



Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Centro Acadêmico de Vitória – CAV
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica –
PPGNAFPF



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Lívia Maria de Lima Leoncio

Intervenção com ambiente enriquecido precoce sobre a composição corporal e densidade neuronal do transportador de serotonina em ratos *wistar* jovens submetidos à dieta de cafeteria na lactação.

Vitória de Santo Antão
2024



Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Centro Acadêmico de Vitória – CAV
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica –
PPGNAFPF



Lívia Maria de Lima Leonicio

**Intervenção com ambiente enriquecido precoce sobre a
composição corporal e densidade neuronal do
transportador de serotonina em ratos *wistar* jovens
submetidos à dieta de cafeteria na lactação.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de mestre.

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

**Co-orientador(a): Profa. Dra. Lígia Cristina Monteiro
Galindo**

Vitória de Santo Antão

2024

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Leoncio, Livia Maria de Lima.

Intervenção com ambiente enriquecido precoce sobre a composição corporal e densidade neuronal do transportador de serotonina em ratos wistar jovens submetidos à dieta de cafeteria na lactação / Livia Maria de Lima Leoncio. - Recife, 2024.

103f.: il.

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

Orientação: Isabeli Lins Pinheiro.

Coorientação: Lígia Cristina Monteiro Galindo.

1. Enriquecimento ambiental; 2. Sistema nervoso; 3. Plasticidade fenotípica; 4. Transportador de Serotonina; 5. Dieta de cafeteria. I. Pinheiro, Isabeli Lins. II. Galindo, Lígia Cristina Monteiro. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CDD 613

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o(a) discente **LIVIA MARIA DE LIMA LEONCIO** foi aprovado(a) na DEFESA de DISSERTAÇÃO em NUTRIÇÃO, ATIVIDADE FÍSICA E PLASTICIDADE FENOTÍPICA/PPGNAFPN CAV - VITÓRIA DE SANTO ANTÃO do Curso de MESTRADO, no dia 21 de Fevereiro de 2024 às 14:00, no(a) MEET - FORMATO REMOTO, UFPE, cuja banca examinadora fora constituída pelos professores:

Doutora RAQUEL DA SILVA ARAGAO

(Presidente)

Doutora ELIZABETH DO NASCIMENTO

(Externa ao Programa)

Doutora TASSIA KARIN FERREIRA BORBA

(Externa ao Programa)

A sua DISSERTAÇÃO intitulou-se:

INTERVENÇÃO COM AMBIENTE ENRIQUECIDO PRECOCE SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL E DENSIDADE NEURONAL DO TRANSPORTADOR DE SEROTONINA EM RATOS Wistar JOVENS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA NA LACTAÇÃO

Esta declaração não exime o(a) discente de efetuar as mudanças sugeridas pela banca examinadora como também não tem validade de outorga de grau de MESTRADO, de acordo com o definido na Resolução 19/2020-CEPE.

Recife, 26 de Fevereiro de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a intercessão de Nossa Senhora e Pe. Luís Cecchin por me darem forças e discernimento durante essa jornada.

A minha querida e amada mãe, Piedade e aos meus irmãos Leandro e Luís, pelo apoio e amor incondicional. Amo muito vocês!

À minha orientadora Professora Isabeli Pinheiro, pela paciência, dedicação e por todos os ensinamentos que contribuíram na minha formação acadêmica. À minha co-orientadora Professora Lígia Galindo, por toda disponibilização de materiais e estrutura.

À todos do grupo de pesquisa que estiveram comigo no biotério e demais experimentos, especialmente a Sthefanny e aos estudantes de iniciação científica, Bruno, Wedja, Aline e Larissa. Esse trabalho tem a dedicação e esforço de cada um deles.

À Cynthia e a Renata por todo suporte inicial, vocês foram verdadeiros anjos na minha vida, muito obrigada. À Diana, que esteve comigo nas etapas da imunohistoquímica, obrigada pelo companheirismo.

Aos meus queridos amigos, pela paciência, por me apoiarem mesmo estando longe, especialmente a Daiane e a Gabi, pela escuta, palavras de calmaria, carinho, momentos de diversão. Sou muito grata, por nossa amizade.

À coordenação e aos professores do programa de pós-graduação em nutrição, atividade física e plasticidade fenotípica, por toda assistência durante esses dois anos.

À todos que fazem parte do anexo de anatomia, professores, coordenação, técnicos, veterinário e a Roberta por sempre me receber com um lindo bom dia.

À Seu França, por todos os ensinamentos sobre o uso e manejo com os animais e a Danilo Fontes (CAV) pela ajuda e paciência com o criostato.

À UFPE e aos órgãos de fomento: CNPq, CAPES e FACEPE, que também proporcionaram a execução deste trabalho.

Por fim, agradeço à vida de cada animal, são os responsáveis pela realização dessa pesquisa e de tantas outras, em prol do avanço da ciência e melhoria da qualidade de vida humana.

RESUMO

A dieta de Cafeteria para experimentos com animais é conhecida por causar inadequação nutricional, excesso de gordura corporal e alteração da densidade neuronal do SERT. Por outro lado, o ambiente enriquecido (AE) promove diminuição da adiposidade, aumento do gasto de energia e influencia o sistema serotoninérgico. Portanto, a proposta deste estudo foi avaliar os efeitos do consumo materno de dieta de cafeteria na lactação e da intervenção com o ambiente enriquecido precoce sobre o desenvolvimento corporal e imunorreatividade de neurônios SERT em animais jovens. Foram utilizados 61 ratos wistar, que foram divididos em quatro grupos experimentais de acordo com a manipulação dietética de suas progenitoras e ambiente no qual foram alojados: Dieta Controle em Ambiente Controle (CC; n=19), Dieta Controle em Ambiente Enriquecido (CE; n=13), Dieta Cafeteria em Ambiente Controle (CAFC; n=16), Dieta Cafeteria em Ambiente Enriquecido (CAFE; n=13). O ambiente enriquecido consistiu em uma gaiola grande (60x50x42cm) contendo comedouros para ração, uma roda de corrida, escadas, abrigos e túneis que foram reposicionados e completamente substituídos por outros uma vez por semana. Em ambas as condições ambientais, cada gaiola abrigou uma nutriz em aleitamento com oito filhotes durante o período de lactação. Após o desmame, no 22º dia de vida, as nutrizas e filhotes fêmeas foram removidas e quatro filhotes machos permaneceram no ambiente enriquecido até os 30 dias de vida. A dieta padrão de biotério para roedores foi a Nuvilab CR-1 (295kcal/100g), sendo ofertada na gestação e lactação para todos os grupos. A dieta de cafeteria foi ofertada apenas na lactação e consistia em alimentos altamente palatáveis e com alto teor calórico acompanhada da dieta Nuvilab CR-1. Foram analisados o peso corporal, índice de massa corporal (IMC) na eutanásia, peso dos órgãos e adiposidade das nutrizas. Nos filhotes jovens, foram analisados parâmetros de crescimento somático, peso de órgãos e gorduras e imunorreatividade do transportador de serotonina. Os resultados mostraram que as nutrizas não apresentaram diferença no peso corporal na lactação, como também, não houve diferença no IMC na eutanásia. Porém, as nutrizas CAFC apresentaram maior adiposidade que as nutrizas CC. Os filhotes CE apresentaram o peso corporal, comprimento naso-anal e eixo ântero-posterior maiores e circunferências menores que o grupo CC. Os filhotes CAFC apresentaram o peso corporal maior que o grupo CC no período de lactação e menor no pós-demame. Além disso, apresentaram circunferências e eixos menores e maior adiposidade que o grupo CC. A quantidade de neurônios SERT-IR no núcleo arqueado do hipotálamo não teve diferença. Conclui-se que a dieta de cafeteria na lactação teve efeitos antropométricos na nutriz e filhotes, provocando maior adiposidade e menores parâmetros corporais. O ambiente enriquecido teve efeitos sobre o desenvolvimento dos animais, mas não foi capaz de atenuar os efeitos da dieta.

Palavras-chave: Enriquecimento ambiental; Sistema nervoso; Plasticidade fenotípica; Transportador de Serotonina; Dieta de cafeteria.

ABSTRACT

Maternal consumption of cafeteria diets during lactation makes the pups more likely to develop obesity. Poor nutrition in early life can have long-term consequences, such as histomorphological changes in the serotonin neurotransmission system, especially in the serotonin transporter. Other environmental factors, such as the practice of physical activity through the environmental enrichment model, favor motor, sensory and social aspects and can mitigate these deleterious effects when experienced during critical periods of the body's development. The aim of this project was to evaluate the effects of maternal consumption of a cafeteria diet during lactation and intervention with an early enriched environment on body development and immunoreactivity of SERT neurons in young animals. Sixty-one Wistar rats were divided into four experimental groups according to the dietary manipulation of their offspring and the environment in which they were housed: Control Diet in Control Environment (CC; n=19), Control Diet in Enriched Environment (CE; n=13), Cafeteria Diet in Control Environment (CAFC; n=16), Cafeteria Diet in Enriched Environment (CAFE; n=13). The enriched environment consisted of a large cage (60x50x42cm) containing feed troughs, a running wheel, ladders, shelters and tunnels which were repositioned and completely replaced once a week. In both environmental conditions, each cage housed a nursing mother with eight chicks during the lactation period. After weaning, on the 22nd day of life, the dams and female pups were removed and four male pups remained in the enriched environment until they were 30 days old. The standard vivarium diet for rodents was Nuvilab CR-1 (295kcal/100g), which was offered during gestation and lactation to all groups. The cafeteria diet was only offered during lactation and consisted of highly palatable, high-calorie food along with the Nuvilab CR-1 diet. Body weight, body mass index (BMI) at euthanasia, organ weight and adiposity of the dams were analyzed. In the young pups, somatic growth parameters, organ and fat weight and serotonin transporter immunoreactivity were analyzed. The results showed that the dams had no difference in body weight during lactation, nor was there any difference in BMI at euthanasia. However, the CAFC offspring showed greater adiposity than the CC offspring. The CE offspring had higher body weight, naso-anal length and anteroposterior axis and smaller circumferences than the CC group. The CAFC pups had a higher body weight than the CC group during lactation and a lower body weight after weaning. They also had smaller circumferences and axes and greater adiposity than the CC group. There was no difference in the number of SERT-IR neurons in the arcuate nucleus of the hypothalamus. It can be concluded that the cafeteria diet during lactation had anthropometric effects on the mother and her offspring, causing greater adiposity and lower body parameters. The enriched environment had an effect on the development of the animals but was unable to mitigate the effects of the diet.

Keywords: Environmental enrichment; Nervous system; Phenotypic plasticity; Serotonin transporter; Cafeteria diet.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - COMPARAÇÃO ENTRE O CÉREBRO DO RATO E O CÉREBRO HUMANO	22
FIGURA 2 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO	45
FIGURA 3 - COMPARAÇÃO ENTRE OS TIPOS E AMBIENTES UTILIZADOS.	49
FIGURA 4 - OBJETOS UTILIZADOS PARA COMPOR O AMBIENTE ENRIQUECIDO	50
FIGURA 5 - DEMONSTRAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO DO AMBIENTE ENRIQUECIDO, UTILIZANDO OS OBJETOS DA FIGURA 3.	50
FIGURA 6 - DEMONSTRAÇÃO DOS LAYOUTS DO AMBIENTE ENRIQUECIDO SEMANALMENTE	51
FIGURA 7 - ETAPAS DO PROCESSO DE CRIOSSECÇÃO DO ENCÉFALO.	53
FIGURA 8 - DEMONSTRAÇÃO DAS ETAPAS DA IMUNOHÍSTOQUÍCA.	54
FIGURA 9 - CONTAGEM DE NEURÔNIOS UTILIZANDO MICROSCOPIA ÓPTICA EM CAMPO CLARO.	55
FIGURA 10 - PESO CORPORAL MATERNO NA LACTAÇÃO (G)	58
FIGURA 11 - ÍNDICE DE MASSA CORPORAL MATERNA NA EUTANÁSIA (G/CM ²)	58
FIGURA 12 - PESO CORPORAL DOS FILHOTES (G)	64
FIGURA 13 - COMPRIMENTO NASO-ANAL DOS FILHOTES (CM)	64
FIGURA 13 - CIRCUNFERÊNCIA DOS FILHOTES (CM)	67
FIGURA 14 - EIXOS ÂNTERO-POSTERIOR DOS FILHOTES (CM)	68
FIGURA 15 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE QUANTITATIVA DE NEURÔNIOS SERT-IR NO NÚCLEO ARQUEADO HIPOTALÂMICO EM PROLE JOVEM.	68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - RELAÇÃO DOS ALIMENTOS PALATÁVEIS DISPONÍVEIS PARA A DIETA DE CAFETERIA.	45
TABELA 2 - PESO ABSOLUTO E RELATIVO DOS ÓRGÃOS DAS NUTRIZES.	59
TABELA 3 - PESO ABSOLUTO E RELATIVO DA ADIPOSIDADE DAS NUTRIZES.	60
TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS DAS NINHADAS	61
TABELA 5 - PESO ABSOLUTO E RELATIVO DOS ÓRGÃOS DOS FILHOTES.	68
TABELA 6 - ADIPOSIDADE ABSOLUTA E RELATIVA DOS FILHOTES.	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptofano
AADC	Enzima Dopa descarboxilase
ABESO	Associação Brasileira para o estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
AE	Ambiente enriquecido
AgRP	Peptídeo relacionado a agouti
ARC	Núcleo Arqueado do Hipotálamo
ATP	Molécula de adenosina trifosfato
BDNF	Fator Neutófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hemato-encefálica
CAFC	Grupo Dieta Cafeteria em Ambiente Controle
CAFÉ	Grupo Dieta Cafeteria em Ambiente Enriquecido
CART	Transcrito regulado por cocaína e anfetamina
CC	Grupo Dieta Controle em Ambiente Controle
CE	Grupo Dieta Controle em Ambiente Enriquecido
Cl	Cloreto
DOHAD	Developmental origins of health and disease
IMC	Índice de massa corporal
ISRSs	Inibidores seletivos da recaptação de serotonina
L-Trp	Aminoácido essencial L-triptofano
MAO-A	Monoamina oxidase tipo A
Na	Sódio

NAc	Núcleo Accumbens
NGF	Fator de Crescimento Nervoso Neurotrófico
OMS	Organização Mundial de Saúde
POMC	Neuropeptídeos pró-opiomelanocortina
RCE	Relação cintura/estatura
SBP	Sociedade Brasileira de Pediatria
SERT	Transportador da Serotonina
SNC	Sistema Nervoso Central
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TPH	Enzima triptofano hidroxilase
UCP1	Proteína desacopladora 1

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 OBESIDADE INFANTIL	17
2.2 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO E A PLASTICIDADE	21
2.3 CRESCIMENTO SOMÁTICO, DESENVOLVIMENTO FÍSICO E MATURAÇÃO	24
2.4.1 NUTRIÇÃO	27
2.4.3 ATIVIDADE FÍSICA	31
2.7 A RELAÇÃO DO SERT COM A OBESIDADE	44
3 HIPÓTESE	47
4 OBJETIVOS	48
4.1 OBJETIVO GERAL	48
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
5 MATERIAIS E MÉTODOS	48
5.1 ANIMAIS:	48
5.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS:	49
5.3 MANIPULAÇÃO DIETÉTICA	50
5.4 MANIPULAÇÃO AMBIENTAL	54
5.5 ANÁLISES EXPERIMENTAIS	56
5.6 PESO CORPORAL (PC)	56
5.7 MEDIDAS MURINOMÉTRICAS	56

5.8	ANÁLISES HISTOLÓGICAS	57
5.9	IMUNOHISTOQUÍMICA PARA O TRANSPORTADOR DE SEROTONINA	58
5.10	PESO DOS ÓRGÃOS E ADIPOSIDADE	61
5.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA:	61
6	RESULTADOS	62
6.1	AVALIAÇÕES DAS NUTRIZES	62
6.1.2	<i>MÉDIA DE PESO CORPORAL NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO, GANHO DE PESO CORPORAL NA GESTAÇÃO E LACTAÇÃO, PESO CORPORAL NO DIA DA EUTANÁSIA E ÍNDICE DE MASSA CORPORAL NO DIA DA EUTANÁSIA DAS NUTRIZES</i>	62
6.1.3	<i>PESO ABSOLUTO E RELATIVO DOS ÓRGÃOS DAS NUTRIZES</i>	64
6.1.4	<i>ADIPOSIDADE ABSOLUTA E RELATIVA DAS NUTRIZES</i>	65
6.2	AVALIAÇÃO DOS FILHOTES	66
6.2.1	<i>CARACTERIZAÇÃO DAS NINHADAS</i>	66
6.3	AVALIAÇÕES FENOTÍPICAS DOS FILHOTES	67
6.3.1	<i>PESO CORPORAL E TAXA DE GANHO DE PESO DOS FILHOTES</i>	67
6.2.3	<i>PESO DOS ÓRGÃOS DOS FILHOTES</i>	76
6.2.4	<i>ADIPOSIDADE DOS FILHOTES</i>	77
		79
7	DISCUSSÃO	80
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
	REFERÊNCIAS	88

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o estilo de vida adotado pelas sociedades ocidentais apresenta altos níveis de inatividade física, comportamento sedentário e alta ingestão calórica (HALL et al., 2021). Esses hábitos implicam no aumento da massa corporal, ampliando os riscos para o surgimento da obesidade (SALAM et al., 2020). A obesidade é uma doença crônica que afeta a saúde geral do indivíduo em consequência ao acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal (WHO, 2020). Na infância, a taxa de sobrepeso ou obesidade nas últimas 3 décadas tem crescido de forma alarmante. Mundialmente, aproximadamente 39 milhões de crianças com menos de 5 anos de idade estão com sobrepeso (WHO, 2020).

A utilização de dietas experimentais permite compreender o processo complexo que envolve aspectos comportamentais e metabólicos associadas à obesidade. Em especial, a dieta de cafeteria, composta por alimentos humanos palatáveis e com alto valor energético associados à dieta controle (BUYUKDERE; GULEC; AKYOL, 2019). Na lactação, fase que corresponde a um período crítico do desenvolvimento, o consumo desta dieta promove remodelação e modificações metabólicas, influenciando o crescimento, composição corporal e a adiposidade corporal dos filhotes (GEORGE et al., 2019).

Os períodos considerados críticos do desenvolvimento são aqueles onde o cérebro é mais suscetível a mudanças. Durante esses períodos, o sistema nervoso apresenta uma alta plasticidade, sendo suscetível a alterações fisiológicas, bioquímicas, morfológicas e comportamentais (CISNEROS-FRANCO et al., 2020). Experiências ambientais adversas durante esses períodos, modificam a atividade e

estruturas do Sistema Nervoso Central (SNC) a longo prazo (DURÁN-CARABALI et al., 2019). Desta forma, estudos mostraram que o sistema serotoninérgico tem relação com a obesidade, onde animais que apresentaram diminuição da quantidade de neurônios do Transportador da Serotonina (SERT), tiveram acúmulo anormal de tecido adiposo branco, além de intolerância à glicose e resistência à insulina (CHEN et al., 2012; DIAS et al., 2020; ZHA et al., 2017).

Como o ambiente exerce papel importante no desenvolvimento inicial, a prática de atividade física é fundamental na infância e adolescência, pois auxilia no controle do peso corporal e conseqüente redução para o risco de obesidade (BRASIL, 2021). O ambiente enriquecido (AE) é considerado uma intervenção de prática de atividade física, pois intensifica o comportamento animal, causado pela exploração espontânea do ambiente (MAINARDI et al., 2010). Em roedores jovens, o AE promove diminuição da adiposidade e aumento do gasto de energia, apresentando impacto considerável no fenótipo (CAO et al., 2011; MAINARDI et al., 2010).

Este protocolo também é capaz de influenciar o sistema serotoninérgico, onde a intervenção com AE durante os três primeiros meses de vida, aumentou as taxas de renovação (turnover) da serotonina no hipocampo em ratos wistar (KOKRAS et al., 2019). Também, mostrou efeito neuprotetor contra estressores psicogênicos ao aumentar a expressão do SERT em camundongos com três meses de vida (RAGU VARMAN; RAJAN, 2015). Portanto, a dieta de cafeteria induz a obesidade, levando a uma diminuição da quantidade de neurônios SERT no SNC, enquanto a exposição ao AE, aumenta a expressão do SERT. Desta forma, o enriquecimento ambiental poderá atenuar os efeitos deletérios dessa dieta sobre o balanço energético, por meio de mecanismos serotoninérgicos durante fases precoces da vida.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Obesidade infantil

A Organização Mundial de Saúde (OMS), define obesidade, como sendo o excesso de gordura corporal, resultado da ingestão crônica de energia em quantidades superiores ao gasto energético, determinando prejuízos à saúde (WHO, 2020). Sua causa é complexa, pois envolve fatores ambientais, genético, psicológicos, socioculturais, estilo de vida e status socioeconômico (WHO, 2020). Inicialmente, a prevalência da obesidade era maior em países desenvolvidos, mas atualmente atinge também, muitos países em desenvolvimento. Sendo assim, a obesidade afeta pessoas de todas as idades e grupos sociais, alcançando 650 milhões de pessoas em todo o mundo (FERREIRA et al., 2021).

A causa da obesidade é de natureza multifatorial, mas ocorre principalmente devido ao balanço energético positivo e a hábitos alimentares pouco saudáveis, como o consumo excessivo de açúcar e alimentos ricos em gordura (LIANG et al., 2015). Sendo assim, a dieta tem sido amplamente investigada como uma das principais causas da obesidade. Além do mais, o aumento da ingestão de fast food e bebidas açucaradas está intimamente ligado à obesidade infantil, visto que, nas últimas duas décadas, o consumo de fast food aumentou de acordo com o aumento da prevalência de obesidade infantil (CALCATERRA et al., 2022).

Segundo a Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), os períodos mais críticos para o desenvolvimento da obesidade são a fase intrauterina, os primeiros dois anos de vida e a adolescência (SBP, 2019). Atualmente, a obesidade é considerada o distúrbio nutricional mais comum na infância. Seu surgimento ocorre quando múltiplos fatores ambientais, como exposições pré-conceptivas e pré-natais, bem como

mudanças nos ambientes alimentares e de atividade física, alteram os processos de regulação do peso corporal (LISTER et al., 2023).

De acordo com a ABESO (Associação Brasileira para o estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica), em 2025, a estimativa é de que 2,3 bilhões de adultos ao redor do mundo estejam acima do peso, sendo 700 milhões de indivíduos com obesidade (Abeso, 2020). Em relação à obesidade na infância e adolescência, a prevalência mundial da obesidade infantil aumentou notavelmente nas últimas três décadas. O Ministério da Saúde e a Organização Panamericana da Saúde (2019) apontaram que 12,9% das crianças brasileiras entre 5 e 9 anos de idade tinham obesidade, assim como 7% dos adolescentes na faixa etária de 12 a 17 anos.

O levantamento realizado pelo Observatório de Saúde na Infância (Observa Infância - Fiocruz/Unifase) revelou dados preocupante em relação à obesidade infantil e em adolescentes no Brasil. Entre 2019 e 2021, período que engloba a pandemia de Covid-19, o número de crianças com excesso de peso no país cresceu 6,08%, já entre os adolescentes brasileiros houve um aumento de 17,2%. Apesar de ter sido observado um recuo após a pandemia, os números ainda seguem altos. Em 2022, 14,2% das crianças brasileiras até cinco anos estavam com excesso de peso. Entre os adolescentes, o número é ainda maior: 31,2% deles estava com sobrepeso ou obesidade (FIOCRUZ, 2023).

Se comparado com outros países, o Brasil possui quase três vezes mais crianças com excesso de peso do que a média global (14,2% no Brasil em 2022 e 5,6% da média global registrada no mesmo ano). Em relação aos adolescentes, a situação é ainda mais crítica. No Brasil, em 2022, a média nacional apontou que 31,2% dos adolescentes estavam com excesso de peso, quase o dobro da média global (18,2%) (FIOCRUZ, 2023).

A crescente prevalência da obesidade infantil e em adolescentes, levou ao aparecimento de doença metabólicas e nutricionais que raramente eram observadas em crianças (AHMAD; AHMAD; AHMAD, 2010). Em períodos iniciais, a obesidade pode afetar negativamente quase todos os sistemas orgânicos, causando consequências graves, como hipertensão, dislipidemia, resistência à insulina, doença hepática gordurosa e complicações psicossociais. Além disso, a obesidade pediátrica está associada à mortalidade na idade adulta (AL-AGHA; AL-GHAMDI; HALABI, 2016).

O risco de complicações crônicas está associado à duração da obesidade grave. A grande maioria das crianças de três anos com excesso de peso, permanecem com sobrepeso ou com sobrepeso grave quando se tornam jovens (SIMMONDS et al., 2016). Em 2012, a (SBP) apontou que 4 em cada 5 crianças obesas, permanecerão obesas quando adultas. Indivíduos que continuam com excesso de peso desde a infância até a idade adulta têm um risco aumentado de desenvolver doenças crônicas (KUMAR; KELLY, 2017). Porém, ao contrário dos adultos com excesso de peso grave desde a infância, as crianças e os jovens com excesso de peso grave podem, através de uma gestão adequada do excesso de peso, reduzir os riscos de desenvolver diabetes tipo 2, hipertensão, dislipidemia e doenças cardiovasculares (KUMAR; KELLY, 2017).

A definição de sobrepeso grave em crianças e jovens é atualmente baseada em valores antropométricos elevados, como por exemplo o índice de massa corporal (IMC), medida da cintura ou percentual de gordura corporal (AHMAD; AHMAD; AHMAD, 2010). Porém, o IMC ajustado para idade e sexo é o mais aplicável na prática clínica. Apesar de parecer problemática, essa definição através de valores antropométricos elevados, até agora são as medidas mais úteis. Contudo, a relação

entre IMC e massa gorda, em particular, depende de uma ampla gama de fatores, como idade, altura, sexo, composição corporal, desenvolvimento puberal, etc (AHMAD; AHMAD; AHMAD, 2010).

O IMC derivado do peso corporal e da altura, surgiu como a medida clínica padrão aceita de sobrepeso e obesidade para crianças de 2 anos ou mais. O cálculo do IMC é realizado dividindo o peso corporal em quilogramas pela altura em metros ao quadrado. Em geral, o IMC fornece uma estimativa razoável da adiposidade na população pediátrica saudável. No entanto, o IMC pode superestimar ligeiramente a gordura em crianças baixas ou com massa muscular relativamente alta e pode subestimar a adiposidade em uma proporção substancial de crianças, como aquelas com massa muscular reduzida devido a baixos níveis de atividade física (SIMMONDS et al., 2016). Portanto, o IMC deve ser visto como uma medida substituta da adiposidade e seus pontos fortes e limitações devem ser considerados quando usado em ambientes clínicos e de pesquisa (GÓRNICKA et al., 2022).

Além do IMC, autores apoiam a ideia de que os profissionais utilizem outros indicadores que avaliem a distribuição da gordura corporal (ASHWELL; GIBSON, 2016). Dentre eles, a circunferência da cintura e a relação cintura/estatura (RCE), os quais são de fácil aplicabilidade (ABESO, 2016) e têm a vantagem de serem métodos clínicos sem o uso de imagem (JURASKI LEFCHAK et al., 2021). Em modelos de roedores, os parâmetros antropométricos, peso corporal, circunferência abdominal e índice de massa corporal (IMC), Índice de Lee e Índice de adiposidade, são índices equivalentes aos índices antropométricos na população humana necessários ao diagnóstico da obesidade (DO BONFIM et al., 2021).

Em ratos, a determinação da obesidade foi descrita por Lee em 1928. Consiste na divisão da raiz cúbica do peso em gramas pelo comprimento nasoanal em

milímetros e multiplicado por 1000. O resultado configura o índice nutritivo ou índice de Lee como mensuração de obesidade. O índice de Lee pode ser usado como forma acertada e rápida de medir obesidade em experimento submetido a um método de ganho de peso. Porém, torna-se necessária associação de um índice com outros dados antropométricos, como a circunferência abdominal, comprimento nasoanal e dados metabólicos (MALAFAIA et al., 2013).

O acúmulo de gordura corporal é causado por um desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto de energia. O controle do balanço energético de animais e seres humanos é realizado pelo sistema nervoso central (SNC) por meio de conexões neuroendócrinas, em que hormônios periféricos circulantes, sinalizam neurônios especializados do hipotálamo sobre os estoques de gordura do organismo e induzem respostas apropriadas para a manutenção da estabilidade desses estoques (VAN DE SANDE-LEE; VELLOSO, 2012).

2.2 Desenvolvimento do sistema nervoso e plasticidade neural

O SNC, composto pelo encéfalo e medula espinhal, exibe os princípios de organização e o padrão de desenvolvimento típicos em todos os mamíferos. Por exemplo, apesar de existirem diferenças importantes entre o cérebro de roedores e o humano, estruturas semelhantes podem ser identificadas (RICE E BARONE, 2000; SILBEREIS et al., 2016). O cérebro humano é claramente maior que o cérebro do rato e também é mais complexo, com mais invaginações neocorticais e maior número de áreas especializadas (WONG et al., 2023). Contudo, no nível dos tipos de neurônios individuais e de suas conexões, os cérebros de ratos e humanos são semelhantes (Figura 1).

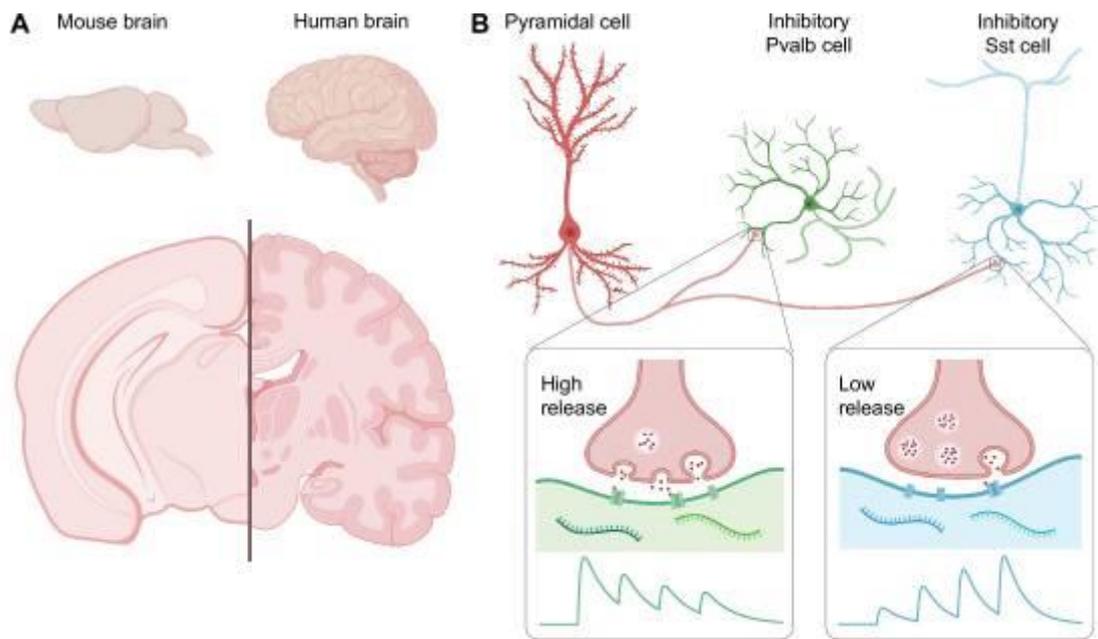


Figura 1. Comparação entre o cérebro do rato e o cérebro humano (WONG et al., 2023).

Portanto, os modelos animais desempenham um papel indispensável na investigação em neurociências, não só para a compreensão de doenças e desenvolvimento de tratamentos, mas também para a obtenção de dados que não podem ser obtidos no ser humano. Os modelos de ratos destacaram-se, devido ao seu ciclo de vida rápido, criação simples e facilidade para a engenharia genética. Provaram ser extremamente úteis para a compreensão de diversas características do cérebro, desde suas propriedades neurobiológicas moleculares até suas propriedades de rede em grande escala (BEAUCHAMP et al., 2022).

Contudo, o cérebro está sujeito a múltiplas mudanças estruturais e funcionais específicas durante janelas críticas de desenvolvimento. Portanto, estímulos ambientais podem modular a maturação funcional do cérebro e determinar a sua integridade ao longo da vida (RATSIKA et al., 2021). A plasticidade cerebral, também chamada de neuroplasticidade, refere-se à habilidade dos neurônios em mudar sua estrutura e função em resposta às experiências vividas (GEORGIEFF; BRUNETTE;

TRAN, 2015). Esse mecanismo é importante para que o SNC possa aprender novas habilidades, ao reorganizar suas redes neurais em resposta à estimulação ambiental (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015).

Os períodos vulneráveis durante o desenvolvimento do SNC, são sensíveis a insultos ambientais, porque dependem dos processos-chave do neurodesenvolvimento, isto é, neurogênese, sinaptogênese, mielinização e mudanças nos receptores. Evidências de inúmeras fontes demonstram que esses períodos, conhecidos como períodos críticos do desenvolvimento neural se estendem desde o período embrionário até a adolescência. Em geral, a sequência de eventos é comparável entre espécies, embora as escalas temporais sejam consideravelmente diferentes (RICE E BARONE, 2000; SILBEREIS et al., 2016).

Portanto, experiências que ocorrem na fase inicial do desenvolvimento, podem modificar permanentemente a estrutura e a função encefálica (KOLB; HARKER; GIBB, 2017). Um conceito utilizado para explicar essas mudanças provenientes da interação com o meio ambiente no início da vida é o DOHAD - Developmental origins of health and disease (Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença). Este conceito se baseia na hipótese de que fatores ambientais atuam sobre as origens fetais, causando efeitos profundos, que podem predispor o desenvolvimento de doenças nas fases mais tardias da vida (GLUCKMAN et al, 2010).

A interação gene x ambiente é responsável por grande parte das mudanças no fenótipo de modelos animais no início da vida, ou seja, o mesmo genótipo pode apresentar diferenças na sua capacidade ao reagir a diferentes ambientes (MIGUEL et al., 2019). Estudos mostram que, condições ambientais adversas em períodos iniciais da vida, podem levar a prejuízos na vida adulta, evidenciando a natureza sensível das estruturas do sistema nervoso em desenvolvimento a determinados

ambientes (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015).

2.3 Crescimento somático, desenvolvimento físico e maturação

O crescimento somático envolve importantes etapas, conhecidas como o aumento do número de células (hiperplasia), aumento do tamanho das células (hipertrofia) e aumento do conteúdo extra-celular (GAYA, 2002). A predominância de um ou outro processo celular varia com a idade e o tecido envolvido e são conduzido por fatores genéticos, regulados por mecanismos hormonais complexos e interferência ambiental (MORGANE et al., 1993). Portanto, trata-se de um processo complexo e organizado, onde os indivíduos seguem estágios de desenvolvimento previsíveis (GAYA, 2002).

Em mamíferos, de acordo com cada espécie, o crescimento estrutural e o desenvolvimento cumprem as etapas de maturação de forma muito semelhante (MORGANE et al 1978; MORGANE et al 1993). Contudo, apesar de seguirem um curso geral, as taxas de crescimento e maturação variam amplamente entre os indivíduos (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015). Crianças da mesma idade podem diferenciar em relação ao desenvolvimento físico, habilidades motoras e a capacidade física. A atividade física regular, por exemplo, não altera o processo de crescimento e desenvolvimento. Porém, o estágio de desenvolvimento é um determinante significativo das habilidades motoras, da capacidade física e da adaptação à atividade (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015).

A identificação do crescimento somático, por meio de curvas de referências, pode ser utilizada para fornecer informações, afim de reduzir problemas de saúde pública como desnutrição e obesidade (ALVES JUNIOR et al., 2023). A medida que o indivíduo fica obeso, ocorrem mudanças nas características dos depósitos de gordura,

como aumento da deposição abdominal, intra e retroperitoneal e subcutânea profunda e, em fase mais avançada, ocorre deposição nos músculos, fígado e pâncreas (MALAFAIA et al., 2013). Sendo assim, o crescimento somático é aceito como um instrumento para avaliação das condições de saúde de uma população (ALVES JUNIOR et al., 2023).

A deposição de gordura aumenta a capacidade de sobreviver, reproduzir e manter a sobrevivência da prole (WELLS, 2017). No entanto, com as mudanças advindas da modernização, essa capacidade de retenção de energia na forma de gordura, acarreta em problemas diante do fácil acesso a alimentos altamente calóricos. Além disso, no ambiente moderno, decorrente do crescimento econômico, modernização, urbanização e a globalização, cada vez menos o homem precisa realizar esforço físico para realizar suas atividades diárias, minimizando o gasto energético (MALAFAIA et al., 2013).

A gordura na forma de tecido adiposo é entendida como um sistema orgânico e complexo, que se apresenta em mamíferos de três formas diferentes em níveis funcionais, morfológicos e moleculares (ZHANG et al., 2022). A primeira é na forma de tecido adiposo marrom (TAM), também conhecido como gordura marrom. Esse tecido contém muitas mitocôndrias ricas em ferro e proteína desacopladora 1 (UCP1) (ZHANG et al., 2022). O TAM está presente em quantidades significativas em humanos na fase neonatal e em pequenos mamíferos, como camudongos e ratos, e é crucial na regulação da temperatura corporal (PENG et al., 2020). Uma das suas principais funções é gerar calor corporal, através do desacoplamento da oxidação de ácidos graxos da produção da molécula de adenosina trifosfato (ATP) pelo desacoplamento da UCP1 (PENG et al., 2020). Portanto, do ponto de vista clínico, o TAM é um alvo potencial no tratamento da obesidade e de outros distúrbios

metabólicos (PENG et al., 2020).

A segunda forma de armazenar gordura no corpo é através do tecido adiposo branco (TAB) ou gordura branca, principal local de armazenamento de gordura a longo prazo no corpo (ZHANG et al., 2022). Sendo assim, o TAB desempenha várias funções importantes no organismo, como o armazenamento de triglicerídeos, liberação de ácidos graxos, utilizados no metabolismo energético, e secreção de hormônios (RICHARD et al., 2000; ZHANG et al., 2022). Além disso, o TAB é altamente adaptável a estímulos externos, onde possui células chamadas marrom-em-branco (brite), células bege ou adipócitos marrons adaptativos ou recrutáveis (RICHARD et al., 2000).

As células bege são semelhantes a adipócitos marrons, por isso também são chamadas de segunda gordura marrom. Entretanto, as origens do TAM clássico e do tecido adiposo bege são claramente diferentes (ZHANG et al., 2022). Embora não tenham a origem precisamente definida, o seu desenvolvimento é bastante aumentado em resposta à exposição crônica ao frio ou à estimulação β -adrenérgica prolongada (ZHANG et al., 2022). Porém, o escurecimento da gordura branca é um processo relativamente complicado, que envolve fatores ambientais, metabólitos e regulatórios (ZHANG et al., 2022).

O estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas pode ser facilitado com a utilização de modelo animal em ambiente de pesquisa (ROSINI; DA SILVA; MORAES, 2012). Um ambiente saudável durante o início da vida, é primordial para um desenvolvimento adequado dos mamíferos, e fatores nutricionais e emocionais maternos são críticos durante essa fase. Portanto, a utilização de intervenções dietéticas em modelos animais são essenciais para esclarecer os efeitos de nutrientes e dietas específicas no desenvolvimento

(LALANZA; SNOEREN, 2021).

2.4 Fatores ambientais associados ao sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes

2.4.1 Nutrição e Dieta de Cafeteria

Dentre os fatores ambientais que podem afetar o neurodesenvolvimento inicial, destacam-se os fatores nutricionais e a inatividade física (ALVES; ALVES, 2019; GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015). A nutrição têm a capacidade de moldar a função do cérebro durante o desenvolvimento inicial, alterando períodos críticos em regiões específicas, como hipocampo e córtex pré-frontal, causando efeitos profundos e duradouros (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015). O cérebro fetal e pós-natal precoce, demanda altas necessidades nutricionais devido à sua alta taxa metabólica. A ocorrência de déficits nutricionais, como deficiência proteica, de micronutrientes e excesso de alimentos ricos em açúcar e gorduras saturadas, resultam em disfunção cerebral aguda, causando alterações neurocomportamentais de longo prazo (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015).

Portanto, os nutrientes são importantes para o desenvolvimento cerebral, principalmente durante o final da vida fetal/neonatal e primeira infância, fase que compreende do último trimestre do feto até os 3 primeiros anos pós-natais (SARAH E. CUSICK, PHD; MICHAEL K. GEORGIEFF, 2012). Além do mais, o desenvolvimento é um momento de rápido crescimento e diferenciação celular, onde o SNC necessita de metabólitos e nutrientes. Nutrientes essenciais, como glicose, aminoácidos e ferro, são responsáveis por suportar o metabolismo e diferenciação celular, permitindo condições ideais para o bom funcionamento cerebral

(GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015).

Os hábitos de vida materna são capazes de modular o fenótipo, o desenvolvimento e o comportamento da prole, especificamente, podem alterar funções neurais, cognitivas e neuroendócrinas (CHAMPAGNE et al., 2008; MACCARI et al., 2014). Dentre os hábitos maternos, pode-se destacar que o consumo de uma dieta inadequada durante os estágios gestacionais resulta em modificações metabólicas no organismo da mãe e da prole (BAYOL et al., 2010). Sendo assim, evidências experimentais mostram que condições nutricionais adversas durante o período gestacional e pós natal estão relacionadas ao surgimento da maior quantidade de tecido adiposo na idade adulta (KOJIMA; CATAVERO; RINAMAN, 2016; MARTINS et al., 2021).

Atualmente vem ocorrendo mudanças na estrutura da dieta dos indivíduos, configurando uma transição nutricional. Essa transição tem relação direta com a busca por alimentos mais práticos e de fácil preparo, onde são priorizados alimentos industrializados com elevada densidade calórica, em substituição aos alimentos naturais mais saudáveis (BARROS et al., 2021). Devido também a intensificação da urbanização e globalização, cada vez mais há uma desvalorização do consumo de alimentos in natura e ricos em fibras. Em compensação, há um aumento do acesso aos alimentos ultraprocessados, estimulando a ingestão de alimentos ricos em açúcares, gorduras e sal (MONTEIRO; MONDINI; COSTA 2001; FERREIRA et al., 2005; BARROS et al., 2021).

Os hábitos de vida materna são capazes de modular o fenótipo, o desenvolvimento e o comportamento da prole. Especificamente, eles podem alterar funções neurais, aspectos cognitivos e neuroendócrinos (CHAMPAGNE et al., 2008; PEÑA et al., 2014; MACCARI et al., 2014). Dentre os hábitos, pode-se destacar que

o consumo de uma dieta inapropriada durante e após o estágio gestacional resulta em modificações metabólicas no organismo da mãe e da prole (BAYOL et al., 2010).

A dieta de cafeteria é um tipo de dieta inapropriada, utilizada em modelos experimentais, eficaz na indução à obesidade (LALANZA; SNOEREN, 2021). Sua oferta é realizada para o animal juntamente com a dieta padrão de biotério, para não ocasionar déficit nutricional, devido a ausência de micronutrientes (DA COSTA ESTRELA et al., 2015). Têm em sua composição alimentos altamente palatáveis e nutrientes de alta energia (BUYUKDERE; GULEC; AKYOL, 2019).

Esse tipo de dieta é caracterizada por ser o equivalente mais próximo da dieta de alimentos ultraprocessados humanos, pois fornece aos animais alimentos com uma variedade nutricional variada, como pães, bolos, chocolates, amendoins e diversas outras guloseimas (LALANZA; SNOEREN, 2021). Tais alimentos possuem elevados teor de sódio, carboidratos simples e gorduras, principalmente gorduras saturadas e/ou trans, além do baixo teor de proteínas, fibras alimentares e micronutrientes, espelhando os principais aspectos obesogênicos da dieta humana (BAYOL et al., 2010; BUYUKDERE; GULEC; AKYOL, 2019).

Contudo, a dieta de cafeteria não fornece o mesmo controle sobre o perfil de macronutrientes e micronutrientes que as dietas purificadas com alto teor de gordura ou alto teor de gordura e alto teor de açúcar. Entretanto, a dieta de cafeteria normalmente induz um fenótipo metabólico mais severo do que aquele observado com dietas purificadas e se assemelha com os distúrbios metabólicos observados na população humana com sobrepeso e obesidade (LEIGH; KENDIG; MORRIS, 2019).

Em ratos, o período de lactação é especialmente sensível a manipulações dietéticas, programando mudanças no comportamento da prole (MORETON et al., 2019). Estudos mostram que animais que consumiram uma dieta de cafeteria, tendem

a ter um aumento significativo no peso corporal, gordura corporal e açúcar no sangue, em comparação com aqueles que consumiram uma dieta padrão de ração para ratos (DE MACEDO; DE FREITAS; DA SILVA TORRES, 2016; GEORGE et al., 2019). Além disso, esses animais também tendem a ter uma maior resistência à insulina, o que pode levar a uma série de problemas de saúde, incluindo diabetes tipo 2 (VITHAYATHIL et al., 2018).

Alguns estudos também sugerem que ratos que consomem uma dieta de cafeteria têm preferência por alimentos ricos em gordura e açúcar do que aqueles que consomem uma dieta padrão (DE MACEDO; DE FREITAS; DA SILVA TORRES, 2016). Além do mais, o consumo excessivo da dieta de cafeteria deve-se principalmente ao seu componente hedônico, influenciando o sistema de recompensa (LALANZA; SNOEREN, 2021). Eventos estressantes aversivos podem regular negativamente o sistema de recompensa, perturbando a sensibilidade à recompensa, levando a comportamentos alimentares compulsivos e vícios em alimentos (DE MACEDO; DE FREITAS; DA SILVA TORRES, 2016).

A dieta de cafeteria em ratos, também pode afetar a atividade do sistema serotoninérgico, levando a mudanças comportamentais e metabólicas, como aumento da ingestão alimentar e ganho de peso, bem como uma maior predisposição a doenças relacionadas à obesidade, como diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (MORETON et al., 2019; VITHAYATHIL et al., 2018). Portanto, o efeito à exposição do feto/neonato em desenvolvimento a um maior fornecimento de nutrientes, resulta em alterações permanentes na estrutura, perfil de expressão gênica, função de órgãos-chave e sistemas reguladores responsáveis pelo controle metabólico (VITHAYATHIL et al., 2018).

Assim sendo, a nutrição é um agente influenciador ambiental tanto no feto

quanto no recém nascido, seja ela por excesso ou falta de nutrientes, e exerce um papel fundamental no surgimento de diversas doenças (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015). Além do mais, os indivíduos estão cada vez mais inseridos em um ambiente mais permissivo no que diz respeito aos hábitos alimentares e são mais propensos a adotar comportamentos sedentários e baixo nível de atividade física (ALVES; ALVES, 2019).

2.4.2 Atividade física

A atividade física é definida como qualquer atividade corporal com envolvimento da musculatura esquelética, que resulta em um gasto energético acima do nível de repouso (ALVES; ALVES, 2019). Alguns exemplos são: caminhar, correr, pedalar, brincar, subir escadas, limpar a casa, dançar, praticar desportos, entre outros (BRASIL, 2021). Já o exercício físico faz parte da atividade física, porém, trata-se de uma atividade planejada e estruturada que visa melhorar um resultado específico, como aptidão cardiorrespiratória, capacidade funcional, redução de massa corporal ou recomposição corporal (CALCATERRA et al., 2022).

A atividade física é necessária para o crescimento, desenvolvimento e maturação saudáveis e desempenha um papel importante na prevenção do sobrepeso e da obesidade na infância e adolescência (CALCATERRA et al., 2022). Além disso, reduz os riscos à saúde relacionados ao excesso de peso e contribui para a prevenção e/ou tratamento de doenças crônicas não transmissíveis, tais como pressão arterial, dislipidemia e diabetes (WHO, 2018). Ademais, a atividade física quando praticada na infância, sua prática tende a se manter na vida adulta (YUKSEL et al., 2020).

Contudo, na sociedade ocidental, uma grande proporção de crianças e

adolescentes não atende às diretrizes de atividade física recomendadas (WHO, 2020). Evidências também sugerem que jovens obesos são menos ativos fisicamente do que não obesos e passam mais tempo em atividades sedentárias, como assistir televisão e usar outras mídias eletrônicas (CALCATERRA et al., 2022). Os fatores genéticos ou transmissíveis são responsáveis por grande parte da variabilidade individual no tamanho e forma do corpo e influenciam a propensão de uma pessoa a controlar o peso corporal. Porém, o principal contribuinte ambiental para um aumento na deposição de gordura é um balanço energético positivo (HILL; WYATT; PETERS, 2012).

As diretrizes atuais da OMS recomendam que crianças e adolescentes entre 5 e 17 anos realizem pelo menos 60 minutos de atividade física diária de intensidade moderada a vigorosa, o que pode ser alcançado pela realização de atividades em múltiplas sessões curtas durante o dia (BULL et al., 2020). Essas propostas incluem brincadeiras, jogos, esportes, transporte ativo, recreação e educação física escolar, bem como exercícios planejados ou sessões de treinamento. Também é recomendado que 30 minutos de exercícios diários sejam realizados na rotina escolar (BULL et al., 2020).

Baixos níveis de atividade física durante a infância combinados com a obesidade contribuem para um baixo condicionamento físico e redução da confiança das crianças em participar de esportes e atividades físicas (HILL; WYATT; PETERS, 2012). Crianças entre 2 e 5 anos de idade, com excesso de peso quando comparadas com crianças com peso normal, têm quatro vezes mais riscos de apresentarem excesso de peso quando adultos (HILL; WYATT; PETERS, 2012). Por outro lado, níveis apropriados de atividade física na infância e adolescência, reduz o risco de obesidade e os riscos à saúde associados ao aumento da adiposidade. Níveis de

atividade física adequados, também contribui para maior densidade óssea, redução de fatores de risco para doenças cardiometabólica, melhoria na aptidão cardiorrespiratória e muscular, composição corporal e redução dos sintomas de depressão (BULL et al., 2020).

A infância e a adolescência são momentos cruciais para moldar o comportamento alimentar e a prática de atividade física. Porém, diversos fatores ambientais podem provocar efeitos negativos nessa fase. Por exemplo, as medidas restritivas governamentais estabelecidas durante a pandemia do COVID-19 tiveram efeitos prejudiciais em vários componentes do estilo de vida e resultaram em inatividade física e comportamentos sedentários, influenciando a manutenção do peso e contribuindo para a obesidade entre crianças e adolescentes (CALCATERRA et al., 2022). Estudos relataram uma diminuição da frequência de envolvimento em transporte ativo, diminuição do trabalho doméstico moderado ou vigoroso e de alta intensidade, redução da atividade física durante o tempo de lazer, diminuição da caminhada durante o lazer e aumento do sedentarismo, sono e tempo de tela (TORNAGHI et al., 2021; VANCINI et al., 2021).

Portanto, a atividade física e a dieta são os pilares da prevenção e gestão da obesidade. A nutrição ideal em combinação com atividade física regular durante os anos de desenvolvimento inicial, aumenta a probabilidade de um padrão de maturação física saudável, consistente com o potencial genético individual de cada criança. A atividade física é benéfica em todas as fases durante os anos de formação, sendo importante nos aspectos físicos, mentais e sociais do crescimento e desenvolvimento (HILLS; OKELY; BAUR, 2010).

Estudos em humanos e animais demonstraram que estímulos ambientais, como hábitos de atividade física, parecem ter uma influência favorável no

desenvolvimento do cérebro. Especificamente, em modelos animais, foi relatado que a atividade física melhora a função cognitiva de ratos em desenvolvimento (GOMES DA SILVA; ARIDA, 2015). Portanto, a atividade física é um fator importante no sistema nervoso dos animais, podendo afetar a estrutura e também a função do cérebro (GASHI et al., 2020).

Além disso, embora as evidências indiquem que os fatores nutricionais influenciam permanentemente o desenvolvimento do sistema nervoso, foi demonstrado que o estilo de vida materno, especificamente a atividade física, pode induzir a plasticidade neural e amortecer o desenvolvimento da prole. Contudo, em ratos, a restrição proteica materna induziu experiências de movimento reduzidas provocadas por um atraso na maturação reflexa (BARROS *et al.* 2006).

Em animais, a atividade locomotora está relacionada à sobrevivência; por exemplo, procurar comida e abrigo, interagir com concorrentes, acasalar-se e defender-se contra predadores (Garland *et al.* 2011). Entretanto, as atividades que não estão diretamente ligadas à sobrevivência ou homeostase e não estão relacionadas a qualquer fator externo pode ser caracterizada como atividade física voluntária. Modelos animais de estudos geralmente envolvem atividades físicas que simulam atividades dos seres humanos, sendo a mais utilizada para medir níveis de atividade física, corrida em esteira e natação (FRAGOSO et al., 2017).

Para avaliar atividade física voluntária em animais é utilizado o modelo de roda de corrida (Cicloergômetro). Porém, ao contrário dos animais de laboratório, as crianças têm uma vida fora do laboratório que envolve uma grande variedade de atividades. Conseqüentemente, não se pode fazer uma comparação quanto a prática de atividade física voluntária de crianças e animais de laboratório. Visando investigar melhor esta relação, a utilização de protocolos com mais variedades para ratos, seria

fundamental

2.5 Ambiente enriquecido como protocolo de atividade física

O ambiente enriquecido (AE), é um protocolo de intervenção ambiental, que atualmente têm sido adicionado à lista de atividades físicas voluntárias, por levar a um aumento do gasto energético, devido a uma maior atividade exploratória no ambiente de alojamento (MAINARDI et al., 2010; ROSTAMI, 2021). Porém, ainda existem poucos estudos que avaliam a atividade física voluntária usando um paradigma de AE, principalmente devido às dificuldades técnicas envolvidas no alojamento de ratos em grupos (SUDO; KANO; ANDO, 2023).

Contudo, o AE vem sendo utilizado em modelos animais de bem-estar e doença há mais de setenta anos, mostrando um papel neuroprotetor, capaz de proteger contra comportamentos associados a doenças mentais (DURÁN-CARABALI et al., 2019). Além disso, favorece respostas fisiológicas saudáveis e promove a plasticidade cerebral e neurogênese, com consequente repercussão no comportamento e cognição (BAYAT et al., 2015; BURGOS et al., 2019; DURÁN-CARABALI et al., 2019; ROSTAMI; HAGHPARAST; FAYAZMILANI, 2021).

O neuropsicólogo canadense Donald O. Hebb, em 1940, foi o primeiro a demonstrar que o enriquecimento ambiental durante o desenvolvimento era capaz de melhorar o desempenho de ratos adultos em uma tarefa cognitiva (MCCREARY; METZ, 2016). Hebb adotou animais de laboratório em sua casa e para testar o papel da estimulação ambiental na aprendizagem e memória animal, desenvolveu um conjunto de experiências para examinar as consequências comportamentais da exposição dos animais a ambientes enriquecidos (SPARLING et al., 2020). Quando comparado com um grupo mantido em gaiola padrão de biotério, foi observado um comportamento de aprendizado aprimorado, além disso, esse tipo de ambiente foi

capaz de fornecer mudanças duradouras no comportamento dos roedores. Esse modelo de ambiente de criação, foi chamado posteriormente de ambiente enriquecido (SPARLING et al., 2020). A partir dessas descobertas, diversos estudos foram realizados para entender melhor as mudanças de um ambiente rico em estímulos.

Sendo assim, o enriquecimento ambiental é proporcionado ao animal, ao adicionar no ambiente de alojamento, elementos físicos e/ou sociais que sejam estimulantes e não aversivos, ou seja, que não provoque estresse ao animal (CAMARGO GARBIN; RESENDE FALEIROS; DO LAGO, 2012; GOZZER et al., 2018). O enriquecimento físico engloba mudanças mecânicas no alojamento, como a ampliação da gaiola e/ou a adição de objetos para promover brincadeiras, nidificação ou forjamento e deixar o ambiente mais complexo (CAMARGO GARBIN; RESENDE FALEIROS; DO LAGO, 2012). Este tipo de enriquecimento também promove a atividade física, que pode ser ainda mais intensificada pela inclusão de uma roda de corrida ou ferramentas de escalada (BAYAT et al., 2015). Além disso, a utilização de abrigos, rodas de pires, labirintos de tubos e outros objetos no ambiente habitacional promovem a exploração e a interação do animal (CAO et al., 2011).

Já o enriquecimento social é obtido por meio do alojamento em conjunto, o que permite a prática do comportamento padrão, como brincadeiras, nidificação comunitária, alimentação cooperativa ou comportamentos de cuidado. Além disso, o número de animais alojados juntos aumenta a complexidade do enriquecimento social (SPARLING et al., 2020). Por conseguinte, geralmente, os protocolos de ambiente enriquecido envolvem o enriquecimento social e físico, onde são proporcionados aos animais o aumento do espaço, atividade física e interações sociais, intensificando a estimulação sensorial, cognitiva e motora (CAO et al., 2011).

Os elementos fundamentais do enriquecimento ambiental são a complexidade

e a novidade, que estão diretamente ligados à neuroplasticidade dos circuitos cerebrais cognitivos e emocionais (SPARLING et al., 2020). Sendo assim, uma das características do protocolo de enriquecimento é a alteração regular da disposição dos objetos na gaiola, para apresentar um novo ambiente, ao qual os animais são estimulados a exploração e adaptação (SPARLING et al., 2020). Essa estratégia oferece desafios leves e rápidos que induzem uma resposta adaptativa benéfica, benigna e saudável, conhecida como eustress, em oposição a um ambiente mais aversivo, hostil ou mal adaptativo, ocasionado por restrição, ruído, cama molhada, aglomeração e isolamento (CAMARGO GARBIN; RESENDE FALEIROS; DO LAGO, 2012; SPARLING et al., 2020). Ao promover o eustress e limitar o sofrimento prejudicial, os animais mostram uma variedade de fenótipos favoráveis (CAO et al., 2011).

Entretanto, existe uma grande variedade de protocolos envolvendo o enriquecimento físico, social e cognitivo, que variam em características como intensidade e duração, idade de exposição dos animais, objetos utilizados e definição do layout pelos pesquisadores (CORREDOR et al., 2022). Outra fonte de variabilidade são os instrumentos utilizados para avaliar os efeitos do AE, como a ansiedade, que pode ser testada através do teste de labirinto em cruz elevado e teste de campo aberto, e a memória, através do teste de labirinto aquático de Morris e teste de reconhecimento de objetos, entre outros. Sendo assim, a estratégia de avaliação pode gerar efeitos diferenciais do AE nos domínios testados (CORREDOR, 2022). As características dos animais experimentais, como espécie, cepa, sexo e genótipo, também é uma variável, podendo interagir de forma diferente com o ambiente. Todas essas fontes de variabilidade dificultam a compreensão dos mecanismos precisos dos efeitos comportamentais do AE (CORREDOR, 2022).

Contudo, o AE está associado a mudanças adaptativas no encéfalo, no comportamento e metabolismo em camundongos de diferentes idades e origens genéticas (BURGOS et al., 2019; MAINARDI et al., 2010; SOARES et al., 2015; ZHANG et al., 2018). Seus efeitos podem ser observados em camundongos com apenas uma semana de exposição, como também, em animais de até dezoito meses (SPARLING et al., 2020). Visto isso, o AE é um modelo útil para estudar os efeitos do ambiente em roedores, principalmente durante o período pós-natal precoce, onde demonstrou exercer efeitos plásticos no cérebro em desenvolvimento, atingindo circuitos neurais corticais e hipocampais (BURGOS et al., 2019).

Todos os benefícios comportamentais do AE estão relacionados a mudanças na estrutura e no funcionamento do cérebro (ZENTALL, 2021). Porém, não há consenso sobre quais modelos de enriquecimento ambiental são ideais no que diz respeito aos efeitos benéficos no cérebro (SAMPEDRO-PIQUERO; BEGEGA, 2017). Contudo, os aspectos-chave parecem ser a complexidade ambiental, a novidade e a idade em que o enriquecimento começa, bem como a duração da exposição a ambientes enriquecidos. Contudo, mesmo aumentos modestos no enriquecimento mostrou proteger contra doenças em modelos animais (RATUSKI; WEARY, 2022).

O AE promoveu o crescimento e aumento do tamanho e peso do cérebro, bem como das suas subestruturas, tendo efeitos notáveis em muitos domínios da função cerebral (MOHAMMED et al., 2002). Morfologicamente, os primeiros estudos sobre o assunto descreveram aumento do volume e peso cortical, principalmente do córtex visual, somatossensorial e frontal (DIAMOND et al., 1966; RAMPON et al., 2000). Da mesma forma, também foi observado que o AE foi capaz de aumentar a espessura do córtex occipital, o volume do hipocampo e até mesmo de algumas áreas subcorticais (ZENTALL, 2021). Além do mais, existem em todo o cérebro, efeitos substanciais do

AE na proliferação celular e na gênese celular, sugerindo uma plasticidade celular generalizada (BAYAT et al., 2015; KEMPERMANN, 2019).

Um estudo recente, também mostrou que o AE proporciona maior estimulação sensorial, cognitiva e física quando comparada às condições padrão de alojamento (SERRA et al., 2020). Essa maior estimulação ocorre, devido a introdução da roda de corrida voluntária e de diferentes objetos como escadas, igloos, rampas e túneis, no ambiente do animal, assim como, ao proporcionar o alojamento em grupo (KIMURA et al., 2020). A combinação complexa de múltiplos fatores, estruturas e objetos, leva ao aumento do nível de atividade física e influencia aspectos morfofuncionais do sistema nervoso (KIMURA et al., 2020). Através do aumento das oportunidades de exploração, interação social e atividade física, a exposição ao AE aumenta de forma confiável a função cognitiva e atenua algumas patologias cerebrais (BURGOS et al., 2019; DURÁN-CARABALI et al., 2019).

O AE tem promovido efeitos benéficos quando vivenciado desde o nascimento, reduzindo os níveis plasmáticos de leptina (MAINARDI et al., 2010). A leptina regula negativamente a ingestão de alimentos modulando a atividade dos circuitos neurais no núcleo arqueado hipotalâmico (ARC), e a resistência a esse hormônio constitui uma condição permissiva para a obesidade (MAINARDI et al., 2010). Estudo recente, também mostrou que o AE pode restaurar o equilíbrio energético em camundongos obesos que apresentavam alterações metabólicas (DÍAZ DE LEÓN-GUERRERO et al., 2022).

Portanto, foi observado que o AE melhorou o metabolismo da glicose, aumentou a sinalização da insulina no fígado e reduziu a esteatose e inflamação hepática, e aumenta a lipólise e o escurecimento no tecido adiposo branco de camundongos alimentados com dieta rica em gordura. Além disso, também foi

encontrada uma redução da sinalização inflamatória e aumento da sinalização anorexígena no hipotálamo desses camundongos (DÍAZ DE LEÓN-GUERRERO et al., 2022).

Durante as fases de gestação e de aleitamento, a estimulação do ambiente pode promover benefícios a eventos biológicos do neurodesenvolvimento, como neurogênese e proliferação celular (RIZZI et al., 2011). Além disso, estudos recentes têm apontado que o enriquecimento ambiental, aumenta fatores de crescimento e aprimora circuitos motores e sensoriais, levando a mudanças plásticas fortalecidas no encéfalo (BAYAT et al., 2015; SCHUCH et al., 2016). Foi visto também, que a intervenção com AE durante os três primeiros meses de vida, aumentou as taxas de renovação (turnover) da serotonina (5-HT) e dopamina no hipocampo em ratos wistar (KOKRAS et al., 2019). Além disso, o SERT foi regulado positivamente de forma significativa em camundongos com três meses de vida, expostos a um ambiente enriquecido por 30 dias (RAGU VARMAN; RAJAN, 2015).

2.6 O sistema serotoninérgico e a regulação do apetite e do peso corporal

A 5-HT é uma amina biogênica envolvida na regulação de diversas funções, como sinaptogênese, mielinização e arborização neuronal (MACGILLIVRAY et al., 2012; ROMERO-REYES et al., 2021). Sua síntese ocorre na periferia das células enterocromafins do intestino e no nível dos núcleos da rafe (NR) no encéfalo. Os NR estão localizados na porção medial do tronco encefálico, sendo o principal local de síntese de 5HT no SNC (HERSEY et al., 2021). Os NR enviam projeções serotoninérgicas por todo o cérebro, inclusive para o hipocampo, e essas projeções serotoninérgicas modulam uma variedade de funções cerebrais (HERSEY et al.,

2021).

Em virtude de sua característica hidrofílica, a serotonina não ultrapassa a barreira hemato-encefálica (BHE), tornando necessária para sua ação central, que sua síntese ocorra no SNC, a partir do aminoácido essencial L-triptofano (L-Trp). A enzima triptofano hidroxilase (TPH) catalisa a conversão do L-Trp em 5-hidroxitriptofano. No sistema nervoso periférico, a TPH se apresenta como a isoforma TPH1, já no sistema nervoso central, como a isoforma TPH2 (CARVAJAL-OLIVEROS; CAMPUSANO, 2021). O mecanismo de síntese da 5-HT inicia com a conversão do L-Trp em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela TPH2, em seguida a enzima Dopa descarboxilase (AADC) catalisa a conversão final em 5-HT (CARVAJAL-OLIVEROS; CAMPUSANO, 2021).

Após a síntese da 5-HT nos neurônios da rafe, seu armazenamento ocorre em vesículas localizadas nos neurônios pré-sinápticos. A chegada de um potencial de ação, faz com que essas vesículas se fundem com a membrana plasmática para liberar seu conteúdo na fenda sináptica. Após sua liberação, a 5-HT se liga a receptores específicos no neurônio pós-sináptico, para induzir respostas celulares (CARVAJAL-OLIVEROS; CAMPUSANO, 2021). A ação fisiológica da 5-HT é conduzida por cerca de quinze receptores serotoninérgicos agrupados em 7 famílias (5-HT1, 5-HT2, 5-HT3, 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6, 5-HT7). Praticamente todos esses receptores pertencem à superfamília de receptores metabotrópicos acoplados à proteína G, exceto o receptor 5-HT3, um receptor de canal (CARVAJAL-OLIVEROS; CAMPUSANO, 2021).

O fim da ação da 5-HT depende da sua recaptação de volta ao neurônio pré-sináptico, através do transportador seletivo serotoninérgico, o SERT. Uma vez dentro do citosol, a 5-HT pode ser reutilizada como neurotransmissor, ou pode ser

metabolizada pela enzima degradante, a monoamina oxidase tipo A (MAO-A). Além do SERT e da MAO-A, a homeostase do sistema serotoninérgico também é assegurada por três autorreceptores, o 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} e 5-HT_{1D} (CARVAJAL-OLIVEROS; CAMPUSANO, 2021).

O apetite e o peso corporal são regulados por um complexo sistema de sinais periféricos e centrais que atuam nos sistemas homeostático e hedônico do cérebro para desencadear a fome ou a saciedade (RATNER, 2012). O circuito homeostático equilibra a ingestão de energia com o gasto energético, e o circuito hedônico está relacionado a mecanismos de recompensa e motivação do consumo de energia (VAN GALEN et al., 2018). A sinalização serotoninérgica está envolvida nesses dois sistemas, ao contribuir na integração de sinais metabólicos que transmitem o estado energético do corpo, suprimindo a ingestão de alimentos de acordo com as necessidades homeostáticas, como também, reduzindo o consumo de alimentos relacionado à recompensa (VAN GALEN et al., 2018).

O hipotálamo é uma região importante na ingestão alimentar, no qual possui dois grupos de neuropeptídeos: o grupo composto por neuropeptídeos anorexígenos, chamados de pró-opiomelanocortina (POMC) e o transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART), e o grupo orexígenos, chamados de neuropeptídeo Y (NPY) e o peptídeo relacionado a agouti (AgRP) (DE LIMA et al., 2020). Especificamente no núcleo arqueado do hipotálamo (ARC), o NPY e o AgRP estimulam a alimentação e diminuem o gasto energético, já o POMC e o CART estimulam a redução da ingestão do alimento e induzem ao aumento do gasto energético (DE LIMA et al., 2020). A ação anorexigênica da 5HT é exercida através de sua ligação ao receptor 5HT_{1B}, diminuindo a atividade neuronal do NPY e do AgRP, como também, da estimulação dos receptores 5HT_{2C} aos neurônios POMC e CART (TAVARES; TORRES; DE

SOUZA, 2020).

Os neurônios no ARC detectam escassez ou excesso de energia por meio das concentrações circulantes de hormônios e nutrientes metabólicos e, então, coordenam a ingestão e o gasto de energia para manter a homeostase energética. O mau funcionamento ou perda de neurônios do ARC resulta em obesidade (LEE et al., 2020). Portanto, o hipotálamo é uma região crucial para a manutenção do armazenamento adequado de gordura corporal, sendo fortemente inervada por neurônios serotoninérgicos. O sistema serotoninérgico participa ativamente da modulação do comportamento alimentar, onde prejuízos na sua homeostase estão associados a distúrbios alimentares (DE LIMA et al., 2020).

O papel da sinalização serotoninérgica na regulação do comportamento alimentar e do peso corporal é evidenciada por diferentes estudos. Alguns exemplos são: experimentos com vários subtipos de receptores de serotonina e seus efeitos, quantificação da disponibilidade do transportador central de serotonina (SERT), administração sistêmica de serotonina, tratamento com inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs), e a utilização de medicamentos para perda de peso e a influência no sistema serotoninérgico (GEORGIEFF; BRUNETTE; TRAN, 2015). Os efeitos neurobiológicos positivos da 5-HT na saciedade, foram demonstrados pela aplicação de drogas anorexígenas, como a fenfluramina, que aumentam a quantidade de 5-HT dentro da fenda sináptica. Portanto, foi enfatizado que o aumento da 5-HT intra sináptica tem impacto significativo na redução de peso e no controle da alimentação (GRIEBSCH et al., 2022).

Sendo assim, os neurônios serotoninérgicos estão envolvidos no controle da ingestão alimentar, de modo que o aumento da sinalização da 5-HT suprime a alimentação e tende a diminuir o ganho de peso corporal (KESIĆ et al., 2020). Além

disso, ocorre uma elevação do gasto energético ao aumentar os fluxos simpáticos para o tecido adiposo marrom (KESIĆ et al., 2020). No entanto, o efeito central da 5-HT na regulação do apetite tem um envolvimento limitado no desenvolvimento da obesidade causada pela deficiência de SERT (ZHA et al., 2017a). Camundongos deficientes em SERT exibiram um aumento das concentrações extracelulares de 5-HT no cérebro e demonstram redução da ingestão alimentar (MURPHY; LESCH, 2008). Contudo, camundongos desenvolveram um fenótipo obeso sob dieta normal (ZHA et al., 2017a).

2.7 A relação do SERT com a obesidade

O SERT é um membro da família de transportadores de monoamina dependentes de sódio (Na) e cloreto (Cl), responsável por regular a concentração sináptica de 5-HT presente na membrana de neurônios pré-sinápticos (WALKER; TADI, 2022). Esta proteína de membrana plasmática promove a recaptação da 5-HT disponível na fenda sináptica de volta ao neurônio pré-sináptico, fazendo com que ocorra uma redução dos níveis do neurotransmissor na fenda sináptica (WALKER; TADI, 2022). A remoção ativa dos níveis de 5-HT da fenda sináptica, encerra a ação da serotonina nos receptores após sua liberação, como também, permite que o neurotransmissor seja reciclado para o uso posterior e, portanto, serve como um regulador chave da sinalização serotoninérgica (SGHENDO; MIFSUD, 2012).

Localizado em neurônios e nas células da glia, o SERT é encontrado em elevada densidade nos neurônios pré-sinápticos no mesencéfalo, núcleo caudado, putâmen, tálamo, hipotálamo, ponte, medula e amígdala (DE SOUZA; KUYATT, 1987). Durante o desenvolvimento do sistema nervoso, o SERT é importante em regiões encefálicas onde se localizam receptores serotoninérgicos envolvidos nos

processos do desenvolvimento (HOMBERG; LA FLEUR; CUPPEN, 2010). Portanto, durante o desenvolvimento, o SERT pode influenciar a diferenciação, a sinaptogênese, a arborização e a citoarquitetura neuronal (NAM et al., 2018). A presença do gene SERT nos núcleos da rafe no início do desenvolvimento pode atuar na regulação da ativação e dessensibilização de receptores serotoninérgicos (HANSSON et al., 1998).

Os sistemas monoaminérgicos, e em particular os transportadores pré-sinápticos, representam substratos bioquímicos chave no controlo intrínseco da alimentação, e falhas na sua função ou alteração compensatória na expressão, está subjacente à alimentação excessiva (HESSE et al., 2014). Além disso, a atividade do SERT é afetada por muitos eventos celulares, como fosforilação, interação proteína-proteína, tráfego, expressão de superfície e estabilidade da proteína. Várias proteínas quinase(s) e fosfatase(s) desempenham papéis cruciais nessas vias e controlam a atividade do SERT (ANNAMALAI et al., 2020).

Acredita-se que os mecanismos mediados pela 5-HT, em particular através do SERT, tenham efeito na ingestão alimentar e desempenhem um papel importante no mecanismo da obesidade (HESSE et al., 2014). Os efeitos neurobiológicos positivos da 5-HT na regulação da ingestão alimentar em geral foram demonstrados pela aplicação de drogas anorexígenas que aumentam a quantidade de 5-HT na fenda sináptica. Portanto, foi enfatizado que a 5-HT intra sináptica elevada provavelmente tem um impacto significativo na redução de peso e no controle alimentar (GRIEBSCH et al., 2022). Assim, levanta-se a hipótese de que a alta disponibilidade de SERT leva a baixos níveis de serotonina sináptica e, portanto, aumento da ingestão alimentar (HESSE et al., 2014).

Visto isso, o SERT também tornou-se o principal alvo terapêutico de uma

grande classe de medicamentos antidepressivos, além de desempenhar papel vital na regulação dos estoques de gordura corporal e homeostase da glicose (ZHA et al., 2017b). A ocorrência da depressão prediz o desenvolvimento da obesidade, assim como a ocorrência de obesidade é um fator no desenvolvimento da depressão (BIELIŃSKI et al., 2015). Intervenções farmacológicas comumente usadas para tratar a depressão bloqueiam principalmente a atividade do SERT e modulam os sinais serotoninérgicos no SNC (ANNAMALAI et al., 2020).

Do ponto de vista fisiopatológico, uma maior disponibilidade de SERT pode ocorrer devido a alterações na 5-HT extracelular, mediante a um desequilíbrio devido à sobrecarga alimentar e aos circuitos homeostáticos, ou seja uma regulação positiva compensatória. No entanto, não está esclarecido se a disponibilidade de SERT pode ser um mecanismo compensatório para concentrações crônicas de 5-HT extracelular mais baixas ou mais altas (HESSE et al., 2014).

Contudo, o principal modo de transmissão da 5-HT no cérebro é a transmissão de volume com inervação serotoninérgica generalizada dos núcleos da rafe. Sendo assim, a disponibilidade de SERT não está simplesmente relacionada com a regulação negativa ou positiva da concentração de serotonina pré-sináptica. Portanto, diversos fatores podem ativar diferencialmente o sistema serotoninérgico em obesos (HESSE et al., 2014). Estudos mostraram que o polimorfismo do promotor SERT pode estar relacionado à obesidade (HESSE et al., 2014), como também, a hipermetilação da região promotora SERT está associada à obesidade (ZHAO et al., 2013).

Entretanto, os mecanismos da interação gene x ambiente, referente às alterações no sistema serotoninérgico, permanecem indefinidos (BLOEMENDAAL et al., 2023). Porém, já foi identificado que uma variante genética do gene *SLC6A4*, o chamado alelo curto, resulta na diminuição da função do SERT. Carregar o alelo curto

causa uma desregulação central e periférica da recaptação e metabolismo da serotonina. Além disso, foi visto que o aumento da ingestão de uma dieta ocidentalizada, agrava essa desregulação (BLOEMENDAAL et al., 2023).

Alguns autores, também observaram uma expressão reduzida de mRNA do SERT em núcleos dorsais da rafe de animais mutantes para o gene da leptina (*ob / ob*) (GIANNACCINI et al., 2011). Além disso, trabalhos anteriores também mostraram que de níveis de mRNA do SERT foram regulados negativamente nos neurônios do núcleo dorsal da rafe de camundongos obesos em comparação com camundongos controle magros (COLLIN et al., 2000).

Sendo assim, o sistema serotoninérgico parece extremamente sensível às mudanças ambientais durante o desenvolvimento, podendo ser um importante contribuinte para as adaptações fenotípicas posteriores, resultantes de insultos no início da vida (DE SOUZA et al., 2020). Além do mais, apesar do tratamento da obesidade ser uma prioridade de saúde global, existem poucos tratamentos medicamentosos eficazes e seguros disponíveis. Como também, existem limitações ao explicar o risco da obesidade com base apenas em fatores ambientais ou na genética (VAN GALEN et al., 2018). Dessa maneira, a utilização de novas estratégias para desvendar os mecanismos complexos que levam ao ganho de peso patológico é uma necessidade urgente.

3 HIPÓTESE

A exposição materna a dieta de cafeteria durante o aleitamento altera o desenvolvimento corporal da prole jovem, aumentando o peso corporal, circunferências e adiposidade. O enriquecimento ambiental precoce, aumenta a imunorreatividade do Transportador da Serotonina (SERT) no encéfalo, e atenua nos

animais ainda jovens efeitos prejudiciais no desenvolvimento, como peso corporal, comprimento naso-anal, circunferências torácicas e abdominal, eixos ântero-posterior e látero-lateral do crânio, peso dos órgãos e gorduras viscerais.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do consumo materno de dieta de cafeteria na lactação e da intervenção com o ambiente enriquecido precoce sobre o crescimento e desenvolvimento corporal e imunorreatividade de neurônios SERT em animais jovens.

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar na nutriz: Peso corporal, índice de massa corporal e adiposidade;
- Avaliar nos filhotes: o peso corporal, o crescimento somático, a adiposidade e a densidade de neurônios que expressam o transportador de serotonina no núcleo arqueado do hipotálamo da prole jovem.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais:

Foram utilizados 35 roedores da linhagem Wistar provenientes da colônia do Departamento de Nutrição – UFPE. Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Anatomia – UFPE sob condições padrão de biotério com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12 horas (escuro: 7:00h às 19:00h /claro: 19:00h às 7:00h), livre acesso a água e a alimentação (ração padrão Nuvilab CR-1 com 295kcal/100g) e acomodados em gaiolas de polipropileno (49x34x16cm). Os procedimentos executados neste projeto foram realizados de acordo com as recomendações éticas da “Diretriz Brasileira para o Cuidado e a

Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos”, e encontra-se aprovado pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) da UFPE sob o protocolo de nº 0083/2021.

As fêmeas nulíparas com idades entre 90 e 120 dias de vida, apresentando peso corporal de aproximadamente 220g a 250g, foram acasaladas na proporção de duas fêmeas (n=25) para um macho (n=10). O dia de nascimento dos animais foi considerado o dia 0 (zero), um dia após o nascimento foi considerado o 1º dia pós-natal (DPN) dos animais para normatização de todas as ninhadas utilizadas no estudo. A partir do DPN 1, as ratas nutrizes e seus filhotes foram randomizados em ninhadas com oito filhotes por nutriz. Apenas os filhotes machos foram utilizados na composição final dos grupos experimentais, e as filhotes fêmeas foram utilizadas apenas para composição do número de filhotes por ninhada (Figura 1).

5.2 Grupos Experimentais:

No 1º dia de vida, os filhotes (n=61) foram divididos em quatro grupos experimentais de acordo com a manipulação dietética de suas progenitoras e ambiente no qual foram alojados (Figura 2):

Grupo Dieta Controle em Ambiente Controle (CC): as ratas nutrizes e filhotes receberam dieta padrão de biotério durante a lactação (Nuvilab CR-1; 295kcal/100g; 4,5% kcal/lipídios) e foram alojados em ambiente controle durante todo o estudo.

Grupo Dieta Controle em Ambiente Enriquecido (CE): as ratas nutrizes e filhotes receberam dieta padrão de biotério durante a lactação (Nuvilab CR-1; 295kcal/100g; 4,5% kcal/lipídios) e foram alojadas em ambiente enriquecido durante a lactação, permanecendo os filhotes machos no AE até o 30º dia de vida.

Grupo Dieta Cafeteria em Ambiente Controle (CAFC): filhotes e nutrizes receberam dieta de Cafeteria durante a lactação (Nuvilab CR-1 + Alimentos com alto teor calórico) e foram alojados em ambiente controle durante todo o estudo.

Grupo Dieta Cafeteria em Ambiente Enriquecido (CAFE): filhotes e nutrizes receberam dieta de Cafeteria durante a lactação (Nuvilab CR-1 + Alimentos com alto teor calórico) e foram alojadas em ambiente enriquecido durante a lactação, permanecendo os filhotes machos no AE até o 30º dia de vida.

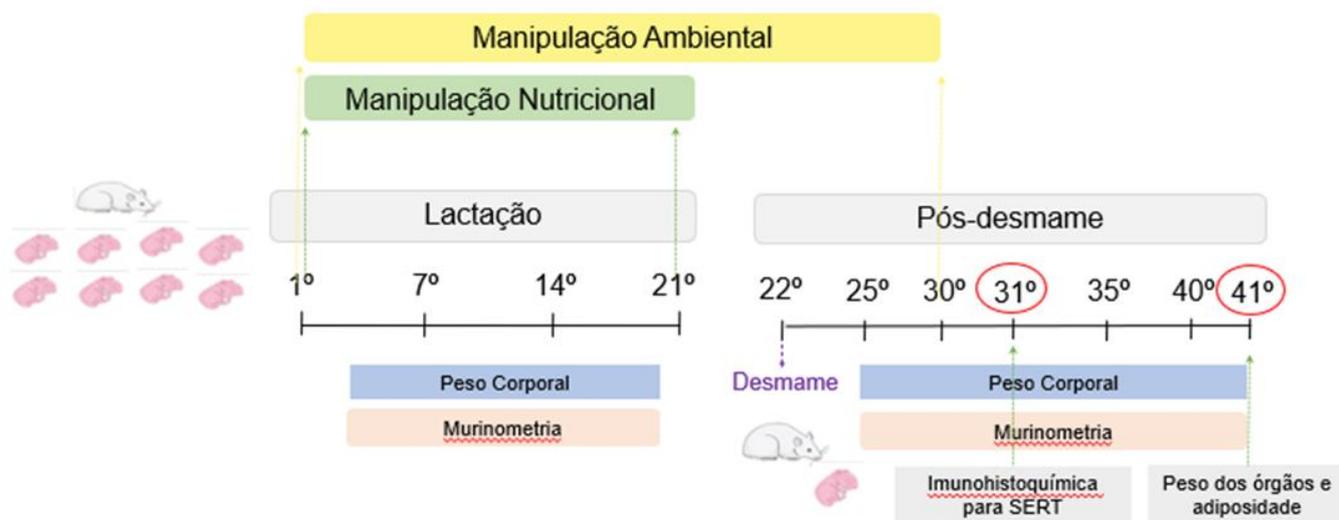


Figura 2- Desenho experimental do estudo

5.3 Manipulação Dietética

A dieta padrão de biotério para roedores foi a Nuvilab CR-1 (295kcal/100g), sendo ofertada na gestação e lactação para todos os grupos. A dieta de cafeteria foi ofertada apenas na lactação e consistia em alimentos altamente palatáveis e com alto teor calórico acompanhada da dieta Nuvilab CR-1. Do 1º ao 21º dia, foram randomizados e entregues quatro alimentos em comedouros na gaiola. Para manter a variedade, os quatro alimentos foram trocados para que os animais não recebessem os mesmos alimentos por mais que dois dias consecutivos (Tabela 1). Adaptação dos modelos de dieta de cafeteria propostos por George e cols. (2019) e Da Costa Estrela e cols. (2015).

Tabela 1 - Relação dos alimentos palatáveis disponíveis para a dieta de cafeteria.

Alimentos industrializados	Porção (g)	Kcal por porção	%VD(*)	Carboidratos (g)	%VD(*)	Proteínas (g)	%VD(*)	Gorduras totais (g)	%VD(*)	Sódio (mg)	%VD(*)
Amendoim Doce Pralinê (Yoki®)	15g	75 Kcal	4%	8g	3%	2g	3%	3,6g	7%	0 mg	0%
Biscoito Cookies de chocolate (Capriche®)	40g (4 unidades)	195 Kcal	10%	24g	8%	2,7g	4%	8,9g	16%	106 mg	4%
Biscoito de Polvilho Salgado (Carrefour®)	30g (25 unidades)	136 kcal	7%	23g	8%	0g	0%	4,7g	9%	288 mg	12%
Biscoito recheado morango (Vitarella®)	37g (pacote)	175 Kcal	9%	26g	9%	2,1g	3%	7,0g	13%	70 mg	3%
Biscoito Teens Bauny (Marilan®)	30g (24 ^{1/2} unidades)	134 Kcal	7%	20g	7%	2,4g	3%	4,8g	9%	87 mg	4%
Chocolate Bombom prestígio (Nestlé®)	19g (1 unidade)	86 Kcal	4%	12g	4%	0g	0%	3,8g	7%	10 mg	0%
Doce de amendoim (Molecão) (Doce Rio®)	18g (1/2 unidades)	77 Kcal	4%	11g	4%	1,4g	2%	2,7g	5%	34 mg	2%

Doce de amendoim (Pé de moça) (Doces Vieira®)	26g (1 unidade)	119 Kcal	6%	15g	4%	2g	3%	6g	10%	19 mg	1%
Doce de leite (Pingo de leite) (Jazam®)	10g (1 unidade)	43 Kcal	2%	8g	3%	0g	0%	1,1g	2%	0 mg	0%
Doce de coco (Beijo de moça) (Doces Vieira®)	28g (1 unidade)	109 Kcal	5%	18g	6%	1g	1%	3g	5%	35 mg	1%
Jujuba (Gomets®)	20g (6 unidades)	72g	4%	18 g	6%	0g	0%	0g	0%	10 mg	0%
Mortadela Sabor Frango (Perdigão®)	40g (3 1/2 fatias)	116 Kcal	6%	2,8 g	1%	4,8g	6%	9,6g	17%	540 mg	22%
Pão Bisnaguito (Plusvita®)	50g (3 unidades)	157 Kcal	8%	28 g	9%	4,2g	6%	3,0g	5%	174 mg	7%
Pão de mel chocolate ao leite (Bauducco®)	30g	115 Kcal	6%	21g	7%	2,2g	3%	2,5g	5%	56 mg	2%
Pipoca doce (Boku's®)	25g	95 Kcal	5%	23g	8%	1,2g	1%	0,2g	0%	0 mg	0%
Pipoca salgada (Boku's®)	25g	130 Kcal	7%	16g	5%	1,5g	2%	7g	13%	174 mg	7%

Salamitos (Sadia®)	36g	122 Kcal	6%	0,9g	0%	11g	15%	8,5g	15%	543 mg	22%
Salamitos Sabor Peperônico (Sadia®)	36g	124 kcal	6%	0,9g	0,00%	11g	15%	8,5g	15%	543	23%
Salsicha Mista (Perdigão®)	50g (1 unidade)	123 kcal	6%	2,2g	0,77%	6,2g	8,50%	9,9g	18%	625 mg	31%
Salgadinho Batata Scrusch (São Braz®)	25g (1/2 xícara de chá)	148 Kcal	7%	13g	4%	1,5g	2%	10g	18%	125 mg	4%
Salgadinho Cheetos requeijão (Elma Chips®)	23g (1 embalagem)	114 Kcal	6%	15g	5%	1,2g	2%	5,3g	10%	102 mg	4%
Salgadinho Crocantissimo (Bimbo®)	25g	110 kcal	6%	19g	6%	2,3g	3%	2,9g	5%	136 mg	6%
Salgadinho Fandangos Presunto (Elma Chips®)	23g (1 embalagem)	113 Kcal	6%	15g	5%	1,4g	2%	5,4g	10%	126 mg	5%
Salgadinho Torraditos Bacon (São Braz®)	25g (3 xícaras de chá)	122 Kcal	6%	12,5g	4%	1,4g	2%	7,4g	13%	210 mg	9%

5.4 Manipulação Ambiental

O ambiente enriquecido consistiu em uma gaiola grande (60x50x42cm) contendo comedouros para ração, uma roda de corrida, escadas, abrigos e túneis que foram reposicionados e completamente substituídos por outros uma vez por semana (MAINARDI et al., 2010) (figura 4). Foram criados layouts padronizados para cada semana, totalizando quatro tipos de layouts diferentes (Quadro 1 e figura 6), utilizando objetos de formatos e cores diversas (figura 5). O comedouro, além de ter sido planejado para que os animais se alimentassem da mesma forma que na gaiola padrão de biotério, também serviu de abrigo e plataforma, otimizando o espaço dentro da gaiola (figura 5).

O ambiente controle consistiu em gaiolas padrão de biotério (49x34x16cm) (figura 3). Em ambas as condições ambientais, cada gaiola abrigou uma nutriz em aleitamento com oito filhotes durante o período de lactação. Após o desmame, no 22º dia de vida, as nutrizas e filhotes fêmeas foram removidas e quatro filhotes machos permaneceram no ambiente enriquecido até os 30 dias de vida.

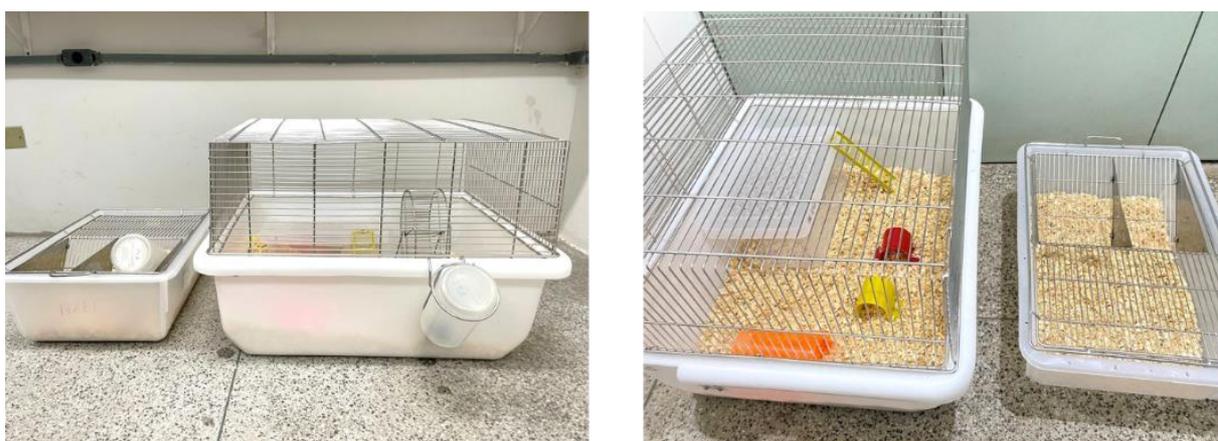


Figura 3 - Comparação entre os tipos e ambientes utilizados, com vista de diferentes ângulos.

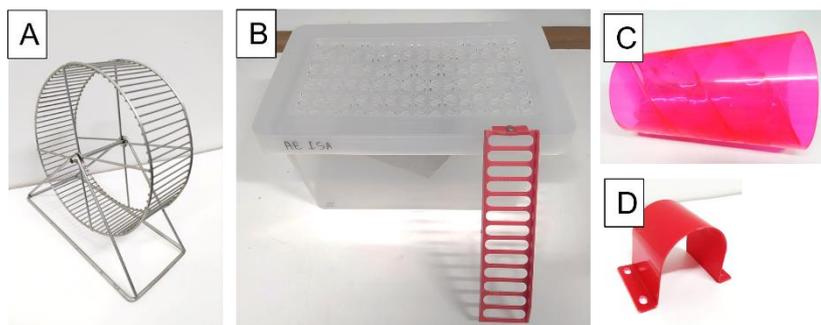


Figura 4 - Objetos utilizados para compor o ambiente enriquecido. A: roda de corrida; B: Comedouro com plataforma e escada; C: Túnel longo; D: Túnel curto

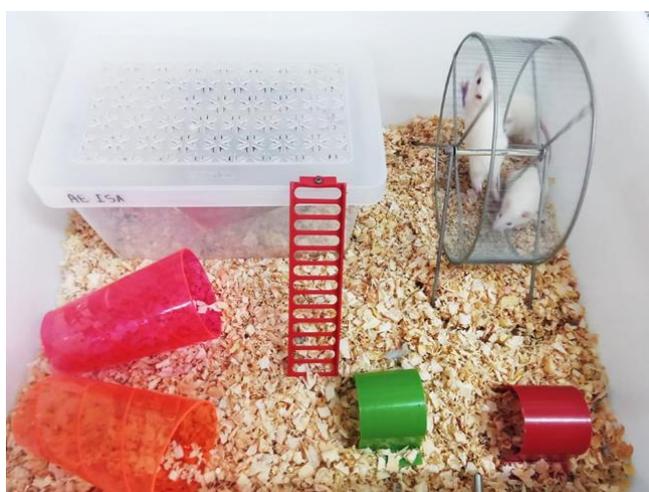


Figura 5 - Demonstração da configuração do ambiente enriquecido, utilizando os objetos da figura 3.

Quadro 1: Organização espacial das gaiola de ambiente enriquecido por semana de experimento.

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

Legenda: Organização por layouts dos objetos das gaiolas de ambiente enriquecido semanal. Nas colunas estão descritos quais são os objetos utilizados e a quantidade disponibilizada.

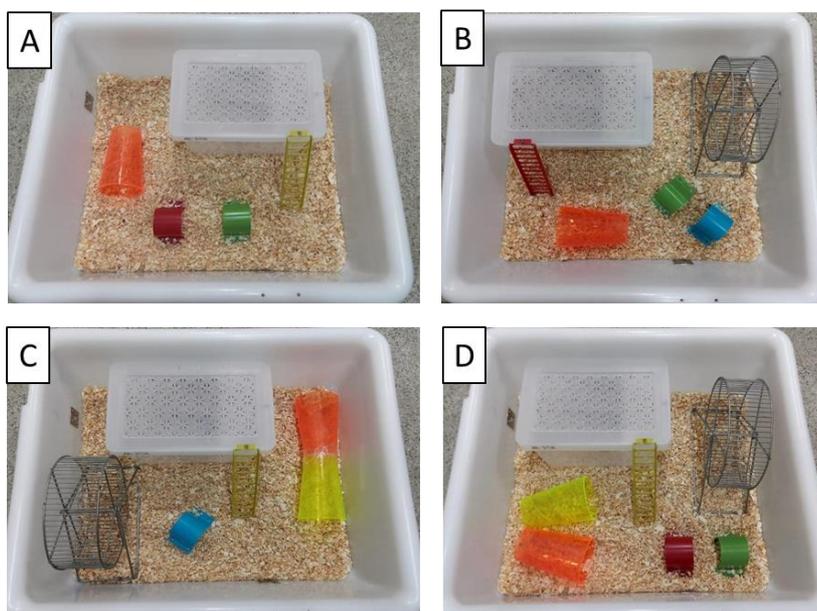


Figura 6 - Demonstração dos layouts do ambiente enriquecido semanalmente. A: Semana 1 (PND1 - 7); B: Semana 2 (PND8 - 14); C: Semana 3 (PND15 - 21); Semana 4 (PND22- 30).

5.5 Análises Experimentais

Para o estudo dos fenótipos corporais e comportamentos foram utilizados um número de dez animais por grupo. Para o estudo histológico, foram utilizados um número de cinco animais por grupo.

5.6 Peso Corporal (PC)

Nas nutrizes, foi obtido semanalmente na gestação e lactação, e após o desmame no dia de sua eutanásia. Na prole, foi aferido nos dias 1, 7, 14 e 21 na lactação e após o desmame, nos dias 30 e 40. Para a aferição do PC, foi utilizada balança semi-analítica (Marte®).

5.7 Medidas murinométricas

Nas nutrizes foram avaliados o peso corporal e comprimento naso-anal no dia da eutanásia e realizado o cálculo do índice de massa corporal (IMC) determinado a

partir da razão entre massa corporal (g) e o comprimento naso-anal (cm²).

Nos filhotes, foram mensurados comprimento naso-anal, o eixo látero-lateral e o eixo ântero-posterior do crânio, a circunferência abdominal e a circunferência torácica nos dias 1, 7, 14 e 21 da lactação e após o desmame, nos dias 30 e 40.

O comprimento naso-anal foi aferido pela distância entre o focinho e o ânus do animal. O eixo látero-lateral do crânio, representa a linha perpendicular ao eixo longitudinal, dividindo ao meio os pavilhões auditivos e o eixo ântero-posterior do crânio, representa a linha média entre o focinho e a região externa da crista occipital. Para mensurar o comprimento naso-anal, e eixos corporais foi utilizado um paquímetro (precisão de 0,1mm; KINGTOOLS®). A circunferência abdominal foi identificada pelo perímetro imediatamente anterior às patas posteriores e a circunferência torácica pelo perímetro posterior às patas anteriores, ambas aferidas com fita inelástica (precisão de 0,1cm; PrimeMed®). As medidas murinométricas foram avaliadas no mesmo horário e por único pesquisador.

5.8 Análises Histológicas

No 31º dia de vida, os animais (n= 5/grupo) foram eutanasiados por perfusão. Os encéfalos fixados foram mantidos em solução fixadora acrescida de sacarose (20%) por 4 horas. Em seguida, armazenados em solução crioprotetora (PBS e Sacarose 20%) por 6-24h. Foram crio-seccionados em cortes coronais de 40µm de espessura utilizando-se criostato (Leica-3185) e mantidos em solução anticongelante (anti-freezing) a -20°C até a análise da imunohistoquímica (figura 7).

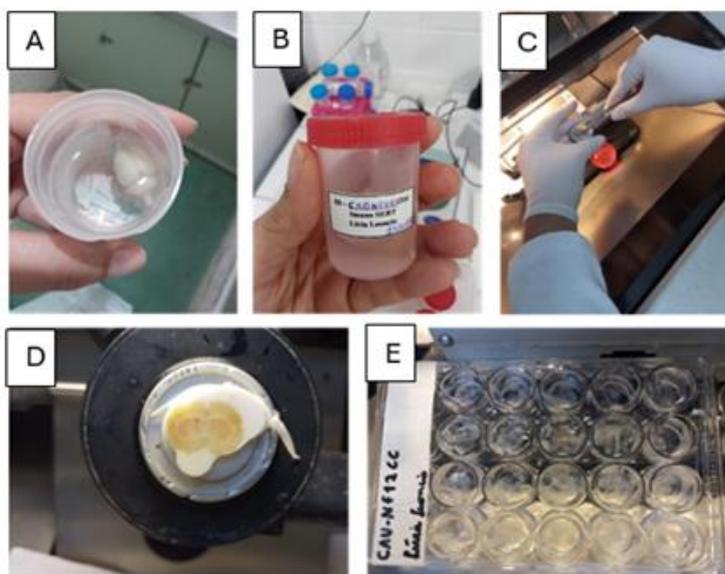


Figura 7 - Etapas do processo de criosecção do encéfalo. A: Retirada do encéfalo por eutanásia transcardíaca e armazenamento em solução de PFA (4%); B: Troca da solução para sacarose a 20%; C: Fixação do encéfalo no criostato; D: Demonstração dos cortes a 40 μ m; E: Armazenamento dos cortes em solução crioprotetora nas placa de 24 poços.

5.9 Imunohistoquímica para o Transportador de Serotonina

Os cortes coronais foram submetidos a séries de lavagens em PBS (0,1M com pH 7,6), em H₂O₂ à 30%. Após, foram submetidos a PBS-T e NGS 5%. E incubados em solução com anticorpo primário anti-SERT (AB9726, feito em coelho, Chemicon) por 24 horas. Na sequência, lavados em PBS e incubados com anticorpo secundário (B8895, feito em cabra contra coelho, Sigma). Novamente lavados em PBS e incubados com o Complexo ABC 1% (ABC Kit, Vector Laboratories). Para a revelação, foram incubados em solução com DAB (Sigma, D5637) seguido da enzima Glucose Oxidase. Finalmente, são lavados em acetato de sódio (0,1M) e PBS. Foram montados em lâminas gelatinizadas, passarão por processos de desidratação e diafanizados (figura 8). A análise foi realizada em microscopia óptica de campo claro.

Foram verificadas células com marcação evidente nas áreas encefálicas de interesse. Para delimitação das áreas foi utilizado o Atlas Estereotático de Rato (PAXINOS E WATSON, 2007). Para a quantificação são considerados os intervalos de bregmas das regiões encefálicas do núcleo arqueado do hipotálamo (Figura 9).

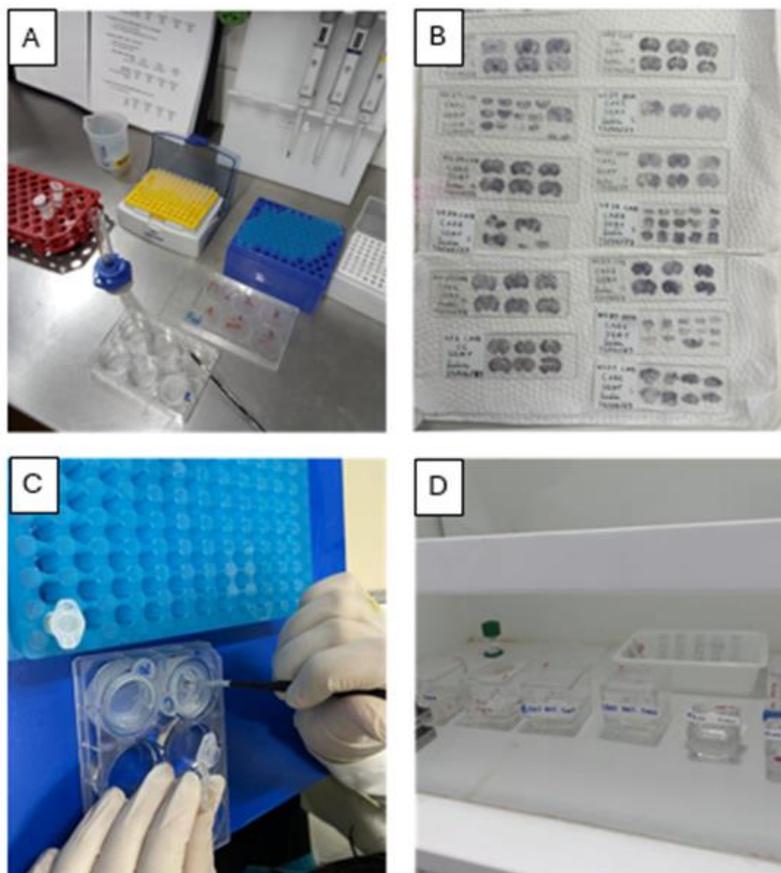


Figura 8 - Demonstração das etapas da imunohistoquímica. A: Demonstração dos materiais utilizados nos processos da imunohistoquímica; B: Tecidos marcados fixados nas lâminas; C: Pescagem dos tecidos após banho em PBS, para serem incubados em anticorpos em câmara refrigeradora a 4°C; D: Processo de secagem das lâminas.

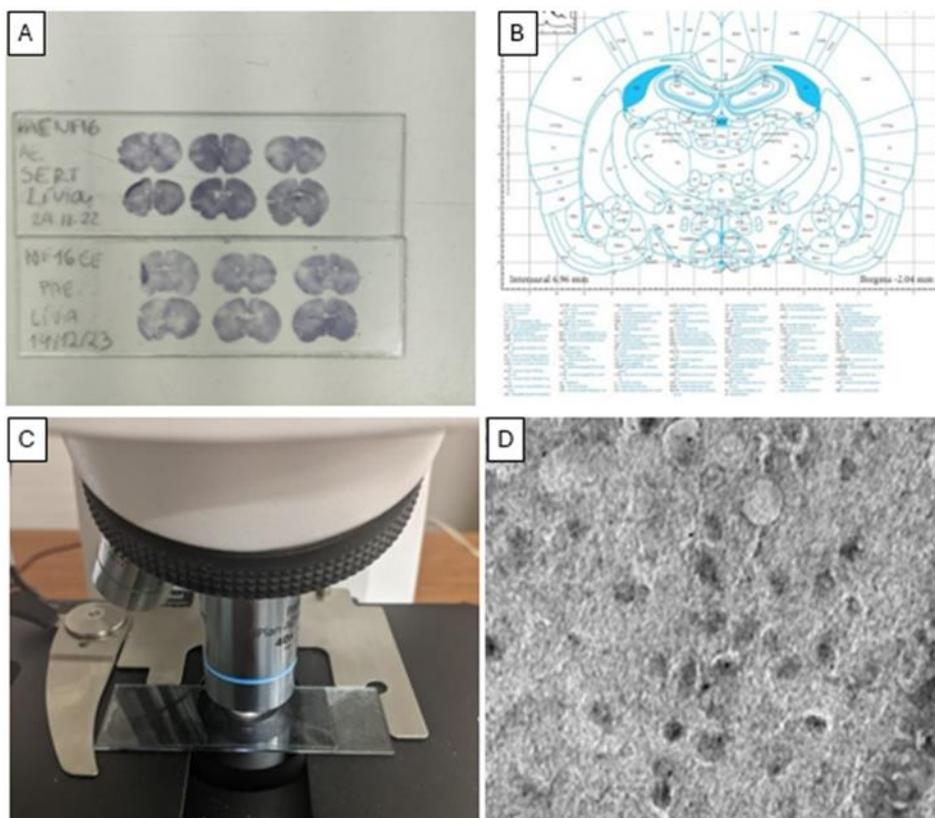


Figura 9 - Contagem de neurônios utilizando microscopia óptica em campo claro. A: Lâminas prontas, após passar pelo processo de desidratação, diafanização e fechamento com lâminulas; B: Imagem de um bregma do atlas estereotático de rato; C: Demonstração do uso do microscópio na objetiva de 40; D: Fotografia do tecido, onde pode-se observar a marcação dos neurônios SERT no núcleo arqueado do hipotálamo.

5.9.1 Contagem de neurônios SERT:

O Atlas Estereotático de Rato foi utilizado para delimitação das áreas encefálicas (Paxinos e Watson, 2007). A contagem de neurônios foi realizada em microscopia óptica de campo claro. Foram verificadas e contadas manualmente células com marcação evidente para o transportador de serotonina nas áreas encefálicas de interesse no hipotálamo (Tabela 2).

Tabela 2- Bregmas dos núcleos hipotalâmicos

Núcleos Subnúcleos Hipotalâmicos	Sigla	Bregmas
Núcleo hipotalâmico arqueado	Arc	-1.72mm, -1.80mm, -1.92mm, -2.04mm, -2.16mm, -2.28mm, -2.40mm, -2.52mm, -2.64mm, -2.76mm, -2.92mm, -3.00mm, -3.12mm, -3.24mm, -3.36mm, 0.18mm, 0.40mm, -9.60mm

Fonte: Paxinos e Watson, 2007.

5.10 Peso dos órgãos e adiposidade

O peso dos órgãos e adiposidade, foram aferidos ao final dos experimentos. A eutanásia foi realizada por decapitação, nas nutrizes ocorreu após o desmame, e nos filhotes (n=10/grupo) no 42º dia de vida. Foram coletadas os coxins de gorduras perirrenal, iguinal, retroperitoneal, mesentérica, e tecido adiposo marrom, e os órgãos: fígado, rins esquerdo, coração, baço e encéfalo. As gorduras e os órgãos foram pesados molhados e individualmente em balança eletrônica semi-analítica com precisão de 0,01g (Marte®). Foram calculado o peso relativo de cada gordura e órgão através da seguinte fórmula: $\text{Peso Relativo} = \frac{\text{Peso da Gordura/Órgão}}{\text{Peso Corporal}} \times 100$

5.11 Análise Estatística:

Os dados coletados foram armazenados em planilhas no software Excel®. A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk, para dados que apresentarem desvio da distribuição normal, Foram utilizadas análises não paramétricas ou transformações logarítmicas. Para dados paramétricos, foram utilizada a Análise de Variância (ANOVA) one way ou two way, seguida o Teste de Tukey. Quanto aos dados não paramétricos, foi utilizado o Teste de Kruskal Wallis, em seguida

o Teste de Dunn's. O nível de significância estatística foi estabelecido com o valor de $p \leq 0,05$. As análises foram realizadas no programa GraphPad Prism® (Graph Pad Software 8, Inc, 2019) e no SigmaPlot 12.0.

6 RESULTADOS

6.1 Avaliações das Nutrizes

6.1.2 *Peso corporal na lactação e Índice de Massa Corporal no dia da eutanásia das nutrizes*

A ANOVA two-way não identificou interação entre os grupos analisados em relação ao peso corporal semanal materno na lactação $F(6, 36) = 0,6997$. Da mesma forma, também não apresentou interação no fator tempo $F(1,670, 30,05) = 1,361$, como também não houve interação no fator coluna $F(3, 18) = 0,7556$. Não apresentando diferença significativa entre os grupos (S1- CC: $281,69 \pm 7,95$; n=7 CE: $286,97 \pm 19,74$; n=3; CAFC: $267,37 \pm 7,33$; n=5; CAFE: $266,61 \pm 6,40$; n=5; S2 - CC: $282,66 \pm 6,75$; n=7; CE: $299,16 \pm 13,39$; n=3; CAFC: $274,77 \pm 12,07$; n=5; CAFE: $275,93 \pm 19,59$; n=5; S3 - CC: $289,98 \pm 20,82$ n=7; CE: $294,61 \pm 21,40$; n=3; CAFC: $263,55 \pm 9,48$; n=5) (figura 10).

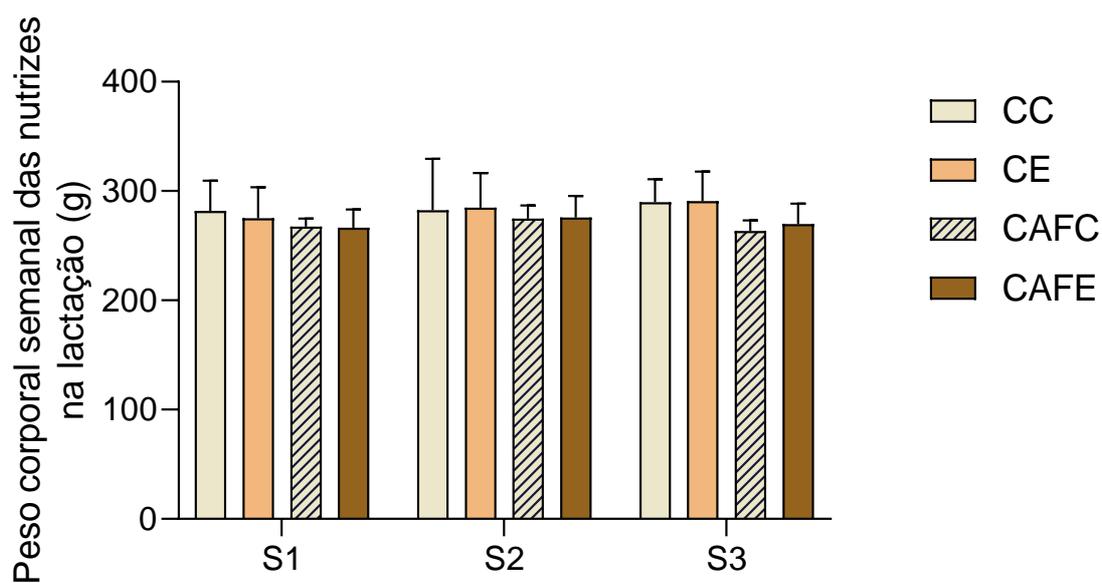


Figura 10 - Peso corporal materno semanal na lactação (g); Teste ANOVA *two way* seguido do pós-teste de Tukey. Nível de significância $p < 0,05$.

Também foi avaliado o Índice de Massa Corporal no dia da eutanásia, onde a ANOVA *two-way* não identificou interação entre os grupos analisados, $F(1,16) = 0,1090$; $p = 0,7455$ (figura 11).

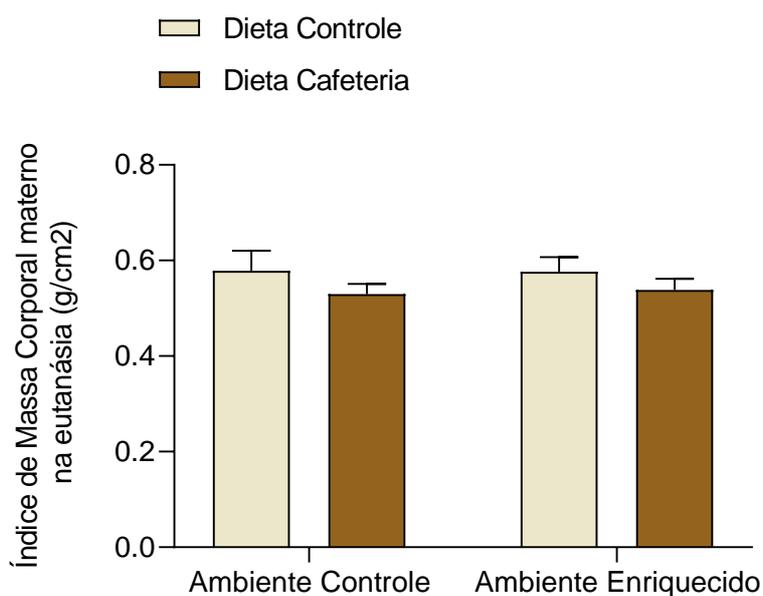


Figura 11 – Índice de Massa Corporal materno na eutanásia(g/cm²); Teste ANOVA *two way* seguido do pós-teste de Tukey. Nível de significância $p < 0,05$.

6.1.3 Peso absoluto e relativo dos órgãos das nutrizes

A ANOVA *one-way* identificou interação significativa entre os grupos analisados em relação ao peso relativo do encéfalo ($F = 6,47058$). O grupo CAFC apresentou o peso relativo do encéfalo maior que o grupo CC (CAFC: $0,72 \pm 0,03$; $n=6$; CC: $0,65 \pm 0,04$; $n=8$; $p=0,0209$), como também, o grupo CAFE apresentou o peso relativo do encéfalo maior que o grupo CE (CAFE: $0,73 \pm 0,04$; $n=5$; CE: $0,66 \pm 0,04$; $n=6$; $p= 0,0370$). Já referente ao peso absoluto do rim esquerdo, foi identificado interação entre os grupos ($F = 7,18894$), onde o grupo CAFE apresentou o peso menor que o grupo CE (CAFE: $1,03 \pm 0,10$; $n=5$; CE: $1,44 \pm 0,28$; $n=6$; $p= 0,0079$). Com relação ao peso absoluto do fígado, foi identificado interação entre os grupos ($F = 3,94472$), porém o pós-teste não mostrou diferença significativa entre os grupos (CC: $13,74 \pm 1,49$; $n=8$; CE: $14,06 \pm 2,49$; $n=6$; CAFC: $11,56 \pm 1,64$; CAFE: $11,47 \pm 1,64$; $n=5$; $p=0,0223$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Peso absoluto e relativo dos órgãos das nutrizes

Órgãos/ Grupos	CC média±d.p.(n)	CE média±d.p.(n)	CAFC média±d.p.(n)	CAFE média±d.p.(n)	P valor
Encéfalo	$1,84 \pm 0,10$ (8)	$1,87 \pm 0,10$ (6)	$1,85 \pm 0,06$ (6)	$1,90 \pm 0,04$ (5)	0,606
Encéfalo Relativo	$0,65 \pm 0,04$ (8)	$0,66 \pm 0,04$ (6)	$0,72 \pm 0,03$ (6)*	$0,73 \pm 0,04$ (5)#	0,002
Coração	$1,18 \pm 0,16$ (8)	$1,11 \pm 0,11$ (6)	$1,04 \pm 0,10$ (6)	$1,05 \pm 0,10$ (5)	0,202
Coração Relativo	$0,41 \pm 0,04$ (8)	$0,39 \pm 0,02$ (6)	$0,40 \pm 0,03$ (6)	$0,40 \pm 0,01$ (5)	0,717
Fígado	$13,74 \pm 1,49$ (8)	$14,06 \pm 2,49$(6)	$11,5 \pm 0,88$ (6)	$11,47 \pm 1,64$ (5)	0,022

Fígado Relativo	4,83 ± 0,55 (8)	4,93 ± 0,52 (6)	4,47 ± 0,25 (6)	4,38±0,39 (5)	0,270
Baço	0,64 ± 0,13 (8)	0,55 ± 0,11(6)	0,47 ± 0,08 (6)	0,56 ± 0,12(5)	0,109
Baço Relativo	0,23 ± 0,05 (8)	0,19 ± 0,04 (6)	0,18 ± 0,03 (6)	0,21±0,04 (5)	0,215
Rim (Esq.)	1,26 ± 0,19 (8)	1,44 ± 0,28 (6)	1,00 ± 0,06 (6)	1,03 ± 0,10(5)#	0,007
Rim (Esq.) Relativo	0,44±0,06 (8)	0,51 ± 0,10 (6)	0,39 ± 0,02 (6)	0,39±0,02 (5)	0,015

Legenda: Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE) e Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE). Os dados de peso absoluto e relativo de encéfalo, coração e baço, fígado absoluto, e rim esquerdo absoluto foram avaliados com o Teste ANOVA one way seguido do pós-teste de Tukey. O peso relativo do fígado e rim esquerdo foram avaliados com o teste de Kruskal-wallis seguido do pós-teste de Dunn's. Comparação entre CAFC versus CC (*),CAFE versus CE (#). Significância de $p \leq 0,05$.

6.1.4 Adiposidade Absoluta e Relativa das nutrizes

A ANOVA *one-way* identificou interação entre os grupos no peso absoluto da gordura retroperitoneal ($F= 4,23883$) e no peso relativo ($F= 4,55826$). O grupo CAFE apresentou o peso da gordura retroperitoneal absoluta maior que o grupo CE (CAFE: $0,72 \pm 0,36$; $n=5$; CE: $0,23 \pm 0,10$; $n=4$; $p=0,0408$), assim como, o peso da gordura retroperitoneal relativa maior que o grupo CE (CAFE: $0,28 \pm 0,14$; $n=5$; CE: $0,08 \pm 0,04$; $n=4$; $p= 0,0161$). Também foi identificado interação entre os grupos no peso relativo da gordura inguinal ($F= 4,98307$), onde o grupo CAFC apresentou o peso da gordura inguinal maior que o grupo CC (CAFC: $2,04 \pm 0,48$; $n=6$; CC: $1,61 \pm 0,37$; $n=5$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Peso absoluto e relativo da adiposidade das nutrizes

Tecido Adiposo/ Grupos	CC média±d.p.(n)	CE média±d.p.(n)	CAFC média±d.p.(n)	CAFE média±d.p.(n)	P valor
Mesentérica	0,92±0,45(8)	0,79±0,34(6)	0,58±0,14(6)	0,63±0,27(5)	0,2663
Mesentérica Relativo	0,33±0,16(8)	0,29±0,14(6)	0,23±0,06(6)	0,24±0,11(5)	0,4895
Inguinal (E)	1,61±0,37(5)	1,85±0,11(3)	2,04±0,48(6)	2,12±0,34(5)	0,1834
Inguinal (E) Relativo	0,55±0,09(5)	0,63±0,02(3)	0,79±0,17(6)*	0,81±0,11(5)	0,0314
Retroperitoneal (E)	0,53±0,18(6)	0,23±0,10(4)	0,75±0,25(6)	0,72±0,36(5)#	0,0408
Retroperitoneal (E) Relativo	0,19±0,07(6)	0,08±0,04(4)	0,29±0,10(6)	0,28±0,14(5)#	0,0371
Perirrenal	0,05±0,01(3)	0,05±0,01(3)	0,07±0,02(5)	0,05±0,02(4)	0,3138
Perirrenal Relativo	0,02±0,00(3)	0,02±0,00(3)	0,03±0,01(5)	0,02 ± 0,01(4)	0,1829
Marrom	0,18±0,06(8)	0,17±0,08(6)	0,21±0,08(6)	0,24±0,10(5)	0,4829
Marrom Relativo	0,06±0,02(8)	0,06±0,02(6)	0,08±0,03(6)	0,09±0,04(5)	0,2217

Legenda: Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE) e Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE). Os dados paramétricos foram avaliados com o Teste ANOVA one way seguido do pós-teste de Tukey. Os dados não paramétricos foram avaliados com o Teste Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's. Comparação entre CAFC versus CC (*), CAFE versus CE (#). Significância de $p \leq 0,05$.

6.2 Avaliação dos filhotes

6.2.1 Caracterização das ninhadas

Quanto as características das ninhadas, a ANOVA *one way* não identificou diferenças significativas entre os grupos em relação ao peso total da ninhada ao nascer ($F = 0,3198$), número total de filhotes ($F = 0,1185$), número de machos ($F = 0,649$) e

fêmeas (F= 0,3087) e peso médio ao nascer (F= 0,5368) (Tabela 5).

Tabela 5 - Características das ninhadas

Características/ Grupos	CC média±d.p.(n)	CE média±d.p.(n)	CAFC média±d.p.(n)	CAFE média±d.p.(n)	P valor
Peso total da ninhada	80,85±15,22(6)	78,02±10,78(4)	77,68±12,17(6)	72,74±15,12(4)	0,8109
Número total de filhotes	11±1,90(6)	10,5±1,73(4)	11±1,79(6)	10,5±1,91(4)	0,9479
Número de machos	5,8±2,23(6)	5,00±0,82(4)	5±2,61(6)	6,75±2,22(4)	0,5949
Número de fêmeas	5,16±2,93(6)	5,5±2,52(4)	6±1,55(6)	6,5±1,91(4)	0,8187
Peso médio ao nascer	7,34±0,46(6)	7,66±2,14(4)	6,90±0,65(6)	6,91±0,60(4)	0,6638

Legenda: Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE), Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC) e Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE). Os dados foram avaliados com o Teste ANOVA one way seguido do pós-teste de Tukey. Nível de significância $p < 0,05$.

6.3 Avaliações fenotípicas dos filhotes

6.3.1 Peso corporal

O teste ANOVA *two way* mostrou interação significativa do peso corporal entre os grupos $F(21, 322) = 2,070$; $p = 0,004$. Como também, houve interação no fator tempo $F(1,812, 83,37) = 4245$, $p < 0,0001$. O grupo CE apresentou peso maior que o grupo CC

no dia 7 (CE: $17,40 \pm 1,17$; $p=12$; CC: $15,83 \pm 0,97$; $n=12$, $p=0,008$), o grupo CAFC apresentou peso maior que o grupo CC no dia pós-natal 14 (CAFC: $32,03 \pm 1,53$; $n=13$; CC: $29,73 \pm 1,84$; $n=12$; $p=0,01$), porém no pós desmame o grupo CAFC apresentou o peso menor que o grupo CC no dia pós-natal 30 (CAFC: $88,44 \pm 4,60$; $n=13$; CC: $97,54 \pm 5,91$; $n=12$; $p=0,0018$) e dia pós-natal 35 (CAFC: $123,07 \pm 6,39$; $n=13$; CC: $132,96 \pm 8,52$; $n=12$; $p=0,0184$) (figura 12).

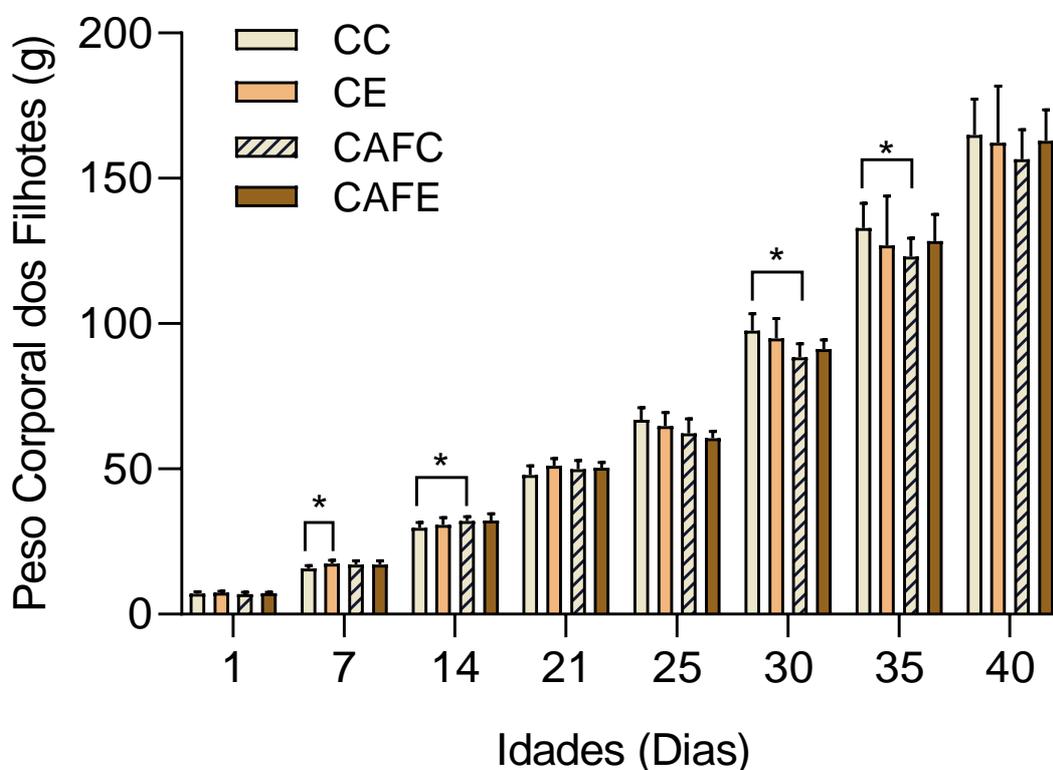


Figura 12- Peso corporal dos Filhotes (g). Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC, $n=12$), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE, $n=12$), Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC, $n=13$) e Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE, $n=13$). Teste ANOVA *two way*, seguido do pós-teste de Tukey. Comparação entre CE versus CC (&) e CAFC versus CC (*), Nível de significância $p < 0,05$.

6.3.2 Comprimento naso-anal

Observou-se interação significativa com o teste de Kruskal Wallis no comprimento naso-anal entre os grupos a partir do dia pós-natal 21 ($F=2,464$). O grupo CE apresentou o comprimento naso-anal maior que o grupo CC nos dias pós-natal 21 (CE: mediana= 12,7, IIQ= 13-12,3 n=10; CC: mediana= 12,1, IIQ= 12,45- 11,35; n=15; $p<0,001$), pós-natal 25 (CE: mediana= 14, IIQ= 14,15-13,75, n=10; CC: mediana= 13,5, IIQ= 13,7- 13,2; n=15; $p=0,004$), pós-natal 30 (CE: mediana= 15,80, IIQ= 16,07-15,4, n=10; CC: mediana= 15,3, IIQ= 15,45- 15; n=15; $p=0,011$) pós-natal 40 (CE: mediana= 18,30, IIQ= 18,8-18,12, n=10; CC: mediana= 18, IIQ= 18,15- 17,4; n=15; $p<0,001$). Já o grupo CAFE apresentou comprimento naso-anal menor que o grupo CE no dia pós-natal 30 (CAFE: mediana= 15,20, IIQ= 15,20-15, n=10; CE: mediana= 15,8, IIQ= 16,07-15,4, n=10; $p=0,003$) e no dia pós-natal 40 (CAFE: mediana= 17,90, IIQ= 18-17,57, n=10; CE: mediana= 18,30, IIQ= 18,8-18,12, n=10; $p=0,001$) (figura 13).

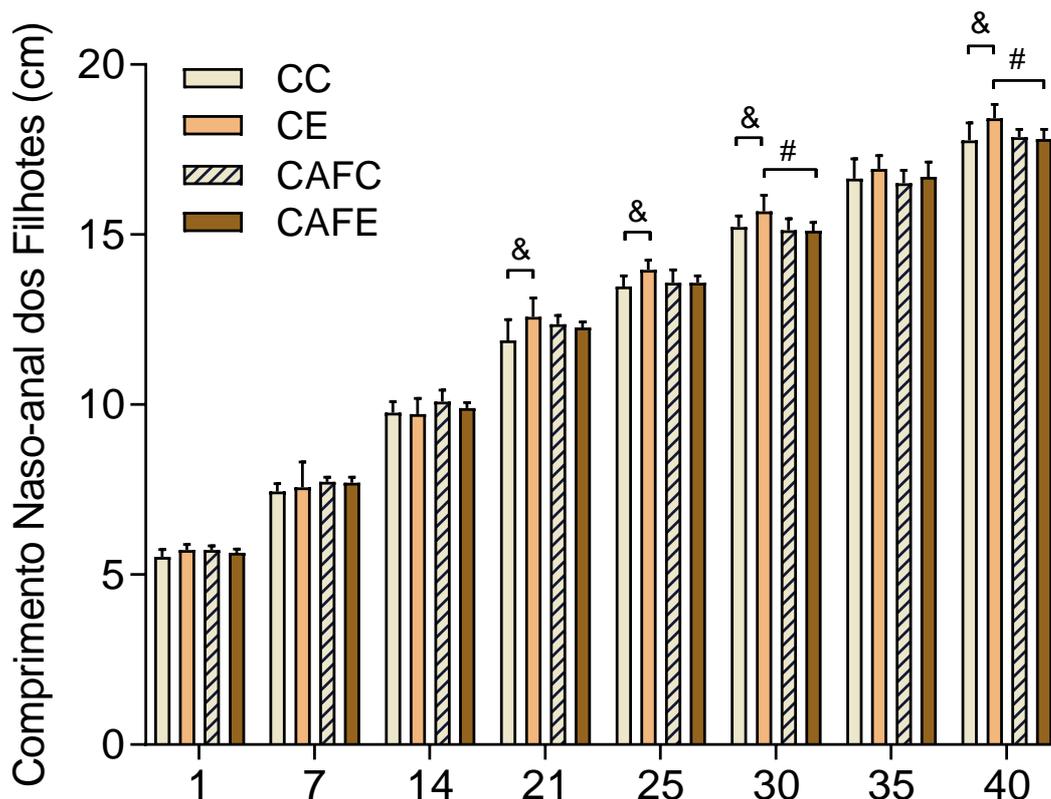


Figura 13 - Comprimento naso-anal dos filhotes (cm). Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC, n=15), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE, n=10), Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC, n=13) e Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE, n=10). Teste de Kruskal Wallis, seguido do pós-teste de Tukey. Comparação entre CE versus CC (&), CAFÉ versus CE (#), CAFE versus CAFC (@). Nível de significância $p < 0,05$

6.3.3 Circunferências torácica e abdominal dos filhotes

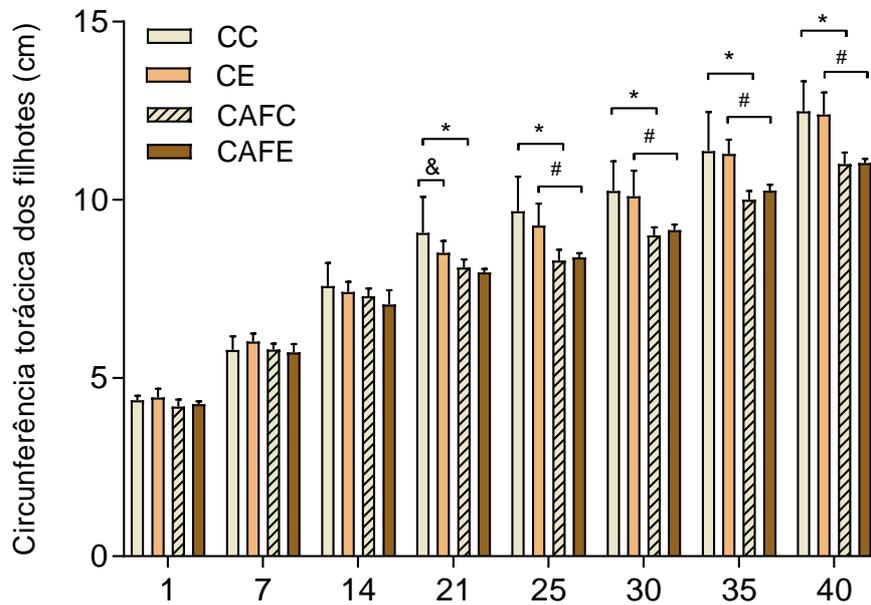
O teste de Kruskal Wallis mostrou interação significativa na circunferência torácica entre os grupos a partir do dia pós-natal 21 ($F = 4,192$) e na circunferência abdominal, também a partir do dia pós-natal 21 ($F = 8,140$). O grupo CE apresentou a circunferência torácica menor que o grupo CC apenas no dia pós-natal 21 (CE: mediana = 8,45, IIQ = 8,57-8,25, n=10; CC: mediana = 8,6 IIQ = 10-8,15; n=15; $p = 0,042$). Já o grupo

CAFC apresentou a circunferência torácica menor que o grupo CC nos dias pós-natal 21 (CAFC: mediana= 8,1, IIQ= 8,2-7,9, n=13; CC: mediana= 8,6 IIQ= 10-8,15; n=15; $p<0,001$), pós-natal 25 (CAFC: mediana= 8,3, IIQ= 8,5-8,2 n=13; CC: mediana= 9,3, IIQ= 10,3-9; n=15; $p<0,001$), pós-natal 30 (CAFC: mediana= 9, IIQ= 9,3-9 n=10; CC: mediana= 10,3, IIQ= 10,5- 9,7; n=15; $p<0,001$), pós-natal 35 (CAFC: mediana= 10, IIQ= 10,2-10 n=13; CC: mediana= 11,5, IIQ= 12,3- 10,35; n=15; $p<0,001$) e pós-natal 40 (CAFC: mediana= 11, IIQ= 11,2-10,7 n=13; CC: mediana= 12,5, IIQ= 13- 11,85; n=15; $p<0,001$). O grupo CAFE mostrou circunferência torácica menor que o grupo CE, no dias pós-natal 25 (CAFE: mediana= 8,4; IIQ= 8,5-8,3 n=10; CE: mediana= 9,30, IIQ= 9,5- 8,82; n=10; $p<0,001$), dia pós-natal 30 (CAFE: mediana= 9,1 IIQ= 9,3-9 n=10; CE: mediana= 10, IIQ= 10,5-9,5; n=10; $p<0,001$), dia pós-natal 35(CAFE: mediana= 10,3, IIQ= 10,3-10,2, n=10; CE: mediana= 11,4 IIQ= 11,5-10,9, n=10; $p<0,001$) e no dia pós-natal 40 (CAFE: mediana= 11, IIQ= 11,07-1, n=10; CE: mediana= 12,35 IIQ= 1,5-12; n=10; $p<0,001$) (Figura 14a).

Quanto a circunferência abdominal, o grupo CE apresentou circunferência significativamente menor que o grupo CC, nos dias pós-natal 25 (CE: mediana= 10, IIQ= 10,3-9,52, n=10; CC: mediana= 10,6, IIQ= 11,9-9,8; n=15; $p=0,042$), pós-natal 30 (CE: mediana= 11,1, IIQ= 11,27-10,8, n=10; CC: mediana= 12, IIQ= 12,4-11,1 n=15; $p=0,042$) e pós-natal 35 (CE: mediana= 12,9, IIQ= 13,35-12,27, n=10; CC: mediana= 14, IIQ= 14,75-13, n=15; $p=0,042$). Já o grupo CAFC, apresentou circunferência abdominal menor que o grupo CC nos dias pós-natal 21 (CAFC: mediana= 8,6, IIQ= 8,9 – 8,5, n=13; CC: mediana= 9,1, IIQ= 11 – 8,9; n=15; $p<0,001$), pós-natal 25 (CAFC: mediana= 9,2 IIQ= 9,4 - 9, n=13; $p <0,001$), pós-natal 30 (CAFC: mediana= 10, IIQ=10,3 – 9,8, n=13; $p <0,001$), pós-natal 30 (CAFC: mediana= 11,5 IIQ= 11,5 – 11,3, n=13; $p <0,001$) e pós-natal 40 (CAFC: mediana= 12,2, IIQ=12,5 - 12 , n=10; CC: mediana=

14,5, QII= 15,65 – 13,85; n=15; p <0,001). O grupo CAFE, também apresentou circunferência abdominal menor no dia pós-natal 21 (CAFE: mediana=8,35 , IIQ=8,4 – 8,3 , n=10; CE: mediana= 9,1, IIQ= 9,27 - 9; n=10; p=0,025), pós-natal 25 (CAFE: mediana= 9, IIQ= 9,15 - 9, n=10; p = 0,010), pós-natal 30 (CAFE: mediana= 10,2, IIQ=10,3 – 10,05, n=10; p = 0,020), pós-natal 35 (CAFE: mediana= 11,35, IIQ= 11,5 – 11,2, n=10; p <0,001) e pós-natal 40 (CAFE: mediana= 12,5, IIQ= 12,6 – 12,4, n=10; CE: mediana= 13,95, IIQ= 15 – 13,8; p<0,001) (Figura 11b).

a)



b)

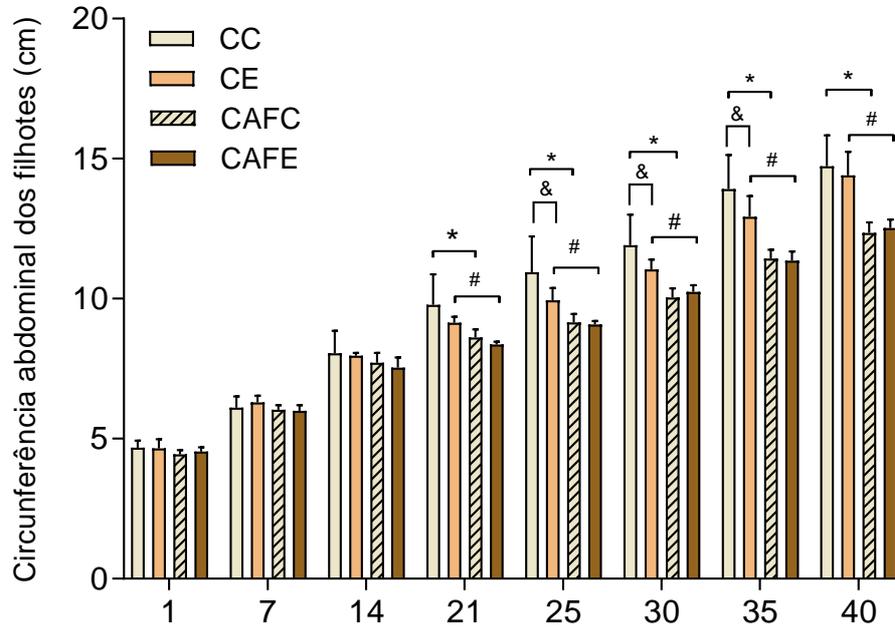


Figura 14 - a) Circunferência torácica dos filhotes (cm); b) Circunferência abdominal dos filhotes (cm). Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC, n=15), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE, n=10) e Grupo Ambiente Controle e Dieta

Cafeteria (CAFC, n=13), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE, n=10). Teste Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey. Comparação entre CE versus CC (&), CAFC versus CC (*), CAFE versus CE (#). Significância de $p \leq 0,05$.

6.3.4 Eixo-ântero-posterior e eixo látero-lateral dos filhotes

O teste de Kruskal Wallis observou interação significativa no eixo ântero-posterior entre os grupos nos dias pós-natal 21 e 35 ($F= 2,102$). O grupo CE apresentou o eixo ântero-posterior maior que o grupo CE no dia pós-natal 21 (CE: mediana= 39,18, IIQ= 40,9 – 38,68, n=10; CC: mediana= 37,25 IIQ= 37,9 – 35,6; n=15; $p < 0,001$) e dia pós-natal 35 (CE: mediana= 46,9, IIQ= 47,3 – 46,5, n=10; CC: mediana= 45,4 IIQ= 46,05 – 44,37; n=15; $p=0,021$). Como também, o eixo ântero-posterior do grupo CE foi maior que o grupo CAFÉ no dia pós-natal 21 (CAFÉ: mediana= 37,59, IIQ= 38,49 – 37,23, n=10, $p=0,002$). Já o grupo CAFC apresentou o eixo ântero-posterior maior que o grupo CC no dia pós-natal 21 (CAFC: mediana= 8,45, IIQ= 8,57-8,25, n=10; $p=0,030$) (Figura 15a).

O teste de Kruskal Wallis não observou interação significativa entre os grupos referente ao eixo látero-lateral ($F=1,576$, $p=0,053$) (Figura 15b).

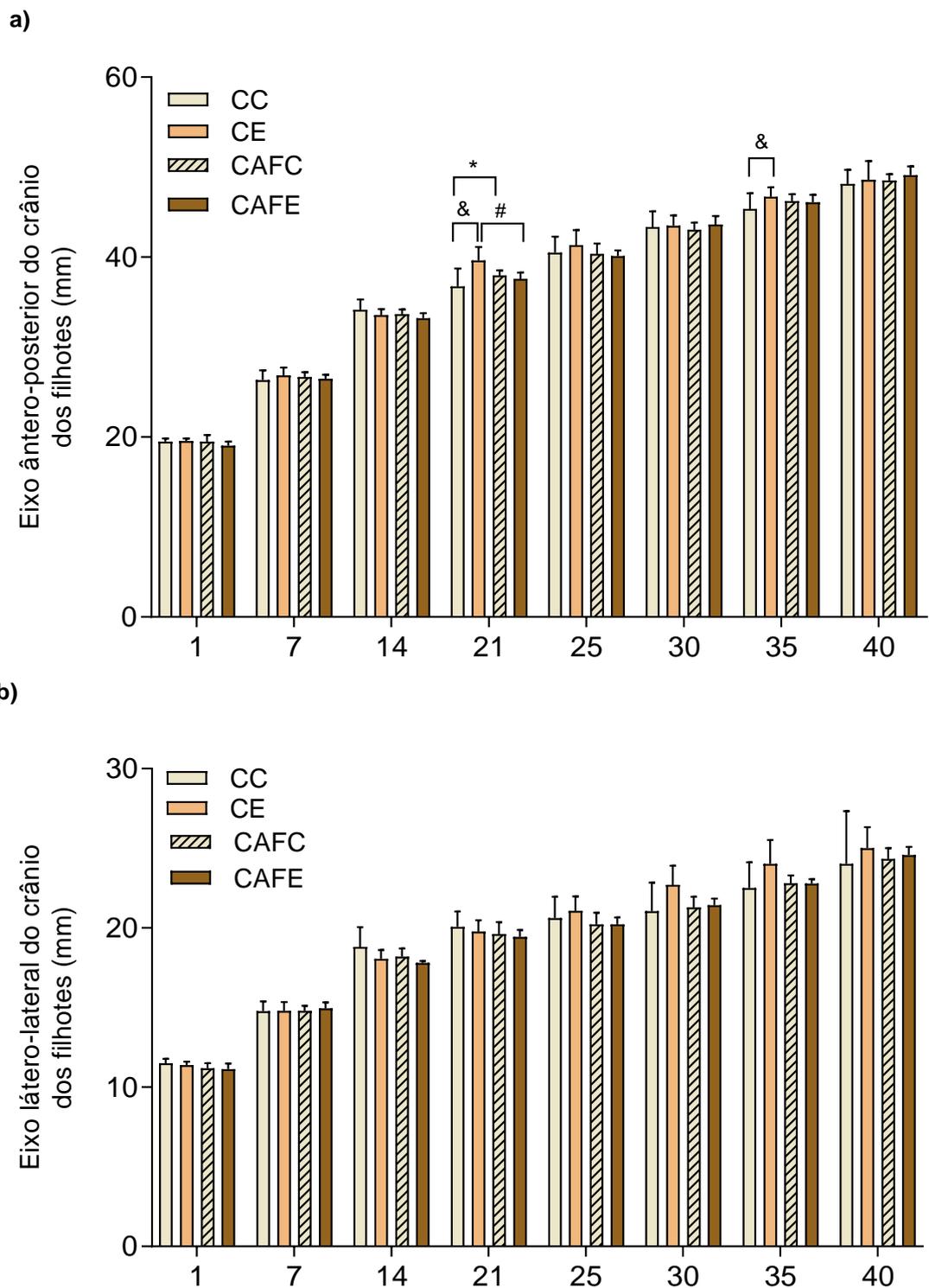


Figura 15- a) Eixo ântero-posterior dos filhotes (cm); b) Eixo látero-lateral dos filhotes (cm). Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC, n=15), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE, n=10) e Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC, n=13), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE, n=10). Teste

Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Tukey. Comparação entre CE versus CC (&), CAFC versus CC (*), CAFE versus CE (#). Significância de $p \leq 0,05$.

6.3.5 Peso dos órgãos dos filhotes

O ANOVA *one way* observou interação significativa entre os grupos, referente ao peso absoluto do fígado (F: 3,203). O grupo CAFE apresentou o peso absoluto do fígado maior que o grupo CAFC (CAFE: $8,43 \pm 0,76$; $n=10$; CAFC: $7,38 \pm 0,5$; $n=13$; $p=0,0336$). Os demais tecidos e grupos experimentais não apresentaram diferenças significativas (Tabela 5).

Tabela 6 - Peso absoluto e relativo dos órgãos dos filhotes.

Órgãos/ Grupos	CC média±d.p.(n)	CE média±d.p.(n)	CAFC média±d.p.(n)	CAFE média±d.p.(n)	P valor
Encéfalo	1,66±0,05(13)	1,72±0,10(7)	1,70±0,1(13)	1,71±0,07(10)	0,1617
Encéfalo relativo	1,04±0,11(13)	1,00±0,09(7)	1,04±0,1(13)	0,99±0,04(10)	0,1885
Fígado	7,52±1,19(13)	8,17±1,20(7)	7,38±0,5(13)	8,43±0,76(10)[@]	0,0336
Fígado relativo	4,68±0,54(13)	4,69±0,37(7)	4,53±0,2(13)	4,91±0,44(10)	0,1885
Baço	0,61±0,30(13)	0,41±0,04(7)	0,47±0,1(13)	0,56±0,16(10)	0,1824
Baço Relativo	0,38±0,18(13)	0,23±0,03(7)	0,29±0,0(13)	0,33±0,08(10)	0,0721
Rim (E)	0,84±0,12(13)	0,96±0,12(7)	0,85±0,1(13)	0,89±0,07(10)	0,0734
Rim (E) relativo	0,53±0,05(13)	0,55±0,03(7)	0,52±0,0(13)	0,52±0,03(10)	0,2931
Coração	0,69±0,10(13)	0,77±0,04(7)	0,77±0,1(13)	0,79±0,08(10)	0,0346
Coração relativo	0,43±0,04(13)	0,44±0,01(7)	0,47±0,1(13)	0,46±0,03(10)	0,1521

Legenda: Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE), Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC) e Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE). Os dados de peso absoluto e

relativo do fígado e rim esquerdo, peso relativo do encéfalo e peso absoluto do coração foram avaliados com o Teste ANOVA one way seguido do pós-teste de Tukey. Pesos absoluto e relativos do baço, peso absoluto do encéfalo e peso relativo do coração foram avaliados com o Teste de Kruskal Wallis seguido do pós teste de Dunn's. Comparação entre CAFE versus CAFC (@). Nível de significância $p < 0,05$.

6.3.6 Adiposidade dos filhotes

Foi identificada interação significativa entre os grupos no peso absoluto da gordura inguinal (porção esquerda) ($F=4,776$) e no peso relativo ao peso corporal ($F=7,175$). Os animais CAFC apresentaram maior peso absoluto da gordura inguinal esquerda, quando comparado com o grupo CC (CAFC: $0,81 \pm 0,10$; $n=13$; CC: $0,63 \pm 0,20$; $n=12$; $p=0,0204$). Assim como, maior peso relativo (CAFC: $0,50 \pm 0,05$; $n=13$; CC: $0,38 \pm 0,11$; $n=12$; $p=0,00065$). Em relação ao peso da gordura marrom, também houve interação entre os grupos em relação ao peso absoluto ($F=7,964$), como também no peso relativo ($F=5,893$). O grupo CAFC apresentou maior peso absoluto do que o grupo CC (CAFC: $0,27 \pm 0,05$; $n=13$; CE: $0,20 \pm 0,07$; $n=13$; $p=0,0091$) como também, maior peso relativo (CAFC: $0,17 \pm 0,03$; $n=13$; CC: $0,12 \pm 0,05$; $n=13$) (Tabela 6).

Tabela 7 - Adiposidade absoluta e relativa dos filhotes

Grupos/ Tecido Adiposo	CC média±d.p.(n)	CE média±d.p.(n)	CAFC média±d.p.(n)	CAFE média±d.p.(n)	P valor
Mesentérica	0,43±0,15(12)	0,44±0,12(7)	0,37±0,10(13)	0,41±0,12(10)	0,6128
Mesentérica relativa	0,26±0,08(12)	0,25±0,08(7)	0,23±0,06(13)	0,23±0,06(10)	0,6244
Inguinal (E)	0,63±0,20(12)	0,58±0,12(7)	0,81±0,10(13)*	0,72±0,16(10)	0,0204
Inguinal (E) relativa	0,38±0,10(12)	0,33±0,07(7)	0,50±0,05(13)*	0,42±0,08(10)	0,0065

Retroperitoneal (E)	0,25±0,06(11)	0,33±0,15(7)	0,34±0,10(13)	0,27±0,14(10)	0,1502
Retroperitoneal (E) relativa	0,15±0,03(11)	0,19±0,09(7)	0,21±0,06(13)	0,16±0,07(10)	0,1328
Perirrenal	0,03±0,01(11)	0,04±0,01(3)	0,04±0,01(11)	0,04±0,02(8)	0,2718
Perirrenal relativa	0,02±0,01(11)	0,03±0,01(3)	0,03±0,01(11)	0,02±0,01(8)	0,2298
Marrom	0,20±0,07(13)	0,25±0,05(7)	0,27±0,05(13)	0,31±0,04(10)	0,0091
Marrom relativa	0,12±0,05(13)	0,14±0,03(7)	0,17±0,03(13)	0,18±0,02(10)	0,0157

Legenda: Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE), Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC) e Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE). Os dados de peso absoluto e relativo da gordura mesentérica, inguinal, perirrenal e marrom foram avaliados com o Teste ANOVA one way seguido do pós-teste de Tukey. Pesos absolutos e relativos da gordura retroperitoneal foram avaliados com o Teste de Kruskal Wallis seguido do pós teste de Dunn's. Comparação entre CAFC versus CC (*). Nível de significância $p < 0,05$.

6.3.7 Avaliações celulares dos filhotes

A quantidade total de neurônios que expressam o transportador de serotonina no Núcleo Arqueado do Hipotálamo (ARC) não foi diferente na comparação entre os grupos experimentais aos 30 dias de vida (CC; CE; CAFC; CAFE $p=0.5910$) (Figura 16).

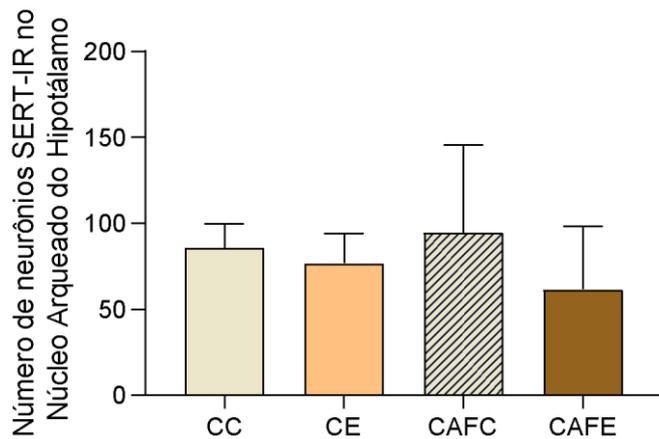


Figura 16 - Representação gráfica da análise quantitativa de neurônios SERT-IR no núcleo arqueado hipotalâmico em prole jovem. Grupo Ambiente Controle e Dieta Controle (CC= 4), Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Controle (CE =3), Grupo Ambiente Controle e Dieta Cafeteria (CAFC= 3) e Grupo Ambiente Enriquecido e Dieta Cafeteria (CAFE=3). Utilizado o Teste ANOVA one way, com dados expressos em média e desvio padrão da média. Nível de significância $p < 0,05$

7 DISCUSSÃO

Neste estudo, investigou-se a intervenção com ambiente enriquecido precoce e seus efeitos sobre o desenvolvimento corporal e imunorreatividade de neurônios SERT em filhotes de nutrizas que consumiram dieta de cafeteria na lactação. Os resultados mostram que os filhotes que receberam intervenção com AE apresentaram o peso corporal, comprimento naso-anal e eixo ântero-posterior maiores e circunferências torácicas e abdominais menores que o grupo controle. Os filhotes que consumiram a dieta de cafeteria e não receberam intervenção ambiental, apresentaram o peso corporal maior no período de lactação e menor no período pós-demame que o grupo controle. Além disso, apresentaram circunferências e eixos menores e maior adiposidade que o grupo controle. Associado a esses resultados, a quantidade de neurônios SERT-IR no núcleo arqueado do hipotálamo não teve diferença entre os grupos.

Nas nutrizas, a intervenção com ambiente enriquecido e o consumo de dieta de cafeteria na lactação não provocou alterações no peso corporal, nem no índice de massa corporal, realizado no dia da eutanásia. Porém, ao analisar o peso das gorduras após o desmame, as nutrizas expostas à dieta de cafeteria na lactação demonstraram elevada adiposidade inguinal, expressa como gordura por peso corporal. Já o grupo alojado em AE que recebeu a dieta de cafeteria, apresentou o peso da gordura retroperitoneal maior, seja por peso corporal ou absoluto, que o grupo alojado em AE e alimentado com ração controle. Ou seja, independente do ambiente de alojamento, as nutrizas que receberam a dieta de cafeteria apresentaram a adiposidade maior.

A literatura nos mostra, que nutrizas alimentadas com dieta de cafeteria na lactação, apresentam perda de peso e maior adiposidade (GEORGE et al., 2019; MARTINS et al., 2021). Esses resultados indicam que o gasto energético promovido

pela lactação, associado à alta ingestão de gordura e baixa ingestão de proteína, podem levar as nutrízes alimentadas com dieta de cafeteria a perderem massa magra e acumular tecido adiposo. Uma menor ingestão de proteínas durante a lactação, pode mobilizar os suprimentos maternos de proteína e gordura para sustentar a produção de leite (MARTINS et al., 2021). Porém, no presente estudo, as nutrízes que receberam dieta de cafeteria não perderam peso corporal, mas tiveram maior adiposidade.

O acúmulo de tecido adiposo principalmente na região abdominal, é um dos principais fatores que define um indivíduo como obeso. Em particular, uma grande quantidade de gordura abdominal é um fator de risco para alterações metabólicas, como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, aterosclerose e infarto agudo do miocárdio. Outras complicações do acúmulo de gordura e consequente obesidade são a resistência à insulina e à leptina (TEXEIRA, 2020). Porém, não foi avaliado outros parâmetros, como níveis de insulina, leptina, triglicérides e colesterol, para se afirmar que a dieta levou a obesidade nas nutrízes.

No entanto, o peso relativo ao peso corporal dos encéfalos das nutrízes que receberam dieta de cafeteria, independente do ambiente no qual foram alojadas, foi maior que os grupos que não receberam a dieta. Estudos mostram que o acesso a uma dieta de cafeteria, induziu alterações morfológicas nos dendritos basilares dos neurônios piramidais laterais do córtex orbitofrontal (THOMPSON et al., 2017). Como também, produziu alterações neuroplásticas e funcionais no núcleo accumbens (NAc), levando a modificações estruturais na plasticidade em neurônios espinhosos médios e aumento da expressão de fatores neuroinflamatórios e microglia ativada (GUTIÉRREZ-MARTOS et al., 2018).

Ademais, os filhotes descendentes de mães que receberam a dieta de cafeteria, apresentaram peso corporal maior no dia pós-natal 14 e menor nos dias pós-natal 30 e

35. Levando em consideração o desenvolvimento natural de ratos wistar, eles abrem os olhos com aproximadamente duas semanas após o nascimento e começam a usar uma postura quadrúpede por volta do 10º dia pós-natal, mas a caminhada geralmente não ocorre antes do dia 12 ao dia 15 (LI et al., 2016). Ou seja, em torno dos 14 dias eles podem ter consumido a dieta de cafeteria, aumentando o peso corporal. Porém, esse aumento não persistiu durante a última semana de lactação, chegando a ter perda nos dias 30 e 35 no período pós-desmame. Além do mais, o mesmo grupo apresentou circunferências torácicas e abdominais menores no pós-desmame, eixo ântero-posterior menor no dia pós-natal 21 e peso da gordura inguinal absoluta e relativa maior no dia pós-natal 41.

O resultado das avaliações após o uso da dieta hipercalórica ainda é conflitante na literatura. Um dos resultados que ainda diverge é o peso corporal, uma vez que alguns autores não identificaram alteração no peso corporal após a dieta (ESTADELLA et al., 2005; FRANCO, 2009; ZAMBON et al., 2009). Como também, alguns estudos apresentaram aumento ou diminuição do peso corporal no grupo alimentado com dieta rica em calorias (BUYUKDERE; GULEC; AKYOL, 2019; GEORGE et al., 2019).

A literatura também mostra que uma dieta materna desequilibrada pode levar a consequências dismetabólicas na prole (POMAR et al., 2017). Um estudo identificou que a exposição apenas durante a lactação reduziu o peso da prole masculina, mas aumentou a adiposidade antes do desmame (GEORGE, 2019). Esses achados também tinham sido relatados por outro estudo, onde os descendentes amamentados por mães que receberam dieta de cafeteria na lactação tiveram peso corporal menor, mas percentual de gordura corporal 2 vezes maior no desmame do que os filhos amamentados por mães controle (POMAR et al., 2017; VITHAYATHIL et al., 2018).

Outro estudo, utilizando uma dieta de cafeteria na lactação, mostrou que descendentes de mães alimentadas com dieta de cafeteria apenas na lactação, apresentaram um fenótipo magro por fora e gordo por dentro, ao apresentarem menor peso corporal e aumento da massa gorda corporal (POMAR et al., 2017). Além disso, Wright (2011) também mostrou que no desmame, tanto filhotes machos como fêmeas de mães alimentadas com dieta de cafeteria mostraram um comprimento corporal significativamente menor do que seus controles e maior conteúdo de gordura corporal. Esses resultados mostram o papel crítico do período de amamentação para a deposição de tecido adiposo em roedores.

Além disso, os filhotes que receberam dieta de cafeteria, também apresentaram aumento da gordura marrom, considerada a gordura “boa”. Esse fato pode ter ocorrido devido ao acúmulo de gordura branca na gordura marrom, como já relatado em alguns estudos onde ratos alimentados com alto teor de gordura eram mais gordos com depósitos aumentados de tecido adiposo branco e marrom (ALMEIDA et al., 2017). Como também, prole adulta exposta à dieta CAF pós-desmame induziu acúmulo de lipídios na gordura marrom (SANTOS et al., 2017).

Consideravelmente, o presente estudo mostra que o consumo materno de uma dieta de cafeteria durante a lactação parece afetar a prole de uma maneira correspondente aos efeitos de uma dieta pobre em proteínas e uma dieta rica em gordura, através da diminuição das circunferências e eixo ântero-posterior e aumento da adiposidade. A deficiência de nutrição precoce causa atraso no crescimento somático, aumento da eficiência de armazenamento de gordura e menor massa magra associada a um alto risco de desenvolvimento de doenças crônicas como hipertensão, resistência à insulina e obesidade na vida adulta (ALHEIROS-LIRA et al., 2017).

Além disso, os filhotes provenientes de nutrizas que receberam a dieta de cafeteria

na lactação, permaneceram com efeitos da dieta mesmo após receberem ração controle por dez dias. As alterações nas medidas murinométricas persistiram até o dia pós-natal 40, além de aumento da adiposidade no dia pós-natal 41, quando foi realizada a eutanásia.

Quando analisados os efeitos do AE no desenvolvimento da prole, o grupo alojado em AE e alimentado com ração controle, apresentaram comprimento naso-anal maior que o seu grupo controle, a partir do dia pós-natal 21, permanecendo o aumento até o dia pós-natal 40. Também foi observado, maior eixo ântero-posterior no dia pós-natal 21 e dia pós-natal 35 que o grupo controle. Assim como, os mesmos filhotes apresentaram menor circunferência torácica e abdominal no período pós-desmame, que o seu grupo controle. Esses resultados mostram que os animais alojados em AE são mais desenvolvidos que os controles.

Há evidências através de estudos em animais, de um efeito claro da atividade física no crescimento e desenvolvimento do esqueleto. Estudos mostram, maiores adaptações estruturais e materiais dos ossos em crescimento ao exercício do que nos ossos de adultos (FORWOOD, 2008). Além disso, estudo recente sugeriu que o AE composto por roda de corrida e escadas para promover atividade física, induziu hipertrofia muscular através do aumento da atividade física voluntária (ROSTAMI et al., 2022)

Porém, o grupo alojado em AE com CAF, apresentaram o comprimento naso-anal menor no dia pós-natal 30 e 40, como também circunferências torácicas e abdominais e eixo ântero-posterior menores no pós-desmame, quando comparado ao grupo alojado em AE com dieta controle. Sendo assim, os animais expostos a dieta CAF apresentaram retardo no desenvolvimento corporal e a exposição ao AE do 1º dia pós-natal ao dia 30 não foi capaz de atenuar esses efeitos.

O fato dos filhotes expostos ao AE e alimentados com ração controle serem mais desenvolvidos, pode ser devido a efeitos do AE no metabolismo. O estudo de Mainardi (2010), mostrou que o AE melhora a tolerância à glicose, reduz a massa adiposa, aumenta a ingestão de alimentos e regula negativamente a produção de leptina no rato adulto. Além disso, a redução dos níveis de leptina circulante, aumentou a ingestão média de alimentos. Esses resultados foram esperados pelo estudo, visto que um animal exposto a um nível mais elevado de atividade física, tende a ter um maior consumo.

Com relação aos efeitos do AE e da dieta no SNC, através da quantidade de neurônios SERT no núcleo arqueado do hipotálamo, não foi encontrado diferença significativa. Porém, ainda estamos finalizando as análises, pois o número de animais de cada grupo está incompleto. No entanto, de acordo com os achados da literatura, a dieta de cafeteria leva uma diminuição do SERT e o AE é capaz de influenciar o sistema serotoninérgico positivamente.

Ao comparar o impacto do AE durante os primeiros 3 meses de vida, combinado com atividade física, na neuroplasticidade e suas consequências funcionais, foi observado um efeito principal do AE nos níveis do metabólito da 5-HT (5-HIAA) em ambos os sexos. Com relação ao turnover de 5-HT, medido como a razão de 5-HIAA/5-HT, foi revelado um efeito principal significativo de AE, com as fêmeas apresentando taxas de rotatividade mais altas que os machos. A investigação dos efeitos do AE nos níveis do receptor de serotonina 1A (5-HT_{1A}), mostrou que este receptor é significativamente influenciado pelo AE no hipocampo de ambos os sexos (KOKRAS et al., 2019).

Quanto a dieta CAF, em humanos, um estudo que utilizou varreduras de 123 I-FP-CIT para SERT, relatou que a obesidade tem efeito sobre a disponibilidade de SERT

no mesencéfalo de indivíduos adultos (NAM et al., 2018). Outro estudo, através da neuroimagem molecular, onde é possível a visualização espacial e quantificação da disponibilidade central do SERT, sustentou que a obesidade humana está frequentemente associada à diminuição da sinalização serotoninérgica (VAN GALEN et al., 2021).

Em estudos experimentais, filhotes de nutrízes que receberam dieta com alto teor de gordura e carboidrato durante a gestação e lactação, apresentaram uma redução na expressão do SERT no hipocampo quando adolescentes (DIAS et al., 2020). Outro estudo, com camundongos geneticamente modificados mostrou que a desativação do transportador de serotonina, reduziu a ingestão de alimentos com dieta normal e com dieta rica em gordura, mas aumentou o peso corporal e teor de gordura (CHEN et al., 2012). Além disso, apesar da redução da ingestão alimentar, camundongos deficientes em SERT desenvolveram intolerância à glicose, resistência à insulina e obesidade (CHEN et al., 2012).

Como também, no estudo de Zha et. (2017), camundongos fêmeas geneticamente modificadas (*SERT*^{-/-}) não mostraram diferença no peso corporal e reduziram a ingestão de alimentos em comparação com camundongos de tipo selvagem aos 3 meses. No entanto, exibiram um aumento significativo nos depósitos de tecido adiposo branco e adipócitos aumentados. O tecido adiposo branco e adipócitos aumentados sem alteração no peso corporal também foram observados em camundongos fêmeas sem *SERT* de 6 meses de idade (ZHA et al., 2017a).

Além disso, os níveis adiposos de IL-6 e TNF- α foram significativamente maiores em camundongos *SERT*^{-/-} em comparação com o grupo controle, indicando que o acúmulo de lipídios em camundongos *SERT*^{-/-} estimulou a inflamação adiposa (ZHA et al., 2017a). Além disso, as análises de tecidos adiposos de camundongos *SERT*^{-/-}

feminino e masculino, revelaram massa adiposa branca marcadamente expandida e tamanho de adipócitos aumentados, bem como massa de tecido adiposo marrom reduzida e acúmulo anormal de lipídios no tecido marrom (ZHA et al., 2017a). No entanto, não se sabe como a deficiência de SERT promove obesidade e intolerância à glicose (CHEN et al., 2012; ZHA et al., 2017a).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dieta de cafeteria na lactação teve efeitos no metabolismo da nutriz e dos filhotes, aumentando a adiposidade e diminuindo parâmetros antropométricos. Esses efeitos, podem ser decorrentes da composição da dieta, por ter baixo teor de proteína e alto teor de gordura. Sendo assim, pode ter ocasionado acúmulo de gorduras e perda de massa magra. O ambiente enriquecido teve efeitos sobre o desenvolvimento dos animais, mas não foi capaz de atenuar os efeitos da dieta. Quanto a quantidade de neurônios SERT no núcleo arqueado do hipotálamo, não foi observado efeitos da dieta, nem do ambiente.

REFERÊNCIAS

ABESO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. Mapa da obesidade: São Paulo. 2022. Disponível em: <<https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

AHMAD, Q. I.; AHMAD, C. B.; AHMAD, S. M. Childhood obesity. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, v. 14, n. 1, p. 19–25, jan. 2010.

AL-AGHA, A. E.; AL-GHAMDI, R. A.; HALABI, S. A. Correlation between obesity and emotional, social, and behavioral problems associated with physical limitation among children and adolescents in Western Saudi Arabia. **Saudi Medical Journal**, v. 37, n. 2, p. 161–165, fev. 2016.

ALHEIROS-LIRA, Maria Cláudia et al. Effects of high-fat diet on somatic growth, metabolic parameters and function of peritoneal macrophages of young rats submitted to a maternal low-protein diet. **British journal of nutrition**, v. 117, n. 6, p. 796-803, 2017.

ALMEIDA, M. M. et al. Perinatal maternal high-fat diet induces early obesity and sex-specific alterations of the endocannabinoid system in white and brown adipose tissue of weanling rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 10, p. 788–803, 28 nov. 2017.

ALVES, D. V. DE S. et al. Environmental enrichment reduces brain excitability in adult rats overnourished during lactation. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 77, n. 8, p. 555–559, ago. 2019.

ALVES, J. G. B.; ALVES, G. V. Effects of physical activity on children's growth. **Jornal**

de Pediatria, v. 95, p. 72–78, 1 mar. 2019.

ALVES JUNIOR, C. A. S. et al. Reference growth curves to identify weight status (underweight, overweight or obesity) in children and adolescents: systematic review.

British Journal of Nutrition, p. 1–13, 25 jan. 2023.

ANNAMALAI, B. et al. Histamine Receptors Regulate the Activity, Surface Expression, and Phosphorylation of Serotonin Transporters. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 11, n. 3, p. 466–476, 5 fev. 2020.

ANS - Agência Nacional de Saúde Suplementar. MANUAL DE DIRETRIZES PARA O ENFRENTAMENTO DA OBESIDADE NA SAÚDE SUPLEMENTAR BRASILEIRA. Rio de Janeiro. 2017. Disponível em <https://www.gov.br/ans/ptbr/assuntos/noticias/beneficiario/ans-lanca-o-manual-de-diretrizes-para-o-enfrentamento-da-obesidade-na-saude-suplementar-brasileira>.

Acesso em: 25 nov. 2023.

BAYAT, M. et al. Enriched environment improves synaptic plasticity and cognitive deficiency in chronic cerebral hypoperfused rats. **Brain Research Bulletin**, v. 119, p. 34–40, out. 2015.

BAYOL, S. A. et al. A Maternal “Junk Food” Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. **Endocrinology**, v. 151, n. 4, p. 1451–1461, 1 abr. 2010.

BEAUCHAMP, A. et al. Whole-brain comparison of rodent and human brains using spatial transcriptomics. **Elife**. v. 11:e79418. nov. 2022. doi: 10.7554/eLife.79418.

BIELIŃSKI, M. et al. The polymorphisms in serotonin-related genes (5-HT_{2A} and SERT) and the prevalence of depressive symptoms in obese patients. **Neuroscience Letters**, v. 586, p. 31–35, jan. 2015.

BLOEMENDAAL, M. et al. Serotonin Transporter (SERT) Expression Modulates the

Composition of the Western-Diet-Induced Microbiota in Aged Female Mice. **Nutrients**, v. 15, n. 13, p. 3048, 6 jul. 2023.

BRASIL. Obesidade infantil afeta 3,1 milhões de crianças menores de 10 anos no Brasil. 2021.

BULL, F. C. et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. **British Journal of Sports Medicine**, v. 54, n. 24, p. 1451–1462, dez. 2020.

BURGOS, H. et al. Early postnatal environmental enrichment restores neurochemical and functional plasticities of the cerebral cortex and improves learning performance in hidden-prenatally-malnourished young-adult rats. **Behavioural Brain Research**, v. 363, p. 182–190, 2 maio 2019.

BUYUKDERE, Y.; GULEC, A.; AKYOL, A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. **PeerJ**, v. 7, p. e6656, 5 abr. 2019.

CALCATERRA, V. et al. Use of Physical Activity and Exercise to Reduce Inflammation in Children and Adolescents with Obesity. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 11, p. 6908, 5 jun. 2022.

CAMARGO GARBIN, L.; RESENDE FALEIROS, R.; DO LAGO, L. A. Enriquecimento Ambiental Em Roedores Utilizados Para a Experimentação Animal: Revisão De Literatura. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 10, n. 2, p. 153, 2012.

CAO, L. et al. White to brown fat phenotypic switch induced by genetic and environmental activation of a hypothalamic-adipocyte axis. **Cell Metabolism**, v. 14, n. 3, p. 324–338, 2011.

CARVAJAL-OLIVEROS, A.; CAMPUSANO, J. M. Studying the Contribution of Serotonin to Neurodevelopmental Disorders. Can This Fly? **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 14, 12 jan. 2021.

CHAMPAGNE, D. L. et al. Maternal Care and Hippocampal Plasticity: Evidence for Experience-Dependent Structural Plasticity, Altered Synaptic Functioning, and Differential Responsiveness to Glucocorticoids and Stress. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 23, p. 6037–6045, 4 jun. 2008.

CHEN, X. et al. Reduced Serotonin Reuptake Transporter (SERT) Function Causes Insulin Resistance and Hepatic Steatosis Independent of Food Intake. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. e32511, 8 mar. 2012.

CISNEROS-FRANCO, J. M. et al. Critical periods of brain development. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 173, p. 75–88, 1 jan. 2020.

CORREDOR, K. et al. Behavioral effects of environmental enrichment on male and female wistar rats with early life stress experiences. **Frontiers in Physiology**, v. 13, 26 set. 2022.

DA COSTA ESTRELA, D. et al. Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. **Physiology & Behavior**, v. 151, p. 252–263, nov. 2015.

DE LIMA, R. M. S. et al. Early life stress and the programming of eating behavior and anxiety: Sex-specific relationships with serotonergic activity and hypothalamic neuropeptides. **Behavioural Brain Research**, v. 379, p. 112399, fev. 2020.

DE MACEDO, I. C.; DE FREITAS, J. S.; DA SILVA TORRES, I. L. The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2016, p. 1–7, 2016.

DE SOUZA, E. B.; KUYATT, B. L. Autoradiographic localization of 3H-paroxetine-labeled serotonin uptake sites in rat brain. **Synapse**, v. 1, n. 5, p. 488–496, 1987.

DE SOUZA, J. A. et al. Dual exposure to stress in different stages of development affects eating behavior of male Wistar rats. **Physiology & Behavior**, v. 214, p.

112769, 1 fev. 2020.

DIAMOND, M. C. et al. Increases in cortical depth and glia numbers in rats subjected to enriched environment. **Journal of Comparative Neurology**, v. 128, n. 1, p. 117–125, 8 set. 1966.

DIAS, C. T. et al. Maternal high-fat diet stimulates proinflammatory pathway and increases the expression of Tryptophan Hydroxylase 2 (TPH2) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in adolescent mice hippocampus. **Neurochemistry International**, v. 139, p. 104781, out. 2020.

DÍAZ DE LEÓN-GUERRERO, S. et al. An enriched environment re-establishes metabolic homeostasis by reducing obesity-induced inflammation. **Disease Models & Mechanisms**, v. 15, n. 6, 1 jun. 2022.

DOBBING, J. Undernutrition and the developing brain. The relevance of animal models to the human problem. **Bibliotheca nutritio et dieta**, n. 17, p. 35–46, 1972.

DURÁN-CARABALI, L. E. et al. Preventive and therapeutic effects of environmental enrichment in Wistar rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. **Behavioural Brain Research**, v. 359, p. 485–497, 1 fev. 2019.

ESTADELLA, D. et al. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. **Basic nutri invest**, v. 20, p. 218-24, 2004.

FALCÃO-TEBAS, F. et al. Maternal low protein diet-induced delayed reflex ontogeny isnattenuated by moderate physical training during gestation in rats. **British Journal of Nutrition**, in press 2011.

FERREIRA, C. M. et al. Prevalence of childhood obesity in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Jornal de Pediatria**, v. 97, n. 5, p. 490–499, set. 2021.

FRANCO, L.D.P., CAMPOS, J.A.D.B., DEMONTE, A. Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 22, n. 3, p.

359- 366, 2009.

GEORGE, G. et al. The impact of exposure to cafeteria diet during pregnancy or lactation on offspring growth and adiposity before weaning. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 14173, 2 dez. 2019.

GEORGIEFF, M. K.; BRUNETTE, K. E.; TRAN, P. V. Early life nutrition and neural plasticity. **Development and Psychopathology**, v. 27, n. 2, p. 411–423, 6 maio 2015.

GIANNACCINI, G. et al. Serotonin transporter (SERT) and translocator protein (TSPO) expression in the obese ob/ob mouse. **BMC Neuroscience**, v. 12, n. 1, p. 18, 7 dez. 2011.

GOMEZ-SMITH, M. et al. A physiological characterization of the Cafeteria diet model of metabolic syndrome in the rat. **Physiology & Behavior**, v. 167, p. 382–391, dez. 2016.

GÓRNICKA, M. et al. Anthropometric Indices as Predictive Screening Tools for Obesity in Adults; The Need to Define Sex-Specific Cut-Off Points for Anthropometric Indices. **Applied Sciences**, v. 12, n. 12, p. 6165, 17 jun. 2022.

GOZZER, P. et al. Comportamento de ratos Wistar: importância do enriquecimento ambiental. **Saúde em Revista**, v. 17, n. 48, p. 69, 2018.

GRIEBSCH, N.-I. et al. Central Serotonin/Noradrenaline Transporter Availability and Treatment Success in Patients with Obesity. **Brain Sciences**, v. 12, n. 11, p. 1437, 26 out. 2022.

GUAL-GRAU, A. et al. Physiological, metabolic and microbial responses to obesogenic cafeteria diet in rats: The impact of strain and sex. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 117, p. 109338, jul. 2023.

HAAHR, M. E. et al. Obesity is associated with high serotonin 4 receptor availability in the brain reward circuitry. **NeuroImage**, v. 61, n. 4, p. 884–888, jul. 2012.

HALL, G. et al. A tale of two pandemics: How will COVID-19 and global trends in physical inactivity and sedentary behavior affect one another? **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 64, p. 108–110, jan. 2021.

HERSEY, M. et al. High-fat diet induces neuroinflammation and reduces the serotonergic response to escitalopram in the hippocampus of obese rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 96, 2021.

HESSE, S. et al. Association of central serotonin transporter availability and body mass index in healthy Europeans. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 8, p. 1240–1247, ago. 2014.

HILL, J. O.; WYATT, H. R.; PETERS, J. C. Energy balance and obesity. **Circulation**, v. 126, n. 1, p. 126–32, 3 jul. 2012.

HILLS, A. P.; OKELY, A. D.; BAUR, L. A. Addressing childhood obesity through increased physical activity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 6, n. 10, p. 543–549, 24 out. 2010.

HOMBERG, J. R.; LA FLEUR, S. E.; CUPPEN, E. Serotonin Transporter Deficiency Increases Abdominal Fat in Female, but Not Male Rats. **Obesity**, v. 18, n. 1, p. 137–145, jan. 2010.

JURASKI LEFCHAK, F. et al. Avaliação de indicadores antropométricos de obesidade e a presença de comorbidades em participantes das ações do NASF do município de Candói, Paraná, Brasil. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 20, n. 1, p. 112, 5 maio 2021.

KEMPERMANN, G. Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 20, n. 4, p. 235–245, 5 abr. 2019.

KESIĆ, M. et al. Constitutionally High Serotonin Tone Favors Obesity: Study on Rat Sublines With Altered Serotonin Homeostasis. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, 25

mar. 2020.

KIMURA, L. F. et al. Early exposure to environmental enrichment protects male rats against neuropathic pain development after nerve injury. **Experimental Neurology**, v. 332, p. 113390, 1 out. 2020.

KOJIMA, S.; CATAVERO, C.; RINAMAN, L. Maternal high-fat diet increases independent feeding in pre-weanling rat pups. **Physiology & Behavior**, v. 157, p. 237–245, abr. 2016.

KOKRAS, N. et al. Neuroplasticity-related correlates of environmental enrichment combined with physical activity differ between the sexes. **European Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 1, p. 1–15, jan. 2019.

KOLB, B.; HARKER, A.; GIBB, R. Principles of plasticity in the developing brain. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 59, n. 12, p. 1218–1223, dez. 2017.

KUMAR, S.; KELLY, A. S. Review of Childhood Obesity. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 92, n. 2, p. 251–265, fev. 2017.

LALANZA, J. F.; SNOEREN, E. M. S. The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 122, p. 92–119, 1 mar. 2021.

LEE, C. H. et al. Cellular Contributors to Hypothalamic Inflammation in Obesity. **Molecules and cells**, v. 43, n. 5, p. 431–437, 31 maio 2020.

LEIGH, S.-J.; KENDIG, M. D.; MORRIS, M. J. Palatable Western-style Cafeteria Diet as a Reliable Method for Modeling Diet-induced Obesity in Rodents. **Journal of Visualized Experiments**, n. 153, 1 nov. 2019.

LI, K. A.; LUND, E. T.; VOIGT, J. P. W. The impact of early postnatal environmental enrichment on maternal care and offspring behaviour following weaning. **Behavioural Processes**, v. 122, p. 51–58, 1 jan. 2016.

LISTER, N. B. et al. Child and adolescent obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 9, n. 1, p. 24, 18 maio 2023.

MACCARI, S. et al. The Consequences of Early-Life Adversity: Neurobiological, Behavioural and Epigenetic Adaptations. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 26, n. 10, p. 707–723, out. 2014.

MACGILLIVRAY, L. et al. The comparative effects of environmental enrichment with exercise and serotonin transporter blockade on serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. **Synapse**, v. 66, n. 5, p. 465–470, maio 2012.

MAINARDI, M. et al. A sensitive period for environmental regulation of eating behavior and leptin sensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 38, p. 16673–16678, 21 set. 2010.

MALAFAIA, A. B. et al. Indução de obesidade com sacarose em ratos. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 26, n. suppl 1, p. 17–21, 2013.

MARTINS, M. G. et al. Effects of snack intake during pregnancy and lactation on reproductive outcome in mild hyperglycemic rats. **Physiology & Behavior**, v. 240, p. 113544, 15 out. 2021.

MCCREARY, J. K.; METZ, G. A. S. Environmental enrichment as an intervention for adverse health outcomes of prenatal stress. **Environmental Epigenetics**, v. 2, n. 3, p. dvw013, 6 ago. 2016.

MIGUEL, P. M. et al. Early environmental influences on the development of children's brain structure and function. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 61, n. 10, p. 1127–1133, 11 out. 2019.

MOHAMMED, A. H. et al. Environmental enrichment and the brain. In: [s.l: s.n.]. p. 109–133.

MONCEK, F. et al. Effect of Environmental Enrichment on Stress Related Systems in Rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 16, n. 5, p. 423–431, 29 maio 2004.

MORETON, E. et al. Impact of early exposure to a cafeteria diet on prefrontal cortex monoamines and novel object recognition in adolescent rats. **Behavioural Brain Research**, v. 363, p. 191–198, 2 maio 2019.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 4, p. 471–483, 1 jun. 2002.

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

NAM, S. B. et al. The Effect of Obesity on the Availabilities of Dopamine and Serotonin Transporters. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 4924, 21 dez. 2018.

PENG, X.-G. et al. Quantification of Fat Concentration and Vascular Response in Brown and White Adipose Tissue of Rats by Spectral CT Imaging. **Korean Journal of Radiology**, v. 21, n. 2, p. 248, 2020.

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**, v. 41, n. 8, p. 1279–1287, 13 ago. 2017.

RAGU VARMAN, D.; RAJAN, K. E. Environmental Enrichment Reduces Anxiety by Differentially Activating Serotonergic and Neuropeptide Y (NPY)-Ergic System in Indian Field Mouse (*Mus booduga*): An Animal Model of Post-Traumatic Stress Disorder. **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0127945, 27 maio 2015.

RAMPON, C. et al. Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 23, p. 12880–

12884, 7 nov. 2000.

RATSIKA, A. et al. Priming for Life: Early Life Nutrition and the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Nutrients*. 28;13(2):423. 28 jun. 2021. doi: 10.3390/nu13020423.

RATUSKI, A. S.; WEARY, D. M. Environmental Enrichment for Rats and Mice Housed in Laboratories: A Metareview. **Animals**, v. 12, n. 4, p. 414, 9 fev. 2022.

RICE D; BARONE S. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. **Environ Health Perspect.** V.108, n. 3, p. 511-33. Jun. 2000. doi: 10.1289/ehp.00108s3511.

RICHARD, A. J. et al. **Adipose Tissue: Physiology to Metabolic Dysfunction.** [s.l.: s.n.].

RIZZI, S. et al. Impact of environmental enrichment on neurogenesis in the dentate gyrus during the early postnatal period. **Brain Research**, v. 1415, p. 23–33, set. 2011.

ROMERO-REYES, J. et al. Differential localization of serotonergic system elements in human amniotic epithelial cells. **Biology of Reproduction**, v. 105, n. 2, p. 439–448, 3 ago. 2021.

ROSINI, T. C.; DA SILVA, A. S. R.; MORAES, C. DE. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 383–387, maio 2012.

ROSTAMI, S.; HAGHPARAST, A.; FAYAZMILANI, R. The downstream effects of forced exercise training and voluntary physical activity in an enriched environment on hippocampal plasticity in preadolescent rats. **Brain Research**, v. 1759, p. 147373, 15 maio 2021.

SALAM, R. A. et al. Effects of Lifestyle Modification Interventions to Prevent and Manage Child and Adolescent Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis.

Nutrients, v. 12, n. 8, p. 2208, 24 jul. 2020.

SAMPEDRO-PIQUERO, P.; BEGEGA, A. Environmental Enrichment as a Positive Behavioral Intervention Across the Lifespan. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 4, p. 459–470, 11 abr. 2017.

SANTOS, C. D. S. et al. Life-long Maternal Cafeteria Diet Promotes Tissue-Specific Morphological Changes in Male Offspring Adult Rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 2887–2900, dez. 2017.

SARAH E. CUSICK, PHD; MICHAEL K. GEORGIEFF, M. Nutrient Supplementation and Neurodevelopment Timing Is the Key. **Arch Pediatr Adolesc Med**, v. 5, n. 166, p. 481–482, 2012.

SBP - Sociedade Brasileira de Pediatria. Obesidade na infância e adolescência: Manual de Orientação Disponível em:

<https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/Manual_de_Obesidade__3a_Ed_web_compressed.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2023.

SCHUCH, C. P. et al. Early environmental enrichment affects neurobehavioral development and prevents brain damage in rats submitted to neonatal hypoxia-ischemia. **Neuroscience Letters**, v. 617, p. 101–107, 23 mar. 2016.

SERRA, F. T. et al. Enriched environment and exercise effects on parvalbumin expression and distribution in the hippocampal formation of developing rats. **Brain Research Bulletin**, v. 160, p. 85–90, 1 jul. 2020.

SGHENDO, L.; MIFSUD, J. Understanding the molecular pharmacology of the serotonergic system: using fluoxetine as a model. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 3, p. 317–325, 6 fev. 2012.

SILBEREIS, J. et al. Cellular and Molecular Landscapes of the Developing Human Central Nervous System. **NEURON**. v.2, n. 89, p. 248-68. jan. 2016. doi:

10.1016/j.neuron.2015.12.008.

SIMMONDS, M. et al. Predicting adult obesity from childhood obesity: a systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, v. 17, n. 2, p. 95–107, fev. 2016.

SOARES, R. O. et al. Environmental enrichment reverses reduction in glucocorticoid receptor expression in the hippocampus of and improves behavioral responses of anxiety in early malnourished rats. **Brain Research**, v. 1600, p. 32–41, 10 mar. 2015.

SPARLING, J. E. et al. Environmental enrichment and its influence on rodent offspring and maternal behaviours, a scoping style review of indices of depression and anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 197, p. 172997, 1 out. 2020.

TAVARES, G. A.; TORRES, A.; DE SOUZA, J. A. Early Life Stress and the Onset of Obesity: Proof of MicroRNAs' Involvement Through Modulation of Serotonin and Dopamine Systems' Homeostasis. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 28 jul. 2020.

TORNAGHI, M. et al. Physical activity levels across COVID-19 outbreak in youngsters of Northwestern Lombardy. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 61, n. 7, jul. 2021.

VAN DE SANDE-LEE, S.; VELLOSO, L. A. Disfunção hipotalâmica na obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, n. 6, p. 341–350, ago. 2012.

VAN GALEN, K. A. et al. The role of central dopamine and serotonin in human obesity: lessons learned from molecular neuroimaging studies. **Metabolism**, v. 85, p. 325–339, ago. 2018.

VAN GALEN, K. A. et al. The response to prolonged fasting in hypothalamic serotonin transporter availability is blunted in obesity. **Metabolism**, v. 123, p. 154839, out. 2021.

VANCINI, R. L. et al. Physical exercise and COVID-19 pandemic in PubMed: Two months of dynamics and one year of original scientific production. **Sports Medicine**

and Health Science, v. 3, n. 2, p. 80–92, jun. 2021.

VITHAYATHIL, M. A. et al. Exposure to maternal cafeteria diets during the suckling period has greater effects on fat deposition and Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c (SREBP-1c) gene expression in rodent offspring compared to exposure before birth. **Nutrition & Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 17, 15 dez. 2018.

WALKER, E. P.; TADI, P. **Neuroanatomy, Nucleus Raphe**. [s.l.: s.n.].

WELLS, J. C. K. Understanding developmental plasticity as adaptation requires an inter-generational perspective. **Evolution, Medicine, and Public Health**, v. 2017, n. 1, p. 185–187, 1 jan. 2017.

WONG, H. H; CHOU, C.Y.C; WATT, A.J; SJÖSTRÖM, P.J. Comparing mouse and human brains. **Elife**. v.12:e90017. 10 jul. 2013. doi: 10.7554/eLife.90017.

WRIGHT, T. M. et al. Exposure to maternal consumption of cafeteria diet during the lactation period programmes feeding behaviour in the rat. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 8, p. 785–793, 8 dez. 2011.

YUKSEL, H. S. et al. School-Based Intervention Programs for Preventing Obesity and Promoting Physical Activity and Fitness: A Systematic Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 1, p. 347, 3 jan. 2020.

ZEENI, N. et al. Environmental enrichment and cafeteria diet attenuate the response to chronic variable stress in rats. **Physiology & Behavior**, v. 139, p. 41–49, fev. 2015.

ZENTALL, T. R. Effect of Environmental Enrichment on the Brain and on Learning and Cognition by Animals. **Animals**, v. 11, n. 4, p. 973, 31 mar. 2021.

ZHA, W. et al. cao. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1137, 25 abr. 2017a.

ZHA, W. et al. Serotonin transporter deficiency drives estrogen-dependent obesity and glucose intolerance. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1137, 25 dez. 2017b.

ZHANG, P. et al. Factors Associated with White Fat Browning: New Regulators of

Lipid Metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 14, p.

7641, 11 jul. 2022.

ZAMBON, L. et al. Efeitos de dois tipos de treinamento de natacao sobre a adiposidade e o perfil lipidico de ratos obesos exogenos. **Rev Nutr.**, v. 22, n. 5, p. 707-715, 2009.

ZHANG, T. et al. Environmental enrichment increases transcriptional and epigenetic differentiation between mouse dorsal and ventral dentate gyrus. 2018.

Anexo 1 - Comprovante de envio do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Moraes Cabral, 412
50670-910 / Recife - PE - Brasil
Fones: (51) 3442-1000
www.ufpe.br

Recife, 22 de dezembro de 2021

Ofício nº 93/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Isabeli Lins Pinheiro**
Centro Acadêmico de Vitória
processo nº0083/2021

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

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

Atenciosamente