

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

ANA CLÁUDIA ALVES FREIRE RIBEIRO

**EFEITOS DA DIETA DE CAFETERIA NA GESTAÇÃO SOBRE AS RESPOSTAS  
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS DURANTE LACTAÇÃO E A  
REPERCUSSÃO NOS FILHOTES ADOLESCENTES**

Alfenas/MG

2016

ANA CLÁUDIA ALVES FREIRE RIBEIRO

**EFEITOS DA DIETA DE CAFETERIA NA GESTAÇÃO SOBRE AS RESPOSTAS  
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS DURANTE LACTAÇÃO E A  
REPERCUSSÃO NOS FILHOTES ADOLESCENTES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Neurociências e Comportamento.

Orientadora: Fabiana Cardoso Vilela Giusti

Alfenas/MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Ribeiro, Ana Cláudia Alves Freire

Efeitos da dieta de cafeteria na gestação sobre as repostas comportamentais em camundongos durante lactação e a repercussão nos filhotes adolescentes / Ana Cláudia Alves Freire Ribeiro. -- Alfenas/MG, 2016.

98 f.

Orientadora: Fabiana Cardoso Vilela Giusti.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, 2016.

Bibliografia.

1. Dieta de cafeteria. 2. Comportamento materno. 3. Animais - Filhotes. I. Giusti, Fabiana Cardoso Vilela. II. Título.

CDD-612

ANA CLÁUDIA ALVES FREIRE RIBEIRO

**EFEITOS DA DIETA DE CAFETERIA NA GESTAÇÃO SOBRE AS RESPOSTAS  
COMPORTAMENTAIS EM CAMUNDONGOS DURANTE LACTAÇÃO E A  
REPERCUSSÃO NOS FILHOTES ADOLESCENTES**

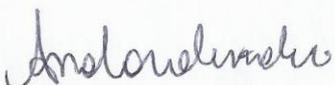
A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL - MG.  
Área de concentração: Neurociências e Comportamento.

Aprovada em: 04/08/2016

Prof<sup>a</sup>.: Dr<sup>a</sup> Fabiana Cardoso Vilela Giusti  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Assinatura: 

Prof<sup>a</sup>.: Dr<sup>a</sup> Ana Carolina Inhasz Kiss  
Instituição: Universidade Estadual Paulista  
Júlio de Mesquita Filho

Assinatura: 

Prof<sup>a</sup>.: Dr<sup>a</sup> Gislene Regina Fernandes  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Assinatura: 

*Dedico a finalização desta etapa da minha vida a Deus e aos meus pais, José A. e Elza, a quem devo tudo que sou.*

## AGRADECIMENTOS

Desafio tão grande quanto escrever essa dissertação, foi utilizar apenas duas páginas para agradecer as pessoas que fizeram parte dessa minha trajetória do início até a finalização da mesma. É com grande orgulho que comemoro essa imensa conquista, a qual foi regada por desafios, sorrisos, lágrimas e muito aprendizado. Nessa etapa triunfal da minha vida devo primeiramente a Deus, que está sempre à frente de tudo, me guiando e fortalecendo, dando a coragem necessária para seguir em frente.

Aos meus pais, José Antônio e Elza, pelos valores e princípios ensinados, que me deram a estrutura para tornar a pessoa que sou hoje. Pela confiança, força, e amor incondicional que me fortalecem todos os dias. Pelos sacrifícios que sempre fizeram para me ver sorrir, renunciando muitas vezes aos próprios sonhos em prol dos meus, sem dúvidas o meu maior incentivo para concluir mais uma etapa de minha vida e com certeza as muitas outras que virão.

A minha orientadora, Fabiana, pela confiança, dedicação e ensinamentos ao longo desses dois anos que contribuíram e foram essenciais para a conclusão desse trabalho. Obrigada pela amizade, paciência nos momentos de desespero, pelo carinho, por ter me adotado como filha científica e constantemente me chamar de Ana Flávia.

Ao meu irmão Luiz Otávio e minha cunhada Rebeca pela compreensão e carinho demonstrados, além de me presentear com a sobrinha mais linda, Manuela, o melhor presente que Deus poderia ter me enviado, uma verdadeira benção na minha vida. É você Manu que alegra meus dias, é tão bom receber suas fotos e seus vídeos, com certeza são eles que fazem toda diferença e me deixam mais feliz, pois no seu sorriso tão puro encontro a verdadeira felicidade.

Ao meu namorado, o “santo” Fábio, por me amar mesmo diante das minhas imperfeições. Por ter me ensinado a acreditar mais em meus sonhos, pela paciência, o cuidado e sempre ficar do meu lado nas alegrias, e principalmente nos momentos de dificuldades. Obrigada por perseverar nossa união e sempre procurar me entender, ser honesto comigo e por fazer com que esse amor cresça cada dia mais e continue a transbordar de momentos ainda mais felizes ao seu lado.

Aos amigos do “LAB” quantas alegrias ao longo desses anos pelas conquistas que juntos tivemos e pelos fracassos que juntos superamos e que só me fizeram crescer. Obrigada a todos pela amizade, apoio, respeito, convivência, as confraternizações, disposição para ajudar nos experimentos, descontrações diárias, apoio físico e emocional. E saibam que cada um com seu jeito de ser foi a peça chave fundamental para finalização desse trabalho!

As minhas amigas de república, em especial a Lê quem acompanha minhas alegrias e tristezas desde 2008, pela paciência, carinho, compreensão, incentivo e por sempre estar ao meu lado.

As minhas amigas de infância da Ventania e da faculdade, que mesmo na distância foram companheiras e me demonstram apoio e amizade, por sempre me darem força para perseguir meus sonhos e ajudarem a alcançá-los.

A minha família, aos meus sogros, cunhados, cunhadas, madrinhas, padrinhos, amigos, vizinhos e a D. Leoni pelo apoio, amizade e orações.

Ao professor Doutor Alexandre Giusti Paiva, pela confiança na utilização do laboratório e colaboração para realização do trabalho.

Ao professor Doutor Marcelo Lourenço da Silva pela compreensão, orientação e atenção dada a esse trabalho.

Aos técnicos, Luís Felipe e José Reis, aos auxiliares, Marília, Martha, Helena, D. Zélia e Giselda, por todo carinho, cuidado com os animais e com o laboratório.

À secretária, Maria Antonieta Nogueira, e o antigo coordenador do programa, Professor Doutor Valdemar Antônio Paffaro Jr., que sempre com muito zelo e um sorriso no rosto, resolveu todos os problemas e esclareceu todas as dúvidas.

Aos camundongos que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos membros das bancas, qualificação e defesa, pela disponibilidade e as considerações finais que contribuíram para a finalização desse trabalho.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para essa minha realização e que não tenha sido mencionado, meu muito obrigada!

À UNIFAL, CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King, 195-?)*

## RESUMO

Durante a gestação e a lactação ocorrem diversas mudanças fisiológicas, hormonais e psicológicas que podem alterar o comportamento materno (CM) e o desenvolvimento dos filhotes. Neste período, uma nutrição adequada e equilibrada desempenha um papel relevante, uma vez que a nutrição fetal está ligada a ingestão dietética da mãe e a estoques de nutrientes maternos, por isso uma dieta balanceada constitui um fator de proteção para a prole e a mãe. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da dieta de cafeteria (DC) no CM de camundongos lactantes, uma vez que esta dieta é semelhante à dos humanos e tem um alto teor calórico. Os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo comitê de ética e consistiram em dois grupos: dieta normal (DN) e DC. Foram avaliadas as respostas comportamentais, índice de Lee e gordura abdominal nas mães alimentadas com as dietas durante a gestação. Durante a lactação, os desenvolvimentos físicos e reflexos foram avaliados nos filhotes. Na prole adolescente foi avaliado o desempenho comportamental nos testes claro-escuro, nado forçado, campo aberto, *play behavior* além da avaliação do índice de Lee e gordura abdominal. Nossos resultados demonstram que mães tratadas com DC possuem CM mais acentuado quando comparada às DN, maior índice de Lee e gordura abdominal, além de apresentarem uma redução no comportamento tipo ansioso e redução na locomoção. Em relação aos filhotes na adolescência de mães que consumiram DC comparados aos de mães DN, foi observado um aumento do comportamento tipo ansioso nos machos. Em ambos os sexos houve um aumento da gordura abdominal, um retardo no desenvolvimento físico e reflexo, e redução nos parâmetros de *play behavior*. Portanto, pode-se concluir que a DC alterou não só o CM, mas que a alimentação inadequada na vida precoce interferiu no comportamento e desenvolvimento da prole.

Palavras-chave: Dieta de cafeteria. Comportamento materno. Filhotes adolescentes.

## ABSTRACT

During pregnancy and lactation occur several physiological, hormonal and psychological changes that can alter the maternal behavior (MB) for the development of their young. During this period, adequate and balanced nutrition plays an important role, since fetal nutrition is linked with the dietary intake of the mother and maternal nutrient stocks, so a balanced diet is a protective factor for offspring and the mother. So our objective was to evaluate the influence of cafeteria diet (CD) in the MB of lactating mice, since this diet is similar human and has high calorie content. The experiment was approved by the local ethics committee and consisted of two groups: normal diet (ND) and CD. Behavioral responses were evaluated Lee index, and abdominal fat on mothers treated with the following diets during pregnancy. And in the offspring were evaluated tests in light and dark, forced swimming, open field e play behavior, Lee index, abdominal fat, and physical developments and reflections. Based on the results it is concluded that mothers treated with CD MB have more pronounced when compared to ND, increased Lee index and abdominal fat, besides presenting a reduction in predictive anxiety behavior and reduced mobility. Regarding juvenile offspring noted an increase in predictive anxiety behavior and Lee index, of mother who consumed CD compared to ND. And in females a reduction in play behavior. And both sexes increased by abdominal fat, a delay in the physical developments and reflections and decreased play behavior. Therefore, it can be concluded that the CD has changed not only the MB but that inadequate nutrition in early life interfere with the behavior and development of offspring.

Keywords: Behavior maternal. Cafeteria diet. Juvenile offspring.

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 -	Representação esquemática de alguns parâmetros analisados no comportamento materno em roedores.....	22
Figura 2 -	Representação do claro-escuro.....	37
Figura 3 -	Representação do campo aberto.....	38
Figura 4 -	Representação do nado forçado.....	40
Figura 5 -	Variação do ganho de peso (g) das mães que ingeriram dieta normal ou dieta de cafeteria durante o período de gestação.....	43
Figura 6 -	Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal), que receberam a dieta de cafeteria ou dieta normal, do 2º dia lactação.....	45
Figura 7 -	Avaliação do comportamento materno (CM) e não materno (CNM) dos camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria e comparadas com seu controle tratadas de dieta normal.....	46
Figura 8 -	Avaliação dos parâmetros maternos e não maternos do comportamento materno.....	47
Figura 9 -	Teste de claro-escuro em camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria ou dieta normal no 5º ou 6º dia de lactação.....	49
Figura 10 -	Teste de campo aberto em camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria ou dieta normal no 5º ou 6º dia de lactação.....	50
Figura 11 -	Avaliação do desenvolvimento de reflexo e físico dos filhotes machos de mães controles e dos filhotes machos de mães dieta de cafeteria do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação.....	51
Figura 12 -	Avaliação do desenvolvimento de reflexo e físico dos filhotes fêmeas de mães controles e dos filhotes fêmeas de mães dieta de cafeteria do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação.....	52
Figura 13 -	Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal) em	

	camundongos filhotes machos.....	58
Figura 14 -	Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal) em camundongos filhotes fêmeas.....	59
Figura 15 -	Teste nado forçado nos filhotes machos e fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.....	60
Figura 16 -	Teste de claro-escuro nos filhotes machos de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.....	61
Figura 17 -	Teste de claro-escuro nos filhotes fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.....	62
Figura 18 -	Teste campo aberto nos filhotes machos de camundongos machos que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou normal durante a gestação.....	64
Figura 19 -	Teste campo aberto nos filhotes fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou normal durante a gestação.....	65
Figura 20 -	Teste play behavior nos filhotes machos de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou normal durante a gestação.....	67
Figura 21 -	Teste play behavior nos filhotes fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou normal durante a gestação.....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Composição Nutricional da dieta Normal e Dieta de cafeteria.....	32
Tabela 2 -	Variação da ingestão diária (g) e ingestão calórica (Kcal) das mães que ingeriram dieta normal e dieta de cafeteria durante de gestação.....	44
Tabela 3 -	Variação do ganho de peso (g) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).....	54
Tabela 4 -	Variação do (g) comprimento nasoanal (CNA) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).....	55
Tabela 5 -	Variação do (g) distância anogenital (DAG) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).....	56
Tabela 6 -	Variação do (g) índice de crescimento (IC) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).....	57

## LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AM	- Aparecimento dos mamilos
AO	- Abertura dos olhos
APD	- Agarramento das patas dianteiras
CEUA	- Comissão de ética no uso animal
CHO	- Carboidrato
CM	- Comportamento materno
cm	- Centímetros
CNA	- Comprimento nasoanal
CPA	- Comportamento preditivo de ansiedade
DAG	- Distância anogenital
DC	- Dieta de Cafeteria
DFR	- Desenvolvimentos Reflexos e Físicos
DG	- Dias de gestação
DL	- Dias de lactação
DN	- Dieta Normal
DO	- Deslocamento da orelha
ED	- Endireitamento da Superfície
EII	- Erupção dos incisivos inferiores
EIS	- Erupção dos incisivos superiores
g	- Gramas
GN	- Geotaxia Negativa
IC	- Índice de crescimento
ID	- Índice de Lee
GA	- Gordura Abdominal
Kcal	- Quilocaloria
Kg	- Quilograma
KHz	- Quilohertz
LIP	- Lípidios
MG	- Minas Gerais
mg	- Miligrama

mL	- Mililitro
n	- número
PTN	- Proteína
RA	- Resposta Auditiva
RP	- Revestimento primário
RR	- Reflexo de Rooting
SDD	- Separação dos dígitos dianteiros
SDT	- Separação dos dígitos traseiros
SEM	- Erro padrão da média
T	- Tratamento
UNIFAL	- Universidade Federal de Alfenas

## LISTA DE SÍMBOLOS

- \* - Asterisco
- °C - Graus celsius
- = - Igual
- + - Mais
- ± - Mais ou menos
- < - Menor
- > - Maior
- / - Por
- % - Porcentagem
- : - Proporção
- ® - Registrado

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
2.1	COMPORTAMENTO MATERNO.....	20
2.2	ALTERAÇÕES DO CUIDADO MATERNO E REPERCUSSÃO NA PROLE .....	22
2.3	DIETA DE CAFETERIA NA GESTAÇÃO.....	25
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	28
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	29
4.1	OBJETIVO GERAL.....	29
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
5.1	ANIMAIS.....	30
5.2	DIETAS.....	30
5.2.1	<b>Dieta Normal</b> .....	30
5.2.1	<b>Dieta de Cafeteria</b> .....	31
5.3	ACASALAMENTO.....	31
5.4	DELINIAMENTO EXPERIMENTAL.....	32
5.5	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTENTES.....	33
5.6	GANHO DE PESO DAS MÃES DURANTE A GESTAÇÃO E DOS FILHOTES DURANTE A LACTAÇÃO.....	34
5.7	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DAS DIETAS.....	34
5.8	AVALIAÇÃO DA QUANTIFICAÇÃO DA ADIPOSIDADE NAS MÃES E NOS FILHOTES ADOLESCENTES.....	34
5.8.1	<b>Índice de Lee</b> .....	35
5.8.2	<b>Quantificação da adiposidade</b> .....	35
5.9	DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTENTES NO TESTE CLARO-ESCURO E NO CAMPO ABERTO.....	35
5.9.1	<b>Claro-escuro</b> .....	35

5.9.2	<b>Campo Aberto</b> .....	36
5.10	AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES.....	37
5.10.1	<b>Parâmetros biométricos</b> .....	38
5.10.2	<b>Desenvolvimento reflexo</b> .....	38
5.10.3	<b>Desenvolvimento físico</b> .....	38
5.11	DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NOS TESTES CLARO-ESCURO, NADO FORÇADO, CAMPO ABERTO E <i>PLAY BEHAVIOR</i> .....	38
5.11.1	<b>Claro-escuro</b> .....	39
5.11.2	<b>Nado forçado</b> .....	39
5.11.3	<b>Campo Aberto</b> .....	40
5.11.4	<b>Play Behavior</b> .....	40
<b>6</b>	<b>ANÁLISE ESTÁTISTICA</b> .....	41
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	42
7.1	AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS GESTANTE.....	42
7.2	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DAS DIETAS.....	43
7.3	AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE LEE E DA QUANTIFICAÇÃO DA ADIPOSIDADE ABDOMINAL DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS GESTANTE.....	44
7.4	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES.....	45
7.5	DESEMPENHOS COMPORTAMENTAIS DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO TESTE CLARO-ESCURO E NO CAMPO ABERTO.....	47
7.6	AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES.....	50
7.7	AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO E CRESCIMENTO DA NINHADA.....	52
7.8	AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE LEE E DA QUANTIFICAÇÃO DA ADIPOSIDADE NOS FILHOTES ADOLESCENTES.....	57
7.9	DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NOS TESTES CLARO-ESCURO E NADO FORÇADO.....	59
7.10	DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NOS	

	CAMPO ABERTO.....	62
7.11	DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NOS <i>PLAY BEHAVIOR</i> .....	65
8	<b>DISCUSSÃO</b> .....	69
9	<b>CONCLUSÃO</b> .....	83
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	84

## 1 INTRODUÇÃO

Durante a gestação até o desmame ocorrem diversas mudanças fisiológicas, hormonais e psicológicas que podem alterar o cuidado da mãe em relação a sua prole (PIRES G. et al., 2013). Por esse fato, o comportamento materno é essencial para a sobrevivência e o sucesso no desenvolvimento dos filhotes, pois estes necessitam de ajuda durante seu desenvolvimento até que se tornem independentes e sejam capazes de sobreviver sem os cuidados da mãe (ANGOA-PEREZ et al., 2014; GROTA; ADER, 1969; GUBERNICK; KLOPFER, 1981).

Nesse período de gestação e lactação, a alimentação adequada é fundamental para a saúde da gestante e seus filhotes, principalmente por ser considerado um estágio que necessita de uma maior demanda de energia e nutrientes (GUTHRIE; PICCIANO; SCOTT, 1995; KING; WEININGER, 1991). A nutrição do feto está interligada com ingestão dietética materna, aos estoques de nutrientes maternos, a capacidade de liberação e transferência desses nutrientes pela placenta (PINE; JESSOP; OLDHAM, 1994). Durante a lactação uma demanda adicional de energia também é requerida, além dos nutrientes exigidos para as necessidades basais das mães (PICCIANO, 1997). Assim, uma nutrição adequada e balanceada constitui um fator protetor, para o feto, o recém-nascido e a própria mãe.

Experimentos realizados em roedores com ingestão inadequada de alimentos, como uma dieta hiperlipídica, durante a gestação e a lactação demonstraram uma diminuição do cuidado materno, que afetou o desenvolvimento da prole (aumento de peso nos filhotes machos e fêmeas e a função reprodutiva nas fêmeas) e alterou respostas metabólicas (aumento dos níveis de leptina, insulina e beta-hidroxibutirato em machos e nas fêmeas aumento dos níveis de glicose) que podem levar a implicações de doenças na idade adulta (CONNOR et al., 2012)

Porém, outro estudo utilizando a mesma dieta com uma porcentagem menor da quantidade de lipídeos durante o mesmo período, demonstrou aumento do cuidado das mães em relação aos filhotes, que conseqüentemente ingeriram uma maior quantidade de leite, com maior conteúdo de gordura, contribuindo assim para

alterações metabólicas, afetando o desenvolvimento dos mesmos, em relação ao aumento do peso corporal e adiposidade (PURCELL et al., 2011). Apesar das controvérsias dos estudos utilizando dieta rica em gordura, percebe-se que uma alimentação materna inadequada pode influenciar no desenvolvimento, como no peso, adiposidade, função reprodutiva e metabolismo da prole, porém pouco se sabe sobre alterações no comportamento dos filhotes.

Estudos em animais, utilizando a ingestão de dieta de cafeteria, para induzir a obesidade a fim de simular o comportamento nutricional humano, apontaram alterações no metabolismo glicídico, lipídico e na função endotelial, como resistência à insulina e efeito prejudicial na reatividade vascular (NADARELI et al., 2001; PRADA et al., 2006). Estadella et al. (2004) descreveram a dieta de cafeteria como uma mistura hipercalórica, normoproteica e hiperlipídica. O consumo dessa dieta por roedores associado a ração padrão constitui um modelo experimental para o estudo dos mecanismos e dos danos ao organismo provocados pelo maior aporte calórico, que em geral leva a um aumento no peso e na adiposidade corporal (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006).

Sabe-se, ainda, que deficiências nutricionais e fatores ambientais durante a gestação levam a uma adaptação metabólica e estrutural permanente que pode aumentar o risco de doenças crônicas, problemas cardíacos e vasculares (BARKER, 2002) e podem interferir no desenvolvimento normal do cérebro durante a fase inicial da vida do feto (ALMEIDA et al., 2013; MORGANE et al., 1978).

Os efeitos da dieta de cafeteria mencionados anteriormente vêm sendo muito estudados, mas pouco se sabe sobre influências comportamentais maternas, desenvolvimentos físicos e reflexos da prole e sobre o comportamento dos filhotes durante a fase de adolescência, que é muito importante para indicação de prejuízos futuros. Dessa forma, o presente trabalho investigou as possíveis influências da dieta de cafeteria durante a gestação sobre as respostas comportamentais em camundongos lactantes e a repercussão no comportamento e desenvolvimento físicos e reflexos dos seus filhotes na adolescência.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente revisão bibliográfica traz conhecimentos sobre o comportamento materno, as alterações do cuidado materno e repercussões na prole e a influência da dieta de cafeteria na gestação.

### 2.1 COMPORTAMENTO MATERNO

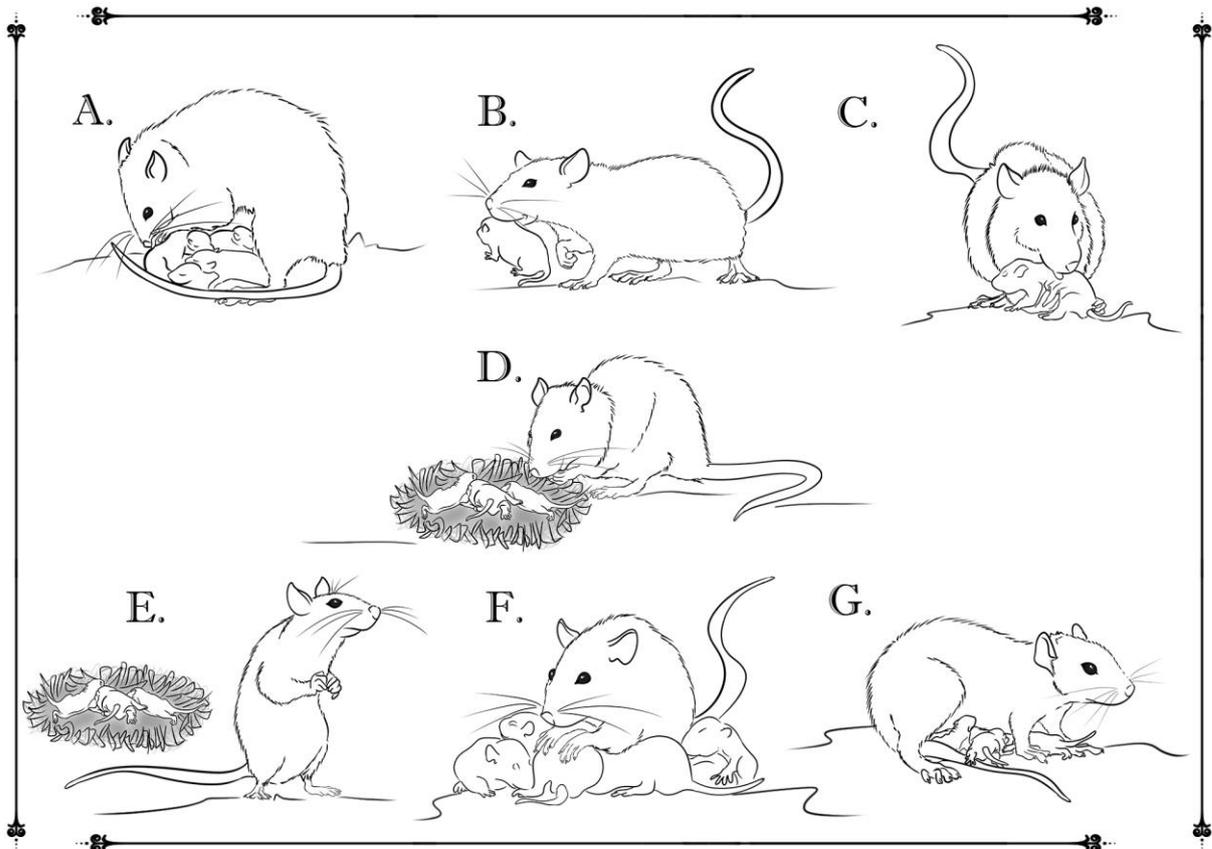
Ao final da gestação e início da lactação, o organismo materno sofre alterações fisiológicas que resultam em um comportamento complexo, espontâneo e instintivo chamado de comportamento materno (CM) (MATTSON et al., 2001; NUMAN, 1994). Essas alterações estão relacionadas a uma diminuição dos níveis de progesterona, aumento do estradiol e prolactina durante o período pré-natal (NUMAN; INSEL, 2003).

O comportamento materno é de extrema importância para a sobrevivência, o desenvolvimento e sucesso reprodutivo da prole, já que os filhotes ao nascerem são parcialmente imóveis, desprovidos de pelos, surdos, cegos e incapazes de regular a própria temperatura e dependem integralmente do cuidado da mãe (ANGOÁ-PEREZ et al., 2014; GROTA; ADER, 1969; GUBERNICK; KLOPFER, 1981).

De acordo com Numan (1994) o comportamento materno em roedores tem seu ápice nas duas primeiras semanas após o parto, sendo diminuído gradativamente até que os filhotes cresçam e se tornem capazes de sobreviverem sozinhos.

Na figura 1, ações de cuidado materno são observadas como o ato da mãe de lambar os filhotes, cifose (mãe sobre os filhotes em posição arqueada), posição passiva (mãe deitada de lado ou de costas junto aos filhotes), recolhimento dos filhotes, construção do ninho (forragear), amamentação e *self grooming* materno (auto limpeza na região mamária) (NUMAN; INSEL, 2003).

Figura 1 - Representação esquemática de alguns parâmetros analisados no comportamento



Nota: Posição de cifose (A), carregando filhote (B), lambendo filhote (*pup-grooming/licking pups*) (C), construindo ninho (D), fora do ninho (E), agrupando os filhotes (F), sobre os filhotes (G).

Fonte: VERONESI, 2016.

As lactantes também apresentam comportamentos tipo menos ansiosos que estão relacionados ao cuidado materno e contribuem para a permanência da sua própria vida e de seus filhotes. (FERREIRA et al., 2002; HUNTINGFORD, 1989; MANN, 2006). Lactantes naturalmente apresentaram uma redução no comportamento preditivo de ansiedade nos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado quando comparadas com ratas não lactantes. Essa diminuição da ansiedade pode ser considerada parte de um repertório comportamental maternal, denominada como ansiólise maternal (FERREIRA et al., 2002; LONSTEIN, 2002; GAMMIE, 2002; VILELA, 2011).

A ansiólise maternal é resultado de uma adaptação do sistema nervoso central, sendo necessária para a sobrevivência dos filhotes. A diminuição da responsividade à ansiedade observada durante a lactação pode ser explicada, pelo menos em parte, por um aumento da secreção de ocitocina e prolactina, já que ambos

possuem propriedades ansiolíticas (FLEMING; ROSEMBLATT, 1974; FLEMING; WALSH, 1994; NUMAM, 1994).

Sabendo-se que alterações na dieta materna podem alterar diversos fatores fisiológicos, é importante avaliar também se a dieta em estudo (dieta de cafeteria) influencia a ansiólise maternal além de avaliar o comportamento materno diretamente relacionado aos filhotes.

Em adição, experimentos descrevem que o comportamento materno pode sofrer influência de drogas, fatores estressores e dietas que alteram os padrões normais da relação mãe-filhote, prejudicando o desenvolvimento físico, o reflexo e o comportamento futuro da prole (BELLUSCIO et al., 2014; BOSCH et al., 2007; CONNOR et al., 2012; COSTA, VILELA, GIUSTI-PAIVA, 2013; MASSARO; LEVITSKY; BARNES, 1974).

A estimulação ofertada pela mãe é fundamental para o desenvolvimento inicial dos filhotes, pois são fontes de estímulos sensoriais. Assim modificações nas ações maternas, como a redução do tempo de lambida nos filhotes, podem influenciar as respostas comportamentais e neuroendócrinas dos mesmos, na fase da adolescência e adulta (CIRULLI; BERRY; ALLEVA, 2003; LEVINE, 2000; URIARTE et al., 2007).

## 2.2 ALTERAÇÕES DO CUIDADO MATERNO E REPERCUSSÕES NA PROLE

As mães sofrem algumas modificações características próprias da fase que se encontram, no período perinatal. No final da gestação e início da lactação ocorrem mudanças hormonais promovendo importantes ações maternas, a fim de manter a sobrevivência da prole. (BYRNES; BRIDGES, 2006; NUMAN, 1994). É importante ressaltar que vários hormônios estão envolvidos nessas alterações, dentre eles, a prolactina e ocitocina que são os principais hormônios secretados pela hipófise e estão frente ao controle hipotalâmico. Além disso, estes hormônios estão relacionados com vias neurobiológicas fundamentais no início e manutenção do comportamento materno (BOSCH, 2011; BRIDGES et al., 1985; HIGUCHI et al., 1985).

Alterações comportamentais também podem ser acompanhadas por várias mudanças na vida das gestantes, exercendo maiores cuidados para proteger sua prole e que estão diretamente relacionados à nutrição. Antes mesmo de o parto acontecer uma série de mudanças comportamentais ocorre na mãe no intuito de receber o feto (NUMAN; INSEL, 2003), são elas: ato de limpar a região mamária e forragear – movendo a maravalha para construção do ninho (NUMAN, 1987).

Experimentos realizados, em roedores, com a prole de mães classificadas como *high licking* (mães que lambem mais seus filhotes) demonstraram uma redução no comportamento preditivo de ansiedade no teste do campo aberto (CALDJI et al., 1998; URIARTE et al., 2007). Em outro estudo observaram que a prole responde menos ao medo no *probe-burying test*, quando comparados com filhotes de mães *low licking* (mães que lambem menos sua prole) (MENARD et al., 2004).

Assim, estabelecida a relação mãe e filhote, a responsividade entre a mãe e a prole é estimulada, independente da ação hormonal (VAN LEENGOED et al., 1987). A lactante precisa de vários estímulos para estabelecer essa resposta, dentre eles, comportamento como vocalizações, movimentos do corpo e pelo olfato dos seus filhotes (CIRULLI; BERRY; ALLEVA, 2003; LEVINE, 2000; URIARTE et al., 2007).

As interações estabelecidas nessa relação são significativas para o crescimento e desenvolvimento adequados dos mamíferos. A interrupção desses estímulos tem efeitos negativos durante o crescimento e desenvolvimento da ninhada (MORICEAU; SULLIVAN, 2005; SULLIVAN, 2003;). A realização de comportamentos recíprocos entre a mãe e a prole, aumenta a chance do filhote sobreviver, reproduzir e criar, com sucesso, seus próprios filhos (ANAND; SCALZO, 2000; FLEMING, 1999; INSEL & YOUNG, 2001).

Estudos demonstraram que doenças na vida adulta teriam sua origem durante a vida intrauterina. Desde então, estudos epidemiológicos têm comprovado, cada vez mais, que a saúde do adulto reflete o ambiente ao qual ele foi exposto quando ainda feto. No que diz respeito à nutrição, pensava-se que apenas em situações extremas, como a desnutrição grave, ocorreria impacto sobre a saúde do feto. Porém, atualmente está cada vez mais evidente que até mesmo pequenos “erros” alimentares maternos têm impacto significativo e duradouro na vida dos recém-nascidos (KRAMER et al., 2001). Tais impactos, como aumento de distúrbios fetais

tanto a curto como em longo prazo, tais como anomalias congênitas, peso ao nascer, tamanho inadequado para a idade gestacional, maior risco para o desenvolvimento da obesidade e síndrome metabólica em fetos nascidos de mães obesas são observados (MCMILLEN; ADAM; MÜHLHÄUSLER, 2005).

As modificações fisiológicas no organismo materno geram uma maior demanda nutricional e, o inadequado aporte energético da gestante pode levar a uma competição entre a mãe e o feto, limitando a disponibilidade dos nutrientes necessários ao adequado crescimento fetal (BUCHABPQUI et al., 2011). Assim, o estado nutricional materno é indicador de saúde e qualidade de vida tanto para a mãe quanto para o crescimento do feto, sobretudo no peso ao nascer, uma vez que a única fonte de nutrientes do concepto é constituída pelas reservas nutricionais e ingestão alimentar materna. Sendo assim, a dieta é muito importante para o desenvolvimento, crescimento, diferenciação dos diversos órgãos fetais e do desenvolvimento cerebral (RIFAS-SHIMAN et al., 2006).

O consumo de uma dieta inapropriada durante e após o estágio gestacional pode resultar em diversas modificações no organismo da mãe (ELAHI et al., 2009; BAYOL et al., 2010). Estudos realizados com ratas mantidas em uma dieta com baixo conteúdo de proteínas na gestação e lactação mostraram que as mesmas ficaram menos responsivas aos filhotes (WIENER; SMOTHERMAN; LEVINE, 1976).

Porém, em outro estudo utilizando dieta hiperlipídica, durante o mesmo período, foi observado aumento do cuidado das mães em relação aos filhotes, que conseqüentemente ingeriram uma maior quantidade de leite durante a amamentação. Ao analisar a composição do leite em ratas lactantes que consumiram a dieta hiperlipídica comparadas ao seu controle, foi observado um maior conteúdo de gordura, proteína, teor calórico bruto e diminuição do conteúdo de água sem diferenças no conteúdo de açúcares. Assim, a maior ingestão de leite pela prole, contribui para alterações metabólicas, afetando o desenvolvimento e aumento de peso da prole (PURCELL et al., 2011). Esses dados apontam claramente a influência da dieta materna sobre a composição do leite ofertado a prole (ROLLS, 1985), sugerindo que o leite da amamentação também pode ser um importante aspecto contribuinte para ganho de peso corporal precoce observado nos descendentes de mãe obesas.

A obesidade materna está relacionada ao estado nutricional da mãe e tem extrema importância no desenvolvimento da obesidade precoce na prole (BAYOL et al., 2008; BOUANANE, 2009). A obesidade também é caracterizada pela resistência à insulina, alterações no metabolismo dos carboidratos e lipídeos, aumento da massa de tecido adiposo e dos triglicerídeos, armazenamento do balanço energético positivo, além de fatores na patogênese da síndrome metabólica (ROSEN; SPIEGELMAN, 2000).

Esse conjunto de provas demonstra que a obesidade materna poder ser transmitida para as próximas gerações, confirmado através de experimentos com humanos e animais, o que sugere que o ambiente materno durante o período gestacional pode provocar o desenvolvimento da obesidade e da síndrome metabólica na prole durante a infância até a idade adulta (MACDONALD et al., 2009).

Com o propósito de corrigir estes erros, a avaliação nutricional da gestante é fundamental na sua melhor qualidade de vida e de sua prole (FREITAS et al., 2010; WILLIAMS, 2001). Portanto o presente trabalho é importante para detectar os efeitos do consumo de uma dieta de cafeteria durante a gestação relacionada ao comportamento materno, além de verificar como as alterações maternas podem afetar o desenvolvimento da prole e as respostas comportamentais durante a adolescência.

### 2.3 DIETA DE CAFETERIA NA GESTAÇÃO

Como já mencionado, a gestação é uma das fases mais complexas de alterações e ajustes metabólicos que ocorrem no organismo e tem como principal função a formação de ambiente adequado para o desenvolvimento fetal. Esse período é caracterizado por adaptações fisiológicas que visam manter o crescimento fetal normal, sem prejuízos maternos, desde que a mãe esteja em condições de saúde e nutrição adequadas. Portanto, a alimentação é um fator importante para a saúde dos indivíduos, principalmente nessa etapa que há um aumento da demanda de energia e de nutrientes (GUTHRIE; PICCIANO, 1995; KING; WEININGER, 1991).

A obesidade e seus distúrbios são geralmente atribuídos à alta ingestão de alimentos processados ou dietas *fast-food*, que contêm quantidades elevadas de calorias, gordura, sal e açúcares refinados (MARX, 2002). Essa dieta é hipercalórica e denominada dieta “ocidentalizada” ou dieta de cafeteria. Estudos em animais que utilizam a ingestão de dietas de cafeteria para induzir a obesidade a fim de simular o comportamento nutricional humano (PRADA et al., 2006) apontam alterações no metabolismo, como a resistência de insulina (NADERALI et al., 2001).

A dieta de cafeteria apresenta-se como um modelo experimental muito vantajoso, por provocar uma obesidade semelhante à humana, pois é constituída por alimentos que fazem parte dos hábitos alimentares das pessoas de países ocidentais. Ela tem alta palatabilidade, substâncias altamente calóricas que variam de acordo com os diferentes grupos de pesquisa, como bacon ou banha, castanhas, leite condensado, refrigerantes, chocolate, amendoim, guloseimas, entre outros. Essa dieta é capaz de produzir um incremento de peso corporal e aumentar a quantidade de gordura visceral (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006).

A dieta de cafeteria é fornecida juntamente com a ração padrão e baseia-se em uma escolha de alimentos processados que possuem uma elevada quantidade de calorias (SCOARIS, 2009). Embora contenha um maior valor energético, possui baixo valor nutritivo, pois está sobrecarregada com carboidratos e gorduras. Assim este tipo de dieta é caracterizado pela capacidade de induzir o armazenamento de lipídeos, não só o aumento do tecido adiposo, mas também o aumento do estresse oxidativo em todo o sistema (SCOARIS, 2009).

As consequências relacionadas às dietas de cafeteria são muitas, entre elas se destacam, a capacidade de desenvolvimento da obesidade pela elevada densidade calórica e alterações metabólicas provocadas pelo excesso de peso e desequilíbrio na oferta dos macronutrientes e micronutrientes (ALBUQUERQUE et al., 2006; SILVA et al., 2014).

Além disso, foi demonstrado no estudo de Lanza et al. (2014) que ratos machos e fêmeas jovens tratados com dieta de cafeteria, após o desmame e durante oito semanas apresentaram redução no comportamento preditivo de ansiedade, na atividade locomotora e um aumento da interação social. Após a retirada desta dieta por uma semana, ocorreu um aumento significativo de comportamentos preditivos de ansiedade no teste de campo aberto.

Dessa forma, como poucos estudos procuraram submeter os modelos experimentais relacionando a dieta de cafeteria, o comportamento materno e consequências na prole, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da dieta de cafeteria introduzida durante o período gestacional em camundongos fêmeas. Além disso, foi avaliada a repercussão dos efeitos relacionados à dieta no desenvolvimento dos filhotes e nas respostas comportamentais da prole adolescente.

### **3 JUSTIFICATIVA**

Durante o período perinatal é essencial uma alimentação adequada. Porém, atualmente existe um elevado consumo de dietas de cafeteria que quando ingeridas no período perinatal pode alterar a relação mãe-filhote e prejudicar respostas emocionais na prole durante a adolescência. Portanto, o presente estudo avaliou a influência da dieta de cafeteria sobre o comportamento materno, desenvolvimento da prole e comportamento dos filhotes adolescentes.

## 4 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho estão descritos abaixo.

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da dieta de cafeteria durante a gestação sobre as respostas comportamentais em camundongos fêmeas na lactação e a repercussão no desenvolvimento físico e reflexo e o comportamento da prole adolescente.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Investigar os efeitos da dieta de cafeteria sobre o comportamento materno em camundongos fêmeas lactantes;
- b) Investigar os efeitos da dieta de cafeteria no ganho de peso da mãe durante a gestação e da ninhada durante a lactação;
- c) Investigar a influência da dieta de cafeteria nos aparatos de claro-escuro e campo aberto em camundongos fêmeas lactantes;
- d) Investigar a influência da dieta de cafeteria sobre o desenvolvimento físico e reflexo dos filhotes;
- e) Investigar a influência da dieta de cafeteria sobre o desempenho comportamental nos testes claro-escuro, nado forçado, campo aberto e *Play Behavior* em filhotes na adolescência;

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

O material e métodos utilizados neste trabalho estão descritos a abaixo.

### 5.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos fêmeas *Swiss* pesando de 25 a 30 g, a partir de sete semanas de vida provenientes do Biotério Central da UNIFAL-MG. Os camundongos foram alojados no biotério do laboratório de Fisiologia na UNIFAL-MG, campus Alfenas em caixas de polipropileno, adequadas à sua manutenção e tratadas com dieta normal ou dieta de cafeteria, água *ad libitum* e mantidas em sala climatizada a  $21 \pm 2$  °C em ciclo 12 horas claro-escuro. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela comissão de ética em experimentação animal da Unifal-MG (CEUA – protocolo n° 620/2015).

### 5.2 DIETAS

No procedimento experimental foram utilizadas duas dietas durante a gestação.

#### 5.2.1. Dieta normal

A dieta normal utilizada foi a ração comercial (Nuvilab® CR1) em forma de “pellets” (Tabela 1).

### 5.2.2. Dieta de cafeteria

A dieta de cafeteria foi constituída com os seguintes alimentos: chocolate Nestlé Classic® ao leite, *wafer* Bauducco® de morango, bacon Tropeiro®, queijo mozarela, batata *Ruffles*® original, ração comercial (Nuvilab® CR1). Os alimentos foram ofertados na forma em que são adquiridos, *in natura*. (Tabela 1).

Tabela 1- Composição nutricional da Dieta Normal e Dieta de Cafeteria.

<b>DIETAS</b>	<b>Carboidrato (CHO)</b>	<b>Lipídeos (LIP)</b>	<b>Proteínas (PTN)</b>	<b>Quilocalorias (Kcal)</b>
Normal	6,36 g	0,54 g	2,4 g	39,9
Cafeteria	4,52 g	3,79 g	1,53 g	58,3

Nota: Valores de referência com base em uma dieta de 12g/Kcal na DN e DC. A DC foi baseada na proporção de 1:1:1:1:1, ou seja, 2 g/kcal por alimento composto da DC: *wafer*, bacon, queijo, batata, chocolate e ração. Os valores utilizados para o cálculo da Kcal foram 4 - PTN e CHO e 9 - LIP (Fórmula Kcal: gramas x 4 ou 9 (de acordo com macronutriente utilizado))

Fonte: Da autora.

### 5.3 ACASALAMENTO

Os camundongos fêmeas foram colocados na caixa com camundongo sexualmente experiente para o acasalamento, na proporção de três fêmeas para um macho. O dia em que os camundongos fêmeas estavam com a presença de tampão vaginal (rolha) foi considerado como sendo o primeiro dia de gestação e o primeiro dia de tratamento com as dietas. Assim elas foram separadas em grupos (duas ou três camundongos por caixa) e no 16º de gestação foram novamente separadas em caixas individuais até o nascimento da prole, que ocorreu entre o 20º e o 21º dia de gestação.

O dia de nascimento dos filhotes foi considerado como o 1º dia de lactação e o último dia do tratamento com as diferentes dietas. No 2º dia de lactação, as ninhadas foram padronizadas em oito filhotes, sendo quatro machos e quatro fêmeas para todos os procedimentos experimentais.

#### 5.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para os procedimentos experimentais com as mães, os camundongos fêmeas foram separados em dois grupos experimentais: dieta de cafeteria e controle (dieta normal), iniciando o a dieta de cafeteria no 1º dia de gestação e encerrando-o no 1º dia de lactação.

Os grupos experimentais de dieta de cafeteria receberam, por dia, na proporção 1:1:1:1:1 os alimentos na sua forma *in natura* (chocolate, *wafer*, bacon, queijo mozzarella, batata, ração comercial) e água *ad libitum*. O grupo controle, caracterizado como dieta normal, recebeu apenas ração comercial em forma de “Pellets” e água *ad libitum*.

A avaliação do ganho de peso das mães foi realizada durante todo o período de gestação e os animais foram pesados a cada três. Durante a lactação foi verificado o ganho de peso da ninhada a cada 2 dias.

Assim, para os procedimentos experimentais com as mães, os grupos DN e DC foram os seguintes:

- a) Um grupo de animais foram utilizados para avaliação do ganho peso, ingestão diária e calórica das mães (n = 12 mães por grupo);
- b) Um grupo de animais foram utilizados para avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal das mães (22 mães por grupo);
- c) Um grupo de animais foram utilizados avaliação do comportamento materno (n = 14 mães por grupo), claro-escuro e campo aberto (n = 11-12 mães por grupo);

Para os procedimentos experimentais com os filhotes, os grupos consistiram em filhotes de mães DC ou DN:

- d) Um grupo de mães foram utilizadas para avaliação de suas ninhadas: desenvolvimentos físico e reflexos, ganho de peso, comprimento nasoanal, distância anogenital e índice de crescimento dos filhotes (n= 5 ninhadas por grupo sendo 4 machos e 4 fêmeas de cada ninhada).

Para a avaliação do desempenho comportamental dos filhotes, foram utilizados machos e fêmeas das mães provenientes dos itens a e c:

- e) Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal dos filhotes: n = 16 filhotes DN (1 macho e 1 fêmea por ninhada) e 14 filhotes (1 macho e 1 fêmea por ninhada) DC;
- f) Desempenho comportamental dos filhotes adolescentes machos e fêmeas no nado forçado e claro-escuro: n = 9 filhotes por grupo (1 macho e 1 fêmea por ninhada).
- g) Desempenho comportamental dos filhotes adolescentes machos e fêmeas no aparato de campo aberto: n = 12 filhotes (1 macho e 1 fêmea por ninhada) DN e 13 filhotes (1 macho e 1 fêmea por ninhada) DC; e *play behavior*: n = 10 filhotes machos por grupo (1 macho por ninhada) e 12 filhotes fêmeas DC (1 fêmeas por ninhada).

Os filhotes que não foram utilizados para avaliação comportamental, foram utilizados para coleta de sangue e estruturas encefálicas, para futuros procedimentos experimentais.

## 5.5 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES

O comportamento materno foi avaliado durante sete dias de lactação de acordo com procedimentos descritos por Myers et al. (1989), Champagne et al. (2003) e Uriarte et al. (2007). O comportamento de cada camundongo lactante foi registrado durante quatro períodos diariamente até o 8º dia de lactação. Foram quatro sessões de setenta e dois minutos de observação que ocorreram em horários regulares (08h00min, 12h00min, 16h00min e 20h00min). Em cada sessão, o comportamento dos camundongos lactantes foi registrado a cada 3 minutos (25 observações por período x quatro períodos por dia = 100 observações/camundongo/dia). Os seguintes comportamentos foram registrados: camundongo sem filhotes: quando o camundongo estiver longe do ninho e sem contato físico com os filhotes (explorando, não explorando e alimentando-se); camundongo lambendo os filhotes; camundongo sobre os filhotes em posição não arqueada; camundongo sobre os filhotes em posição arqueada (cifose);

camundongo em posição passiva: deitada de costas ou de lado; camundongo construindo o ninho: quando o camundongo pega o filhote pela boca ou empurra-o para o ninho; *self grooming*.

## 5.6 GANHO DE PESO DAS MÃES DURANTE A GESTAÇÃO E DOS FILHOTES DURANTE A LACTAÇÃO

Nos dias 0, 1º, 3º, 6º, 9º, 12º, 15º e 18º de gestação a mãe foi pesada separadamente, em balança semianalítica e o seu peso em gramas foi anotado para futura análise estatística. A ninhada também foi pesada em balança semianalítica nos dias 2º, 5º, 8º, 11º, 14º, 17º e 20º durante a lactação e o peso foi registrado para posterior análise.

## 5.7 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DAS DIETAS

Os camundongos foram acompanhados no controle da ingestão da dieta a cada 3 dias durante a gestação (1º a 18º dia de gestação) tanto para mães com dieta normal quanto para aquelas que ingerem dieta de cafeteria para uma análise das calorias ingeridas por cada animal, foi realizada a média de consumo para cada mãe que estava na caixa.

## 5.8 AVALIAÇÃO DA QUANTIFICAÇÃO DA ADIPOSIDADE NAS MÃES E NOS FILHOTES ADOLESCENTES

Foram calculados o Índice de Lee e a adiposidade abdominal, nas mães e nos filhotes na adolescência, de mães exposta as dietas.

### 5.8.1 Índice de Lee

O peso e o comprimento nasoanal (CNA) dos animais foram registrados para o cálculo do índice de Lee, que é a relação entre a raiz cúbica do peso corporal e o comprimento nasoanal do animal [ $\sqrt[3]{\text{Peso (g)}} / \text{CNA (cm)}$ ] (DE MOURA et al., 2008).

### 5.8.2 Quantificação da adiposidade abdominal

A quantificação da adiposidade abdominal foi realizada após a morte do animal (por excesso de anestésico inalatório - Isoflurano) por meio de dissecação dos depósitos de gordura peri-gonadal e retroperitoneal que foram imediatamente pesados. O resultado foi expresso em g/10g e peso corporal (FERNANDEZ et al., 2009).

## 5.9 DESEMPENHO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO TESTE CLARO-ESCURO E NO CAMPO ABERTO

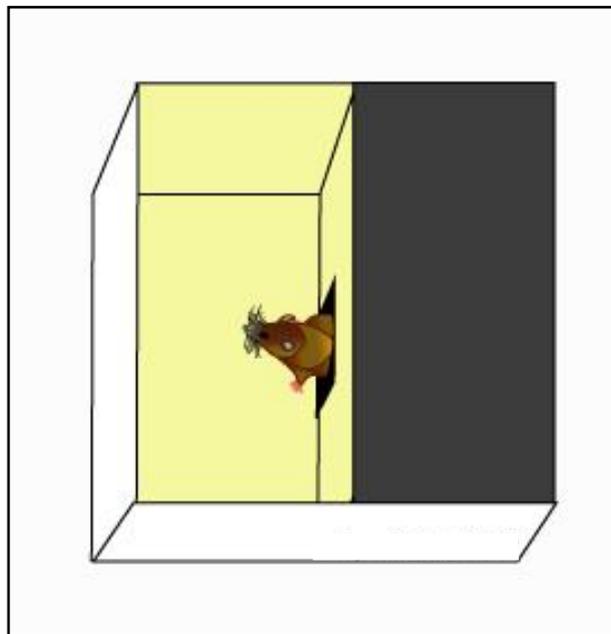
Abaixo os testes claro-escuro e campo aberto foram descritos.

### 5.9.1 Claro-escuro

O teste claro-escuro avaliou o comportamento preditivo de ansiedade do animal. O aparato utilizado foi feito de acrílico dividido em 2 compartimentos (lado claro e lado escuro) que se comunicam por meio de uma pequena porta. O lado escuro (acrílico preto, 27 x 18 x 29 cm) não tem iluminação e o claro (acrílico transparente, 27 x 18 x 29 cm) é iluminado pela luz do ambiente (Figura 2). O

camundongo foi colocado no aparato na parte do lado claro em direção a porta que leva a entrada do lado escuro e observado por uma filmagem de 5 minutos. Após cada ensaio, o equipamento foi limpo com solução de etanol 10%. Os parâmetros utilizados para posterior análise foram: o tempo de latência para entrada do camundongo no lado escuro e tempo em segundos de permanência no lado claro-escuro (CRAWLEY, 1981). A análise foi por meio da observação dessas filmagens realizadas no quinto ou sexto dia de lactação.

Figura 2-Representação do Aparato Claro Escuro



Fonte: Lynn Talton,2007

### 5.9.2 Campo aberto

O campo aberto (*open field*), além de ser um modelo preditivo de parâmetros de ansiedade, é um teste útil para análise da atividade locomotora do animal, pois permite a quantificar a atividade motora espontânea (VILELA; SONCINI; GIUSTI-PAIVA, 2009). O aparato do campo consiste de uma arena circular de acrílico, com diâmetro de 60 cm e paredes com 50 cm de altura, com o piso dividido em quadrantes, dos quais 8 áreas junto às paredes do aparato são consideradas

periferia e os 4 demais como centrais (Figura3). O camundongo foi colocado no centro arena e a sua atividade locomotora, caracterizada quando o animal atravessa uma linha e colocava as 4 patas dentro de um mesmo quadrado, assim observado. Avaliou o número de cruzamentos com as quatro patas no centro, na periferia, total de *rearings* (exploração vertical) e o efeito anti-tigmotático (número de entradas no centro/número total de entradas) durante a filmagem de cinco minutos (VALLE, 1970). Após cada teste, o campo aberto foi limpo com álcool 10%. A análise foi realizada por meio da observação dos vídeos obtidos por filmagem de cada experimento, e o mesmo foi realizado no quinto ou sexto dia de lactação.

Figura 3- Representação do aparato de campo aberto



Fonte: SCIENLABOR, 199-?

## 5.10 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES

Do período pós-nascimento até o desmame (21 dias), 5 ninhadas por grupo foram submetidas à avaliação das medidas biométricas: comprimento nasoanal (CNA), distância anogenital (DAG) e o índice crescimento ( $IC = DAG/CNA$ ) e dos parâmetros de desenvolvimento físico e reflexo (ARAKAWA; ERZURUMLU, 2015; CALVINO-NÚÑEZ; DOMÍNGUEZ-DEL-TORO, 2014).

### 5.10.1 Parâmetros biométricos

O CNA, a DAG e o IC em milímetros foram medidos a cada dois dias, também separadamente em machos e fêmeas.

### 5.10.2 Desenvolvimento reflexo

Foram verificados os dias nos quais apareceram o reflexo de endireitamento, geotaxia negativa, agarramento das patas, reflexo de *rooting*, reposta auditiva, resposta à sensibilidade das vibrissas em machos e fêmeas.

### 5.10.3 Desenvolvimento físico

Foram verificados os dias nos quais apareceram deslocamento da orelha, abertura dos olhos, peso, crescimento nasoanal, crescimento anogenital, revestimento primário, separação dos dígitos das patas dianteiras e traseiras, erupção dos incisivos superiores e inferiores, nos machos e fêmeas e aparecimento dos mamilos somente nas fêmeas.

## 5.11 DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NOS TESTES CLARO-ESCURO, NADO FORÇADO, CAMPO ABERTO E *PLAY BEHAVIOR*

Os testes claro-escuro, nado forçado, campo aberto e *Play Behavior* foram realizados com os filhotes adolescentes, entre 28° e 31° dias após o nascimento. Foram utilizados camundongos machos e fêmeas para cada grupo.

### 5.11.1 Claro-escuro

Foi realizado o mesmo procedimento experimental descrito anteriormente, porém aqui foram avaliados os camundongos adolescentes machos e fêmeas de cada grupo após 30 dias ao nascimento.

### 5.11.2 Nado forçado

O teste do nado forçado é um modelo preditivo de parâmetros tipo depressivo, desenvolvido de acordo com o método descrito por Porsolt et al. (1977). Utiliza-se um cilindro vertical de vidro, com dimensões de 14 cm de diâmetro e 25 cm de altura, preenchido com água à 28°C até a altura de 20 cm. O volume de água permite que o animal nada ou boie (*float*) sem encostar as patas ou a cauda no fundo do recipiente (Figura 4). Para o teste, cada camundongo foi colocado no cilindro por 6 minutos e avaliou tempo de latência e o tempo de imobilidade cronometrado durante a respectiva sessão. A análise foi realizada através da observação dos vídeos obtidos por filmagem dos seis minutos de cada experimento, mas somente os quatro últimos minutos foram analisados.

Figura 4 - Representação do nado forçado



Fonte: Adaptado de Cryan; Markou; Lucki, 2002, Maneira, 2014

### 5.11.3 Campo aberto

O teste do campo aberto foi realizado nos filhotes ao 28° dia após o nascimento referente à mesma metodologia descrita anteriormente nos testes comportamentais dos camundongos fêmeas lactantes.

### 5.11.4 *Play Behavior*

O teste *Play Behavior* foi realizado em uma arena circular de acrílico transparente com diâmetro de 60 cm e paredes com 50 cm de altura (o mesmo aparato utilizado para o campo aberto). O camundongo adolescente (entre 28° a 31° dia após o nascimento) foi habituado individualmente no aparato durante dois dias consecutivos por 10 minutos antes do teste. No dia do ensaio, o animal foi socialmente isolado antes por 3,5 horas, para melhorar sua motivação social e, assim, facilitar a expressão de comportamento de brincar durante o teste. O ensaio consistiu na colocação de dois camundongos filhotes na adolescência testes do mesmo grupo experimental, porém não eram da mesma ninhada, na arena durante 15 minutos. Os camundongos dos testes eram do mesmo sexo, raça, idade (diferença de no máximo 10 gramas do peso corporal entre os filhotes), além de não possuir nenhuma experiência social comum anterior, o comportamento dos camundongos foi filmado durante 15 minutos utilizando uma câmera de vídeo.

A análise das gravações foi realizada posteriormente considerando os seguintes comportamentos: tempo de *fowling* (ato de seguir o parceiro), latência e tempo de *sniffing* (ato de cheirar qualquer parte do corpo do parceiro, incluindo a área anogenital), frequência de *push* (ato de empurrar o parceiro no sentido de chamar para brincar), frequência de *crawl* (quando o animal passa sob ou sobre o parceiro) e o tempo de não exploração social (YANG; CLARKE; CRAWLEY, 2009).

## 6 ANÁLISE ESTÁTISTICA

Os resultados obtidos foram analisados utilizando um *software GraphPad* versão 6.0 e expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média. Foi aplicado o teste *t de Student* para comparação de duas médias. No teste para comparação de dois fatores foi utilizado a análise de variância *two way ANOVA*, seguida pelo pós-teste de *Bonferroni*. Os resultados com  $p < 0.05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 7 RESULTADOS

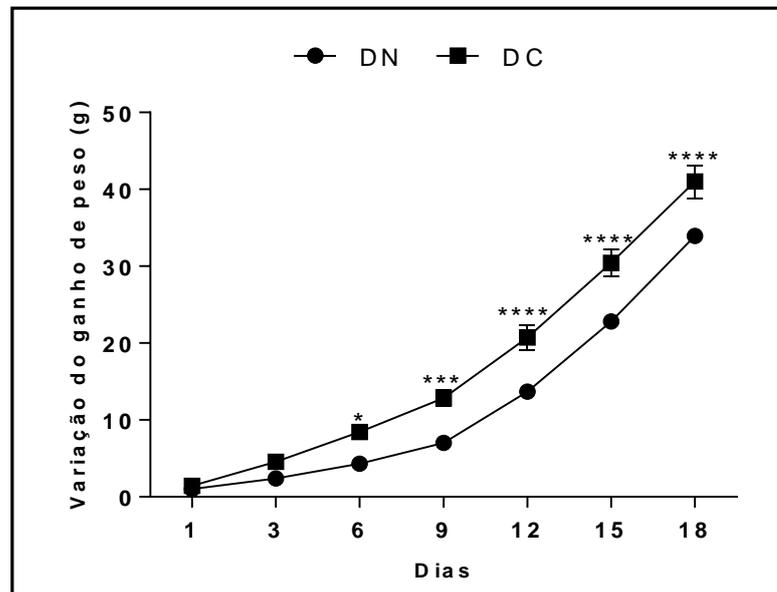
Os resultados do estudo estão apresentados a seguir.

### 7.1 AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS GESTANTE

Na figura 5 é mostrado a variação do ganho de peso das fêmeas que ingeriram dieta de cafeteria (DC) comparada com as que ingeriram dieta normal (DN) durante a gestação.

A análise através de *two-way* ANOVA mostrou que houve efeitos no fator tratamento (T) e dia de gestação (DG), e ainda interação entre os dois fatores (T x DG) quando analisada a variação do ganho de peso (T:  $F_{1, 77} = 82,68$  e  $p < 0,0001$ ; DG:  $F_{6, 77} = 407,0$  e  $p < 0,0001$ ; T x DG  $F_{6, 77} = 3,786$  e  $p < 0,01$ ). De acordo com apresentados na figura 5, pode-se observar que a partir do 6º dia gestação houve aumento do ganho de peso dos camundongos gestantes que receberam tratamento com dieta de cafeteria em relação aos camundongos tratados com dieta normal que se manteve até o 18º dia de gestação.

Figura 5 - Variação do ganho de peso (g) das mães que ingeriram dieta normal ou dieta de cafeteria durante o período de gestação



Nota: Valores expressos como média  $\pm$  SEM \*  $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,0001$  (ANOVA Two-way seguido do pós-teste de *Bonferroni*). DN  $n = 12$  e DC  $n = 12$ .

Fonte: Da autora.

## 7. 2 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DAS DIETAS

Conforme mostrado na tabela 2, a análise por meio da *two-way* ANOVA mostrou que houve efeitos no fator tratamento (T) e dia de gestação (DG), e ainda interação entre os dois fatores (T x DG) quando analisada a ingestão diária (T:  $F_{1,77} = 14,61$  e  $p < 0,001$ ; DG:  $F_{6,77} = 14,07$  e  $p < 0,0001$ ; T x DG:  $F_{6,77} = 3,187$  e  $p < 0,01$ ).

A análise do pós-teste *Bonferroni* demonstrou que não houve diferença da ingestão diária das mães que consumiram DC comparada com as mães que ingeriram DN nos diferentes dias avaliados.

Em relação à ingestão calórica, a análise por meio de *two-way* ANOVA mostrou que houve efeitos no fator tratamento (T) e dia de gestação (DG), e ainda interação entre os dois fatores (T x DG) quando analisada a ingestão diária (T:  $F_{1,77}$

= 193,4 e  $p < 0,0001$ ; DG:  $F_{6,77} = 7,690$   $p < 0,0001$  e  $p$ ; T x DG:  $F_{6,77} = 3,504$  e  $p < 0,001$ ).

A análise do pós-teste *Bonferroni* demonstrou que houve aumento na ingestão calórica das mães DC comparadas com as mães DN nos diferentes dias analisados.

Tabela 2 - Variação da ingestão diária (g) e ingestão calórica (Kcal) das mães que ingeriram dieta normal e dieta de cafeteria durante o período de gestação.

Tratamento Dias	Ingestão Diária das Mães DN	Ingestão Diária das Mães DC	Ingestão Calórica das Mães DN	Ingestão Calórica das Mães DC
1°	6,597±0,223	7,041±0,351	19,792 ±0,668	31,048±1,611****
3°	8,479±0,320	7,881±0,144	25,438 ±0,960	34,661±1,465****
6°	7,460±0,322	7,039±0,222	22,379 ±0,967	30,660±1,254****
9°	7,987±0,226	6,934±0,160	23,962±0,679	32,097±1,274****
12°	8,289±0,255	7,804±0,254	24,866±0,764	35,528±1,433****
15°	8,970±0,521	8,863±0,225	26,910±1,563	37,532±1,461****
18°	10,145±0,316	8,342±0,501	30,435±0,948	32,630±1,518

Nota: Valores expressos como média ± SEM \*\*\*\*  $p < 0,0001$  (ANOVA *Two-way* seguido do pós-teste de *Bonferroni*). DNn=12 e DC n= 12.

Fonte: Da autora.

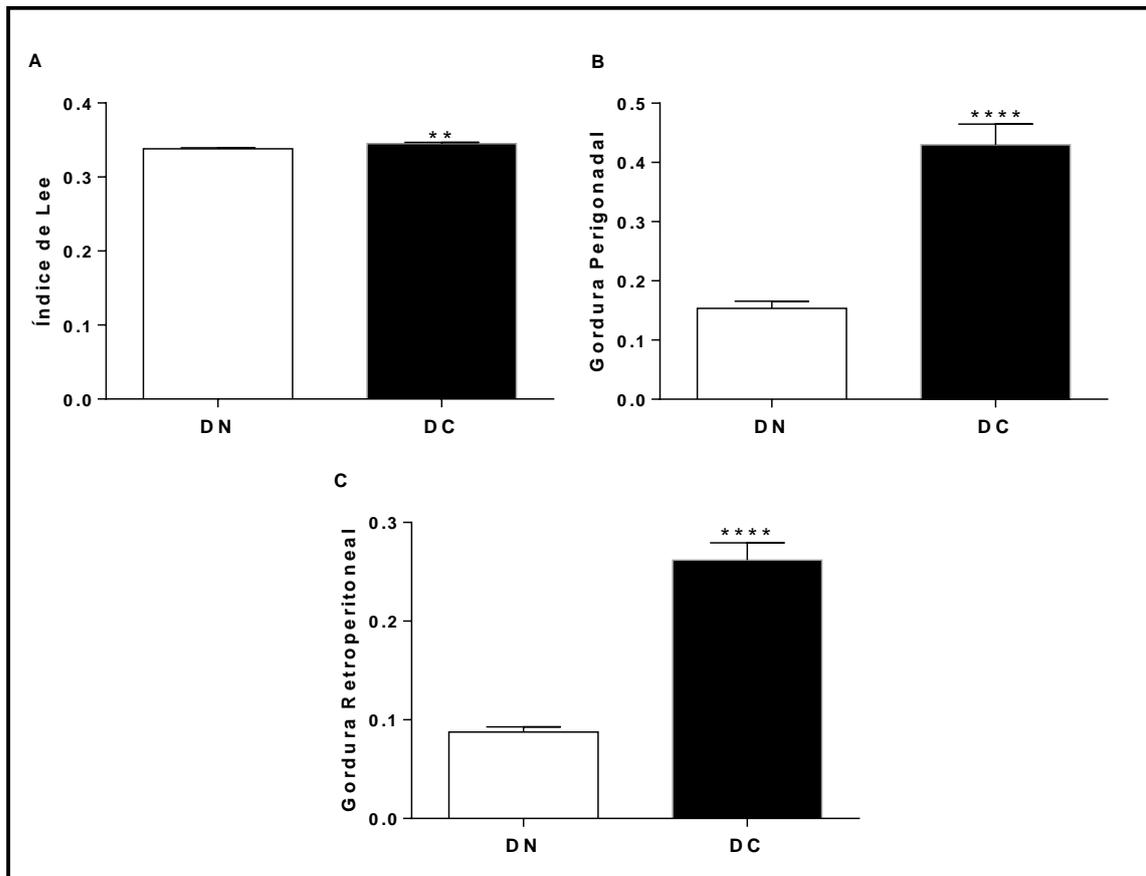
### 7.3 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE LEE E DA QUANTIFICAÇÃO DA ADIPOSIDADE ABDOMINAL DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS GESTANTE

Na figura 6 demonstra-se a avaliação do índice de Lee e quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal) dos camundongos fêmeas gestantes.

A análise através do teste *t de student* mostrou que houve diferença do índice de Lee e da gordura abdominal das mães DC quando comparadas com as mães DN.

Assim pode-se observar que houve um aumento do Índice de Lee ( $p < 0,01$ ) e na adiposidade abdominal perigonal ( $p < 0,0001$ ) e retroperitoneal ( $p < 0,0001$ ) das mães DC em relação a mães DN, respectivamente gráficos A, B e C.

Figura 6 - Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal).



Nota: Índice de Lee, Gordura Perigonadal e Gordura Retroperitoneal em camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria (DC n=22) ou dieta normal (DN n=22) no 2º dia lactação (Gráficos A, B e C). Índice de Lee (A), Gordura Perigonadal (B), Gordura Retroperitoneal (C). Valores expressos como média ± SEM (Teste *t* de Student). \*\* p < 0,01, \*\*\*\* p < 0,0001, quando comparado com controle.

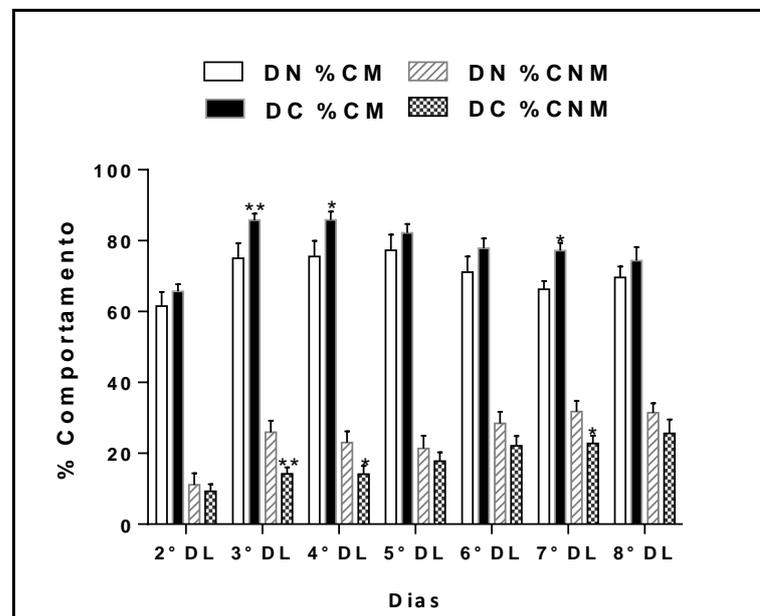
Fonte: Da autora.

#### 7.4 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO DOS CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES

Na figura 7 é mostrado o comportamento materno (CM) e não materno (CNM), ou seja, análises dos parâmetros maternos (lambendo *pups*, cifo, sobre filhotes, posição passiva, forrageando e *self-grooming*) e não maternos (alimentando-se, explorando e não explorando) de mães tratadas com dieta de cafeteria (comparadas com seu respectivo controle) por dia, desde 2º até 8º dia de lactação (DL). Os dados foram obtidos a partir da porcentagem de observações por dia, calculando-se a porcentagem de observações das quatro análises diárias.

A análise através do teste *t de student* mostrou que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) do CM e CNM das mães DC em relação a mães DN no 2º, 5º, 6º e 8º DL. Em relação ao CM houve um aumento significativo no 3º DL ( $p < 0,01$ ) e no 4º e 7º DL ( $p < 0,05$ ) das mães DC comparadas com o controle. Já em relação ao CNM houve uma redução significativa no 3º DL ( $p < 0,05$ ) e no 4º e 7º DL ( $p < 0,01$ ) das mães tratadas com DC comparadas com as tratadas com DN como observado.

Figura 7 - Avaliação do comportamento materno (CM) e não materno (CNM) dos camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria e comparadas com seu controle tratadas de dieta normal.



Nota: Porcentagem do CM e CNM do 2º, 3º, 4º, 5º, 6º, 7º e 8º DL. Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t de Student*). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , quando comparado com seu respectivo controle. DN=14 e DC=14

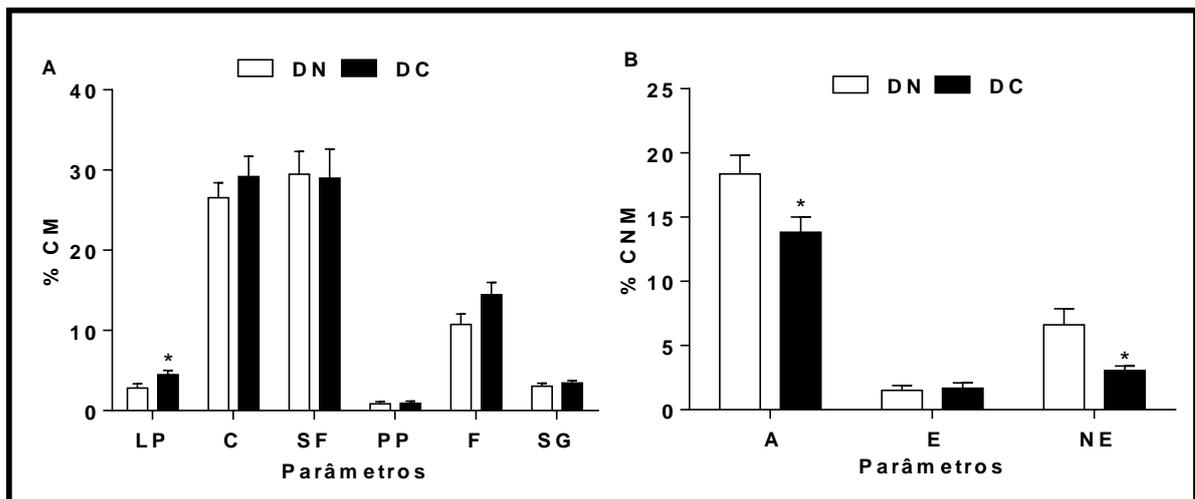
Fonte: Da autora.

Na figura 8 é mostrado a porcentagem dos parâmetros maternos (*licking pups*, cifose, sobre os filhotes, posição passiva, forrageando e *self-grooming*) em A, e em B parâmetros não maternos (alimentando-se, explorando e não explorando) de mães com tratamento de dieta de cafeteria (comparadas com seu respectivo controle) na primeira semana de lactação (2º - 8º dia de lactação). Os dados foram obtidos a partir do somatório das observações das quatro análises diárias na primeira semana e calculando-se a porcentagem de observações.

A análise através do teste *t de student* mostrou que não houve diferença ( $p < 0,05$ ) dos parâmetros maternos de cifose, sobre os *pups*, passiva, forrageando e *self-grooming* de mães com tratamento de dieta de cafeteria (DC) em comparação com mães tratadas com dieta normal (DN). Já o parâmetro *licking pups* apresentou aumento ( $p < 0,05$ ) em mães tratadas com DC em relação ao seu controle (DN), gráfico A.

Em relação à porcentagem dos parâmetros não maternos demonstrou que houve redução ( $p < 0,05$ ) dos parâmetros alimentando-se e não explorando das mães tratadas com DC comparados as mães tratadas com DN como observado no gráfico B.

Figura 8 - Avaliação dos parâmetros materais e não materais do comportamento materno.



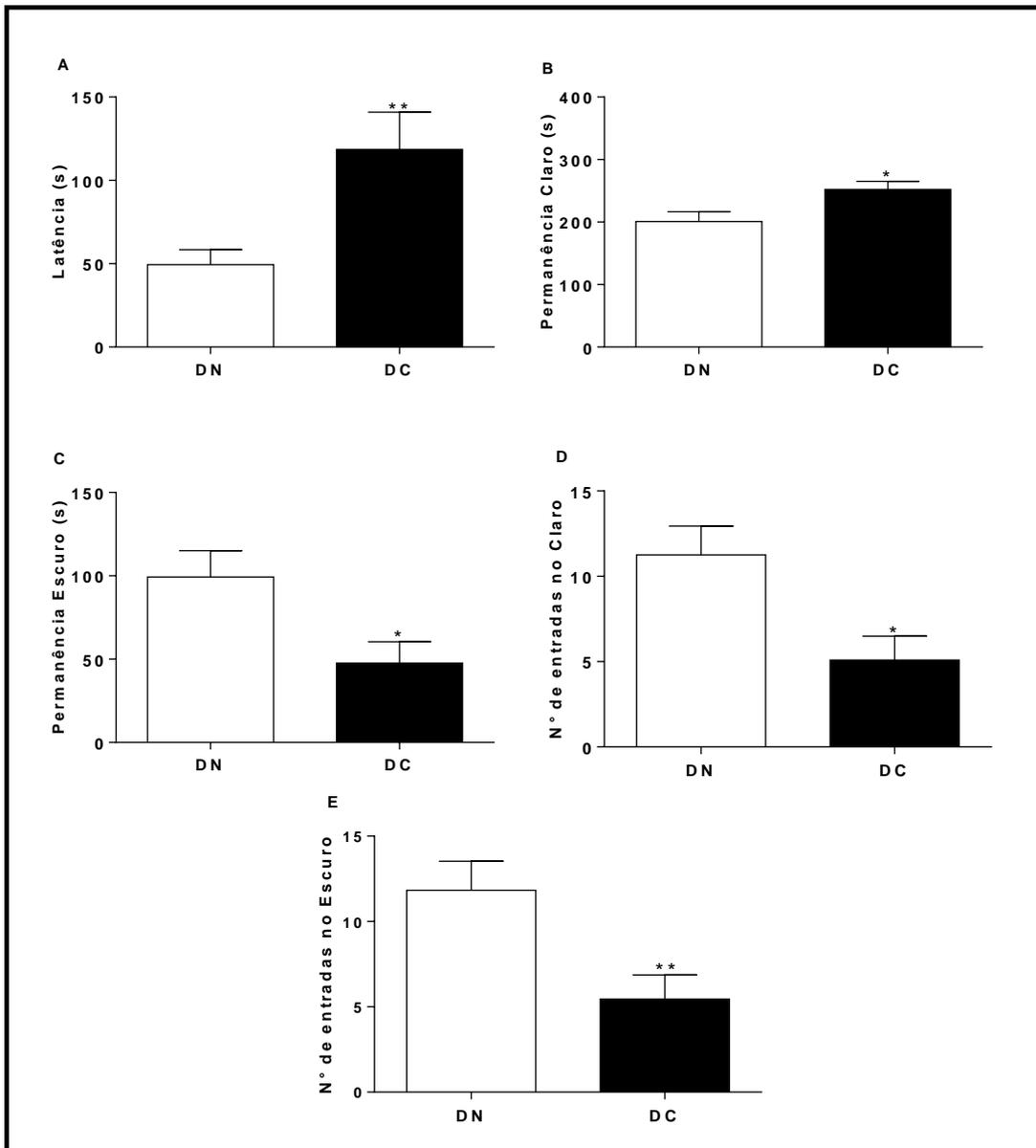
Nota: Parâmetros materais (CM): *licking pups* (LP), cifose (C), sobre os filhotes (SF), posição passiva (PP), forrageando (F) e *self-grooming*; e não materais (CNM): alimentando-se (A), explorando (E) e não explorando (NE) dos camundongos que receberam a dieta de cafeteria (DC  $n=10$ ) e dieta normal (DN  $n=10$ ) na primeira semana de lactação (2<sup>o</sup> - 8<sup>o</sup> dia de lactação), gráficos A (% CM) e B (% CNM). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t de Student*). \* $p < 0,05$ , quando comparado com seu respectivo controle  
Fonte: Da autora.

## 7.5 DESEMPENHOS COMPORTAMENTAIS DE CAMUNDONGOS FÊMEAS LACTANTES NO TESTE CLARO-ESCURO E NO CAMPO ABERTO

Na figura 9 é demonstrado o desempenho de mães tratadas com dieta de cafeteria (DC) comparada com mães tratadas com dieta normal (DN) no teste claro-escuro. Mães DC apresentaram aumento dos parâmetros: latência ( $p < 0,01$ ) e

permanência no claro ( $p < 0,05$ ), comparadas com mães DN como observado nos gráficos A e B. E (Figura 9) uma redução do parâmetro permanência no escuro ( $p < 0,05$ ), número de entradas no claro ( $p < 0,05$ ) e número de entradas no escuro ( $p < 0,01$ ), como observados nos gráficos C, D e E (Figura 9).

Figura 9 - Teste de claro-escuro em camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria (DC n=11) ou dieta normal (DN n=12) no 5° ou 6° dia de lactação.



Nota: Latência (A), Permanência Claro (B), Permanência Escuro (C), N° de Entradas no Claro (D) e N° de Entradas no Escuro (E). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , quando comparado com controle. DN= 11 e DC= 12.

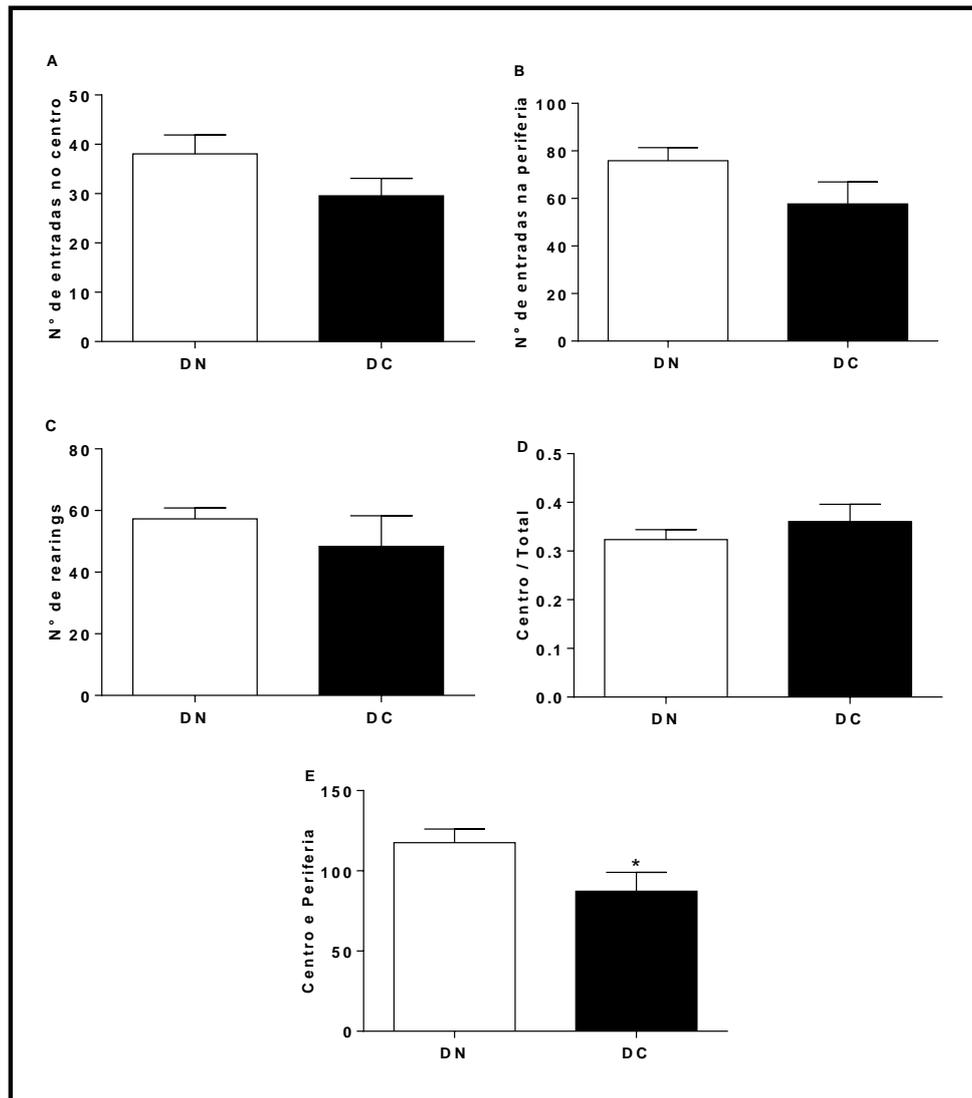
Fonte: Da autora

Na figura 10 é demonstrado o desempenho de mães DC comparadas com seu respectivo controle (DN) no teste de campo aberto.

Mães DC quando comparadas com mães DN não apresentaram alteração ( $p > 0,05$ ) dos parâmetros de número de entradas no centro, número de entradas na periferia, *rearings*, razão de cruzamentos centrais/número de cruzamentos totais e cruzamento centrais e cruzamentos periféricos como observado nos gráficos A, B, C, D e E respectivamente (Figura 10).

Mães DC quando comparadas com mães DN apresentaram redução ( $p < 0,05$ ) no parâmetro do número de cruzamentos totais (centro e periferia), como observado nos gráfico F.

Figura 10 - Teste de campo aberto em camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria (DC n=11) ou dieta normal (DN n=12) no 5º ou 6º dia de lactação.



Nota: Número de cruzamentos centrais (A), número de cruzamentos periféricos (B), rearings (C), razão de cruzamentos centrais/número de cruzamentos totais (D), número de cruzamentos totais (E). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student). \*  $p < 0,05$ , quando comparado com controle.

Fonte: Da autora

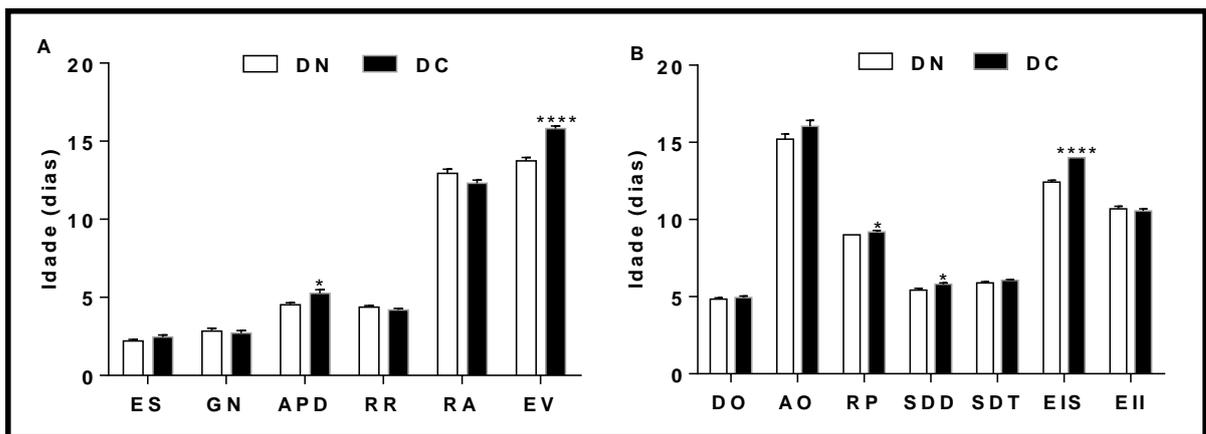
## 7.6 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES

Na figura 11 é demonstrado o desenvolvimento físico e de reflexo dos filhotes machos de mães que fizeram ingestão DC durante a gestação em comparação com os de mães DN.

Pode-se observar que os filhotes de mães que ingeriram DC apresentaram um retardo nos desenvolvimentos físicos e de reflexos quando comparados ao seu controle, apresentando redução dos parâmetros de agarramento das patas dianteiras (APD) ( $p < 0,05$ ), estimulação das vibrissas (EV) ( $p < 0,0001$ ), revestimento primário (RP) ( $p < 0,05$ ), separação dos dígitos dianteiros (SDD) ( $p < 0,05$ ) e erupção dos incisivos superiores (EIS) ( $p < 0,0001$ ) como demonstrado no gráfico A e B, respectivamente.

Os parâmetros de desenvolvimento de endireitamento de superfície (ES), geotaxia negativa (GN), reflexo de *rooting* (RR), resposta auditiva (RA), deslocamento das orelhas (DO), abertura dos olhos (AO), separação dos dígitos traseiros (SDT) e erupção dos incisivos superiores (EII) não apresentaram diferenças quando comparados ao controle.

Figura 11 - Avaliação do desenvolvimento Reflexo e Físico dos filhotes machos.



Nota: Avaliação do desenvolvimento de reflexo (**ES**: Endireitamento de Superfície, **GN**: Geotaxia Negativa, **APD**: Agarramento das Patas Dianteiras, **RR**: Reflexo de *Rooting*, **RA**: Resposta Auditiva e **EV**: Estimulação das Vibrissas - Gráfico A) e físico (**DO**: Descolamento da orelha, **AO**: Abertura dos Olhos, **RP**: Revestimento Primário, **SDD**: Separação dos Dígitos Dianteiros, **SDT**: Separação dos Dígitos Traseiros, **EIS**: Erupção dos Incisivos Superiores e **EII**: Erupção dos Incisivos Inferiores - Gráfico B), e dos filhotes machos de mães controles (Controle n=19) e dos filhotes machos de mães dieta de cafeteria (DC n=20) do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação. Valores expressos como média ± SEM (teste t) \* $p < 0,05$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  quando comparados com o respectivo controle.

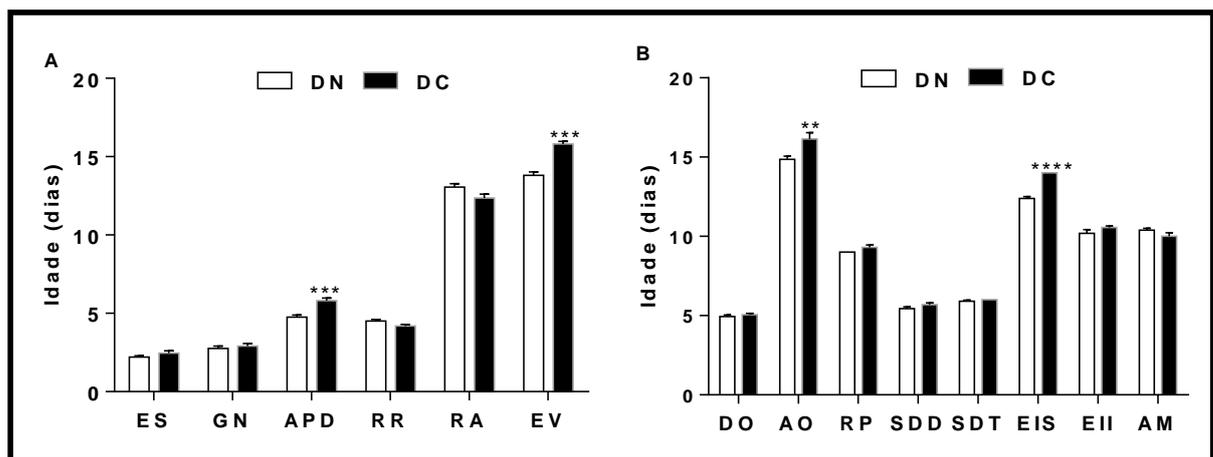
Fonte: Autora

Na figura 12 é demonstrado o desenvolvimento físico e de reflexo dos filhotes fêmeas de mães que fizeram ingestão DC durante a gestação em comparação com os de mães controles.

Pode-se observar que os filhotes de mães que ingeriram DC apresentaram um retardo nos desenvolvimentos físicos e de reflexos quando comparados ao seu controle, apresentando redução dos parâmetros de agarramento das patas dianteiras (APD) ( $p < 0,0001$ ), estimulação das vibrissas (EV) ( $p < 0,0001$ ), abertura dos olhos (AO) ( $p < 0,01$ ), e erupção dos incisivos superiores (EIS) ( $p < 0,0001$ ) como demonstrado no gráfico A e B, respectivamente.

Os parâmetros de desenvolvimento de endireitamento de superfície (ES) geotaxia negativa (GN), reflexo de *rooting* (RR), resposta auditiva (RA), deslocamento das orelhas (DO), separação dos dígitos dianteiros (SDD) e traseiros (SDT) e erupção dos incisivos inferiores (EII) não apresentaram diferenças quando comparados ao controle.

Figura 12 - Avaliação do desenvolvimento Reflexo e Físico dos filhotes fêmeas



Nota: Avaliação do desenvolvimento de reflexo (**ES**: Endireitamento de Superfície, **GN**: Geotaxia Negativa, **APD**: Agarramento das Patas Dianteiras, **RR**: Reflexo de *Rooting*, **RA**: Resposta Auditiva e **EV**: Estimulação das Vibrissas - Gráfico A) e físico (**DO**: Descolamento da orelha, **AO**: Abertura dos Olhos, **RP**: Revestimento Primário, **SDD**: Separação dos Dígitos Dianteiros, **SDT**: Separação dos Dígitos Traseiros, **EIS**: Erupção dos Incisivos Superiores e **EII**: Erupção dos Incisivos Inferiores - Gráfico B), e dos filhotes machos de mães dietas de cafeteria (DC n=20) do segundo dia de lactação até o vigésimo dia de lactação. Valores expressos como média  $\pm$  SEM (teste t).  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  quando comparados com o respectivo controle.

Fonte: Da autora

## 7.7 AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO E CRESCIMENTO DA NINHADA

Abaixo se encontra os resultados do ganho de peso e do crescimento da ninhada.

### 7.7.1 Variação do ganho de peso da ninhada

Na tabela 3 é mostrado a variação das medidas do ganho de peso da ninhada dos filhotes machos e fêmeas ao decorrer de 21 dias.

A análise através do teste *two-way* ANOVA mostrou que não houve efeito no fator tratamento (T) e interação entre os dois fatores (T x DL) quando analisado o ganho de peso dos filhotes machos. Porém no fator dia de lactação (DL) houve efeito (T:  $F_{1,190}=0,1151$  e  $p > 0,05$ ; DL:  $F_{9,190} = 200,3$  e  $p<0,0001$ ; DL x T:  $F_{9,190} = 1,123$  e  $p > 0,05$ ). Assim podemos observar que houve um aumento no ganho de peso dos machos ao longo dos dias nos 2 grupos de filhotes, porém não houve diferença significativa entre os grupos. Nas fêmeas, houve efeito no fator tratamento (T) e no fator dia de lactação (DL), porém não houve efeito na interação desses 2 fatores (T:  $F_{1,190} = 34,38$  e  $p < 0,0001$ ; DL:  $F_{9,190} = 362,5$  e  $p < 0,0001$ ; DL x T:  $F_{9,190} = 0,5204$  e  $p > 0,05$ ) provindos de mães que ingeriram DC quando comparadas aos respectivos controles (DN). De acordo com os dados abaixo, observa-se houve diferença no ganho de peso das fêmeas nos diferentes dias analisados, porém essa diferença não ocorreu quando comparado os 2 grupos.

Tabela 3 - Variação do ganho de peso (g) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).

Tratamento	Peso filhotes	Peso Filhotes	Peso Filhotes	Peso Filhotes
Dias	Machos DN	Machos DC	Fêmeas DN	Fêmeas DC
2°	2,150±0,039	2,175±0,024	2,065±0,045	2,040±0,048
4°	3,465±0,063	3,120±0,067	3,335±0,088	2,960±0,102
6°	4,990±0,090	4,485±0,104	4,830±0,120	4,300±0,170
8°	6,455±0,115	5,815±0,098	6,305±0,147	5,610±0,207
10°	7,365±0,408	7,150±0,107	7,590±0,188	6,850±0,245
12°	8,605±0,479	8,335±0,108	8,875±0,213	8,200±0,000
14°	9,330±0,524	9,290±0,115	9,565±0,178	8,890±0,334
16°	9,350±0,507	9,865±0,145	9,9775±0,190	9,400±0,337
18°	10,195±0,574	10,795±0,164	10,855±0,216	10,135±0,356
20°	12,560±0,722	12,995±0,220	12,890±0,351	12,3205±0,476

Nota: Valores expressos como média ± SEM (ANOVA *Two-way* seguido do pós-teste de *Bonferroni*).  
DC=20 e DN = 20.

Fonte: Da autora

### 7.7.2 Comprimento Nasoanal

Na tabela 4 é mostrado a variação das medidas do Comprimento Nasoanal (CNA) dos filhotes machos e fêmeas ao decorrer de 21 dias.

A análise através do teste *two-way* ANOVA mostrou que não houve efeitos no fator tratamento (T) e interação entre os dois fatores (T x DL) quando analisado o comprimento nasoanal dos filhotes machos, porém houve efeito no dia de lactação (DL) (T:  $F_{1,190} = 0,7087$  e  $p > 0,05$ ; DL:  $F_{9,190} = 75,35$  e  $p < 0,0001$ ; DL x T  $F_{9,190} = 0,4517$  e  $p > 0,05$ ). Com isso podemos verificar que ocorre um aumento do CNA ao longo dos dias nos 2 grupos em machos, mas esse aumento não é diferente entre os grupos. Nas fêmeas, houve efeito nos fatores e inclusive interação entre esses fatores (T:  $F_{1,190} = 34,81$  e  $p < 0,0001$ ; DL  $F_{9,190} = 488,5$  e  $p < 0,0001$ ; DL x T  $F_{9,190} = 2,304$  e  $p < 0,0177$ ) provindos de mães que ingeriram DC quando comparadas aos respectivos controles (DN). Pode-se observar que ocorre um

aumento do CNA ao longo dos dias nos 2 grupos em fêmeas, mas esse aumento não é diferente entre os grupos

Tabela 4 - Variação do comprimento nasoanal (CNA) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).

Tratamento Dias	CNA filhotes Machos DN	CNA Filhotes Machos DC	CNA Filhotes Fêmeas DN	CNA Filhotes Fêmeas DC
2°	32,708± 0,218	33,791±0,201	32,066±0,226	32,795±0,297
4°	37,990±0,394	37,854±0,217	36,990±0,467	37,058±0,381
6°	43,257±0,310	41,826±0,354	42,250±0,349	40,705±0,509
8°	47,944±0,303	45,715±0,376	46,966±0,241	44,412±0,656
10°	48,944±2,602	49,486±0,354	50,873±0,322	48,279±0,676
12°	52,314±2,775	53,354±0,243	54,041±0,420	52,366±0,826
14°	54,889±2,917	56,996±0,335	56,948±0,498	55,890±0,953
16°	57,397±3,031	60,104±0,246	59,722±0,290	58,790±0,993
18°	60,403±3,195	62,381±0,201	63,387±0,340	61,387±1,052
20°	65,465±3,499	65,954±0,263	67,747±0,645	64,859±1,205

Nota: Valores expressos como média ± SEM (ANOVA *Two-way* seguido do pós-teste de *Bonferroni*).  
DC=20 e DN = 20.

Fonte: Da autora

### 7.7.3 Distância Anogenital

Na Tabela 5 é mostrado a variação da Distância Anogenital (DAG) dos filhotes machos e fêmeas ao decorrer de 21 dias.

A análise através do teste two-way ANOVA mostrou que não houve efeitos no fator tratamento (T) e interação entre os dois fatores (DL x T) quando analisado a distância anogenital, porém houve efeito no dia de lactação (DL) (T:  $F_{1,190} = 0,01005$  e  $p > 0,05$ ; DL:  $F_{9,190} = 200,6$  e  $p < 0,0001$ ; DL x T:  $F_{9,190} = 0,4395$  e  $p > 0,05$ ). Com isso pode-se verificar que ocorre um aumento do DAG ao longo dos dias de lactação nos 2 grupos em machos, mas esse aumento não é diferente entre os grupos. Nas fêmeas houve efeitos nos fatores analisados e interação entre eles (T  $F_{1,190} = 26,64$  e  $p < 0,0001$ ; DL  $F_{9,190} = 510,3$  e  $p < 0,0001$ ; DL x T  $F_{9,190}=3,634$  e  $p < 0,001$ )

provindos de mães que ingeriram DC quando comparadas aos respectivos controles (DN). De acordo com a tabela 5, pode-se verificar que ocorre um aumento do DAG nas fêmeas ao longo dos dias em todos os grupos, mas esse aumento não é diferente entre os grupos.

Tabela 5 - Variação da distância anogenital (DAG) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).

Tratamento	DAG filhotes	DAG Filhotes	DAG Filhotes	DAG Filhotes
Dias	Machos DN	Machos DC	Fêmeas DN	Fêmeas DC
2°	2,215±0,032	2,298±0,040	1,191±0,020	1,164±0,025
4°	3,016±0,046	2,910±0,031	1,882±0,063	1,659±0,026
6°	3,976±0,073	3,549±0,075	2,710±0,094	2,341±0,071
8°	4,723±0,147	4,455±0,093	3,460±0,169	3,225±0,088
10°	5,603±0,337	5,618±0,097	4,556±0,157	4,137±0,111
12°	6,819±0,394	6,850±0,083	5,461±0,203	5,258±0,144
14°	7,863±0,447	7,884±0,063	6,523±0,190	6,101±0,144
16°	8,712±0,481	8,825±0,083	7,238±0,125	6,978±0,168
18°	9,696±0,521	9,762±0,121	7,970±0,098	8,097±0,178
20°	10,886±0,585	11,292±0,256	8,934±0,119	9,159±0,226

Nota: Valores expressos como média ± SEM (ANOVA *Two-way* seguido do pós-teste de *Bonferroni*).  
DN n = 20 e DC n=20

Fonte: Da autora.

#### 7.7.4 Índice de crescimento

Na tabela 6 é mostrado a variação do Índice de Crescimento (IC) dos filhotes machos e fêmeas ao decorrer de 21 dias.

A análise através do teste *two-way* ANOVA mostrou que não houve efeitos no fator tratamento (T) e interação entre os dois fatores (DL x T) quando analisado o índice de crescimento dos filhotes machos. Porém no dia de lactação (DL) houve efeito (T:  $F_{1,190} = 1,235$  e  $p > 0,05$ ; DL:  $F_{9,190} = 94,58$  e  $p < 0,0001$ ; DL x T:  $F_{9,190} = 0,8561$  e  $p > 0,05$ ); assim pode-se perceber que houve um aumento do IC nos machos ao longo dos dias em todos os grupos, mas esse aumento não é diferente

entre os grupos. Nos filhotes fêmeas, houve efeito nos fatores e na interação entre eles ( $T F_{1,190} = 7,366$  e  $p < 0,01$ ;  $DL F_{9,190} = 417,7$  e  $p < 0,0001$ ;  $DL \times T F_{9,190} = 6,738$  e  $p < 0,0001$ ) provindos de mães que ingeriram DC quando comparadas aos respectivos controles (DN). Portanto pode-se observar que ocorre um aumento do IC ao longo dos dias nos grupos, mas esse aumento não é diferente entre eles.

Tabela 6 - Variação do índice de crescimento (IC) dos filhotes machos e fêmeas de mães dieta normal e de dieta de cafeteria durante o período de desenvolvimento (2° ao 20° dia).

Tratamento	IC filhotes	IC Filhotes	IC Filhotes	IC Filhotes
Dias	Machos DN	Machos DC	Fêmeas DN	Fêmeas DC
2°	0,068±0,001	0,068±0,001	0,037±0,0007	0,036±0,0008
4°	0,079±0,001	0,077±0,001	0,051±0,0017	0,045±0,0007
6°	0,092±0,001	0,085±0,001	0,064±0,0022	0,057±0,0014
8°	0,099±0,003	0,097±0,002	0,074±0,0036	0,072±0,0011
10°	0,109±0,007	0,114±0,002	0,089±0,0028	0,085±0,0014
12°	0,124±0,007	0,128±0,002	0,104±0,0037	0,100±0,0017
14°	0,136±0,008	0,138±0,001	0,115±0,0032	0,109±0,0012
16°	0,144±0,008	0,147±0,002	0,121±0,0021	0,119±0,0016
18°	0,153±0,008	0,157±0,002	0,126±0,0014	0,132±0,0013
20°	0,158±0,009	0,171±0,004	0,132±0,0016	0,141±0,0015

Nota: Valores expressos como média ± SEM (ANOVA *Two-way* seguido do pós-teste de *Bonferroni*).  
DN n= 20 DC n=20.

Fonte: Da autora.

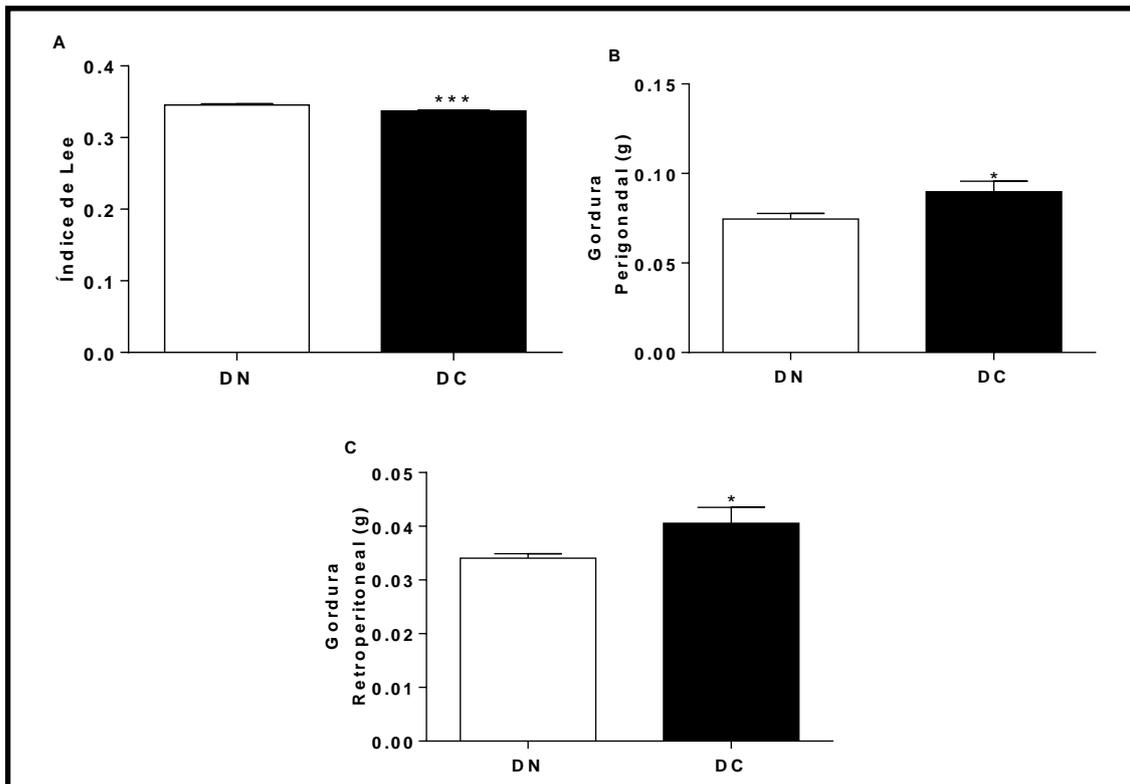
## 7.8 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE LEE E DA QUANTIFICAÇÃO DA ADIPOSIDADE NOS FILHOTES ADOLESCENTES

Na Figura 13 é mostrado o índice de Lee e a quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal) dos filhotes de camundongos lactentes.

A análise através do teste t de student mostrou que houve diferença no Índice de Lee dos machos (gráfico A) e na adiposidade abdominal perigonadal e retroperitoneal nos filhotes machos (gráficos B e C- figura 13).

Assim houve redução do Índice de Lee ( $p < 0,001$ ) e aumento da gordura perigonadal ( $p < 0,05$ ) e retroperitoneal ( $p < 0,05$ ) quando comparados ao controle (DN).

Figura 13 - Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal).



Nota: Índice de Lee, Gordura Perigonadal e Gordura Retroperitoneal em camundongos filhotes machos de mães que receberam a dieta de cafeteria (DC n=14) ou dieta normal (DN n=16) do 2º dia lactação (Gráficos A, B e C). Índice de Lee (A), Gordura Perigonadal (B), Gordura Retroperitoneal (C). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste t de Student). \*  $p < 0,05$ , \*\*\*\*  $p < 0,001$ , quando comparado com controle.

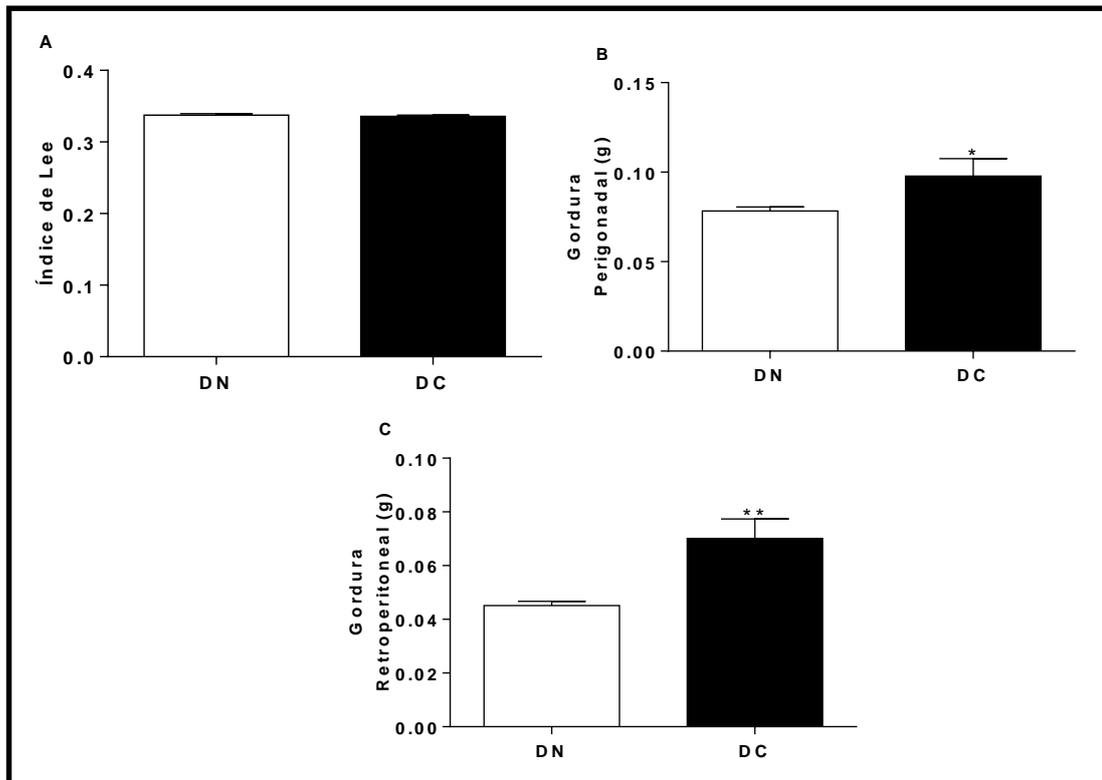
Fonte: Da autora.

Na figura 14 é demonstrado o índice de Lee e quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal) dos filhotes fêmeas de camundongos gestantes.

A análise através do teste *t de student* mostrou que não houve diferença no Índice de Lee das fêmeas (gráfico A). Já em relação adiposidade abdominal perigonadal e retroperitoneal nos filhotes fêmeas (gráficos B e C) houve diferença.

Assim houve um aumento da quantificação da gordura perigonadal ( $p < 0,05$ ) e retroperitoneal ( $p < 0,01$ ) quando comparados ao controle (DN).

Figura 14 - Avaliação do índice de Lee e da quantificação da adiposidade abdominal (Gordura perigonadal e retroperitoneal)



Nota: Índice de Lee, Gordura Perigonadal e Gordura Retroperitoneal em camundongos filhotes fêmeas de mães que receberam a dieta de cafeteria (DC n=14) ou dieta normal (DN n=16) do 2º dia lactação (Gráficos A, B e C). Índice de Lee (A), Gordura Perigonadal (B), Gordura Retroperitoneal (C). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste t de Student). \*  $p < 0,05$ , \*\*\*\*  $p < 0,01$ , quando comparado com controle.

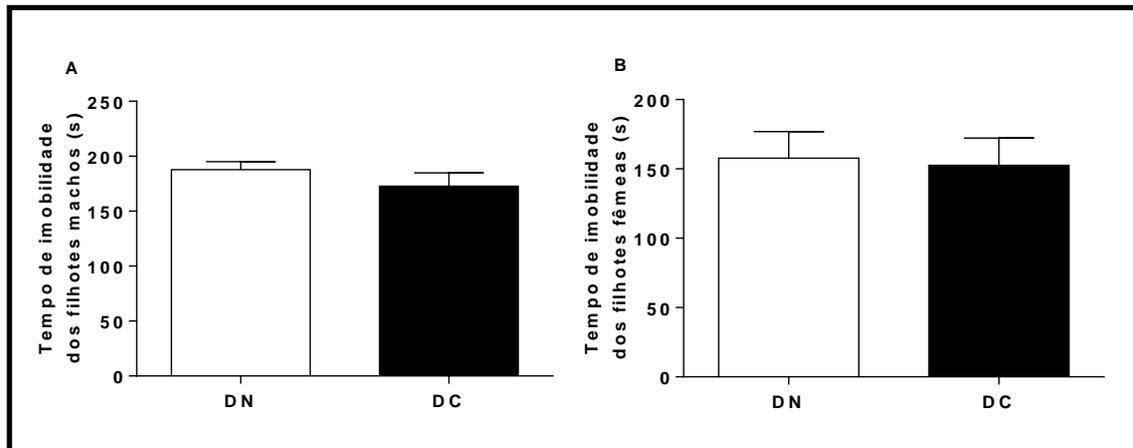
Fonte: Da autora

## 7.8 DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NOS TESTES CLARO-ESCURO E NADO FORÇADO

Na figura 15 é demonstrado o desempenho dos filhotes machos e fêmeas de mães, que receberam o tratamento de dieta de cafeteria (DC) e dieta normal (DN) durante a gestação, no teste nado forçado.

Observa-se que os filhotes machos e fêmeas DC quando comparados com os filhotes DN não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ) no tempo de imobilidade representado nos gráficos A e B (Figura 15).

Figura 15 - Teste nado forçado nos filhotes machos e fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.



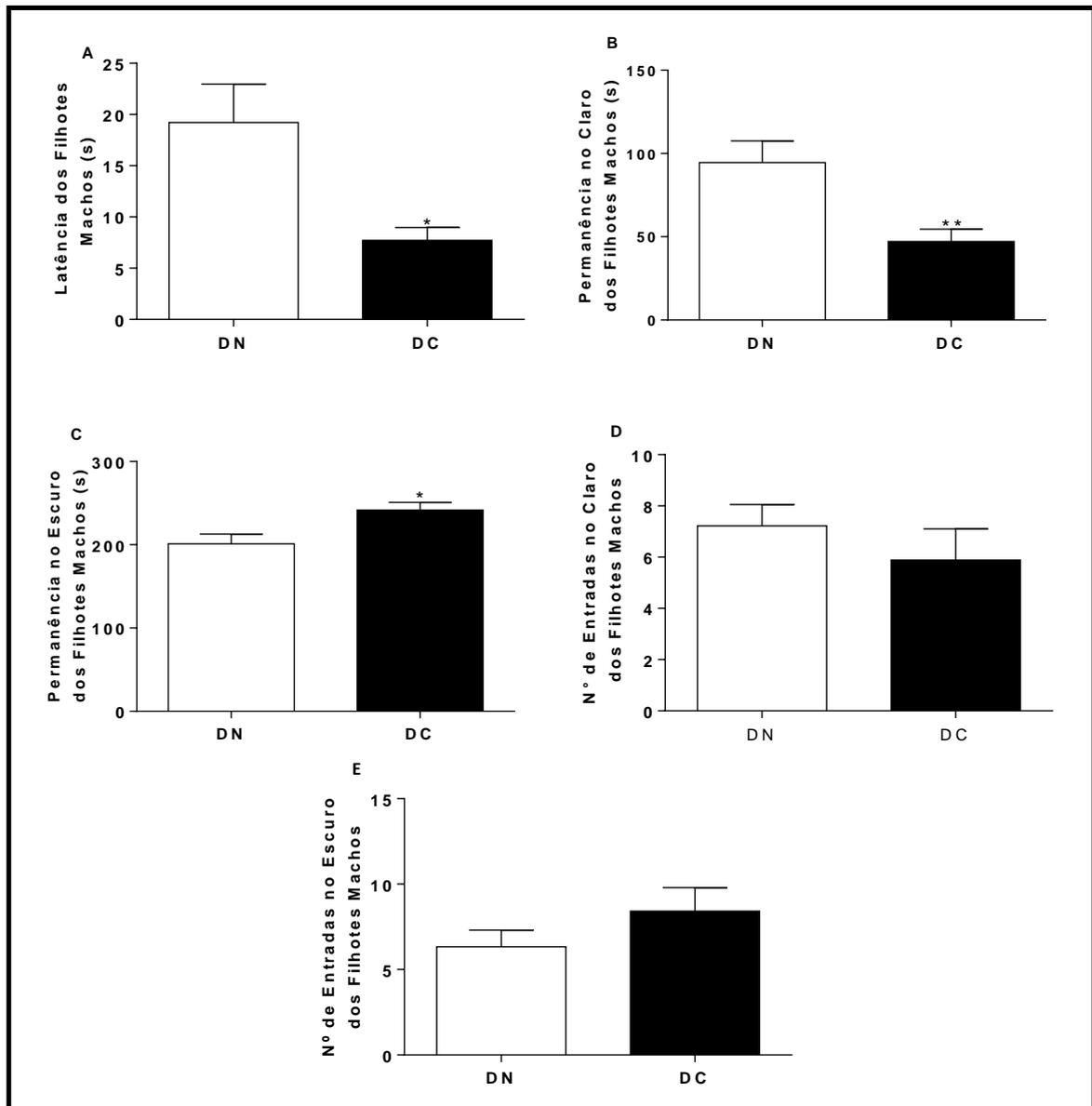
Nota: (Gráficos A e B). Tempo de imobilidade dos Filhotes Machos (A) e Tempo de Imobilidade dos Filhotes Fêmea (B). Valores expressos como média ± SEM (Teste *t* de Student). DN=9 e DC=9.

Fonte: Da autora.

Na figura 16 é demonstrado o desempenho dos filhotes machos de mães, que receberam o tratamento de dieta de cafeteria (DC) e dieta normal (DN) durante a gestação, no teste claro-escuro.

Pode-se observar que os filhotes machos DC quando comparados com filhotes machos DN apresentaram redução do tempo de latência ( $p < 0,05$ ) e permanência no claro ( $p < 0,01$ ) como observado nos gráficos A e B respectivamente. Houve também um aumento ( $p < 0,05$ ) na permanência dos filhotes DC no escuro comparado ao seu controle (DN), gráfico C, Entretanto, não houve alteração no número de entradas no claro-escuro ( $p > 0,05$ ) como observado no gráfico D e E, respectivamente.

Figura 16 - Teste de claro-escuro nos filhotes machos de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.



Nota: (Gráficos A, B, C, D e E). Latência dos Filhotes Machos (A), Permanência no Claro dos Filhotes Machos (B), Permanência no Escuro dos Filhotes Machos (C), Nº de Entradas no Claro dos Filhotes Machos (D), Nº de Entradas no Escuro dos Filhotes Machos. Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , quando comparado com controle. DC=9 e DN=9.

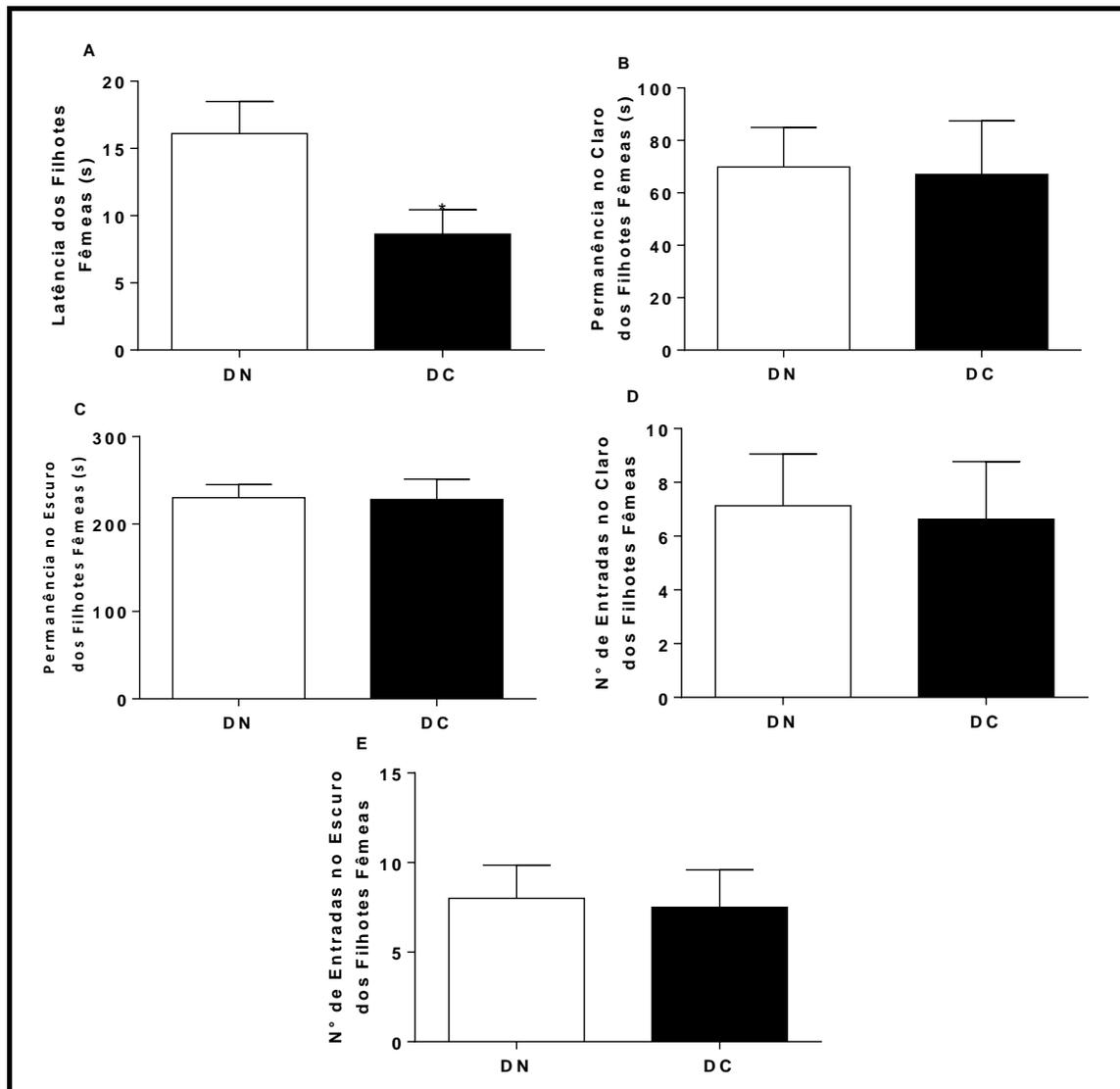
Fonte: Da autora

Na figura 17 é demonstrado o desempenho dos filhotes fêmeas das mães que receberam o tratamento de dieta de cafeteria (DC) e dieta normal (DN) durante a gestação, no teste claro-escuro.

Filhotes fêmeas DC quando comparados com filhotes DN apresentaram uma redução ( $p < 0,05$ ) no tempo de latência como demonstrado no gráfico A. No

entanto, não houve alterações ( $p > 0,05$ ) dos filhotes DC na permanência no escuro, claro e no número de entradas no escuro e claro comparados ao controle e assim observados nos gráficos B, C, D e E.

Figura 17 - Teste de claro-escuro nos filhotes machos e fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria (DC n= 9) ou dieta normal (DN n= 9) durante a gestação.



Nota: (Gráficos A, B, C, D e E). Latência dos Filhotes Fêmeas (A), Permanência no Claro dos Filhotes Fêmeas (B), Permanência no Escuro dos Filhotes Fêmeas (C), N° de Entradas no Claro dos Filhotes Fêmeas (D) e N° de Entradas no Escuro dos Filhotes Fêmeas (E). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student). \*  $p < 0,05$ , quando comparado com controle.

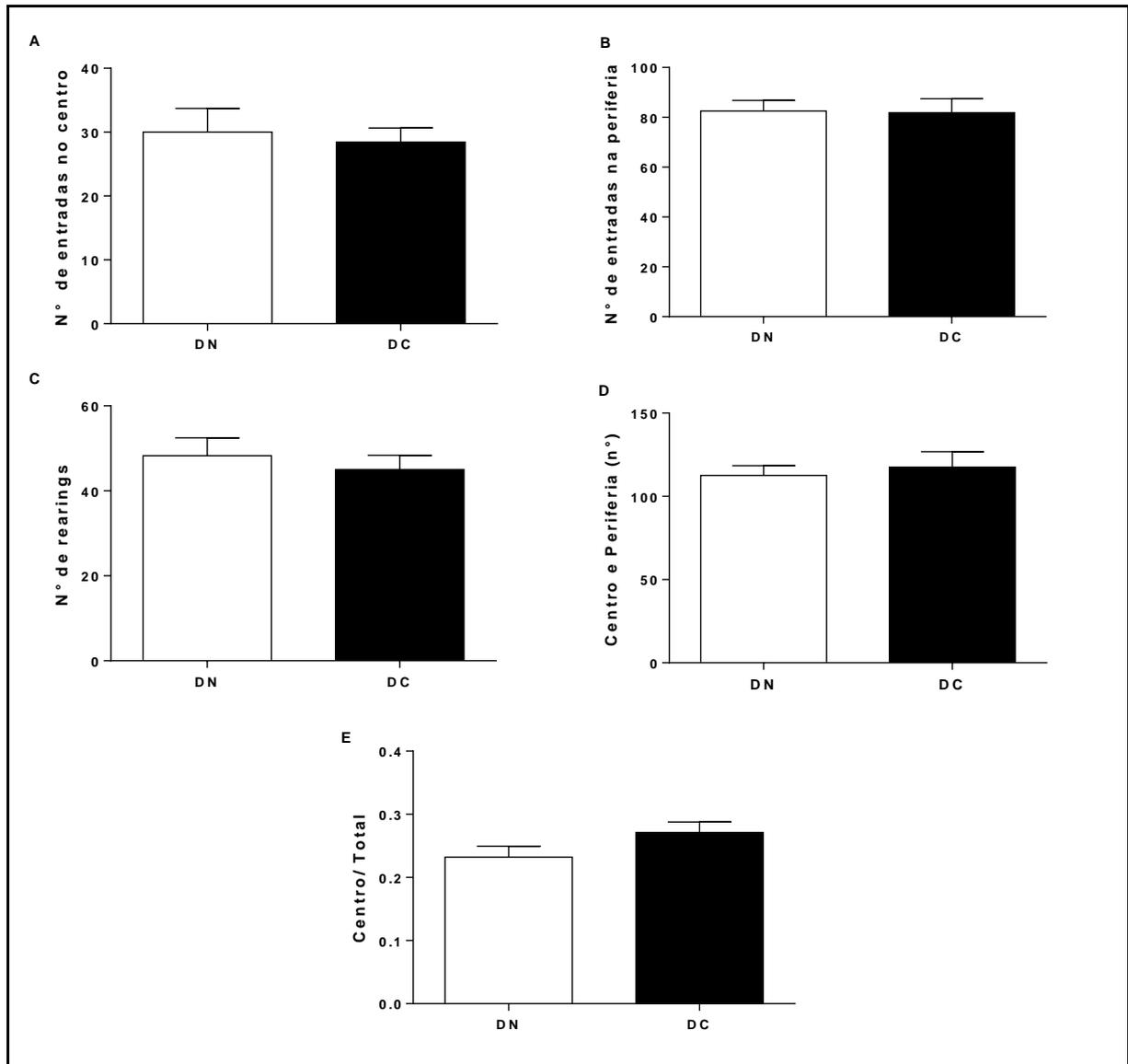
Fonte: Da autora.

## 7.10 DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NO CAMPO ABERTO

Na figura 18 é demonstrado o desempenho dos filhotes machos de mães, que receberam o tratamento de dieta de cafeteria (DC) e dieta normal (DN) durante a gestação, no teste campo aberto.

Observa-se que os filhotes machos de mães que receberam DC quando comparados com os filhotes das mães que receberam DN não apresentaram alterações ( $p > 0,05$ ) dos parâmetros de número de cruzamentos centrais, número de cruzamentos periféricos, rearings, razão de cruzamentos centrais/número de cruzamentos totais, razão de cruzamentos centrais/ cruzamentos periféricos e cruzamento totais (centro e periferia) como observado nos gráficos A, B, C, D, E e F respectivamente.

Figura 18 - Teste de campo aberto em filhotes machos de camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria ou dieta normal.



Nota: Número de cruzamentos centrais (A), número de cruzamentos periféricos (B), rearings (C), razão de cruzamentos centrais/número de cruzamentos totais (D), número de cruzamentos totais (E). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student). \*  $p < 0,05$ , quando comparado com controle.

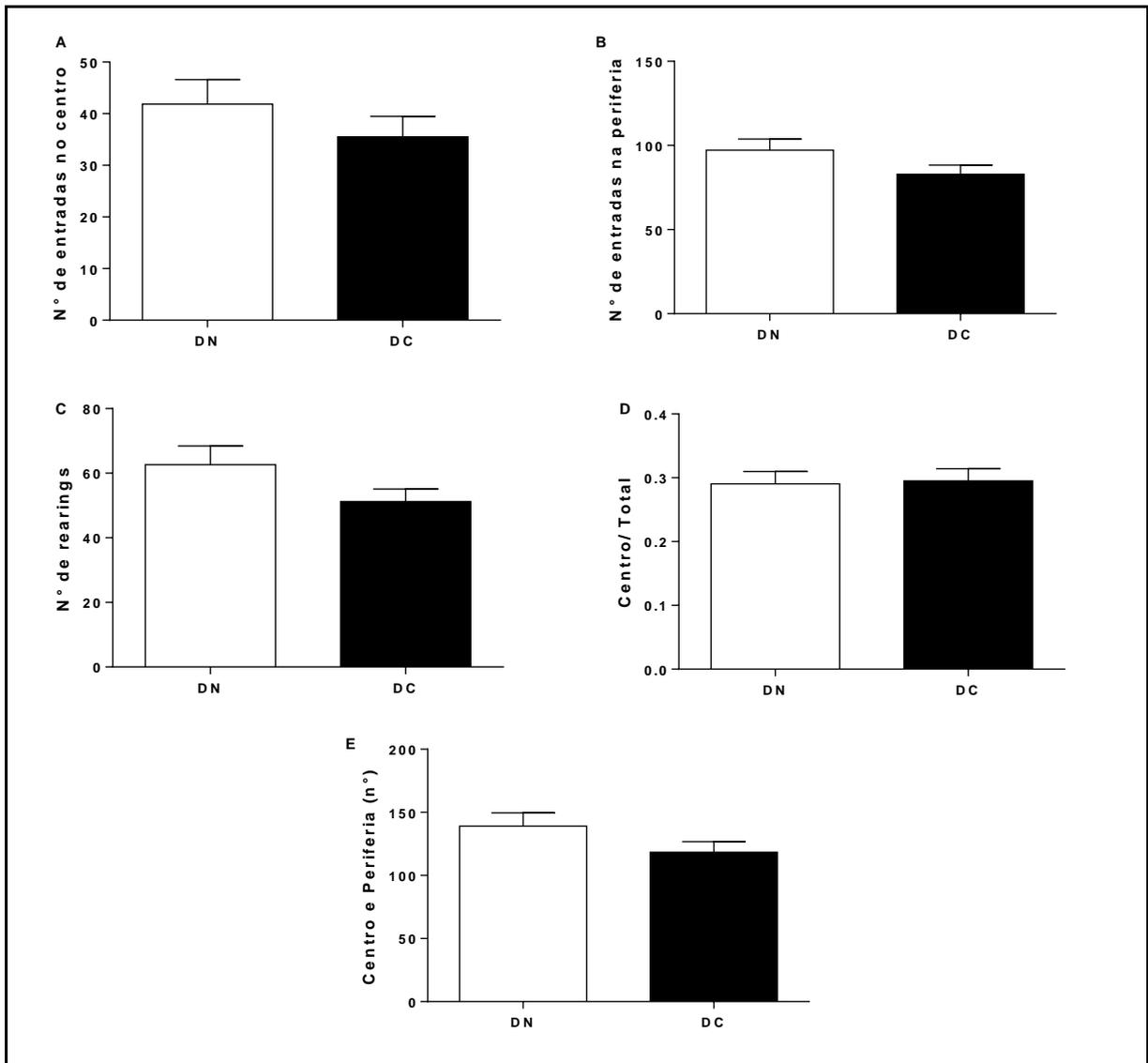
Fonte: Da autora

Na figura 19 é demonstrado o desempenho dos filhotes fêmeas de mães, que receberam o tratamento de dieta de cafeteria (DC) e dieta normal (DN) durante a gestação, no teste campo aberto.

Observa-se que os filhotes machos de mães que receberam DC quando comparados com os filhotes das mães que receberam DN não apresentaram alterações ( $p > 0,05$ ) dos parâmetros de número de cruzamentos centrais, número de cruzamentos periféricos, *rearings*, razão de cruzamentos centrais/número de

cruzamentos totais, razão de cruzamentos centrais/ cruzamentos periféricos e cruzamento totais (centro e periferia) como observado nos gráficos A, B, C, D, E e F respectivamente.

Figura 19 - Teste de campo aberto em filhotes fêmeas de camundongos lactantes que receberam a dieta de cafeteria ou dieta normal.



Nota: Número de cruzamentos centrais (A), número de cruzamentos periféricos (B), rearings (C), razão de cruzamentos centrais/número de cruzamentos totais (D), número de cruzamentos totais (E). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student). \* $p < 0,05$ , quando comparado com controle.

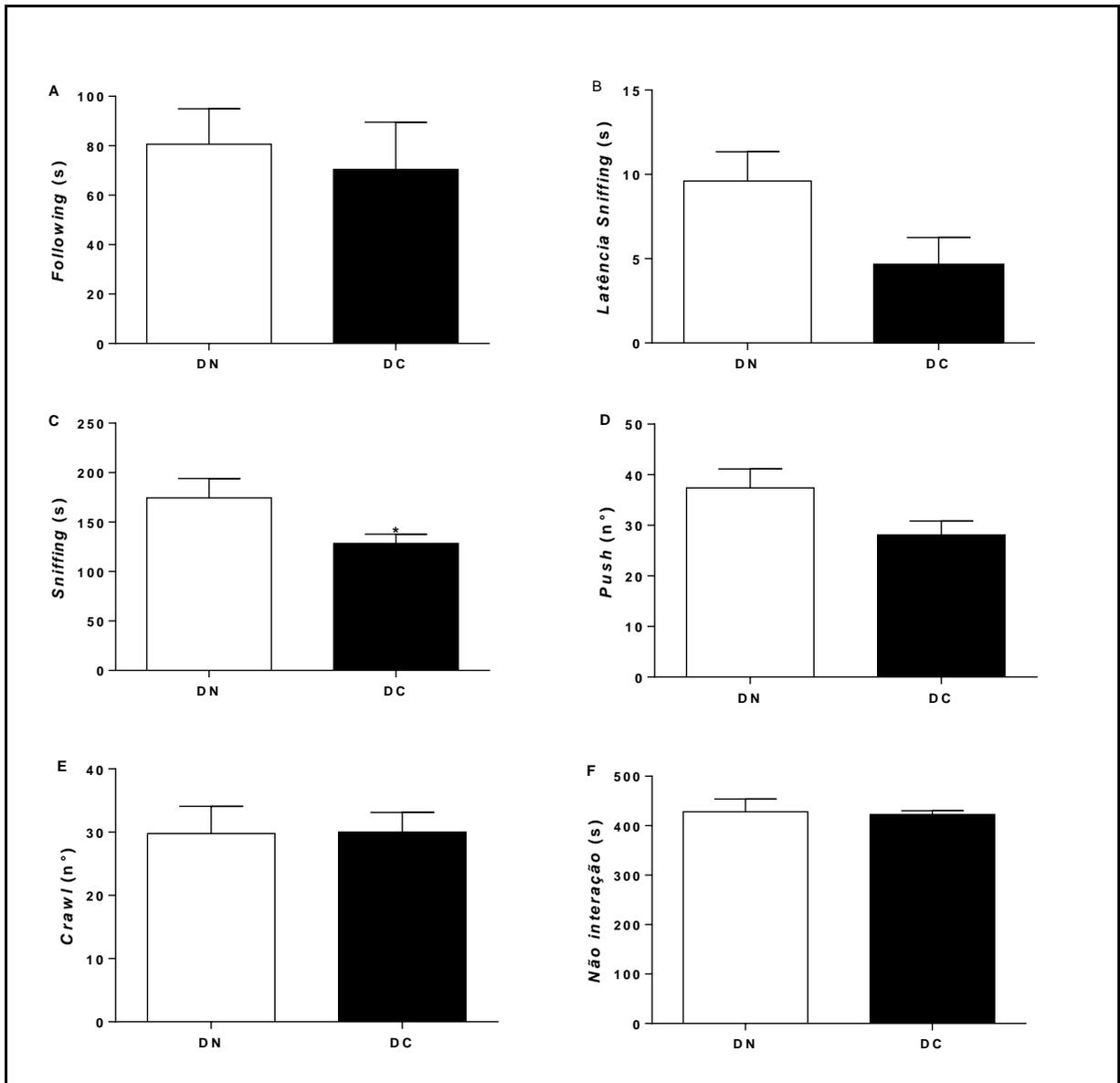
Fonte: Da autora

## 7.10 DESEMPENHO DOS FILHOTES ADOLESCENTES NO *PLAY BEHAVIOR*

Na figura 20 é demonstrado o desempenho dos filhotes machos de mães que foram alimentadas com dieta de cafeteria (DC) ou dieta normal (DN) durante a gestação, no teste *play behavior*.

Observa-se que os filhotes machos de mães que receberam DC quando comparados com os filhotes das mães que receberam DN não apresentaram alterações ( $p > 0,05$ ) dos parâmetros *following*, latência *sniffing*, *push*, *crawl* e não interação como observado nos gráficos A B, D, E e F respectivamente. Já os filhotes de mães que receberam DC quando comparados com os filhotes das mães DN apresentaram diferença ( $p < 0,05$ ) na redução no parâmetro de *sniffing*.

Figura 20 - Teste *Play Behavior* nos filhotes machos de camundongos machos que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.



Nota: Gráficos A, B, C, D, E e F. *Following* (A), Latência *Siniffing* (B), *Sniffing* (C), *Push* (D), *Crawl* (E) e Não interação (F). Valores expressos como média ± SEM (Teste *t* de Student). \*  $p < 0,05$  quando comparado com controle.

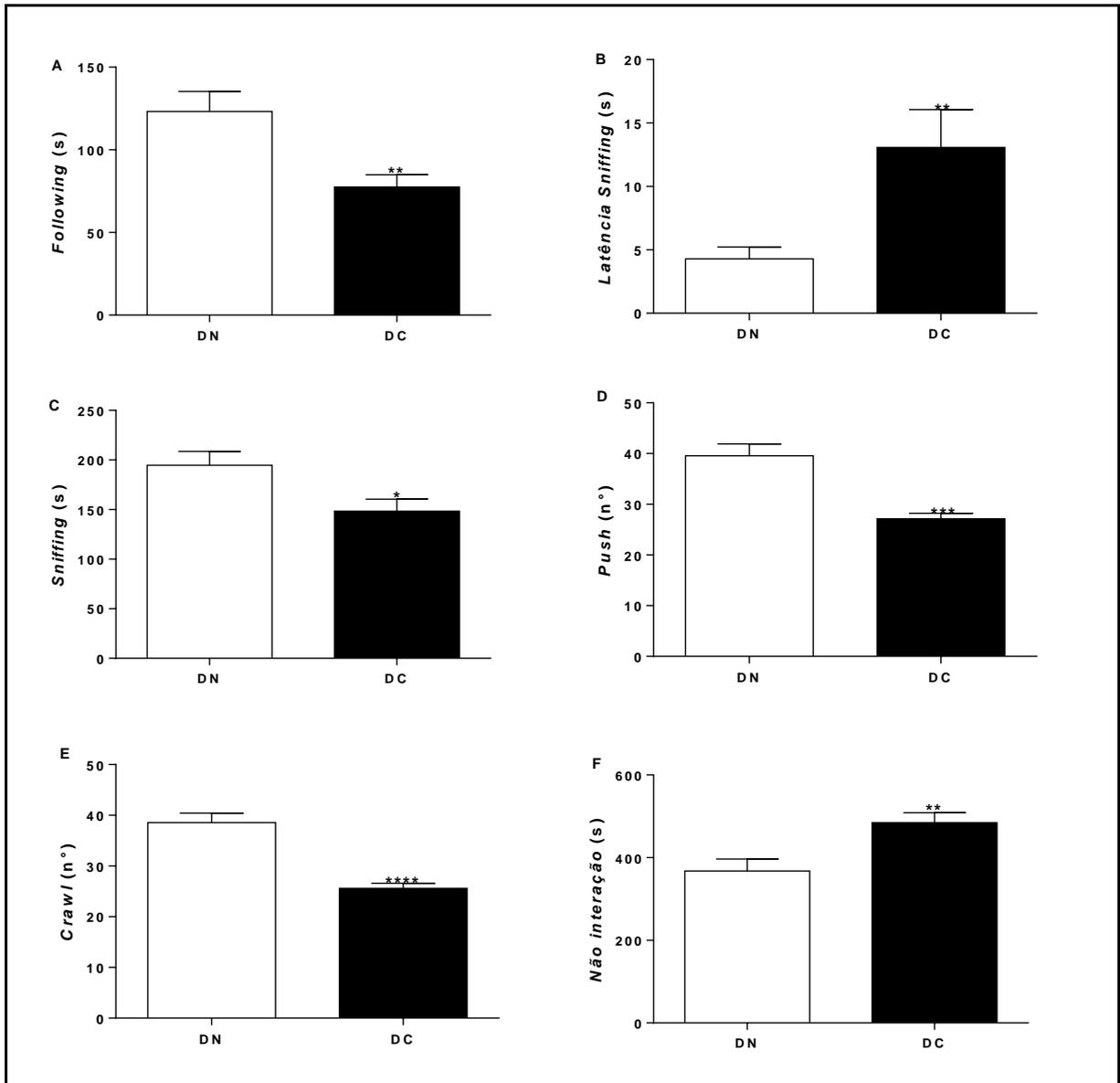
Fonte: Da autora.

Na figura 21 é demonstrado o desempenho dos filhotes fêmeas de mães que foram alimentadas com dieta de cafeteria (DC) ou com dieta normal (DN) durante a gestação no *play behavior*.

Observa-se que os filhotes fêmeas de mães que receberam DC quando comparados com os filhotes das mães que receberam DN apresentaram redução nos parâmetros *following* ( $p < 0,01$ ), *sniffing* ( $p < 0,05$ ), *push* ( $p < 0,001$ ) e *crawl*

( $p < 0,0001$ ) como observado nos gráficos A, C, D e, E respectivamente. Em relação aos parâmetros latência de *sniffing* e não interação, os filhotes de mães DC apresentaram um aumento ( $p < 0,001$ ) quando comparados com o seu controle como observado respectivamente nos gráficos B e F.

Figura 21 - Teste *Play Behavior* nos filhotes fêmeas de camundongos fêmeas que receberam o tratamento da dieta de cafeteria ou dieta normal durante a gestação.



Nota: (Gráficos A, B, C, D, E e F). *Following* (A), Latência *Sniffing* (B), *Sniffing* (C), *Push* (D), *Crawl* (E) e Não interação (F). Valores expressos como média  $\pm$  SEM (Teste *t* de Student).

\* $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  e  $0 < 0,0001$  quando comparado com controle.

Fonte: Da autora.

## 8 DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que mães tratadas com dieta de cafeteria possuem um comportamento materno mais acentuado quando comparada à dieta normal, aumento da variação do ganho de peso, índice de Lee e gordura abdominal, além de apresentarem uma redução no comportamento tipo ansioso e redução na locomoção. Em relação aos filhotes na adolescência de mães que consumiram a dieta de cafeteria quando comparados ao controle, foi observado um aumento do comportamento tipo ansioso nos machos. Em ambos os sexos houve um aumento da gordura abdominal, um retardo nos desenvolvimentos físicos e reflexos e redução nos parâmetros de *play behavior*.

Em relação ao peso observa-se que mães que consumiram a dieta de cafeteria apresentaram um aumento da variação do ganho de peso quando comparadas as mães que receberam a dieta normal.

Segundo Akyol et al. (2009), o modelo experimental utilizando a dieta de cafeteria em ratas antes e durante a gestação, porém com uma variedade maior de alimentos e alternando-os para que os roedores não recebessem por mais de dois dias consecutivos o mesmo alimento, mães que consumiram a dieta demonstram um maior ganho de peso nos animais tratados quando comparado ao seu controle. Outros estudos apontam que a ingestão de uma dieta rica em gordura promove o ganho de peso corporal e aumenta a adiposidade em roedores (HANSEN et al., 2004; STORLIEN et al., 2000).

Roedores alimentados por dieta de cafeteria são utilizados como modelos de obesidade. Porém, é importante ressaltar que na gestação é comum o ganho de peso por causa da construção e processo de formação dos tecidos do concepto (SHAFAT et al., 2008).

O aumento de fatores de risco para o desenvolvimento de doenças, principalmente as crônicas não transmissíveis, hipertensão, diabetes, cardiovasculares e câncer estão relacionados com aumento do peso. Além disso, a dieta de cafeteria pode afetar o metabolismo da prole, a função reprodutiva, incluindo aspectos comportamentais relacionados à emoção (JACOBS et al., 2014).

Assim é evidente que o excesso de peso é um risco para complicações gestacionais e como já mencionado uma má nutrição durante a gestação pode alterar a expressão genética, a suscetibilidade às complicações perinatais e enfermidades na vida adulta de seus filhotes (ASSUNÇÃO et al., 2007).

Os padrões alimentares, principalmente aqueles que favorecem a ingestão de gordura, muitas vezes têm sido responsabilizados pelo aumento da adiposidade. As dietas ricas em gordura são usadas para induzir obesidade em animais, denominada de obesidade dietética. Esse modelo, através de manipulações genéticas identificaram mutações de genes envolvidas no controle da homeostase da energia. O paradigma da obesidade dietética em animais é adequado para comparação de pesquisa prévias relacionadas a obesidade humana, no contexto de que dietas com alimentos altamente energéticos estão facilmente disponíveis para realização de experimentos (HARIRI; GOUGEON; THIBAUT, 2010).

Em relação à avaliação da quantidade de ingestão da dieta que os camundongos gestantes consumiram, não foram observadas alterações. Isto sugere que o ganho de peso observado nas mães de dieta de cafeteria não está relacionado com a quantidade ingerida, mas sim com a quantidade calórica.

A variedade e alta palatabilidade aumentada da dieta de cafeteria são fatores suficientes quando comparada, por exemplo, com dieta hiperlipídica. Por isso, a eficiência metabólica da dieta de cafeteria é notavelmente mais elevada quando comparada a outras dietas hipercalóricas com o aumento de um só nutriente, por exemplo, dieta hiperlipídica. Além disso, foi demonstrado que a apresentação diária de uma nova escolha dos alimentos palatáveis que compõem essa dieta leva a um aumento sustentado da ingestão calórica de alimentos e ao excesso de peso (LOUIS-SYLVESTRE et al.; GIACHETTI; LE MAGNEN, 1984).

No experimento de Morris et al. (2008) a dieta de cafeteria provocou um aumento imediato na ingestão calórica de camundongos machos, que conseqüentemente levou um ganho de peso durante os três primeiros dias iniciais do tratamento com a dieta, esse ganho foi maior após 6 semanas, possivelmente devido a diminuição do gasto energético em relação ao aumento da ingestão de calorias.

Outro trabalho demonstrou que camundongos fêmeas *Swiss* adultas que se alimentaram da dieta de cafeteria durante oito semanas desenvolveram um aumento

do peso corporal, da gordura abdominal, dos triglicérides (TGs) e dos ácidos graxos não esterificados, provavelmente devido ao aumento do consumo total de alimentos que estão associados com a maior ingestão calórica, de lipídeos e carboidratos (BRANDIMARTI et al., 2013).

Contudo, a acessibilidade, atratividade e disponibilidade pode incentivar um maior consumo de alimentos da dieta de cafeteria tanto em relação ao seu volume quanto ao seu conteúdo altamente energético. Assim, ao longo do tempo, pode ser que a grande variedade de alimentos altamente energéticos impulse o excesso de consumo e, conseqüentemente, o excessivo ganho de peso (SOUTH et al., 2014).

Em adição, a ingestão excessiva de alimentos altamente energéticos contribui para alteração de circuitos neuronais que regulam o comportamento recompensa, promovendo assim o seu excesso de consumo e facilitando o surgimento de uma obesidade (GAC et al., 2015).

Como observado nos resultados, as mães que consumiram dieta de cafeteria apresentaram um aumento do índice de Lee, comparadas ao controle. Houve também uma maior quantificação da adiposidade abdominal (gordura perigonadal e retroperitoneal).

Mali et al. (2013) forneceram uma dieta de cafeteria para camundongos fêmeas durante quarenta dias mantendo a variedade e alternância dos alimentos ao decorrer do tratamento. Assim os resultados apresentados nos seus experimentos demonstraram um aumento no peso corporal, IMC (índice de massa corporal), Índice de Lee, o consumo alimentar, peso de órgãos (fígado e intestino delgado) e peso da gordura abdominal (mesentérica e retroperitoneal) induzido por dieta.

Em outra pesquisa, ratos adultos alimentados com dieta de cafeteria (composta por chocolate, biscoitos e manteiga de amendoim) durante cinco semanas apresentou um aumento do peso corporal, da ingestão energética e do percentual de gordura abdominal em comparação ao grupo que recebeu uma dieta com alta quantidade de carboidratos. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores que mostraram que o peso corporal e depósito de gordura intra-abdominal particularmente aumentaram depois do acesso a uma dieta palatável (ZEENI et al., 2014). A gordura total adquirida, principalmente visceral, está relacionada com o conteúdo intra-hepático de triglicérides e outros lipídeos e pode ser responsável por

muitas das alterações metabólicas associadas com obesidade e resistência à insulina. Além do mais, esse acúmulo de adiposidade visceral demonstrou uma menor captação de glicose no fígado (DE SOUZA et al., 2013)

Na literatura, estudos demonstraram que gordura intra-abdominal pode estar associada ao aumento considerável do risco de doença cardiovascular, síndrome metabólica, a diabetes tipo 2 e ao menor tempo de vida (FOSTER et al., 2009), maiores níveis séricos de IL-6 (principal contribuinte de indicação de inflamação), danos no coração (esteatose e da artéria coronária fibrose perivascular) e fígado (peso do fígado, fibrose portal, apoptose e esteatose) (ZEENI et al., 2014).

Em resumo, a ingestão de uma dieta inadequada, como a de cafeteria, tem como consequência o aumento do índice de Lee e da gordura abdominal que podem contribuir para desencadear sérios problemas de saúde nas mães gestantes. E assim sugere-se que essas consequências podem influenciar no desenvolvimento e comportamento da prole.

Em relação ao comportamento materno, mães tratadas com dieta de cafeteria apresentaram um aumento do cuidado ofertado a prole no 3º, 4º e 7º dias de lactação quando comparada com o controle. Dentre os parâmetros analisados os mais expresso foi: *licking pups*.

Como já mencionado anteriormente, na gestação e lactação ocorrem diversas mudanças fisiológicas, hormonais e psicológicas que possibilitam a alteração do cuidado da mãe em relação ao desenvolvimento de seus filhotes (PIRES et al., 2013). Durante a lactação as mães apresentam ações no cuidado com os filhotes para assegurar o sucesso no desenvolvimento de sua prole. Estas ações maternas são observadas quando a lactante apresenta comportamentos diretos como: forrageando, *licking pups*, agrupamento dos filhotes no ninho e posicionamento sobre eles para provê-los de nutrição e calor (cifose e amamentação) e até mesmo comportamento indireto como, ansiólise maternal (MANN, 2006).

Trabalhos evidenciam que uma dieta com restrição proteica é capaz de modificar as interações entre a mãe e sua prole durante a fase de lactação, pois mães que consumiram uma dieta hipoproteica passaram mais tempo no ninho cuidando de seus filhotes (MASSARO; LEVITSKY; BARNES, 1974).

Outros estudos apontam que a quantidade de *licking* que a prole adulta recebeu de suas mães no início do período pós-natal leva a um menor ou maior

cuidado materno, sugerindo assim que as condições de criação podem afetar os resultados de seus filhotes quando crescerem. (PEDERSEN et al., 2011).

Assim, é evidente pelos resultados obtidos neste estudo que as mães alimentadas com a dieta de cafeteria apresentaram um cuidado materno maior comparado ao controle, pois o fator fundamental foi o maior tempo de *licking pups* dessas mães.

Achados prévios em humanos e em animais demonstraram que as preferências alimentares podem ser estabelecidas precocemente na vida intrauterina, e que a ingestão excessiva, por exemplo, de uma dieta de cafeteria, durante a gravidez e lactação está associada a um aumento da preferência por gordura e açúcar na prole quando atingir as fases adolescência e adulta (GUGUSHEFF; ONG; MUHLHAUSLER, 2014). Portanto, após inúmeras evidências sobre a interferência de alimentação inadequada, é necessária uma maior investigação dos efeitos da nutrição e do cuidado materno no desenvolvimento dos seus filhotes.

Como relatado anteriormente, o comportamento materno engloba ações de cuidados diretos com a prole, além dos indiretos, como ansiólise maternal e a defesa da mãe contra um intruso. Essa ansiólise é resultado de uma adaptação do sistema nervoso central que é necessária para a sobrevivência da prole (FERREIRA et al., 2002; LONSTEIN; GAMMIE, 2002; NUMAM, 1994; VILELA, 2011).

De acordo com os nossos resultados no claro-escuro foi observado que os camundongos lactantes que receberam dieta de cafeteria permaneceram maior tempo no claro, indicando uma redução no comportamento preditivo de ansiedade comparado com as mães tratadas somente com ração (controle), alterando assim a ansiólise maternal nessas mães. Além disso, o número de entradas, tanto no claro quanto no escuro foram reduzidos nas mães tratadas com dieta de cafeteria, sugerindo assim, uma redução da locomoção, que foi posteriormente confirmada no campo aberto, pois foi evidente um número reduzido de entradas totais de mães que consumiram dieta de cafeteria quando comparadas ao seu controle.

Na literatura, tem sido demonstrado modelos de dietas de cafeteria relacionadas à ansiedade, apontam que alimentos saborosos, ricos em gorduras e carboidratos, são capazes de influenciar a diminuição a uma resposta de estresse crônico tanto em humanos como em modelos animais. Essas dietas variadas e

altamente palatáveis demonstraram que o amortecimento dos possíveis efeitos do estresse pode estar envolvido através da ativação do circuito de recompensa no cérebro que foram expostos para aliviar comportamento preditivo de ansiedade em animais. Além disso, sugeriu-se que o aumento de níveis de glicocorticoides associados com o estresse, aumenta a preferência por atividades prazerosas, como uma maior ingestão de alimentos hipercalóricos, e conseqüentemente, causando um aumento indireto de depósitos na gordura abdominal (ZEENI et al., 2014).

Pesquisa em humanos demonstrou que as emoções influenciam a escolha e ingestão de alimentos. Os indivíduos submetidos a estresse psicológico relatam comer maiores quantidades de comidas palatáveis, ricas em açúcar e gordura em comparação aos grupos controles. Alimentos saborosos como, por exemplo, o chocolate, pode influenciar a atividade de neurônios do sistema nervoso central, e conseqüentemente com os neurotransmissores, incluindo a dopamina, a serotonina e endorfinas que são conhecidos por afetar o humor (MANIAM; MORRIS, 2009).

Segundo Finger et al. (2011) roedores tratados com dieta rica em gordura ao serem expostos ao teste claro-escuro apresentaram uma redução no comportamento preditivo de ansiedade. Além disso, modelos experimentais demonstram que a ingestão de alimentos altamente calóricos protege contra mudanças induzidas pelo estresse em sintomas de ansiedade (PECORARO et al., 2004; DALLMAN, 2005).

Assim, uma ingestão de alimentos ricos em calorias, em resposta ao estresse pode ser visto como tratamento contra estados de ansiedade e depressão nos seres humanos (DALLMAN, 2005). No entanto, uma dieta altamente calórica aumenta risco de desenvolver obesidade, que é definida como o acúmulo do excesso de gordura corporal e resulta em outras complicações de saúde, reduzindo a expectativa de vida (DA COSTA ESTRELA, 2015).

Lalanza et al. (2014) usaram também em seu modelo experimental uma dieta de cafeteria, porém essa foi administrada durante oito semanas em ratos adultos machos e fêmeas. Eles observaram uma redução da atividade locomotora desses animais quando expostos ao aparato de campo aberto.

Achados prévios demonstraram que a redução da atividade locomotora pode estar relacionada com o consumo de dietas de alto teor de gorduras, em experimentos com ratos obesos e até mesmo em humanos obesos, estes

apresentaram um aumento da ingestão calórica, que conseqüentemente, levou um excesso de peso (LALANZA et al., 2014; MARTIRE et al., 2013; SHAFAT, 2008).

Assim, diante dos nossos resultados, sugere-se que o excesso de peso promovido pela dieta pode ser uma condição fundamental na redução dessa atividade locomotora.

Com relação ao desenvolvimento, os resultados observados neste trabalho demonstraram um retardo no desenvolvimento físico e de reflexo dos filhotes machos e fêmeas, de mães DC, quando comparados aos respectivos controles. A avaliação do desenvolvimento físico dos filhotes machos, das mães que ingeriram dieta de cafeteria, apresentaram três parâmetros prejudicados (SDD, RP e EIS), enquanto as fêmeas apenas dois (EIS e AO). Os prejuízos do desenvolvimento de reflexo foram os mesmos para ambos, apresentando retardo nos reflexos de APD e EV.

O início da nutrição materna pré-natal e pós-natal têm um papel fundamental na ingestão de alimentos, no peso corporal e na homeostase energética da prole. A dieta materna com o alto teor de gordura tem induzido a obesidade nas gestantes, assim prejudicando o crescimento intrauterino e determinando baixo peso ao feto. Além disso, camundongos que consumiram durante a gravidez e lactação uma dieta rica em ácidos graxos promoveram alterações no desenvolvimento somático e neurológico de sua prole como: redução do peso corporal e do crescimento no início da vida, excesso de peso em estágios tardios na vida, nos desenvolvimentos reflexos e físicos (MENDES-DA-SILVA et al., 2014).

O sistema nervoso central promove o papel fundamental para o controle de vários processos fisiológicos (DAVIDSON; DOBBING, 1968), sendo que no decorrer do desenvolvimento neural existe um período crítico que ocorre em fases diferentes na vida. Em ratos esse período ocorre durante toda lactação, já em humanos no último trimestre de gestação até o segundo ano de vida (DUBOVICKY´ et al., 1996; MORGANE et al., 1978; WALKER, 2005). As alterações nutricionais podem afetar o sistema nervoso dos filhotes, influenciando nas maturações reflexas. Além de seu papel primordial na atividade motora, os reflexos também podem indicar o estágio de maturação do sistema nervoso (KANDEL et al., 1997). Fox (1965) trabalhou em um espectro de reflexos interligando o desenvolvimento e o comportamento de animais. Assim, demonstrou que as aplicações de testes comportamentais e neurológicos

podem servir como indicador útil para identificar as etapas sequenciais de desenvolvimento normal do cérebro (SILVA, 2014).

Os resultados dos nossos estudos indicaram que houve um desenvolvimento prejudicado dos reflexos e físicos nos filhotes adolescentes machos e fêmeas.

Trabalhos semelhantes ao nosso, demonstraram que a exposição materna a uma dieta rica em ácidos graxos pode afetar o desenvolvimento físico, reflexo, somático e neural da prole. Além disso, as deficiências do desenvolvimento neurológico e neurocomportamentais sofridas pela prole de mães expostas a essa dieta pode ser refletida por distúrbios patológicos como, psicomotor, comportamentais e cognitivas na vida adulta (GIRIKO et al., 2013).

Portanto, uma alimentação adequada e balanceada durante a gestação é indispensável no desenvolvimento da prole para que o sistema nervoso central não fique vulnerável durante os períodos críticos e não desenvolva problemas na maturação reflexa que podem prejudicar o desenvolvimento da prole no decorrer da vida.

Com os resultados em relação ao peso, o crescimento nasoanal, distância anogenital e índice de crescimento dos filhotes machos e fêmeas, ao decorrer dos vinte um dias, pode se observar que não apresentaram diferenças entre os grupos.

Durante a gestação foi observado que filhotes provindos de animais alimentados com a dieta rica em gordura cresceram menos nos primeiros dez dias de vida. Além disso, essas dietas afetaram negativamente a produção de leite, de modo que prole das lactantes além de crescer menos, têm taxas de mortalidade muito mais elevadas em relação ao seu controle (SHAW et al., 1997).

Na pesquisa de Kirk et al. (2009) foi comparado os efeitos relevantes da suplementação nutricional e fisiológicas no útero de um camundongo gestante e períodos de crescimento neonatais precoces de sua prole ao ingerir uma dieta de cafeteria, assim eles observaram que o alto consumo desses alimentos palatáveis durante a gravidez e aleitamento interferiu no desenvolvimento normal desses filhotes e além do mais, os camundongos recém-desmamados tiveram crescimento retardado em comparação com o controle.

Outros estudos indicam que o baixo peso ao nascer está relacionado com o risco de síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e aterosclerose no decorrer da vida e,

o crescimento fetal pobre também tem sido associado à obesidade adulta, a hipertensão e metabolismo anormal de lipídeos (MCMILLEN et al., 2005).

O peso da ninhada e o crescimento nos filhotes machos e fêmeas como demonstrado nos resultados, não apresentaram diferenças no grupo dieta de cafeteria quando comparado ao controle. De acordo com outros estudos utilizando como modelo dieta de cafeteria e hiperlipídica durante a gestação e lactação, foi observado nos filhotes que a taxa de crescimento e o peso corporal não apresentaram diferenças do grupo tratado em relação ao seu controle, reforçando assim nossos resultados (BUCKLEY et al., 2005; MACQUEE et al., 2007; PISANI et al., 2008).

Porém, existem achados na literatura que apresentam um maior ganho de peso e crescimento nos filhotes machos de mães alimentados com uma dieta de cafeteria durante a gestação (BOUANANE et al., 2010). Percebe-se que ainda não estão bem estabelecidos os efeitos que a dieta hiperlipídica pode exercer sobre o crescimento somático, sobretudo, quando ofertada durante o período crítico de desenvolvimento, uma vez que os estudos encontrados na literatura são contraditórios (SILVA, 2014).

Com relação aos resultados observa-se que o índice de Lee dos filhotes machos, de mães DC, foi menor comparado ao controle no experimento, porém nas fêmeas não houve diferença. Já em relação à quantificação da adiposidade dos filhotes do grupo dieta de cafeteria pode-se observar que foi maior em ambos sexos quando comparado ao controle. Mas vale ressaltar que essa redução do índice de Lee foi mínima em relação a quantidade de gordura abdominal encontrada em ambos sexos.

Inúmeras evidências sugerem que um ambiente inadequado para o feto é determinante no aparecimento de doenças na vida adulta. Além disso, existe a comprovação que uma alimentação materna altamente calórica, possivelmente amplifica vários efeitos prejudiciais na interação do ambiente pré-natal e pós-natal que resulta em complicações na saúde da prole como dislipidemia, resistência à insulina, obesidade e hipertensão na idade adulta (SEDOVÁ et al., 2007).

Alguns autores demonstram uma relação direta entre dieta altamente calórica e aumento do Índice de Lee e conseqüentemente maiores quantidades de gordura abdominal (MALI et al., 2013; SANTOS et al., 2010).

Segundo Bayol et al. (2005) os ratos nascidos de mães alimentadas com uma dieta de cafeteria durante a gestação e lactação apresentaram atrofia muscular e hipoplasia da fibra acompanhada por acúmulo de lipídeos intramuscular e aumento do peso do tecido adiposo. Além disso, houve comprometimento no desenvolvimento dos músculos esqueléticos e distúrbios metabólicos associados, normalmente, com resistência à insulina, já em fase de desmame.

No entanto, vale lembrar que os filhotes na fase de desenvolvimento não apresentaram alterações em relação ao peso. Portanto, é relevante observar que as mães que consumiram dieta de cafeteria durante a gestação, podem ter ingerido uma menor quantidade de proteínas e pode ter ocorrido com os seus filhotes fenômeno conhecido como *catch up* de crescimento, no qual o organismo compensa uma taxa lenta de crescimento por déficit de proteínas na dieta durante os períodos iniciais da vida e assim, consequentemente favorecendo uma maior adiposidade em idade mais avançadas. Como se pode observar, os filhotes adolescentes do nosso trabalho, de mães expostas a dita de cafeteria, obteve um aumento da adiposidade abdominal quando comparados ao controle. E pesquisas prévias demonstram que filhotes com esse fenômeno possa ter mais problemas na vida adulta com maior risco de doença coronariana, diabetes tipo 2 e hipertensão arterial, estabelecidas durante o desenvolvimento (BARKER et al., 2002; SILVA, 2014).

Com relação ao teste de nado forçado pode-se observar que os tempos de imobilidade não foram diferentes nos filhotes adolescentes machos e fêmeas, descendentes de mães tratadas com dieta de cafeteria. E isto sugere que esses filhotes não apresentaram um comportamento tipo depressivo quando comparado ao seu controle.

Segundo Giriko et al. (2013) filhotes de mães que ingeriram uma dieta rica em gordura durante a lactação apresentaram mudanças no desenvolvimento e neurocomportamentais, uma possível interrupção da maturação física, sensorial e motora, além de comportamentos preditivos de ansiedade e depressão.

Porém em nosso experimento não foi observado nos filhotes, em que as mães foram expostas a uma dieta de cafeteria durante a gestação, um comportamento tipo depressivo. Isto pode ser explicado devido ao aumento do comportamento materno que pode ter contribuído para a não alteração deste

comportamento ou até mesmo o tempo que a mãe recebeu a dieta não foi suficiente para que houvesse repercussões na prole em relação à depressão.

Em outro estudo com ratos que foram expostos a uma dieta hiperlipídica no período perinatal, utilizando o teste de nado forçado para analisar o comportamento tipo depressivo foi observado o seu aumento (CAN et al., 2012). Porém, na literatura relatos que a dieta de cafeteria melhora comportamentos relacionados a ansiedade e depressão, como pode ser confirmado no estudo de Maniam e Morris (2010) em que roedores que passaram por uma separação materna durante a lactação, tiveram um cuidado materno prejudicado. Esses mesmos filhotes ao ingerirem uma dieta de cafeteria no desmame na idade adulta apresentaram uma melhora no comportamento tipo depressivo.

Com relação ao aparato claro-escuro pode-se observar que os filhotes machos apresentaram aumento no comportamento preditivo de ansiedade, devido ao aumento da permanência dos mesmos no escuro e essa alteração já não é evidente nas fêmeas.

Como já mencionado, achados prévios apontam que se os filhotes durante a lactação receberam mais *licking*, conseqüentemente é maior o cuidado materno, portanto menos propenso a desenvolver comportamentos preditivos de ansiedade (PEDERSEN et al., 2011). Porém, no nosso estudo não encontramos tal resultado, uma vez que deve ressaltado que os filhotes adolescentes passaram por uma nutrição inadequada intrauterina a qual pode estar influenciando e persistindo nas alterações comportamentais encontradas.

No modelo experimental de Sasaki et al. (2014) foi utilizado roedores machos e fêmeas adolescentes, provindos de mães expostas a uma dieta calórica no período de quatro semanas, antes do acasalamento e durante toda gestação e lactação. Eles também utilizaram como aparato o teste claro-escuro para verificar comportamentos preditivos de ansiedade. Resultados deste estudo demonstraram que somente os machos apresentaram um aumento desse comportamento preditivo de ansiedade. Esses resultados encontrados nesse experimento corroboraram com os nossos achados.

Outros estudos com roedores também observaram um aumento do comportamento preditivo de ansiedade nos filhotes machos adultos expostos a uma dieta rica em gordura durante toda a gravidez (BILBO; TSANG, 2010; PELEG-

RAIBSTEIN; LUCA; WOLFRUM, 2012; SASAKI et al., 2013). Portanto, sugere-se que o comportamento preditivo de ansiedade nos filhotes no nosso estudo pode estar mais interligado com má nutrição, mesmo que tenha ocorrido um aumento do comportamento materno.

A exposição intra-uterina a uma dieta rica em gordura contribui significativamente para o desenvolvimento de alterações na prole antes da puberdade, modificando o risco de obesidade precoce e influenciando a maturação e a função reprodutiva em longo prazo. Sugere-se que a má nutrição materna, em vez de cuidados maternos inadequados, poderia ser o principal condutor das alterações observadas no desenvolvimento da prole e função reprodutiva (CONNOR, 2012).

Em relação ao teste de campo aberto, pode-se observar que não houve alterações nos filhotes adolescentes machos e fêmeas, descendentes de mães tratadas com dieta de cafeteria. Corroborando com os nossos resultados Palsdottir et al., 2012 demonstraram que descendentes de mães expostas a uma dieta de ácidos graxos quando expostos ao campo aberto não apresentaram alterações no comportamento tipo ansioso no campo aberto.

Embora experimentos demonstrem que a exposição de ratas fêmeas a uma dieta hipercalórica, no período anterior e durante a gestação e lactação, sobre o desenvolvimento de sua prole masculina têm sido relacionada com o aumento do comportamento preditivo de ansiedade (RAMÍREZ- LÓPEZ et al., 2015). Resultados semelhantes têm relatado que proles descendentes de mães expostas a uma dieta rica em ácidos graxos apresentam este comportamento (SULLIVAN et al., 2010; PELEG-RAIBSTEIN et al., 2012). No entanto existem achados na literatura que contradizem essa teoria, mostrando que pode ocorrer uma diminuição do comportamento preditivo de ansiedade na prole de seus descendentes. (SASAKI et al., 2014; WRIGHT et al., 2011).

No teste claro-escuro foi evidente um aumento no comportamento preditivo de ansiedade nos filhotes machos, apesar do mesmo não ter sido demonstrado no teste de campo aberto. Em relação às fêmeas os dois testes não apresentaram alteração no comportamento tipo ansioso.

Em nosso estudo, foi realizado o teste de *play behavior* a fim de verificar se as alterações do comportamento tipos ansiosos dos animais poderiam interferir no comportamento de brincar. De acordo com os nossos dados, pode-se observar que

os filhotes fêmeas apresentaram déficits no comportamento de brincar, devido a redução dos parâmetros *sniffing*, *following*, *push* e *crawl* e aumento da latência para *sniffing* e do tempo de não interação. Na prole masculina o déficit foi evidente no parâmetro de *sniffing*.

A construção de ligações sociais nos primeiros dias de vida e na adolescência dos filhotes é constituída de fases críticas (SPEAR, 2000). Segundo estudo de Homberg et al. (2007) o *play behavior*, que se inicia após o desmame em roedores, é considerado uma ação crucial para o desenvolvimento cognitivo e social. Além disso, estudos comprovam que o ato de brincar é fundamental para um melhor desenvolvimento em relação ao ambiente social que o indivíduo está inserido (VAN DEN BERG et al., 1999).

A capacidade de interagir com membros da mesma espécie é essencial para o estabelecimento de relações sociais estáveis, que são fundamentais para a reprodução e sobrevivência. Diante da importância dessas relações, estudos apontam que tais comportamentos podem ser influenciados pela dieta materna (RAYGADA, 1998).

A nutrição materna desempenha um papel importante no crescimento físico e desenvolvimento comportamental da prole sendo que uma dieta inadequada durante o período perinatal pode negativamente influenciar o desenvolvimento do cérebro, resultando em alterações na sua estrutura e, conseqüentemente, no seu funcionamento (ALAMY et al., 2012). Delineamentos experimentais em roedores têm avaliado as conseqüências da desnutrição no comportamento e desenvolvimento de sua prole (BLACK et al., 2013). Além disso, estudos epidemiológicos em humanos também demonstraram influências negativas da insuficiência dos nutrientes no período perinatal envolvidos com a déficits cognitivos e alterações comportamentais e neurológicas, relacionadas à memória, comportamento de brincar, depressão, ansiedade, doenças como autismo, entre outras (DE GODOY et al., 2013; PATIN, et al., 2005).

No modelo experimental de Belluscio et al. (2014) foi avaliado o comportamento de brincar nos filhotes adolescentes, machos e fêmeas, de mães que ingeririam uma dieta hipoprotéica, ao comparar seus filhotes com o controle (filhotes de mães que ingeriram uma dieta normal em quantidades proteicas). Ambos

os sexos apresentaram diminuição no comportamento de brincar no parâmetro de *sniffing* corroborando com os nossos resultados.

Outro achado na literatura demonstra que uma ingestão de uma dieta rica em gorduras por mães, durante o período perinatal, pode causar impactos no comportamento social dos seus descendentes. Nos filhotes fêmeas, de mães que ingeriram uma dieta hiperlipídica durante a gestação, foi observado uma diminuição da sociabilidade no teste de interação social e aumento do comportamento tipo ansioso no aparato de campo aberto (KANG et al., 2014).

Em outro experimento com uma dieta rica em ácidos graxos durante a gestação e lactação, foi observado na prole adulta (machos e fêmeas) redução de sociabilidade no teste de interação social e aumento do comportamento tipo ansioso no teste de labirinto em cruz elevado, e que essa alteração foi relacionada com intervenções ao início da vida, sugerindo mudanças de desenvolvimento na conectividade cerebral, sinaptogênese, cognição e comportamento que estão diretamente relacionados com distúrbios do espectro do autismo (JONES et al., 2012).

Portanto, diante dos resultados obtidos no presente estudo e dos achados apresentados pela literatura citada, pode-se sugerir que a exposição perinatal a uma dieta inadequada, dieta de cafeteria, foi capaz de acarretar prejuízos no comportamento de brincar, em machos e fêmeas, sendo estes parâmetros mais evidenciados na prole feminina.

## 9 CONCLUSÃO

Diante dos nossos resultados, conclui-se que a ingestão da dieta de cafeteria pela mãe durante a gestação prejudicou o desenvolvimento físico e reflexo da prole e promoveu um comportamento tipo ansioso na adolescência.

## REFERÊNCIAS

ALAMY, M.; BENGELLOUN, W. A. Malnutrition and brain development: an analysis of the effects of inadequate diet during different stages of life in rat. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Rabat, Marocco, v. 36, n. 6, p. 1463-1480, April, 2012.

ALBUQUERQUE, K.T. et al. Intake of trans fatty acid–rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, São Paulo, Brasil, v. 22, n. 7, p. 820-829, July, 2006.

ALMEIDA, S. S. et al. Nutrition and brain function: a multidisciplinary virtual symposium. **Nutritional neuroscience**, v.5, n.5, p. 311-320, September, 2013.

ASSUNÇÃO, P. L. et al. Ganho ponderal e desfechos gestacionais em mulheres atendidas pelo Programa de Saúde da Família em Campina Grande, PB (Brasil). **Rev. bras. epidemiol**, Campina Grande, Brasil, v. 10, n. 3, p. 352-360, setembro, 2007.

AKYOL, A.; LANGLEY-EVANS, S. C.; MCMULLEN, S. Obesity induced by cafeteria feeding and pregnancy outcome in the rat. **British journal of nutrition**, Sutton Bonington, Loughborough, v. 102, n. 11, p. 1601-1610, July, 2009.

ANAND, K. J. S.; SCALZO, F. M. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior?. **Neonatology**, Arkansas, USA, v. 77, n. 2, p. 69-82, February, 2000.

ANGOJA-PÉREZ, M. et al. Brain serotonin determines maternal behavior and offspring survival. **Genes, Brain and Behavior**, Detroit, USA, v. 13, n. 7, p. 579-591, September, 2014.

ARAKAWA, H.; ERZURUMLU, R. S. Role of whiskers in sensorimotor development of C57BL/6 mice. **Behavioural brain research**, Baltimore, USA, v. 287, p. 146-155, March, 2015.

BARKER, D. J.P. et al. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. **International journal of epidemiology**, Helsinki, Finland, v. 31, n. 6, p. 1235-1239, June, 2002.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; STICKLAND, N. C. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. **The Journal of physiology**, London, UK v. 567, n. 3, p. 951-961, September, 2005.

BAYOL, S. A. et al. Offspring from mothers fed a 'junk food' diet in pregnancy and lactation exhibit exacerbated adiposity that is more pronounced in females. **The Journal of physiology**, London, UK. v. 586, n. 13, p. 3219-3230, July, 2008.

BAYOL, S. A. et al. A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat offspring. **Endocrinology**, London, United Kingdom, v. 151, n. 4, p. 1451-1461, April, 2010.

BELLUSCIO, L. M. et al. Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. **Physiology & behavior**, Buenos Aires, Argentina, v. 129, p. 237-254, March, 2014.

BILBO, S. D.; TSANG, V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **The FASEB Journal**, Durham, USA, v. 24, n. 6, p. 2104-2115, February, 2010.

BLACK, R. E. et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. **The lancet**, Baltimore, USA, v. 382, n. 9890, p. 427-451, June, 2013.

BOSCH, O. J. et al. Prenatal stress increases HPA axis activity and impairs maternal care in lactating female offspring: implications for postpartum mood disorder. **Psychoneuroendocrinology**, Regensburg, Germany, v. 32, n. 3, p. 267-278, March, 2007.

BOSCH, O. J. Maternal nurturing is dependent on her innate anxiety: the behavioral roles of brain oxytocin and vasopressin. **Hormones and behavior**, Regensburg, Germany, v. 59, n. 2, p. 202-212, November, 2011.

BOUANANE, S. et al. Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in overfed obese rats and their offspring. **Clinical Science**, Tlemcen, Algeria, v. 116, n. 8, p. 669-680, April, 2009.

BOUANANE, S. et al. Hepatic and very low-density lipoprotein fatty acids in obese offspring of overfed dams. **Metabolism**, Tlemcen, Algeria, v. 59, n. 12, p. 1701-1709, May, 2010.

BRANDIMARTI, P. et al. Cafeteria diet inhibits insulin clearance by reduced insulin-degrading enzyme expression and mRNA splicing. **Journal of Endocrinology**, Campinas, Brazil, v. 219, n. 2, p. 173-182, August, 2013.

BRIDGES, R. S. et al. Prolactin stimulation of maternal behavior in female rats. **Science**, v. 227, p.782-784, February, 1985.

BUCHABQUI, J. A.; ABEICHE, A. M.; NICKEL, C. Assistência Pré-natal. In: FREITAS, F.; MARTINS-COSTA, S. H.; RAMOS J. G. R.; MAGALHÃES, J. A. (Org.). **Rotinas em Obstetrícia**. 6. ed. Porto Alegre: Grupo Editoras, 2011, p. 23-44.

BUCKLEY, A. J. et al. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. **Metabolism**, Sydney, Australia, v. 54, n. 4, p. 500-507, March, 2005.

BYRNES, E. M.; BRIDGES, R. S. Reproductive experience alters anxiety-like behavior in the female rat. **Hormones and behavior**, North Grafton, USA, v. 50, n. 1, p. 70-76, March, 2006.

CALDJI, C. et al. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Montreal, Canada, v. 95, n. 9, p. 5335-5340, April, 1998.

CALVINO-NÚÑEZ, C.; DOMÍNGUEZ-DEL-TORO, E. Clonidine Treatment Delays Postnatal Motor Development and Blocks Short-Term Memory in Young Mice. **PLoS one**, Sevilla, Spain, v. 9, n. 12, p. e114869, December, 2014.

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

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, Brasil, v. 50, n. 2, p. 190-197, abril, 2006.

CIRULLI, F.; BERRY, A.; ALLEVA, E. Early disruption of the mother–infant relationship: effects on brain plasticity and implications for psychopathology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Rome, Italy, v. 27, n. 1, p. 73-82, april, 2003.

CHAMPAGNE, F. A. et al. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiology & behavior**, Montreal, Quebec, Canada, v. 79, n. 3, p. 359-371, July, 2003.

CONNOR, K. L. et al. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. **The Journal of physiology**, Auckland, New Zealand, v. 590, n. 9, p. 2167-2180, April, 2012.

COSTA, H. H. V.; VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Continuous central infusion of cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 decreases maternal care in lactating rats: Consequences for fear conditioning in adulthood males. **Behavioural brain research**, Alfenas, Minas Gerais, Brazil, v. 257, p. 31-38, September, 2013.

CRAWLEY, J. N. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, Bethesda, USA, v. 15, n. 5, p. 695-699, March, 1981.

DALLMAN, M. F.; PECORARO, N. C.; LA FLEUR, S. E. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. **Brain, behavior, and immunity**, San Francisco, USA, v. 19, n. 4, p. 275-280, January, 2005.

DAVISON, A. N.; DOBBING, J. **Applied neurochemistry**. Blackwell Scientific, 1968.

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

DE GODOY, M. A. et al. Effects of protein restriction during gestation and lactation on cell proliferation in the hippocampus and subventricular zone: Functional implications. Protein restriction alters hippocampal/SVZ cell proliferation. **Brain Research**, Rio de Janeiro, Brazil, v. 1496, p. 10-27, February, 2013.

DE MOURA, R. F. et al. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. **British journal of nutrition**, Rio Claro, SP, Brazil, v. 101, n. 08, p. 1178-1184, November, 2008.

DE SOUZA, D. K. et al. Visceral adiposity influences glucose and glycogen metabolism in control and hyperlipidic-fed animals. **Nutrición hospitalaria: Órgano oficial de la Sociedad española de nutrición parenteral y enteral**, Brasilia, DF, Brazil, v. 28, n. 2, p. 545-552, 2013.

DUBOVICKY, M. et al. Effect of long-term administration of stobadine to rats on selective variables of spontaneous behaviour of their offspring. **General physiology and biophysics**, Bratislava, Slovakia, v. 15, p. 181-186, 1996.

ELAHI, M. M. et al. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. **British Journal of Nutrition**, Southampton, UK, v. 102, n. 04, p. 514-519, February, 2009.

ESTADELLA, D. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, São Paulo, Brazil v. 20, n. 2, p. 218-224, February, 2004.

FERNÁNDEZ, C. M. et al. The expression of rat resistin isoforms is differentially regulated in visceral adipose tissues: effects of aging and food restriction. **Metabolism**, Toledo, Spain, v. 58, n. 2, p. 204-211, January, 2009.

FERREIRA, A. et al. Role of maternal behavior on aggression, fear and anxiety. **Physiology & behavior**, Montevideo, Uruguay, v. 77, n. 2, p. 197-204, July, 2002.

FINGER, B. C.; DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. High-fat diet selectively protects against the effects of chronic social stress in the mouse. **Neuroscience**, v. 192, p. 351-360, 2011.

FLEMING, A. S.; ROSENBLATT, J. S. Olfactory regulation of maternal behavior in rats: I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. **Journal of comparative and physiological psychology**, v. 86, n. 2, p. 221, February, 1974.

FLEMING, A. S.; WALSH, C. Neuropsychology of maternal behavior in the rat: c-fos expression during mother-litter interactions. **Psychoneuroendocrinology**, Mississauga, Ontario Canada, v. 19, n. 5, p. 429-443, November, 1994.

FLEMING, A. S.; O'DAY, D. H.; KRAEMER, G. W. Neurobiology of mother–infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 23, n. 5, p. 673-685, 1999.

FOSTER, G. D. et al. The effects of a commercially available weight loss program among obese patients with type 2 diabetes: a randomized study. **Postgraduate Medicine**, Philadelphia, USA, v. 121, n. 5, p. 113-118, September, 2009.

FOX, W. áM. Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. **Animal Behaviour**, Maine, USA, v. 13, n. 2, p. 234-IN5, October, 1965.

FREITAS, E. S. et al. Recomendações nutricionais na gestação. **Destaques Acadêmicos**, Porto Alegre, Brasil, v. 2, n. 3, 2011.

GAC, L. et al. Behavioral characterization of a model of differential susceptibility to obesity induced by standard and personalized cafeteria diet feeding. **Physiology & behavior**, Santiago, Chile, v. 152, p. 315-322, October, 2015.

GAMMIE, S. C.; NELSON, R. J. cFOS and pCREB activation and maternal aggression in mice. **Brain research**, Baltimore, USA, v. 898, n. 2, p. 232-241, April, 2001.

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

GROTA, L. J.; ADER, R. Continuous recording of maternal behaviour in *Rattus norvegicus*. **Animal Behaviour**, N.Y., USA, v. 17, n. 4, p. 722-729, January, 1969.

GUBERNICK, D. J.; KLOPFER, R. S. (Eds). **Parental Care in Mammals**. 1° ed. Nova Iorque: Plenum Press, 1981.

GUGUSHEFF, J. R.; ONG, Z. Y.; MUHLHAUSLER, B. S. Naloxone treatment alters gene expression in the mesolimbic reward system in 'junk food' exposed offspring in a sex-specific manner but does not affect food preferences in adulthood. **Physiology & behavior**, Adelaide, Australia, v. 133, p. 14-21, April, 2014.

GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F.; SCOTT, A. **Human nutrition**. Michigan: Mosby, 1995.

HARIRI, N.; GOUGEON, R.; THIBAUT, L. A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content. **Nutrition research**, Quebec, Canada, v. 30, n. 9, p. 632-643, October, 2010.

HANSEN, B. R. et al. Impact of switching antiretroviral therapy on lipodystrophy and other metabolic complications: a review. **Scandinavian journal of infectious diseases**, Denmark, v. 36, n. 4, p. 244-253, January, 2004.

HIGUCHI, T. et al. Release of oxytocin during suckling and parturition in the rat. **Journal of Endocrinology**, v. 105, n. 3, p. 339-346, 1985.

HOMBERG, J. R. et al. Characterization of the serotonin transporter knockout rat: a selective change in the functioning of the serotonergic system. **Neuroscience**, Utrecht, The Netherlands, v. 146, n. 4, p. 1662-1676, April, 2007.

HUNTINGFORD, F. A. Animals fight but do not make war. In: Groebel, J., Hinde, R. A. Aggression and war – their biological and social bases. **Cambridge, Cambridge University Press**, N.Y., USA, 1989.

INSEL, T. R.; YOUNG, L. J. The neurobiology of attachment. **Nature Reviews Neuroscience**, Georgia, USA, v. 2, n. 2, p. 129-136, February, 2001.

JONES, K. L. et al. Maternal diet rich in omega-6 polyunsaturated fatty acids during gestation and lactation produces autistic-like sociability deficits in adult offspring. **Behavioural brain research**, Columbia, USA, v. 238, p. 193-199, October, 2012.

JACOBS, S. et al. The impact of maternal consumption of cafeteria diet on reproductive function in the offspring. **Physiology & behavior**, Porto Alegre, Brazil, v. 129, p. 280-286, March, 2014.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. Desenvolvimento do sistema nervoso. **Fundamentos da neurociência e do comportamento**. Rio de Janeiro: Prentice-Hall, p. 75-91, 1997.

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

KING, J.C.; WEININGER, J. Embarazo y lactancia. Washington DC: **Organización Panamericana de la Salud**, p.362-368. (OPAS – Publicación Científica, 532), 1991.

KIRK, S. L. et al. Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. **PloS one**, London, United Kingdom, v. 4, n. 6, p. e5870, June, 2009.

KRAMER, M. S. et al. Promotion of Breastfeeding Intervention Trial (PROBIT): a randomized trial in the Republic of Belarus. **Jama**, Montreal, Quebec, v. 285, n. 4, p. 413-420, January, 2001.

LALANZA, J. F. et al. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. **PloS one**, Barcelona, Spain, v. 9, n. 1, p. e85049, January, 2014.

LEVINE, S. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. **European journal of pharmacology**, California, USA, v. 405, n. 1, p. 149-160, November, 2000.

LYNN TALTON, 2007. Disponível em: <<http://btc.psych.ucla.edu/lightdark.htm>>  
Acesso em: 16 agosto, 2015.

LONSTEIN, J. S.; GAMMIE, S. C. Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, East Lansing, USA, v. 26, n. 8, p. 869-888, October, 2002.

LOUIS-SYLVESTRE J.; GIACHETTI I.; LE MAGNEN J. Sensory versus dietary factors in cafeteria-induced overweight. **Physiol Behav**, Paris, France, v. 32, n.6, p. 901-905, January, 1983.

MACDONALD, A. A. et al. The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. **Human reproduction update**, European, v. 16, n. 3, p. 293-311, November, 2009.

MACQUEEN, H. A. et al. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. **Nutrition research**, Milton Keynes, UK, v. 27, n. 1, p. 38-47, January, 2007.

MALI, P. Y. et al. Anti-obesity activity of chloroform-methanol extract of *Premna integrifolia* in mice fed with cafeteria diet. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, Ahmedabad, Gujarat, India, v. 5, n. 3, p. 229, September, 2013.

MANEIRA, 2014; Adaptado de CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/38868/TCC%20Caroline%20Maneira.pdf?sequence=1>> Acesso em: 16 agosto. 2015

MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Long-term postpartum anxiety and depression-like behavior in mother rats subjected to maternal separation are ameliorated by palatable high fat diet. **Behavioural brain research**, New South Wales, Australia, v. 208, n. 1, p. 72-79, November, 2009.

MANN, P. E. Finasteride delays the onset of maternal behavior in primigravid rats. **Physiology & behavior**, Grafton, USA, v. 88, n. 4, p. 333-338, June, 2006.

MARTIRE, S. I. et al. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. **PloS one**, New South Wales, Australia v. 8, n. 4, p. e60407, April, 2013.

MASSARO, T. F.; LEVITSKY, D. A.; BARNES. R. H. Protein malnutrition in the rat: its effects on maternal behavior and pup development. **Dev. Psicobiol.**, New York, USA, v. 7, n. 6, p. 551-561, November, 1974.

MARTHIN LUTHER KING, 195-?. Disponível em: <[http://pensador.uol.com.br/autor/martin\\_luther\\_king/2/](http://pensador.uol.com.br/autor/martin_luther_king/2/)> Acesso em: 08 maio, 2016.

MARX, J. Unraveling the causes of diabetes. **Science**, v. 296, n. 5568, p. 686-689, April, 2002.

MATTSON, B. J. et al. Comparison of two positive reinforcing stimuli: pups and cocaine throughout the postpartum period. **Behav Neurosci**, v. 115, n. 3, p. 683-694, June, 2001.

MYERS, M. M. et al. Maternal behavior of SHR rats and its relationship to offspring blood pressures. **Developmental Psychobiology**, New York, USA, v. 22, n. 1, p. 29-53, January, 1989.

MCMILLEN, I. C.; ADAM, C. L.; MÜHLHÄUSLER, Beverly S. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. **The Journal of physiology**, Adelaide University, Australia, v. 565, n. 1, p. 9-17, May, 2005.

MENARD, J. L.; CHAMPAGNE, D. L.; MEANEY, M. J. P. Variations of maternal care differentially influence 'fear' reactivity and regional patterns of cFos immunoreactivity in response to the shock-probe burying test. **Neuroscience**, Ontario, Canada, v. 129, n. 2, p. 297-308, September, 2004.

MENDES-DA-SILVA, C. et al. Maternal high-fat diet during pregnancy or lactation changes the somatic and neurological development of the offspring. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 136-144, February, 2014.

MORGANE, P. J. et al. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Shrewsbury, USA, v. 2, n. 3, p. 137-230, March, 1978.

MORICEAU, S.; SULLIVAN, R. M. Neurobiology of infant attachment. **Developmental psychobiology**, Oklahoma Norman, v. 47, n. 3, p. 230-242, October, 2005.

MORRIS, M. J. et al. Brain neuropeptide Y and CCK and peripheral adipokine receptors: temporal response in obesity induced by palatable diet. **International journal of obesity**, New South Wales, Australia, v. 32, n. 2, p. 249-258, September, 2008.

NADERALI, E. K. et al. Diet-induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total body weight. **Clinical Science**, Liverpool, U.K., v. 100, n. 6, p. 635-641, June, 2001.

NUMAN, M. Neural basis of maternal behavior in the rat. **Psychoneuroendocrinology**, Massachusetts, USA, v. 13, n. 1, p. 47-62, June, 1987.

NUMAN, M. A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. **Acta Paediatrica. Supplement**, Chestnut Hill, MA 02167, USA, v.397, p.19-28, June, 1994.

NUMAM M, INSEL, T.R. The neurobiology of parietal behavior. **New York Springer**, 2003.

PATIN, V. et al. Effects of prenatal stress on anxiety and social interactions in adult rats. **Developmental Brain Research**, Mont-Saint-Aignan Cedex, France, v. 160, n. 2, p. 265-274, November, 2005.

PECORARO, N. et al. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. **Endocrinology**, San Francisco, California, v. 145, n. 8, p. 3754-3762, May, 2004.

PEDERSEN, C. et al. Variations in maternal behavior in C57BL/6J mice: Behavioral comparisons between adult offspring of high and low pup-licking mothers. **Frontiers in psychiatry**, Chapel Hill, NC, USA, v. 2, p. 42, July, 2011.

PELEG-RAIBSTEIN, D.; LUCA, E.; WOLFRUM, C. Maternal high-fat diet in mice programs emotional behavior in adulthood. **Behavioural brain research**, Schwerzenbach, Switzerland, v. 233, n. 2, p. 398-404, May, 2012.

PICCIANO, M. F. Embarazo y lactancia. In: ZIEGLER, E.E.; FILER, L.J. J. **Conocimientos actuales sobre nutrición**. ed.7. Washington: OMS, 1997.

PINE, A. P.; JESSOP, N. S.; OLDHAM, J. D. Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. **British Journal of Nutrition**, West Mains Road, Edinburgh, v. 71, n. 01, p. 13-27, January, 1994.

PIRES, G. N. et al. Comportamento materno em ciência básica: pesquisa translacional e aplicabilidade clínica. **Einstein**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 256-260, junho, 2013.

PISANI, L. P. et al. Hydrogenated fat intake during pregnancy and lactation modifies serum lipid profile and adipokine mRNA in 21-day-old rats. **Nutrition**, São Paulo, Brazil, v. 24, n. 3, p. 255-261, January, 2008.

PALSDOTTIR, V. et al. Long-term effects of perinatal essential fatty acid deficiency on anxiety-related behavior in mice. **Behavioral neuroscience**, v. 126, n. 2, p. 361, April, 2012.

PORSOLT, R. D. et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European journal of pharmacology**, Rueil-Malmaison, France, v. 47, n. 4, p. 379-391, October, 1977.

PRADA, P. O. et al. Selective modulation of the CAP/Cbl pathway in the adipose tissue of high fat diet treated rats. **FEBS letters**, São Paulo, Brazil, v. 580, n. 20, p. 4889-4894, August, 2006.

PURCELL, R. H. et al. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior. **Physiology & behavior**, Baltimore, USA, v. 104, n. 3, p. 474-479, May, 2011.

RAMÍREZ-LÓPEZ, M. T. et al. Exposure to a Highly Caloric Palatable Diet During Pregestational and Gestational Periods Affects Hypothalamic and Hippocampal Endocannabinoid Levels at Birth and Induces Adiposity and Anxiety-Like Behaviors in Male Rat Offspring. **Frontiers in behavioral neuroscience**, Madrid, Spain, v. 9, n.6, p. 339, January, 2015.

RAYGADA, M.; CHO, E.; HILAKIVI-CLARKE, L. High maternal intake of polyunsaturated fatty acids during pregnancy in mice alters offsprings' aggressive behavior, immobility in the swim test, locomotor activity and brain protein kinase C activity. **The Journal of nutrition**, Washington, USA, v. 128, n. 12, p. 2505-2511, December, 1998.

RIFAS-SHIMAN, S. L. et al. Changes in dietary intake from the first to the second trimester of pregnancy. **Paediatric and perinatal epidemiology**, Boston, USA, v. 20, n. 1, p. 35-42, January, 2006.

ROLLS, B. A. et al. Lactation in lean and obese rats: effect of cafeteria feeding and of dietary obesity on milk composition. **Physiology & behavior**, Shinfield Reading, U.K., v. 38, n. 2, p. 185-190, June, 1985.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. Molecular regulation of adipogenesis. **Annual review of cell and developmental biology**, Boston, U.K., v. 16, n. 1, p. 145-171, November, 2000.

SANTOS, S. N. et al. Renal resistance index predicting outcome of renal revascularization for renovascular hypertension. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v. 94, n. 4, p. 452-456, April, 2010.

SASAKI, A. et al. Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. **Neuroscience**, Toronto, Canada, v. 240, p. 1-12, February, 2013.

SASAKI, A. et al. Maternal high-fat diet alters anxiety behavior and glucocorticoid signaling in adolescent offspring. **Neuroscience**, Toronto, Canada, v. 272, 11, p. 92-101, May, 2014.

SCIENLABOR,199-?. Disponível em:

<<http://www.sciencelabor.com.br/produtos/detalhes/452/open-field---campo-aberto-de-acrilico-para-camundongo.html>> Acesso em: 7 agosto, 2015.

SCOARIS, C.R. et al. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. **Nutrition**, Maringá, Paraná, Brazil, v. 26, n. 3, p. 312-320, August, 2009.

ŠEDO VÁ, L. et al. Sucrose feeding during pregnancy and lactation elicits distinct metabolic response in offspring of an inbred genetic model of metabolic syndrome. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, Prague 2, Czech Republic, v. 292, n. 5, p. 1318-1324, April, 2007.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. **Appetite**, Sheffield, UK, v. 52, n. 1, p. 34-38, July, 2008.

SHAW, M. A.; CLAYTON, D.; BLACKWELL, J. M. Analysis of the candidate gene NRAMP1 in the first 61 ARC National Repository families for rheumatoid arthritis. **The Journal of rheumatology**, Addenbrooke's Hospital, UK, v. 24, n. 1, p. 212-214, 1997.

SILVA, J. E. **Repercussões de uma dieta hiperlipídica no período perinatal sobre a ontogênese dos reflexos e a morfometria intestinal de ratos**.2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Programa de pós-graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 2014.

SOUTH, T. et al. Rats eat a cafeteria-style diet to excess but eat smaller amounts and less frequently when tested with chow. **PloS one**, Sydney, Australia, v. 9, n. 4, p. e93506, April, 2014.

SULLIVAN, R. M.; WILSON, D. A. Molecular biology of early olfactory memory. **Learning & Memory**, Norman, Oklahoma, USA, v. 10, n. 1, p. 1-4, February, 2003.

SULLIVAN, E. L. et al. Chronic consumption of a high-fat diet during pregnancy causes perturbations in the serotonergic system and increased anxiety-like behavior in nonhuman primate offspring. **The Journal of Neuroscience**, Beaverton, Oregon, v. 30, n. 10, p. 3826-3830, March, 2010.

SPEAR, L. P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Binghamton, NY, USA, v. 24, n. 4, p. 417-463, February, 2000.

STORLIEN, L. H.; TAPSELL, L. C.; CALVERT, G. D. Role of dietary factors: macronutrients. **Nutrition reviews**, Australia, v. 58, n. 3, p. S7-9, march, 2000.

VALLE, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. **The American Journal of Psychology**, v.83, n. 1, p.103-111, March, 1970.

VAN DEN BERG, C. L. et al. Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. **Developmental psychobiology**, v. 34, n. 2, p. 129-138, March, 1999.

VAN LEENGOED, E.; KERKER, E.; SWANSON, H. H. Inhibition of post-partum maternal behaviour in the rat by injecting an oxytocin antagonist into the cerebral ventricles. **Journal of Endocrinology**, v. 112, n. 2, p. 275-282, February, 1987.

VERONESI, V.B. **Influência da dipirona sódica sobre as respostas comportamentais em camundongos fêmeas lactantes e a repercussão nos filhotes adolescentes**. 2016. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Programa de Pós-graduação em Biociências Aplicadas à Saúde - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas – MG, 2016.

VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A. Glucocorticoids disrupt neuroendocrine and behavioral responses during lactation. **Endocrinology**, Alfenas, MG, Brasil, v. 152, n. 12, p. 4838-4845, September, 2011.

VILELA, F. C.; SONCINI, R.; GIUSTI-PAIVA, A. Anxiolytic-like effect of *Sonchus oleraceus* L. in mice. **Journal of ethnopharmacology**, Alfenas, MG, Brazil, v. 124, n. 2, p. 325-327, May, 2009.

VILELA, F. C. **Endocanabinóides modulam os efeitos inibitórios dos glicocorticoides sobre as respostas neuroendócrinas e comportamentais durante a lactação.** 2011. 133 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas – MG, 2011.

URIARTE, N. et al., Effects of Maternal Care on the Development, Emotionality, and Reproductive Functions in Male and Female Rats. **Developmental Psychobiology**, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, v. 49, p.451-62, June, 2007

WALKER, C.D. Nutritional aspects modulating brain development and the responses to stress in early neonatal life. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, Montreal, Canada, v. 29, n. 8, p. 1249-1263, October, 2005.

WIENER, S. G.; SMOTHERMAN, W. P.; LEVINE, S. Influence of maternal malnutrition on pituitary-adrenal responsiveness to offspring. **Physiology & behavior**, v. 17, n. 6, p. 897-901, 1976.

WILLIAMS, S. R. Nutrição durante a gravidez e lactação. In: WILLIAMS, S. R. **Fundamentos de nutrição e dietoterapia.** 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2001.

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**, Loughborough, United Kingdom, v. 29, n. 8, p. 785-793, October, 2011.

YANG, M.; CLARKE, A. M.; CRAWLEY, J. N. Postnatal lesion evidence against a primary role for the corpus callosum in mouse sociability. **European Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 8, p. 1663-1677, April, 2009.

ZEENI, N. et al. Environmental enrichment and cafeteria diet attenuate the response to chronic variable stress in rats. **Physiology & behavior**, Byblos, Lebanon, v. 139, p. 41-49, November, 2014.