e no SNC de mamíferos (Vedovato, 2014).

No interior dos neurônios, a serotonina é produzida a partir do aminoácido

triptofano, aminoácido este que deve ser adquirido através do alimento na dieta, pois não é sintetizado pelo organismo (Azmitia, 2010). O triptofano é primeiramente convertido a 5-hidroxitriptofano pela enzima triptofano hidroxilase, que é então descarboxilado a 5-HT pela enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilase (Figura 4) (Walther et al, 2003). Após sua síntese, a serotonina é estocada em grânulos secretórios através de um transportador vesicular e liberada para a fenda sináptica por exocitose dos neurônios serotoninérgicos (Silva, 2017). Sua metabolização ocorre pela ação da enzima monoamina oxidase e pela enzima aldeído desidrogenase originando seu metabólito principal, o ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Pontes, 2018).



**Figura 4:** Biossíntese da serotonina.

No plasma, cerca de 80% triptofano circula conjugado à albumina, para otimizar o transporte pela barreira hematoencefálica (Le Floc'H; Otten; Merlot, 2011). Assim, álcool, drogas, desnutrição proteica, entre outros fatores que causem hipoalbuminemia podem levar a diminuição da biodisponibilidade de triptofano (Le Floc'H; Otten; Merlot, 2011). As principais vias metabólicas do triptofano são a via das quinureninas e a via da serotonina, respectivamente

(Lesniak et al, 2013). O triptofano também é utilizado na síntese protéica, porém em menor proporção, devido a sua baixa disponibilidade (Lesniak et al., 2013).

No SNC, neurônios contendo 5-HT são encontrados no mesencéfalo, ponte e bulbo, e estão essencialmente confinados às zonas mediana e paramediana nos chamados núcleos da rafe (Vedovato, 2014). Cada núcleo da rafe envia projeções para várias regiões do encéfalo. Aqueles mais caudais, no bulbo, inervam a medula espinal, onde modulam sinais sensoriais relativos à dor. Aqueles mais rostrais, na ponte e no mesencéfalo, inervam a maior parte do encéfalo, de forma difusa (Martins, 2010). No SNC a serotonina está envolvida no controle do apetite, sono, humor, alucinações, comportamento estereotipado e percepção da dor entre outros (Mello, 2010).

Os neurônios serotoninérgicos, a partir dos núcleos da rafe, enviam projeções para o hipotálamo e podem controlar o comportamento alimentar e o balanço energético (Davidowa, 2000). Cada função da serotonina pode ser mediada por uma variedade de receptores para 5-HT localizados em células neuronais e não neuronais (Lauder, 1990). Alguns receptores possuem íntima relação com o comportamento alimentar, são eles o 5-HT1A, 5-HT1B e 5-HT2C (Simansky, 2002; Gur et al, 2003; Hewitt et al, 2002). Os receptores 5-HT1A são auto receptores e quando estimulados, eles inibem a liberação de serotonina na fenda sináptica dos terminais nervosos. Estudos demonstram que a exposição crônica à serotonina causa redução deste receptor, restringindo a liberação de 5-HT nos terminais nervosos e impedindo a sua função (Fabre, 2003). Apesar disso, agonistas do receptor 5-HT1B, promovem redução na ingestão alimentar e aumentam a saciedade avaliada na sequência comportamental de saciedade (Halford, 1996). E os receptores 5-HT2C modulam o tamanho da refeição e duração do comportamento de alimentação (Wright et al., 1995).

A serotonina tem um papel anorexigénico bem estabelecido através da promoção da saciedade. No núcleo arqueado do hipotálamo, a serotonina atua de diferentes maneiras; atua no 5HT1B, promovendo a inibição dos neurônios que produzem o neuropeptídeo Y (NPY) e o transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART), que são orexigénicos. Também atua no 5HT2C, promovendo a

ativação de neurônios que produzem pró-opiomelanocortina (POMC) e o peptídeo relacionado ao gene das cutias (AgRP), que são anorexígenos, promovendo assim a sinalização da saciedade (Heisler et al., 2006). Além disso, estudos recentes também referem que a serotonina tem um papel na regulação hedônica do comportamento alimentar. Receptores como o 5HT6 em áreas do circuito mesocorticolímbico têm sido associados ao comportamento alimentar motivacional (Da Silva et al., 2017).

A obesidade tem sido associada ao aumento do consumo de produtos altamente processados (Brennan et al., 2010), alimentos que apresentam maior palatabilidade, mais calorias e menos consistência (Caetano, 2017). De acordo com Novaes (2020), o consumo de tais alimentos acelera o processo de digestão, diminui o tempo de mastigação e o número de ciclos mastigatórios. A fragmentação de alimentos também mostrou influenciar as taxas de esvaziamento gástrico (Santos, 2021) e estudos anteriores sugeriram uma relação entre comer rápido e o excesso de peso (Santos, 2021).

Ferster et al. (1996) sugeriram que há um estilo mastigatório específico em indivíduos obesos, com mordidas maiores e menor tempo de refeição, o que estaria relacionado a um aumento no consumo alimentar. Além disso, Santos et al. (2021) demonstrou através de uma revisão sistemática que crianças e/ou adolescentes com sobrepeso ou obesidade apresentam danos mastigatórios, pois possuem pior performance mastigatória e características miofuncionais orofaciais alteradas.

A serotonina foi evidenciada por excitar motoneurônios trigeminais (Silva, 2015) e por facilitar a geração da atividade rítmica trigeminal por motoneurônios de fechamento da mandíbula em uma preparação isolada de tronco cerebral in vitro (Mori et al., 2002). Estudos em roedores argumentam que a mastigação afeta diretamente a saciedade por meio da ativação histaminérgica dos núcleos ventromedial e paraventricular do hipotálamo (Vinyard et al., 2008). A maior ativação desses neurônios histaminérgicos está relacionada à diminuição na ingestão alimentar desses roedores (Steffens, 2009). Portanto, se diminui a ingestão de alimentos leva a redução do peso corporal (Díaz et al, 2019). Em condições de sobrepeso e obesidade, o controle do balanço energético é

claramente desregulado e a modulação serotoninérgica parece contribuir significativamente para o ganho de peso ( Da Silva et al, 2019).

O sistema serotoninérgico é diretamente regulado pelos auto-receptores 5-HT1A e 5-HT1B e pelo transportador de serotonina (SERT), estes componentes atuam como reguladores do fenótipo neuronal serotoninérgico (Rumajoguee et al., 2004). A expressão de receptores 5-HT1B e 5-HT1D em axônios tálamos-corticais, durante a gestação, comprovam uma sintonia com a sinalização serotoninérgica por regular a orientação e crescimento destes neurônios (Bonnin et al., 2007). Através da imunohistoquímica do SERT, observada do 2º ao 14º dia de vida em roedores, no córtex somatossensorial foi possível identificar uma organização cortical precoce e uma relação com a inervação transitória de neurônios 5-HT nesta região (D'amato et al., 1987).

Em roedores, os neurônios serotoninérgicos aparecem entre o 10º a 12º dia de vida do embrião (Lidov; Molliver, 1982). A partir do 11º dia de vida pós-natal é observada a expressão gênica da proteína transportadora de serotonina (SERT) em neurônios serotoninérgicos, tendo continuidade ao longo da vida (Homberg et al., 1998, 2010). Já em neurônios não serotoninérgicos de roedores, o SERT aparece entre o 14º e 15º dia de gestação no hipocampo e no córtex pré-frontal após o nascimento (Homberg et al., 2010). Devido seu surgimento precoce e ação moduladora da 5-HT sobre eventos biológicos, tem-se sugerido importante papel para esse sistema no desenvolvimento normal do sistema nervoso (Pinheiro, 2013). E o transportador de serotonina (SERT) é o principal responsável pela regulação dos níveis de serotonina na fenda sináptica (Pinheiro, 2013).

### **1.2.5 SERT**

Estruturalmente, a SERT é uma glicoproteína pertencente à superfamília de transportadores de neurotransmissores dependentes de NaCl ligados à membrana, caracterizada por 12 supostos domínios de abrangência da membrana: promove a depuração (recaptação) da 5-HT do meio extracelular e modifica o estado de sensibilização dos receptores 5-HT dentro do sistema nervoso ou distritos não

neurais (intestino, plaquetas, linfomonócitos) (Giannaccini, 2013).

Os transportadores de serotonina (SERT ou 5-HTT) são proteínas responsáveis pela recaptação de serotonina liberados da fenda sináptica e, via recaptação, controlam a quantidade de serotonina intra sináptica (Koskela, 2007). A deleção genética da SERT tem sido relatada como levando à obesidade e tolerância à glicose prejudicada, e há também um crescente reconhecimento clínico de que a baixa expressão de SERT está associada ao aumento do risco de ganho de peso e diabetes tipo 2 (Chen, 2012; Giannaccini, 2013).

Localizado em neurônios e nas células da glia, o SERT é encontrado em elevada densidade nos núcleos dorsal e mediano da rafe, substância negra, amígdala e núcleo dorsolateral do tálamo (De Souza, 1987). Durante o desenvolvimento do sistema nervoso, o SERT é importante em regiões encefálicas onde se localizam receptores serotoninérgicos envolvidos nos processos do desenvolvimento (Homborg et al., 2010).

Durante o desenvolvimento, o SERT pode influenciar a diferenciação, a sinaptogênese, a arborização e a citoarquitetura neuronal (Lee, 2009). A presença do gene SERT nos núcleos da rafe no início do desenvolvimento pode atuar na regulação da ativação e dessensibilização de receptores serotoninérgicos como 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C e 5-HT3 (Hansson et al., 1998).

O transportador de 5-HT é o principal regulador dos níveis extracelulares de 5-HT em células neuronais (Hofmman, 1995) e não neuronais (Wade et al., 1996) pela recaptação da 5-HT liberada do espaço extracelular para o citoplasma, onde pode ser sequestrada em vesículas secretoras por transportadores de monoamina vesiculares ou degradada pela monoamina oxidase. O gene SERT pode representar um marcador precoce de neurônios serotoninérgicos ou um progenitor na qual irá diferenciar neurônios serotoninérgicos (Hoffman et al., 1998). Em ratos, a expressão de SERT no encéfalo está intimamente relacionada com a distribuição da triptofano hidroxilase no corpo celular dos neurônios serotoninérgicos (Hoffman et al., 1998).

A expressão de mRNA e a atividade de captação do transportador 5-HT foram demonstradas no tálamo ventrobasal (Lebrand et al. 1996; Hansson et

al. 1998), que serve como uma entrada para o córtex sensorial. Portanto, o mRNA do transportador de 5-HT foi localizado em todo o sistema trigeminal na região do gânglio trigeminal (gânglio Gasseri), núcleo trigeminal e estações retransmissoras talâmicas (Lebrand et al. 1996).

Estudos de neuroimagem molecular, que permitem a visualização espacial e quantificação da disponibilidade central do receptor de serotonina ou transportador (SERT), sustentam que a obesidade humana está frequentemente associada à diminuição da sinalização serotoninérgica (Van Galen, 2021). Camundongos com deficiência de SERT exibem um aumento de concentrações extracelulares de 5-HT no cérebro e demonstram a redução da ingestão de alimentos (Chen, 2012). Zha, (2017) demonstrou em seu estudo que a deficiência do transportador de serotonina em camundongos levou ao desenvolvimento da obesidade, apresentada pelo acúmulo anormal de tecido adiposo branco e marrom, além de intolerância à glicose e resistência à insulina.

## **2. HIPÓTESE**

A obesidade induzida por redução da ninhada neonatal promove aumento do peso corporal e quantidade de tecido adiposo branco, reduz os parâmetros mastigatórios, evidenciado por menos movimentos mandibulares mastigatórios, bem como menor expressão do transportador de serotonina (SERT) nos núcleos trigeminais mastigatórios.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL:**

Avaliar o efeito da obesidade induzida por redução do tamanho da ninhada nos parâmetros somáticos, mastigatórios e imunorreatividade do transportador de serotonina (SERT) nos núcleos trigeminais mastigatórios.

#### **3.2 ESPECÍFICOS:**

Em ratos com obesidade induzida pela redução do tamanho da ninhada neonatal:

- Aferir evolução do peso corporal;
- Avaliar o comportamento alimentar durante a mastigação;
- Avaliar movimentos mandibulares mastigatórios;
- Quantificar o tecido adiposo branco;
- Examinar imunorreatividade ao transportador de serotonina (SERT) nos núcleos trigeminais.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 48 ratos Wistar albinos (*Rattus Norvegicus*) provenientes de ratas progenitoras da colônia do Biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Setenta e duas horas após o nascimento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Controle (C; 9 filhotes por nutriz; n=24) ou superalimentado (SA; 3 animais por nutriz; n=24) de acordo com os estudos do grupo de Plagemann (Plagemann et al., 2009). Os filhotes foram mantidos com suas mães durante o período de lactação. Aos 22 dias de idade, os animais foram desmamados e alocados em gaiolas com um total de três filhotes por gaiola até a realização das análises aos 30 dias pós-natal, quando eles foram eutanasiados (por decapitação). Para cada análise foram utilizados até dois filhotes machos de cada ninhada. Estes ratos foram mantidos no Biotério do Departamento de Nutrição – UFPE desde o período de adaptação até o final dos experimentos. Foram utilizadas condições padrão de biotério (temperatura de  $23^{\circ}\text{C}\pm 1$ , ciclo claro-escuro de 12/12 horas - escuro: 8:00h às 20:00h / claro: 20:00h às 8:00h), livre acesso à água e a alimentação. Os animais receberam a dieta comercial padrão do biotério (Labina-Purina®). Os experimentos foram conduzidos de acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil (n° 0026/2019).

## 4.2 Análise do Peso Corporal

O peso corporal (em gramas) foi mensurado durante o período de aleitamento (aos 3, 7, 14 e 21 dias de idade) e pós desmame aos 30 dias de idade (C; n=24; SA, n=24). Para mensuração do peso corporal, foi utilizada uma balança eletrônica digital com acurácia de 1 grama (Marte®) (Plagemann et al., 2010).

### **4.3 Análise do consumo alimentar durante a mastigação e movimentos mandibulares mastigatórios**

O desempenho mastigatório, avaliado pelos movimentos mandibulares durante a mastigação, será avaliado nos filhotes (C, n=24; SA, n=24) no 22<sup>o</sup> e 29<sup>o</sup> dias de vida pós-natal, de acordo com o protocolo de Ferraz-Pereira et al. (2015) e Lacerda et al (2017).

Inicialmente os animais foram submetidos a um período de três horas de privação alimentar (8:00 às 11:00 hs). Em seguida (das 11:00 às 12:00 hs), os animais foram alocados individualmente em uma gaiola de acrílico transparente, e filmados (por 15 minutos cada) para quantificação dos parâmetros motores da mastigação (Figura 3). No início da filmagem, cerca de 30 gramas de ração padrão foi ofertada para cada animal dentro da gaiola e, após o teste, o alimento foi pesado novamente. Dessa forma, o consumo alimentar foi obtido pela diferença entre o peso do alimento antes e após o teste. Além disso, será mensurado o consumo alimentar relativo ao tempo de alimentação. A partir da análise dos vídeos, serão quantificados os seguintes parâmetros: duração do período de incisão (s), duração do período de mastigação rítmica (s), número de ciclos mastigatórios (n) e frequência dos ciclos mastigatórios (n/s). A análise dos parâmetros motores da função mastigatória será realizada com o objetivo de mensurar o desempenho da mastigação, isto é, a capacidade da mastigação em triturar o alimento em micropartículas para formação do bolo alimentar. O período de incisão, também denominado de período preparatório, consiste no momento em que o animal obtém o alimento a partir de sucessivas incisões e em seguida transfere para a superfície oclusal. Este período é marcado por movimentos irregulares de abrir-fechar a mandíbula. Após o período de incisão, se inicia o período de mastigação rítmica caracterizado por movimentos verticais e regulares da mandíbula, denominados de ciclos mastigatórios, a fim de triturar e pulverizar o alimento entre os molares superiores e inferiores. A frequência dos ciclos mastigatórios consiste no quociente entre o número de ciclos mastigatórios e o tempo de mastigação rítmica. Os vídeos serão vistos em slow-motion, (redução de 90% da velocidade), utilizando o programa de reprodução de vídeos Media Player

Classic Home Cinema (versão 1.7.5). Para garantir a confiabilidade das análises, os vídeos serão analisados e quantificados por dois avaliadores treinados e cegos para o conhecimento de qual grupo experimental pertencia cada animal. Esta estratégia será realizada com o objetivo de minimizar o risco de viés de mensuração dos resultados.



**Figura 5:** Filmagem do animal para análise dos parâmetros motores da mastigação.

#### **4.4 Quantificação do tecido adiposo**

Aos 30 dias de idade (C; n=16; SA, n=16), o tecido adiposo branco inguinal, mesentérico, retroperitoneal, mesentérico, epididimal e perirrenal e o tecido adiposo marrom foram dissecados e pesados usando uma balança digital (Marte, modelo S-100 com 0,001g sensibilidade) . O tecido adiposo branco foi expresso em gramas, como uma proporção do peso corporal (tecido adiposo branco/peso corporal) (Da Silva et al., 2015).

#### **4.5 Imunorreatividade ao SERT nos núcleos trigeminais - Perfusão Transcardíaca do Encéfalo**

Aos 30 dias de idade, os animais foram anestesiados (C; n=5; SA, n=4) com ketamina (60mg/kg de peso corporal) e xilazina (7,5 mg/kg de peso corporal). O efeito da anestesia foi confirmado através do reflexo palpebral, na qual foi colocada a pinça oftálmica de secção curva em frente ao olho do animal, quando ele não piscou e teve ausência de reflexos de preensão foi iniciada a cirurgia (Figura 5-A). Foi realizada com o animal deitado com a região ventral voltada para cima e devidamente fixado pelos membros anteriores em superfície apropriada. Foi suspenso o tecido da região ventral na linha mediana para realização do corte na região abdominal até a torácica. A partir do processo xifóide foi efetuado um corte em forma de “V” na musculatura e costelas, abrindo a cavidade torácica de maneira que o coração ficou exposto, permitindo o acesso ao ventrículo esquerdo, local onde foi introduzida a cânula para a perfusão, esta ficou presa à área por uma pinça de keller (Figura 5-B).

Afastando-se os pulmões, a aorta descendente foi pinçada impedindo, assim, que toda a sua área de irrigação fosse perfundida. A bomba peristáltica, na qual a cânula está acoplada, foi acionada mantendo-se a velocidade de infusão da solução compatível com a manutenção da integridade dos vasos sanguíneos. O total de 100ml de solução salina (NaCl, 0,9%) foram infundidos inicialmente à temperatura ambiente para remoção sanguínea dos vasos, evitando a formação de coágulos e proporcionando a correta penetração do fixador nos tecidos. Foram infundidos 400 mL de solução fixadora (4% de paraformaldeído, pH 7,4, em 4°C). Após a confirmação da presença do fixador na região dos membros anteriores pela contração destes, foi adicionado gelo sobre a cabeça do animal para minimizar a degradação proteica. Ao final da infusão, os encéfalos fixados foram retirados do crânio e imersos na mesma solução fixadora acrescida de sacarose (20%) durante 4 horas. Em seguida, foram armazenados em solução crioprotetora (Tampão fosfato de sódio PBS - mais sacarose 20%) por 6-24 h.

#### 4.5.1 Criossecção do encéfalo

Os encéfalos foram criosseccionados em cortes coronais de 40µm de espessura utilizando-se criostato (Leica-3185). Cinco séries de cortes foram coletadas, para cada animal, em placas de cultura de acrílico (24 poços) com solução anticongelante (anti-freezing) e armazenadas a -20°C. Uma série de cortes foi submetida a reações de imunohistoquímica contra o anti-SERT.

#### 4.5.2 Imunohistoquímica para o Transportador de Serotonina

Para a detecção do transportador de serotonina, os cortes coronais de uma série foram removidos da solução anticongelante e submetidos à três séries de lavagens. Nesse procedimento, a primeira lavagem do tecido foi em PBS (0,1M com pH 7,6) por 10 minutos (3 vezes). Na segunda lavagem, o tecido foi incubado com Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 30% por 5 minutos (para bloquear a atividade da peroxidase endógena e de alguns sítios inespecíficos de união ao anticorpo), e a terceira lavagem novamente com PBS (3 x 10 minutos) para remover os resíduos do pós-fixador. Para o bloqueio de sítios inespecíficos, foram incubados em solução contendo PBS e soro normal de cabra (NGS 5%) por 1 hora à -4°C. Em seguida, foram incubados em solução com anticorpo primário anti-SERT (AB9726, feito em coelho, Chemicon, Temecula, CA) por 24 horas à -4°C. Esta solução é composta por PBS (0,1M com pH 7,6), Triton (0,3 %), Soro Normal de Cabra (NGS 5 %) e o anticorpo contra SERT (1:500). Durante a incubação os cortes permaneceram em recipientes de 1,5 ml posicionados em uma incubadora agitadora refrigerada protegidos da luz.

Após a incubação os cortes foram submetidos à três lavagens em PBS por 10 minutos e posteriormente incubados em solução com anticorpo secundário (anti-rabbit, Sigma B8895) por 45 minutos à -4°C. Esta solução é composta por Triton (0,3%), PBS e anticorpo secundário biotilado feito em cabra contra coelho (1:200). Na sequência, os cortes foram submetidos à três lavagens em PBS por 10 minutos e posteriormente incubados com o Complexo Avidina Biotina Peroxidase 1% (ABC Kit, Vector Laboratories) por 45 minutos à -4°C. Seguidos de duas

lavagens com PBS por 10 minutos e duas lavagens em acetato de sódio (0,1M) por 10 minutos. Para a revelação, os cortes são incubados na mesa agitadora por cinco minutos em solução de revelação com 3,3-diaminobenzidina – DAB (Sigma D5637) diluído em água destilada, solução NAS (acetato de sódio 0,2M e sulfato de níquel),  $\beta$ -d-Glicose e cloreto de amônio. Após esta reação, é acrescentada a solução contendo a enzima Glucose Oxidase até que os cortes apresentem coloração marrom. Em seguida, para neutralizar a reação os cortes são lavados em acetato de sódio (0,1M) por 10 minutos e para finalizar são lavados em PBS (2 x 10 minutos).

#### **4.5.3 Preparação das Lâminas**

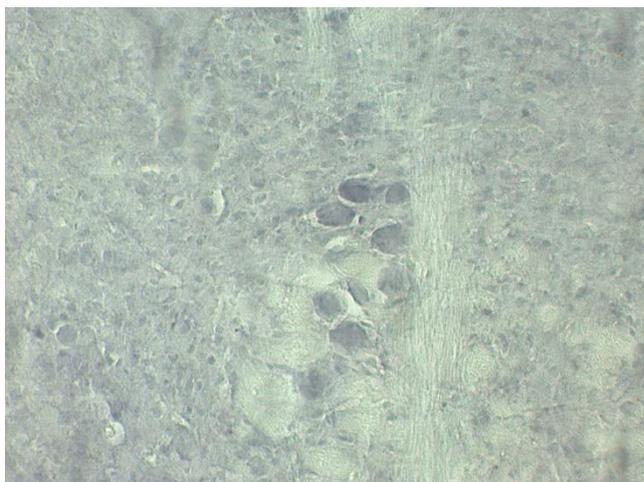
Os cortes são montados em lâminas previamente gelatinizadas, passarão por processos de desidratação, onde são imersos em uma sequência crescente de concentrações de álcoois (50%, 70%, 90%, 100% -I, 100% -II, 5 minutos em cada) e diafanizados em xilol (Xilol-I, Xilol-II, 5 minutos em cada). Após estas etapas, as lâminas são recobertas com Entellan e lamínula.

#### **4.5.4 Contagem de Neurônios**

A análise foi realizada em microscopia óptica de campo claro. Foram verificadas células com marcação evidente no Núcleo trigeminal mesencefálico.

Para cada núcleo são considerados na análise todos os cortes coronais de uma série nos quais essas regiões tiverem sido evidenciadas. Foram quantificadas todas as células em cada corte para cada núcleo. Para delimitação das áreas marcadas é utilizado Atlas Estereotáxico de Rato (Paxinos e Watson, 2007). Os dados utilizados apresentam a média do somatório de neurônios em cada núcleo de cada animal.

As imagens dos neurônios SERT-IR nos núcleos trigeminiais foram realizadas a partir de fotomicrografia adquiridas por meio de um microscópio Primostar 3 com câmera acoplada (AxionCam ERc5s). A aquisição das imagens foi realizada utilizando a objetiva de 10X e com o auxílio do software TV Turner Application e MotiImage Plus 2.0.



**Figura 6:** Marcação dos neurônios SERT no núcleo trigeminal mesencefálico.FONTE: A autora.

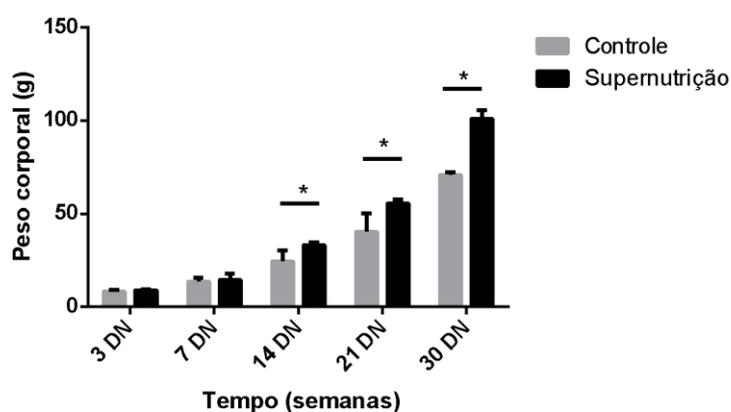
#### **4.6 Análise estatística**

A descrição das variáveis numéricas foi realizada por meio de média e desvio padrão, mediana e intervalo de confiança. A normalidade dos dados será testada através do teste de Shapiro-Wilk. Para aqueles que apresentarem desvio da distribuição normal foram utilizadas análises não paramétricas ou transformações logarítmicas. Na comparação das variáveis numéricas foi aplicado o teste paramétrico t de Student para amostras independentes. Quando apresentou desvio da distribuição normal, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Foi estabelecido como nível de significância estatística o valor de  $p \leq 0,05$ . As análises serão feitas no programa Graph Prisma 6.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Peso Corporal

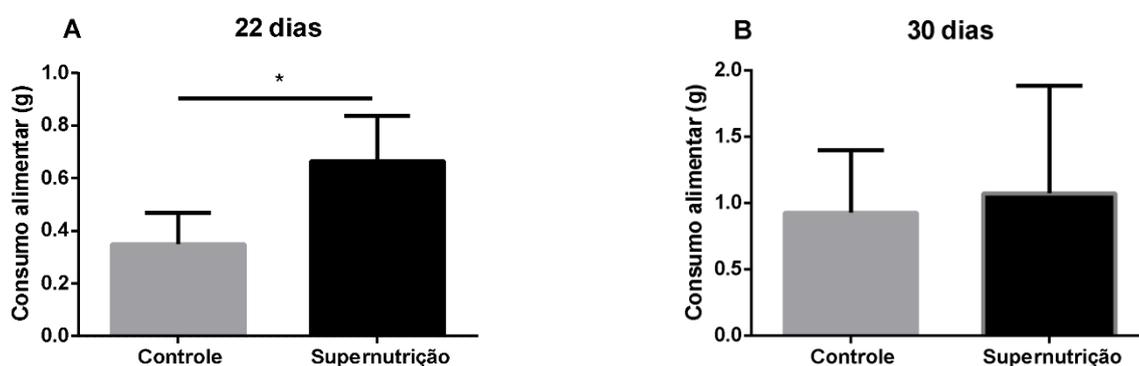
No 3° e 7° dia de vida pós natal, os grupos não apresentaram diferença no peso corporal. O grupo superalimentado apresentou maior peso corporal a partir do 14° DN (\*) em comparação com o controle (mediana = 33,18, Intervalo interquartil (IIQ)= 34,73-30,92,  $p < 0,01$ ).



**Figura 7:** Análise do peso corporal dos filhotes nos 3°, 7°, 14°, 21° e 30° DN, nos grupos Superalimentado (n=24) e Controle (n=24). Os dados são apresentados em Mediana e Intervalo Interquartil. Foi utilizado o teste de Kruskal Wallis e o pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$

### 5.2 Consumo Alimentar durante a mastigação

O grupo superalimentado teve um consumo alimentar durante a mastigação maior quando comparado ao grupo controle no 22° dia ( $p = 0,018$ ) (Figura 8 (A)). Em relação ao 30° dia (Figura 8 (B)), não houve diferença do consumo entre os grupos ( $p = 0,611$ ).



**Figura 8:** (A) Consumo alimentar durante a mastigação grupo Superalimentado e grupo Controle de machos Wistar albinos no 22º dia pós natal. Foi utilizado o Teste de Mann Whitney e os dados expressos em mediana e intervalo interquartil. (B) Consumo alimentar grupo Superalimentado e grupo Controle no 30º dia pós natal. Foi utilizado Teste T e os dados expressos em média e desvio padrão. Grupo Superalimentado mostrou maior consumo alimentar aos 22 dias pós-natal .

### 5.3 Movimentos mandibulares mastigatórios

O grupo superalimentado apresentou menor número de sequências mastigatórias, bem como menor quantidade de ciclos mastigatórios e menor taxa mastigatória aos 22 dias de idade. Aos 30 dias de idade, apresentou menor número de sequências mastigatórias e menor taxa mastigatória (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Coeficiente de correlação intraclasse da análise do desempenho mastigatório de animais dos grupos controle e supealimentado, avaliado por dois examinadores aos 22 e 30 dias de vida pós-natal.

**Avaliador 1                      Avaliador 2**

**22 dias de vida pós-natal**

---

**Mediana    IIQ                      Mediana    IIQ                      ICC**

<b>Número de sequências Mastigatórias</b>	10,00	6,25-10,0	10,00	5,25-10,00	0,76
<b>Duração das sequências mastigatórias (s)</b>	16,00	13,25-22,25	16,00	12,75-20,75	0,94
<b>Quantidade de ciclos mastigatórios</b>	66,00	34,75-82,75	64,50	32,00-78-75	0,89
<b>Taxa mastigatória (sequências/s)</b>	0,48	0,23-0,75	0,51	0,22-0,72	0,96
<b>30 dias de vida pós-natal</b>					
	<b>Mediana</b>	<b>IIQ</b>	<b>Mediana</b>	<b>IIQ</b>	<b>ICC</b>
<b>Número de sequências Mastigatórias</b>	10,00	7,75-10,00	10,00	10,00-10,00	0,85
<b>Duração das sequências mastigatórias (s)</b>	14,50	10,00-28,50	15,5	9,75-29,25	0,87
<b>Quantidade de ciclos mastigatórios</b>	49,50	33,75-68,75	53,00	41,75-70,50	0,89
<b>Taxa mastigatória (sequências/s)</b>	0,51	0,32-0,97	0,64	0,33-1,02	0,99

**Tabela 2.** Comparação entre o desempenho mastigatório de animais dos grupos controle e supernutrido, aos 22 e 30 dias de vida pós-natal.

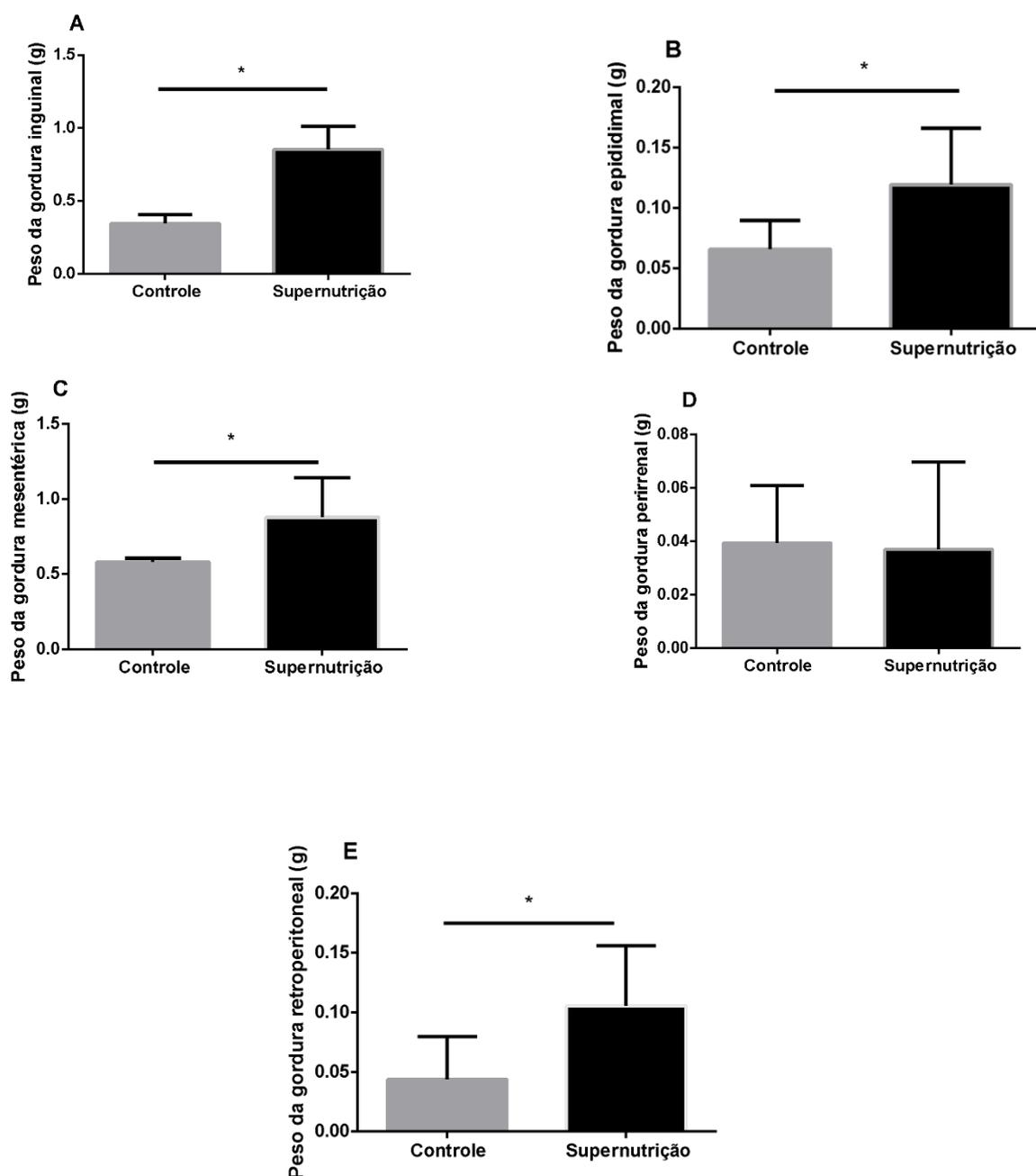
	<b>Controle</b>		<b>Supernutrido</b>		
<b>22 dias de vida pós-natal</b>					
	<b>Mediana</b>	<b>IIQ</b>	<b>Mediana</b>	<b>IIQ</b>	<b>p</b>
<b>Número de sequências Mastigatórias</b>	10,00	0,50-10,0	4,50	10,00-10,0	0,045 *
<b>Duração das sequências mastigatórias (s)</b>	17,00	0,50-22,25	15,00	13,25-23,00	0,319
<b>Quantidade de ciclos mastigatórios</b>	81,50	2,00-61,25	23,50	71,70-90,75	0,000 *
<b>Taxa mastigatória (sequências/s)</b>	0,52	0,46-0,64	0,21	0,27-0,75	0,128
<b>30 dias de vida pós-natal</b>					
	<b>Mediana</b>	<b>IIQ</b>	<b>Mediana</b>	<b>IIQ</b>	<b>p</b>
<b>Número de sequências mastigatórias</b>	10,00	4,50-10,0	8,50	10,00-10,0	0,178
<b>Duração das sequências mastigatórias (s)#</b>			20,41	±8,61 0,073	13,33 ±9,77

<b>Quantidade de ciclos mastigatórios#</b>	43,75	±17,21	54,75	±24,76	0,220
<b>Taxa mastigatória (sequências/s)</b>	0,77	0,30-0,3	0,33	0,43-1,1	0,020
		8		5	*

Teste de Mann-Whitney. # Teste T de amostras independentes (dados expressos através de média ± desvio padrão). \*p<0,05.

#### 5.4 Peso das gorduras

O grupo Superalimentado apresentou maior peso das gorduras inguinal (Figura A), ( Figura B) epididimal, (Figura C) mesentérica e (Figura E) retroperitoneal quando comparado ao grupo Controle. Em relação à (Figura D) gordura perirrenal não houve diferença entre os grupos (Figura 9).

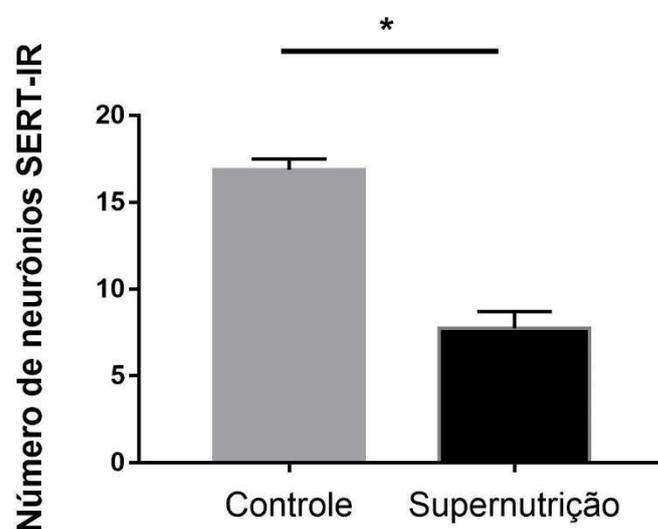


**Figura 9:** Peso das gorduras do grupo Superalimentado e grupo Controle de machos Wistar albinos no 30º dia pós natal (A) Gordura Inguinal; (B) Gordura epididimal; (C) Gordura mesentérica; (D) Gordura perirrenal; (E) Gordura retroperitoneal. Para as gorduras mesentérica e perirrenal foi realizado o Teste de Mann Whitney, os dados foram expostos em mediana e intervalo interquartil. Para as gorduras inguinal, epididimal e retroperitoneal foi realizado o Teste t e os dados

foram expostos em média e desvio padrão. Grupo Superalimentado apresentou maior depósito de gordura inguinal.

### 5.5 Expressão de SERT no núcleo trigeminal mesencefálico.

A densidade de neurônios imunorreativos ao SERT no núcleo trigeminal mesencefálico foi menor no grupo superalimentado em comparação ao grupo controle (C:  $16,88 \pm 0,3146$ ,  $n=5$ ; S:  $7,75 \pm 0,4787$ ,  $n=4$ ;  $p < 0,0001$ ) (Figura 10).



**Figura 10:** Efeito da redução do tamanho da ninhada sobre a quantidade de neurônios SERT-IR no núcleo trigeminal mesencefálico de ratos aos 30 dias de vida (dados expressos através de mediana).

## 6. DISCUSSÃO

Este estudo examinou o efeito da superalimentação, através da redução do tamanho da ninhada neonatal, sobre o peso corporal, peso do tecido adiposo branco, consumo alimentar durante a mastigação, movimentos mandibulares mastigatórios e a expressão da proteína transportadora de serotonina (SERT) no núcleo trigeminal mesencefálico de ratos Wistar. Verificamos que a obesidade foi induzida pela redução da ninhada neonatal, sendo comprovado por aumento do peso corporal dos animais submetidos a esse tratamento. Além disso, o tecido adiposo branco foi aumentado nos ratos do grupo superalimentado comparado com o grupo controle. Também foi observado um consumo alimentar maior durante a mastigação, embora os movimentos mandibulares mastigatórios sejam menores, além de uma menor expressão de SERT no núcleo trigeminal mesencefálico.

Nos nossos achados, foi observado o aumento do peso corporal dos animais no grupo superalimentado através da redução da ninhada, sendo a obesidade evidenciada pela quantidade de tecido adiposo branco nos coxins de gordura nesse grupo, onde observamos as gorduras inguinal, epididimal, mesentérica, perirrenal e retroperitoneal. O modelo de redução da ninhada induz a uma programação metabólica que conduz a uma hiperalimentação na prole, onde haverá uma diminuição da competição pelo aleitamento materno e uma maior disponibilidade alimentar, fazendo com que haja um maior consumo alimentar e os animais ganhem mais peso quando comparados aos filhotes provenientes de uma ninhada normal (Tavares et al, 2019; Silva, et al. 2021; Silva et al., 2018). Devido a essa superalimentação precoce, a prole menor tem um ganho de peso corporal acelerado e aumento da adiposidade antes do desmame, exibindo um peso corporal 30% maior do que a prole controle no desmame (Stefanidis, 2012).

Dentro dos achados do nosso estudo foi observado um aumento do consumo alimentar durante a mastigação no grupo superalimentado. Santos et al, 2021

mostraram que indivíduos obesos e sobrepesos apresentam um padrão alimentar específico e um consumo alimentar maior durante todas as refeições. No nosso estudo, apesar de realizar menos movimentos mandibulares mastigatórios, sendo evidenciado por menor número de sequências mastigatórias, ciclos mastigatórios e taxa mastigatória. Os animais apresentaram um ritmo mastigatório e consumo alimentar maior. O mesmo foi observado no estudo de Santos et al, 2023, onde demonstraram que crianças obesas entre 7 e 12 anos realizaram menos sequências mastigatórias e comeram mais rapidamente em comparação às crianças eutróficas, sugerindo que crianças obesas apresentam alterações na mastigação, evidenciadas pelo maior tamanho da mordida, realizando menos sequências mastigatórias e mastigação rápida, o que pode contribuir para o aumento do consumo alimentar e o desenvolvimento do excesso de peso. Tada et al, 2018 demonstrou em uma revisão associação positiva entre mastigação e obesidade em adultos, onde a maioria apresentou comportamento alimentar alterado (Tada et al, 2018).

Os circuitos que controlam o padrão dos movimentos mandibulares durante a mastigação estão localizados no centro gerador de padrão (Kolta, 2010). E o núcleo mesencefálico do trigêmeo é o principal local de retransmissão central para a transmissão de entrada sensorial da cavidade oral para coordenar os movimentos orofaciais da mandíbula, face e pescoço durante a mastigação e deglutição (Lazarov, 2002). Além disso, a serotonina foi evidenciada por excitar motoneurônios trigeminais (Silva, 2015) e por facilitar a geração da atividade rítmica trigeminal por motoneurônios de fechamento da mandíbula (Mori et al., 2002). Isso explica a importância de analisar a expressão de SERT nesse núcleo em específico, no nosso estudo.

Apesar da 5-HT ter sido extensivamente estudada nos últimos anos, a ligação entre a expressão do transportador 5-HT (SERT), a proteína fundamental que regula suas concentrações extra e intracelulares, e a obesidade humana tem sido apoiada por poucos estudos ainda. No presente estudo, os animais obesos apresentaram uma menor expressão do transportador de serotonina (SERT) no núcleo mesencefálico trigeminal. A proteína SERT modula a recaptação de 5-HT dentro dos neurônios serotoninérgicos, um mecanismo-chave que permite a ativação/dessensibilização dos receptores 5-HT dentro da fenda sináptica

(Giannaccini et al, 2011). Em humanos, a obesidade está significativamente associada a um polimorfismo de baixa expressão de SERT ou uso crônico de ISRS (Zha, 2017). Por meio da análise de tomografia por emissão de fóton único (SPECT) em áreas do mesencéfalo de mulheres obesas afetadas pelo transtorno da compulsão alimentar periódica (TCA), foi observada uma redução na densidade de SERT (Kuikka, 2001). Zha et al, 2017 demonstraram que a deficiência de SERT levou ao aumento de peso corporal e acúmulo excessivo de gordura em ratos, fatores atribuídos a uma função reduzida do SERT (Zha et al., 2017). Em estudos com humanos, Nam e colaboradores em 2018, também demonstraram a relação do SERT com a obesidade, onde observaram que as ligações específicas de SERT foram menores em indivíduos obesos comparados com eutróficos. O mesmo ocorreu no estudo Giannaccini e colaboradores (2013), onde a densidade da proteína SERT foi diminuída em adultos com obesidade grau II e III, confirmando o envolvimento da concentração de serotonina no ganho de peso (Giannaccini et al, 2013).

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Concluimos que o modelo de indução de obesidade, através da redução da ninhada, leva à alterações somáticas nos roedores, sendo evidenciado através do peso corporal e elevada concentração de tecido adiposo branco. Além disso, os animais obesos apresentam alterações nos parâmetros mastigatórios, evidenciado por menos sequências mastigatórias, menor quantidade de ciclos e menor taxa mastigatória, confirmando achados em estudos com humanos. Ainda, os animais obesos apresentaram menor expressão da proteína transportadora de serotonina (SERT) no núcleo trigeminal mesencefálico. Em suma, estes achados permitem compreender a importância da relação da obesidade com fatores mastigatórios e expressão do SERT.

## REFERÊNCIAS

- ANDREZZO, Marília. **Desenvolvimento da língua e sua relação com deglutição e sucção pré-natais**. 2016. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Fonoaudiologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2016.
- AZMITIA, Efrain C.. Evolution of Serotonin: sunlight to suicide. **Handbook Of Behavioral Neuroscience**, [S.L.], p. 3-22, out. 2010. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s1569-7339\(10\)70069-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1569-7339(10)70069-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1569733910700692>. Acesso em: 17 mar. 2023.
- BARKER, David J. P.. Trajectories of growth among children who have coronary events as adults. **The New England Journal Of Medicine**. Online, p. 353-370. out. 2005.
- BATES, J.F.. Masticatory function - a review of the literature. III: masticatory performance and efficiency. **Journal Of Oral Rehabilitation**. Online, p. 57-67. jan. 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/772184/>. Acesso em: 10 mar. 2023.
- BLUNDELL, J e. Dexfenfluramine and appetite in humans. **Int J Obes Relat Metab Disord** .. Online, p. 51-60. 16 dez. 1992.
- BORTOLIN, R C *et al.* A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. **Int J Obes (Lond)** .. Online, p. 525-534. mar. 2018.
- BRENNAN, Aoife M.; SWEENEY, Laura L.; LIU, Xiaowen; MANTZOROS, Christos S.. Walnut Consumption Increases Satiation but Has No Effect on Insulin Resistance or the Metabolic Profile Over a 4?day Period. **Obesity**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 1176-1182, jun. 2010. Mensal. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2009.409>.
- BROCARD, Frédéric. Emergence of intrinsic bursting in trigeminal sensory neurons parallels the acquisition of mastication in weanling rats. **J Neurophysiol** .. Online, p. 96-101. nov. 2006.
- BUETTNER, Roland; SCHÖLMERICH, Jürgen; BOLLHEIMER, L. Cornelius. High?fat Diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, [S.L.], v. 15, n. 4, p. 798-808, abr. 2007. Mensal. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2007.608>.
- CHEN, Xiaoning. Reduced serotonin reuptake transporter (SERT) function causes insulin resistance and hepatic steatosis independent of food intake. **Plos One** .. Online, p. 1-7. mar. 2012.
- DÍAZ, Néstor F.; FLORES-HERRERA, Héctor; GARCÍA-LÓPEZ, Guadalupe; MOLINA-HERNÁNDEZ, Anayansi. Central Histamine, the H3-Receptor and Obesity Therapy. **Cns & Neurological Disorders - Drug Targets**, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 516-522, 9 dez. 2019. Semanal. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1871527318666190703094846>.
- FEIJÓ, Fernanda de Matos; BERTOLUCCI, Marcello Casaccia; REIS, Cíntia. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 57, n. 1, p. 74-77, jan. 2011. Mensal. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42302011000100020>.

- FERRAZ-PEREIRA, Kelli N.. Neonatal low-protein diet reduces the masticatory efficiency in rats. **British Journal Of Nutrition**. Recife, p. 1515-1530. 04 set. 2015.
- FIGUEIREDO, Adriana Bueno de. **Avaliação fonoaudiológica clínica e eletromiográfica da motricidade orofacial do obeso: estudo comparativo**. 2010. 145 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- HABBOUT, Ahmed. Postnatal overfeeding in rodents by litter size reduction induces major short- and long-term pathophysiological consequences. **J Nutr** .. Online, p. 553-562. maio 2013.
- KOLTA, Arlette; MORQUETTE, Philippe; LAVOIE, Raphaël; ARSENAULT, Isabel; VERDIER, Dorly. Modulation of rhythmogenic properties of trigeminal neurons contributing to the masticatory CPG. **Breathe, Walk And Chew: The Neural Challenge**, [S.L.], p. 137-148, 2010. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-53613-6.00009-5>.
- KOLTA, Arlette; MORQUETTE, Philippe; LAVOIE, Raphaël; ARSENAULT, Isabel; VERDIER, Dorly. Modulation of rhythmogenic properties of trigeminal neurons contributing to the masticatory CPG. **Breathe, Walk And Chew: The Neural Challenge**, [S.L.], v. 187, n. 1, p. 137-148, 2010. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-53613-6.00009-5>.
- LACERDA, Diego Cabral. **Estudo do padrão sensório-motor da mastigação: implicações da desnutrição perinatal sobre a paralisia cerebral experimental**. 2016. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- Ling C, Rönn T. Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. **Cell Metab**. 2019 May 7;29(5):1028-1044. doi: 10.1016/j.cmet.2019.03.009. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30982733; PMCID: PMC6509280.
- MARTINS, A. C. C. L.; SILVA, T. M.; GLORIAM, B. A. Determinação simultânea de precursores de serotonina – triptofano e 5-hidroxitriptofano – em café. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 316-320, 2010.
- MAYORAL, Laura Perez-Campos *et al*. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **Indian J Med Res** .. Online, p. 11-21. jan. 2020.
- MERCADO, Charles P. Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels. **Mol Interv** .. Online, v. 10, n. 4, p. 231-241, ago. 2010. Semanal.
- NILSSON, Cecília. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. **Acta Pharmacol Sin** .. Online, p. 173-181. fev. 2012.
- NOVAIS, Cíntia Onofra de. **Obesidade materna por redução de ninhada induz comportamento tipo autista na prole**. 2020. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Neurociências, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2020.
- OLIVEIRA, Thais Benetti de et al. **Eco-evo-devo: uma (re)leitura sobre o papel do ambiente no contexto das ciências biológicas**. *Filosofia e História da Biologia*, v. 11, n. 2, p. 323-346, 2016 Tradução . . Disponível em: [http://www.abfhib.org/FHB/FHB-11-2/FHB-11-2-Thais-Oliveira\\_Fernanda-Brando\\_Tiana-Kohldorf\\_Ana-Caldeira.pdf](http://www.abfhib.org/FHB/FHB-11-2/FHB-11-2-Thais-Oliveira_Fernanda-Brando_Tiana-Kohldorf_Ana-Caldeira.pdf). Acesso em: 01 abr. 2023
- PARRA-VARGAS, Marcela. Size Does Matter: Litter Size Strongly Determines Adult Metabolism in Rodents. **Cell Metab**, Online, v. 32, n. 3, p. 334-340, set. 2020. Semanal.

PEREIRA, Renata Oliveira. Early consumption of high-fat diet worsens renal damage in spontaneously hypertensive rats in adulthood. **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.** Online, p. 258-266. dez. 2019.

PLAGEMANN, Andreas. Perinatal programming and functional teratogenesis: impact on body weight regulation and obesity. **Physiol Behav** ., Online, v. 86, n. 1, p. 661-668, dez. 2005. Semanal.

SANTOS, Renata Emmanuele Assunção. Mastication in children and adolescents with overweight or obesity: a systematic review. **Revista de Nutrição**, Recife, v. 34, n. 1, p. 190-201, nov. 2020. Mensal.

SILVA, Aline Isabel da *et al.* Body composition, biochemical, behavioral and molecular alterations in overfed rats after chronic exposure to SSRI. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 356, p. 62-70, jan. 2019. Semanal. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2018.08.007>.

ZECCA, Luigi *et al.* The role of iron and copper molecules in the neuronal vulnerability of locus coeruleus and substantia nigra during aging. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 101, n. 26, p. 9843-9848, 21 jun. 2004. Semanal. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0403495101>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC470762/>. Acesso em: 17 mar. 2023.

ZHA, Weibin. Serotonin transporter deficiency drives estrogen-dependent obesity and glucose intolerance. **Scientific Reports**, Online, v. 7, n. 1, p. 1-14, abr. 2017. Mensal.

## ANEXO



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

Recife, 03 de julho de 2020

Ofício nº 38/20

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

Para: **Prof. Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff**

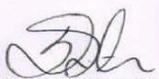
Centro Acadêmico de Vitória - CAV

processo nº0026/2019

Certificamos que a proposta intitulada “**Obesidade infantil ou neonatal: Estudo translacional do desempenho e mecanismos de controle sensorio-motor da mastigação.**” registrado com o nº0026/2019 sob a responsabilidade da **Prof. Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff** 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 30/06/2020. Foi alterando o modelo experimental do projeto e o numero de animais da pesquisa.

Finalidade	( ) Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2020 a 01/12/2022
Espécie/linhagem/raça	Ratos Wistar (Rattus norvegicus) heterogênico
Nº de animais	32 fêmeas / machos: 16 adultos mais 64 neonatos, (resultantes da ninhada das fêmeas): total 112 animais
Peso/Idade	220 - 250 g / 90 – 120 dias
Sexo	macho ( 80) e ( 32)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição – UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Nutrição – UFPE

Atenciosamente



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