

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 28/02/2021.

EFEITO DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR MATERNA DURANTE A PRENHEZ E LACTAÇÃO NOS NEURÔNIOS MCH E CART DA ÁREA HIPOTALÂMICA LATERAL (LHA)

CARLA DE MORAES MACHADO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de
Botucatu, Unesp, para a obtenção do título de Doutora no
Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e
Aplicada, Área de Concentração Biologia Celular
Estrutural e Funcional

Prof. Ass. José de Anchieta de Castro e Horta Júnior

**Botucatu-SP
2019**

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**EFEITO DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR MATERNA DURANTE
A PRENHEZ E LACTAÇÃO NOS NEURÔNIOS MCH E CART
DA ÁREA HIPOTALÂMICA LATERAL (LHA)**

CARLA DE MORAES MACHADO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de
Botucatu, Unesp, para a obtenção do título de Doutora no
Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e
Aplicada, Área de Concentração Biologia Celular
Estrutural e Funcional

Prof. Ass. José de Anchieta de Castro e Horta Júnior
Prof. Tit. Jackson Cioni Bittencourt

Botucatu-SP
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Machado, Carla de Moraes.

Efeito da restrição alimentar materna durante a prenhez e lactação nos neurônios MCH e CART da área hipotalâmica lateral (LHA) / Carla de Moraes Machado. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José de Anchieta de Castro e Horta Júnior

Coorientador: Jackson Cioni Bittencourt

Capes: 20600003

1. Hipotálamo. 2. Lactação. 3. Neuropeptídeos. 4. Prenhez. 5. Desnutrição fetal.

Palavras-chave: hipotálamo; lactação; neuropeptídeos; prenhez; restrição alimentar materna.

CARLA DE MORAES MACHADO

**Efeito da Restrição Alimentar Materna durante a Prenhez e
Lactação nos Neurônios MCH e CART da Área Hipotalâmica
Lateral (LHA)**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, Unesp, para a obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de Concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional

Orientador: Prof. Ass. José de Anchieta de Castro e Horta Júnior

Co-Orientador: Prof. Tit. Jackson Cioni Bittencourt

Comissão Examinadora:

Prof. Ass. José de Anchieta de Castro e Horta Júnior
Instituto de Biociências – UNESP Botucatu

Profa. Ass. Luciana Pinato
Faculdade de Filosofia e Ciências – UNESP Marília

Profa. Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan
Faculdade Medicina de Ribeirão Preto - USP

Profa. Dra. Camila Renata Correa Camacho
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Profa. Dra. Ana Carolina Inhaz Kiss
Instituto de Biociências – UNESP Botucatu

DEDICATÓRIA

Ao vô Bibiu, Jovito Machado Neto (*In Memoriam*)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carlos e Sineide, e à minha irmã, Gabriela, por todo o apoio em cada etapa cumprida dessa jornada, vocês são a minha base para que eu possa construir meus sonhos. À minha segunda família, Shirley, Thiago e Marina, pela presença em todos os momentos e por me apoiarem em cada um deles.

Ao Professor Associado José de Anchieta de Castro e Horta Júnior, por ter aceitado compartilhar a condução dessa tese, por todo aprendizado durante a sua execução, sempre dentro de valores profissionais éticos, para que o melhor sempre fosse nosso objetivo.

Ao Professor Titular Jackson Cioni Bittencourt, por mais uma vez acreditar no meu trabalho, pela receptividade, disponibilidade, motivação e também todo suporte em seu laboratório.

Às Professoras Doutoras Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro e Ana Carolina Inhaz Kiss, pelas ricas sugestões para esse trabalho durante o Exame de Qualificação.

Às Professoras Doutoras Luciana Pinato, Ana Carolina Inhaz Kiss, Valéria Paula Sassoli Fazan e Camila Renata Correa Camacho, pelas contribuições para a discussão e o aprimoramento dessa tese.

Ao Professor Doutor Luis Alberto Domingo Francia Farje, pela confiança e parceria de trabalho, permitindo assim que eu pudesse fazer aquilo que mais amo que é ensinar Anatomia.

Aos meus irmãos de Botucatu (patota querida), Juliana (Balsa), Cristiane (Dofa), Ana Carolina (Passa), André (Qualy) e Amanda (Para), por caminharmos juntos todo o trajeto e compartilharmos as alegrias, as tristezas e as conquistas.

À Marina, pelo companheirismo dentro e fora do laboratório, pelas longas e interessantes discussões científicas e pelo sinergismo impecável.

Às colegas do Laboratório de Neuromorfologia atuais e que passaram pelo laboratório durante esse trabalho, Giulia, Gabriela, Luciana, Paola e Isabella, pelos bons momentos compartilhados durante todo o trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Neuroanatomia Química (ICB/USP), Daniella, Giovanne, Josi, Jéssica, Marianne, Ísis, Jully, Beatriz e Ariel, e à Professora Doutora Luciane Valéria Sita pela recepção sempre cordial e pelas conversas nos intervalos, tornando as etapas pesadas de trabalho em São Paulo mais leves, e toda atenção oferecida.

Aos membros do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências, Luciana, Claudete, Marilena, Thiago, Shelly, Carolina e à Professora Doutora Daniela Carvalho dos Santos pela receptividade e atenção, pelo cuidado ao material e por todas as horas disponibilizadas para que a análise fosse finalizada.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, pelo atendimento solícito na condução dessa tese.

Aos alunos, funcionários e docentes do Departamento de Anatomia do Instituto de Biociências de Botucatu, pela convivência harmoniosa no ambiente de trabalho e fora dele.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro na forma de bolsa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido na forma de auxílio pesquisa (2016/13136-6) para a execução do presente trabalho.

*"So make the best of this test
And don't ask why
It's not a question
But a lesson learned in time*

*It's something unpredictable
But in the end it's right
I hope you had the time of your life"*

Good Riddance – Green Day

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 JUSTIFICATIVA.....	20
3 OBJETIVOS	21
4 DESENHO EXPERIMENTAL	22
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
5.1 Animais.....	24
5.2 Teste de tolerância à insulina (TTI)	25
5.3 Teste de tolerância oral à glicose (TTOG).....	25
5.4 Experimento I – Microscopia Óptica	25
5.4.1 Preparo de material biológico	25
5.4.2 Imuno-histoquímica.....	26
5.4.3 ELISA	27
5.5 Experimento II – Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	28
5.5.1 Preparo de material biológico	28
5.5.2 Imuno-histoquímica pré-inclusão (<i>pre-embedding</i>)	28
5.6 Forma de análise dos resultados.....	29
5.6.1 Parâmetros biométricos	29
5.6.2 Experimento I	30
5.6.3 Experimento II - Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	32
5.6.4 Apresentação das ilustrações científicas	32
5.6.5 Análise estatística	32
6 RESULTADOS.....	33
6.1 Parâmetros biométricos, metabólicos e ingestão alimentar	33
6.1.1 Peso corporal materno, tamanho e peso corporal da prole no DPN 1	33
6.1.2 Peso corporal e distância naso-anal	35
6.1.3 Peso do encéfalo e peso relativo do encéfalo	35
6.1.4 Índice de Lee, relação peso-distância naso-anal e gorduras visceral e retroperitoneal.....	35
6.1.5 Glicemia	38
6.1.6 Peso corporal, ingestão alimentar e taxa de ingestão alimentar semanais	38
6.1.7 Ingestão alimentar total, ganho de peso, conversão e eficiência energética	38
6.1.8 ELISA para leptina e insulina.....	42
6.2 Experimento I	42
6.3 Experimento II.....	75
7 DISCUSSÃO	86
7.1 Parâmetros biométricos.....	86
7.2 Experimento I	90
7.3 Experimento II	92
8 CONCLUSÃO	94
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
Anexo.....	100
APÊNDICES – PROTOCOLOS.....	102

LISTA DE ABREVIATURAS

3V – III ventrículo
Arc – núcleo arqueado
CART – transcrito regulado pela anfetamina e cocaína
DMH – núcleo dorsomedial do hipotálamo
DPN – dia pós-natal
f – fórnix
GC – grupo controle
GR – grupo restrito
Hcrt/OX – hipocretina/orexina
ic – cápsula interna
LHA – área hipotalâmica lateral
MCH – hormônio concentrador de melanina
MCH-1R – receptor de MCH tipo 1
MET – microscopia eletrônica de transmissão
mt – trato mamilotalâmico
NEI – neuropeptídeo ácido glutâmico-isoleucina
NGE – neuropeptídeo glicina-ácido glutâmico
NPY – neuropeptídeo Y
Ob-r – receptor de leptina
opt – trato óptico
PVH – núcleo paraventricular do hipotálamo
POMC – peptídeo da pró-opiomelanocortina
ppMCH – pré-pró-hormônio concentrador de melanina
RNAm – ácido ribonucleico mensageiro
SNC – sistema nervoso central
TTI – teste de tolerância à insulina
TTOG – teste de tolerância oral à glicose
VMH – núcleo ventromedial do hipotálamo
PBS – tampão fosfato salina
TBS-TX – tampão Trisma Base 0,05M, NaCl 0,85% e Triton-x 0,25%, pH 7,6
TRIS-HCL – tampão Trisma Base 0,05M
PB - tampão fosfato
DAB - 3,3' diaminobenzidina tetrahidrocloreto

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da estrutura do pré-pró-hormônio concentrador de melanina (ppMCH), molécula precursora da síntese do MCH.	15
Figura 2. Esquema proposto por Nahon, J.L (1989) que mostra a localização dos neurônios MCH (esferas) e suas projeções axonais para as diversas áreas do neuro-eixo.....	16
Figura 3. Esquema do delineamento experimental.....	22
Figura 4. Imagem da janela de observação do programa <i>Stereo Investigator</i> , obtida em tempo real através de câmera digital acoplada ao microscópio óptico.	30
Figura 5. Gráficos de ingestão alimentar e peso corporal maternos, tamanho e peso da prole no DPN 1.....	34
Figura 6. Classificação do peso ao nascer dos animais do GC e GR em pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) de acordo com peso corporal em DPN 1.	35
Figura 7. Gráficos do peso corporal, distância naso-anal e peso do encéfalo nos subgrupos etários.	36
Figura 8. Gráficos do índice de Lee, relação peso-distância naso-anal e peso das gorduras visceral e retroperitoneal.	37
Figura 9. Gráficos da glicemia e metabolismo da glicose no GC e GR.....	39
Figura 10. Gráficos do peso corporal, ingestão alimentar e taxa de ingestão semanais.	40
Figura 11. Gráficos de ingestão alimentar e ganho de peso total, conversão e eficiência energética.	41
Figura 12. Gráficos de dosagem sérica para leptina e insulina em GC e GR para todas idades.	42
Figura 13. Fotomicrografias de neurônios CART da região tuberal da LHA, marcados por imunohistoquímica em GC e GR nos DPNs 21, 28 e 50.	44
Figura 14. Fotomicrografias de neurônios CART da região tuberal da LHA, marcados por imunohistoquímica em GC e GR nos DPNs 90 e 540.	45
Figura 15. Fotomicrografias de neurônios MCH da região tuberal da LHA, marcados por imunohistoquímica em GC e GR nos DPNs 21, 28 e 50.	46
Figura 16. Fotomicrografias de neurônios MCH da região tuberal da LHA, marcados por imunohistoquímica em GC e GR nos DPNs 90 e 540.	47
Figura 17. Gráficos da área e volume da LHA, e número de neurônios CART, nos DPN 21, 50, 90 e 540.....	48
Figura 18. Gráficos do número de neurônios MCH na LHA no DPN 21, 50, 90 e 540.....	49
Figura 19. Gráficos dos neurônios CART e MCH na LHA durante o desenvolvimento pós-natal, nos DPN 21, 50, 90 e 540.	50
Figura 20. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios CART na LHA do GC21 e GR21.....	52
Figura 21. Mapeamento dos neurônios CART do GC21.	53
Figura 22. Mapeamento dos neurônios CART do GR21.	54
Figura 23. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios CART na LHA do GC50 e GR50.....	55
Figura 24. Mapeamento dos neurônios CART do GC50.	56
Figura 25. Mapeamento dos neurônios CART do GR50.	57
Figura 26. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios CART na LHA do GC90 e GR90.....	58
Figura 27. Mapeamento dos neurônios CART do GC90.	59
Figura 28. Mapeamento dos neurônios CART do GR90.	60
Figura 29. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios CART na LHA do GC540 e GR540.....	61

Figura 30. Mapeamento dos neurônios CART do GC540.	62
Figura 31. Mapeamento dos neurônios CART do GR540.	63
Figura 32. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios MCH na LHA do GC21 e GR21.....	64
Figura 33. Mapeamento dos neurônios MCH do GC21.....	65
Figura 34. Mapeamento dos neurônios MCH do GR21.....	65
Figura 35. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios MCH na LHA do GC50 e GR50.....	66
Figura 36. Mapeamento dos neurônios MCH do GC50.....	67
Figura 37. Mapeamento dos neurônios MCH do GR50.....	68
Figura 38. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios MCH na LHA do GC90 e GR90.....	69
Figura 39. Mapeamento dos neurônios MCH do GC90.....	70
Figura 40. Mapeamento dos neurônios MCH do GR90.....	71
Figura 41. Reconstrução 3D do hipotálamo para estudo da distribuição dos neurônios MCH na LHA do GC540 e GR540.....	72
Figura 42. Mapeamento dos neurônios MCH do GC540.....	73
Figura 43. Mapeamento dos neurônios MCH do GR540.....	74
Figura 44. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios CART da LHA do GC21(A, C e E) e GR21(B, D e F).....	76
Figura 45. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios CART da LHA do GC28 (A, C e E) e GR28 (B, D e F).....	77
Figura 46. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios CART da LHA do GC50 (A, C e E) e GR50 (B, D e F).....	78
Figura 47. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios CART da LHA do GC90 (A, C e E) e GR90 (B, D e F).....	79
Figura 48. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios CART da LHA do GC540 (A, C e E) e GR540 (B, D e F).	80
Figura 49. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios MCH da LHA do GC21(A, C e E) e GR21(B, D e F).....	81
Figura 50. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios MCH da LHA do GC28 (A, C e E) e GR28 (B, D e F).....	82
Figura 51. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios MCH da LHA do GC50 (A, C e E) e GR50 (B, D e F).....	83
Figura 52. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios MCH da LHA do GC90 (A, C e E) e GR90 (B, D e F).....	84
Figura 53. Eletromicrografias da ultraestrutura dos neurônios MCH da LHA do GC540 (A, C e E) e GR540 (B, D e F).	85
Figura 54. Fotomicrografias de neurônios MCH identificados pelo protocolo de hibridização <i>in situ</i> com sonda marcada com biotina.	91

RESUMO

A associação do baixo peso ao nascer com alto risco de doenças como obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares na vida adulta levaram à hipótese da “Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença” (DOHaD). Nessa hipótese, *Programação* se refere às adaptações executadas pelo organismo frente a insultos ocorridos durante seu desenvolvimento, gerando efeitos permanentes ou não na estrutura e função de órgãos. A nutrição materna durante o desenvolvimento do indivíduo é considerada um importante indutor de Programação, visto que a deficiência de nutrientes, durante a prenhez e a lactação, provoca alterações significativas no peso corpóreo, no balanço energético, na ingestão alimentar e na expressão de neuropeptídeos. O hormônio concentrador de melanina (MCH) e o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART) são neuropeptídeos expressos na área hipotalâmica lateral (LHA), que participam da regulação do balanço energético e do comportamento alimentar, nos quais o MCH desempenha papel orexígeno e o CART, anorexígeno. Nosso objetivo foi analisar o número e a distribuição de neurônios MCH e CART e sua ultraestrutura na LHA de ratos cujas mães foram submetidas à restrição alimentar durante a prenhez e lactação. Fêmeas prenhes *Wistar* foram separadas em dois grupos experimentais: grupo controle (GC), dieta padrão *ad libitum*, e grupo restrição calórica (GR), dieta de 50% de restrição em relação ao grupo controle durante os períodos de prenhez e lactação. Foram avaliados o número de animais de cada prole e o peso no DPN 1. Os filhotes machos, provenientes dos grupos restrição (GR) e controle (GC), foram divididos em cinco subgrupos etários (n=8) de 21, 28, 50, 90 e 540 dias. Foram avaliados o peso e comprimento corpóreo de cada animal, sua ingestão alimentar após o desmame, e os níveis sanguíneos de glicose, insulina e leptina, além dos testes de tolerância oral à glicose e à insulina nos animais de 540 dias. Os encéfalos foram processados para análise do número e da distribuição dos neurônios MCH e CART na área hipotalâmica lateral, segundo protocolos de imuno-histoquímica (n=5) e microscopia eletrônica de transmissão (n=3). O mapeamento e a estimativa do número de neurônios MCH e CART na LHA foram realizados, respectivamente, por reconstrução tridimensional e estereologia. A ultraestrutura dos neurônios MCH e CART foi analisada qualitativamente por MET. Nossos dados indicaram que a restrição alimentar materna provocou diminuição permanente no peso e comprimento corporais, no peso encefálico e das gorduras visceral e retroperitoneal. Não foram observadas modificações no metabolismo de glicose e na eficiência alimentar do GR, embora a ingestão alimentar relativa desses animais tenha sido superior ao GC. Não foram observadas alterações nos níveis séricos de leptina, porém os animais do GR apresentaram diminuição dos níveis de insulina no DPN 21. Aos 540 dias de idade, o GR apresentou uma diminuição do número de neurônios CART na LHA. Não houve diferenças no número de neurônios MCH entre os grupos, mas a área e o volume da LHA foi menor no GR em 21, 50 e 90 dias. Modificações na distribuição dos neurônios CART na LHA foram observadas no DPN 540, com diminuição do número de células na região perifornical e nas secções mais caudais da LHA. Nenhuma alteração ultraestrutural foi observada no GR, tanto nos neurônios CART quanto nos MCH. Concluímos que a restrição alimentar materna durante a prenhez e lactação modificou a estrutura corporal dos descendentes e seu comportamento alimentar. Além disso, diminuiu o número de neurônios CART da LHA, alterando sua distribuição, sem alterações nos neurônios MCH, que não foram refletidas na ultraestrutura.

Palavras-chave: rato *Wistar*, microscopia eletrônica de transmissão, restrição alimentar materna, hipotálamo, neuropeptídeos, prenhez, lactação.

ABSTRACT

Effect of Maternal Food Restriction during Pregnancy and Lactation on MCH and CART Neurons in the Lateral Hypothalamic Area (LHA)

The association between lower birth weight and an increased risk of obesity, diabetes type 2 and cardiovascular diseases in adult life led to Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) hypothesis. In this hypothesis, programming is related to the adjustments performed by the organism to insults occurring at key stages of their development, which may lead to long-lasting effects in the organs structure and function. Maternal nutrition during critical periods of individual development is considered an important Programming inductor, since the nutrient deficiency during pregnancy and lactation causes significant changes in body weight, energy balance, food intake and neuropeptides expression. The melanin-concentrating hormone (MCH) and the cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) are neuropeptides expressed in the lateral hypothalamic area (LHA) that are involved in the regulation of energy balance and feeding behavior in which MCH plays an orexigenic role and CART an anorexigenic one. Thus, our aim was to analyze the number and the distribution of MCH and CART and the ultrastructure of these neurons in the LHA of rats whose mothers were subjected to food restriction during pregnancy and lactation. After pregnancy confirmation, female *Wistar* rats were divided in two groups: control group (CG), *ad libitum* standard diet, and caloric restriction group (RG), 50% diet restriction compared to the control group during pregnancy and lactation. After birth, the number of pups and their body weight in postnatal day (PND) 1 were evaluated. The male pups from both groups were divided into five age subgroups (n = 8): PND 21, 28, 50, 90 and 540. Body weight and nasoanal distance of each animal, their weekly food intake after weaning and glycemia, leptin and insulin serum concentrations were evaluated. An oral glucose tolerance test and insulin tolerance test were also executed in PND 540. Brains were processed for analysis of MCH and CART number and distribution in the LHA, according to immunohistochemistry protocols (n=5) and transmission electron microscopy (n=3). The mapping and estimate of MCH and CART neurons in the LHA were performed using three-dimensional reconstruction and stereological study. The ultrastructure of MCH and CART neurons was analyzed by transmission electron microscopy. Our data indicated that caloric restriction during pregnancy and lactation decreased body weight, body length, brain weight and visceral and retroperitoneal adipose tissues throughout life. No differences were observed in the glucose metabolism and in RG food efficiency, although the relative food intake was increased in RG. There were no differences in the leptin concentration; however RG has showed lower insulin concentration in PDN 21. Stereological data have shown a decreased number of CART neurons in the LHA of RG540. There were no differences in the number of MCH neurons among groups, however the LHA area and volume were smaller in RG in PND 21, 50 and 90. Modifications were observed in the distribution of CART neurons in RG540, with lower number of neurons on perifornical region and caudal sections of LHA. No ultrastructural alterations in CART and MCH neurons were caused by caloric restriction during pregnancy and lactation. In conclusion, maternal food restriction during pregnancy and lactation changed biometric parameters in the offspring and their food intake. Furthermore, there was a decrease in CART neurons in LHA and changes in its distribution, with no effects on MCH neurons and on both neuropeptides ultrastructure.

Keywords: *Wistar* rat, transmission electron microscopy, maternal food restriction, hypothalamus, neuropeptides, pregnancy, lactation

1 INTRODUÇÃO

Nutrição inadequada é um problema mundial e tema de interesse da Organização Mundial da Saúde (OMS). Estima-se que a subnutrição materna e infantil é responsável por 11% das doenças em nível global (BLACK et al., 2008). O período entre 2016 e 2025 é considerado a “década de ações em nutrição” pelas Nações Unidas, ampliada até 2030. Nesse período, dentre as diversas metas, destacam-se a erradicação da fome e a promoção de saúde através da nutrição adequada (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) et al., 2018).

A má nutrição afeta uma a cada três pessoas na população mundial (WORLD FOOD PROGRAMME, 2017) e tem um impacto negativo no desenvolvimento cognitivo, no desempenho escolar e na produtividade. Aliada à estimulação cognitiva inadequada, é um importante fator de risco que contribui para que 200 milhões de crianças deixem de atingir seu potencial pleno de desenvolvimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014). Segundo a edição de 2015 da OMS, juntamente com a UNICEF e o Banco Mundial, estima-se que no mundo haja 159 milhões de crianças com nanismo, 50 milhões com baixo peso para altura, dentre as quais 16 milhões em estado severo.

Durante o período de gestação e lactação, todas as necessidades nutricionais do descendente dependem da mãe. Portanto, o período entre a concepção até o segundo ano de vida (primeiros 1000 dias) é crucial, no qual a boa alimentação gera benefícios para toda a vida (BHUTTA et al., 2008; KOLETZKO et al., 2014). Assim, alterações no estado nutricional materno, durante estágios críticos de desenvolvimento, podem gerar modificações estruturais e fisiológicas significativas e duradouras na prole (MCARDLE et al., 2006; DEARDEN e OZANNE, 2015).

Estudos mostram que a restrição alimentar materna durante essas fases têm consequências a longo prazo no metabolismo energético da prole e uma maior propensão desses indivíduos ao desenvolvimento de doenças metabólicas, como obesidade e diabetes tipo 2, e cardiovasculares na idade adulta (MCMILLEN et al., 2005; MCARDLE et al., 2006; PICO et al., 2012).

As observações feitas por Barker, nas quais o baixo peso ao nascer está associado ao alto risco de desenvolvimento dessas doenças, bem como a plasticidade e vulnerabilidade dos períodos fetal e neonatal, deram origem à hipótese denominada “Origem Desenvolvimentista da Saúde e Doença” (*Developmental Origins of Health and Disease – DOHaD*) (BARKER, 2004; CALKINS e DEVASKAR, 2011). Nessa hipótese, o termo “Programação” define e envolve as adaptações do organismo frente às injúrias ocorridas em fases importantes de seu desenvolvimento (fetal, neonatal e infância), gerando efeitos permanentes ou não na estrutura e função de órgãos (OZANNE, 2001).

A teoria do “*thrifty phenotype*”, proposta por Hales e Barker (1992), enuncia que em resposta à falta de nutrientes durante a gestação, o feto adotará uma série de estratégias metabólicas que visem a aumentar suas chances de sobrevivência. Dessa forma, a programação metabólica prepara o indivíduo para a sobrevivência em condições pós-natais de desnutrição. Entretanto, esse ajuste metabólico pode causar efeitos adversos quando, posteriormente, uma dieta adequada ou hipercalórica é oferecida ao indivíduo (HALES e BARKER, 1992; CRIPPS et al., 2005), que pode apresentar crescimento corporal acelerado, fenômeno denominado “*catch up growth*”, e até mesmo desenvolver obesidade preoce (OZANNE e HALES, 2004).

A variedade de fenótipos adaptativos na vida adulta depende do tipo, período, duração e severidade da restrição a que o feto ou lactente for submetido. Estudos em modelos animais, por

exemplo, mostram que a restrição alimentar materna durante a prenhez, do tipo calórica, proteica ou de outro nutriente, produz alterações na homeostase do balanço energético (relação entre ingestão e gasto energético) e obesidade (DESAI et al., 2007a; PICO et al., 2012). Já os efeitos tardios da desnutrição durante a lactação ainda são pouco claros, mas dados mostram que a restrição severa durante essa fase está associada ao retardo no crescimento corporal (REMMERS et al., 2008b).

A restrição calórica durante a prenhez e/ou lactação gera modificações no peso corporal, aumenta a ingestão alimentar e altera o controle do balanço energético da prole (DESAI et al., 2007a; DELAHAYE et al., 2008; PALOU et al., 2012). Mudanças permanentes no hipotálamo em períodos importantes de seu desenvolvimento podem gerar modificações na homeostase energética na vida adulta, fenômeno descrito como programação hipotalâmica, e no qual a restrição calórica pode ser um fator determinante (REMMERS e DELEMARRE-VAN DE WAAL, 2011; PICO et al., 2012).

O comportamento alimentar é determinado por uma série de processos neurobiológicos que o controlam direta ou indiretamente: a palatabilidade do alimento, aferências viscerais pós-ingestão e absorção, circuitos de recompensa, emoções e o controle homeostático energético, no qual se destacam os núcleos hipotalâmicos e ação da insulina e leptina (ZELTSER, 2018).

O hipotálamo, centro integrativo essencial para a sobrevivência, está associado às funções que controlam o comportamento alimentar e o balanço energético (SCHWARTZ et al., 2000), destacando-se a área hipotalâmica lateral (LHA) como um centro importante de regulação da homeostase energética (BERNARDIS e BELLINGER, 1993;1996; BROBERGER et al., 1998; BROWN et al., 2015).

A LHA, localizada no hipotálamo lateral (SIMERLY e PAXINOS, 2004), pode ser dividida em três sub-regiões (anterior, tuberal e mamilar) no eixo rostro-caudal e possui muitas conexões com estruturas do neuro-eixo, mediadas pela passagem do feixe prosencefálico medial em sua parte central (SAPER et al., 1979; BERTHOUD, 2002). Além do papel de destaque no controle do balanço energético e da ingestão alimentar (BERNARDIS e BELLINGER, 1996; BROWN et al., 2015), a LHA está relacionada ao processamento de informações sensitivas, modulação de respostas motoras somáticas, ingestão hídrica, reprodução, modulação autônoma, ciclo sono-vigília (SZYMUSIAK et al., 1989; KRILOWICZ et al., 1994), controle neuroendócrino (BERNARDIS e BELLINGER, 1993; LARSEN et al., 1994), termorregulação (SATINOFF e SHAN, 1971; ZHANG et al., 1997) e ativação cortical (SAPER, 1985; SAPER et al., 1986).

A grande variedade de neurotransmissores e neuromodulares presentes na LHA é responsável por sua diversidade de funções. Estudos anteriores demonstraram a presença de diversos neuropeptídeos na LHA, dentre eles a hipocretina/orexina (Hcr/Ox), que apresenta importante papel na manutenção da vigília e controle da ingestão alimentar (BROBERGER et al., 1998; BROBERGER, 2005); o neuropeptídeo ácido glutâmico-isoleucina (NEI), associado ao comportamento de auto-limpeza e locomoção (NAHON et al., 1989); o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART), relacionado à manutenção do peso corporal e ingestão alimentar, no qual exerce papel anorexígeno (KOYLU et al., 1997; KUHAR et al., 2002; ZHANG et al., 2012); e o hormônio concentrador de melanina (MCH), associado à regulação do balanço energético e controle tônico do comportamento alimentar, exercendo um papel orexígeno (QU et al., 1996; SHIMADA et al., 1998; DINIZ e BITTENCOURT, 2017).

O MCH do rato possui estrutura cíclica composta por 19 aminoácidos (NAHON et al., 1989; VAUGHAN et al., 1989), diferenciando do MCH do salmão, descrito previamente por Kawauchi *et al.* (1983), em dois aminoácidos da porção amino-terminal e quatro substituições. O MCH do rato ocupa a porção carboxi-terminal de um precursor (pré-pró-hormônio concentrador de melanina – ppMCH – Figura 1) composto por 165 aminoácidos, a partir do qual também são traduzidos o NEI e o neuropeptídeo glicina-ácido glutâmico (NGE) (TOUMANIANTZ et al., 1996; TOUMANIANTZ et al., 2000; ALLAEYS et al., 2004).

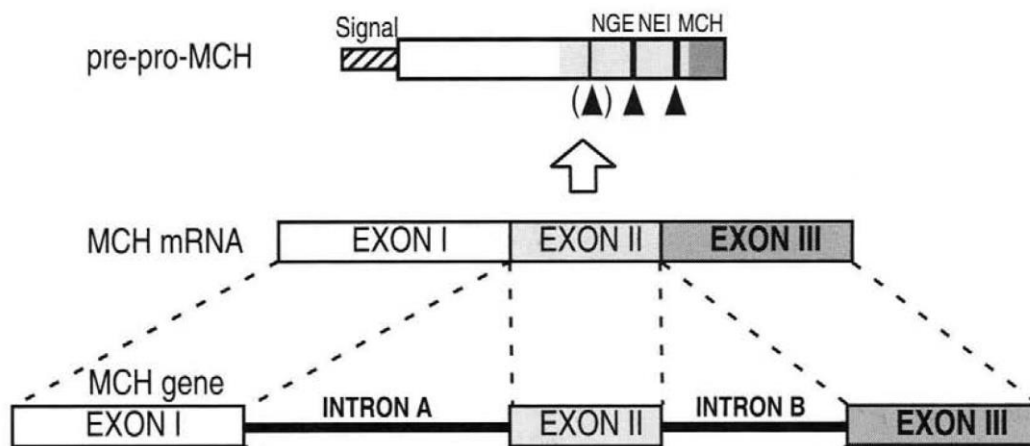


Figura 1. Esquema da estrutura do pré-pró-hormônio concentrador de melanina (ppMCH), molécula precursora da síntese do MCH. Posição dos íntrons e éxons relacionando com as sequências do MCH, NEI e NGE, originados a partir do ppMCH. Adaptado de Nahon *et al.* (1989), Vaughan *et al.* (1989) e Nahon e Abba (2006).

A distribuição de fibras e terminais imunorreativos ao MCH, associada à distribuição de seu receptor (MCH-1R), demonstra seu papel na organização de comportamentos motivados, através da influência no alerta, comportamento exploratório, regulação autonômica, alimentação, aprendizado e memória (BITTENCOURT et al., 1992; HERVIEU et al., 2000; SAITO et al., 2001).

O estudo da distribuição dos neurônios MCH no sistema nervoso central do rato foi realizado por Bittencourt *et al.* (1992). Nesse trabalho, também foi estudado o padrão de distribuição do RNAm do ppMCH através de hibridização *in situ*. No rato, a distribuição de neurônios MCH é essencialmente diencefálica (Figura 2), ocupando principalmente a LHA e zona incerta rostromedial. Além disso, também foram observados grupamentos menores, como a parte dorsomedial do núcleo tuberomamilar, núcleo periventricular anterior e uma região não definida no hipotálamo medial entre os limites ventrolateral do núcleo dorsomedial e dorsolateral do núcleo ventromedial. Outros grupamentos extra-diencefálicos também apresentam expressão do RNAm do ppMCH e de seus peptídeos, como o tubérculo olfatório e uma parte não descrita da formação reticular pontina paramediana (BITTENCOURT *et al.*, 1992; BITTENCOURT, 2011).

Há projeções imunorreativas ao MCH para quase todo neuro-eixo (Figura 2); entretanto, o cerebelo e os núcleos motores de nervos cranianos do tronco encefálico parecem não receber uma densa inervação por essas fibras. A maior parte das fibras imunorreativas ao MCH é veiculada pelo feixe prosencefálico medial, que atravessa a LHA (BITTENCOURT et al., 1992). A zona incerta rostromedial e os grupamentos extra-diencefálicos também enviam projeções imunorreativas ao MCH.

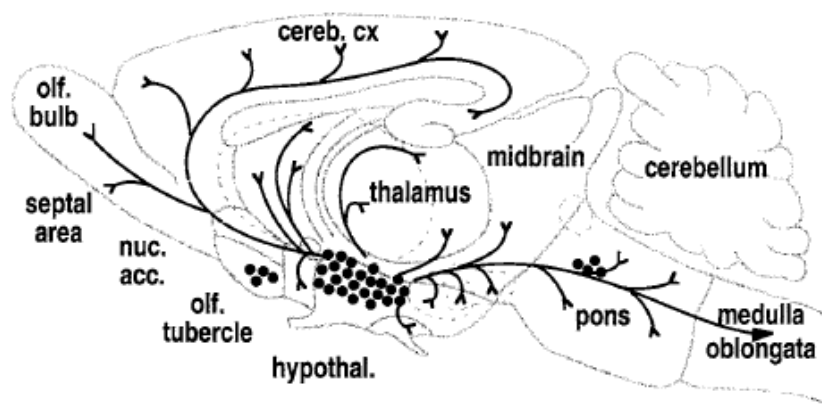


Figura 2. Esquema proposto por Nahon, J.L (1989) que mostra a localização dos neurônios MCH (esferas) e suas projeções axonais para as diversas áreas do neuro-eixo. Abreviaturas: nuc. acc.= núcleo accumbens, hypothal.= hipotálamo, olf. tubercle = tubérculo olfatório, olf. bulb = bulbo olfatório, cereb. cx = córtex cerebral.

A distribuição subcelular do MCH segue o padrão tipicamente descrito para neurônios peptidérgicos (PICKEL, 1985). O MCH foi encontrado nos somas de neurônios com núcleos invaginados, complexo de Golgi e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvidos e vesículas com grânulos densos distribuídas no citoplasma (NAITO et al., 1988; BITTENCOURT et al., 1992). Uma característica marcante no padrão de distribuição do MCH é o acúmulo nas cisternas *trans* do complexo de Golgi (BITTENCOURT et al., 1992).

O MCH é um dos primeiros neuropeptídeos expressos no encéfalo. Neurônios MCH se diferenciam entre os 10º e 16º dias do período embrionário do rato, com um pico em sua formação no 13º dia, no qual é possível detectar o RNAm e o próprio peptídeo (BRISCHOUX et al., 2001). Em neonatos, neurônios MCH estão organizados em grupamentos menores e localizados mais medialmente do que o observado no período embrionário. No dia pós-natal (DPN) 16, os somas já apresentam dimensões e distribuição semelhantes aos padrões encontrados em animais adultos (BRISCHOUX et al., 2001). Os terminais axônicos se dirigem primeiramente ao tronco encefálico e ampliam sua distribuição progressivamente até o DPN 21 (STEININGER et al., 2004).

Estudos funcionais indicam a participação do MCH na homeostase de água e eletrólitos (PARKES e VALE, 1993; PRESSE e NAHON, 1993) e no comportamento alimentar (PRESSE et al., 1996; QU et al., 1996; SAPER et al., 2002; SZEKELY e SZELENYI, 2005). Entre todos os participantes do controle do balanço energético, atribuiu-se ao MCH uma função de destaque no controle tônico do comportamento alimentar, exercendo um papel orexígeno (QU et al., 1996; ROSSI et al., 1997), fato confirmado pela inativação gênica do MCH (SHIMADA et al., 1998), que resultou num modelo de camundongos magros e hipofágicos, nos quais o fenótipo se estabeleceu progressivamente após o nascimento.

Outro neuropeptídeo abundante na LHA é o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART), primeiramente descrito no cérebro de roedores, mais precisamente no estriado, após a injeção de cocaína e anfetamina por via intraperitoneal (DOUGLASS et al., 1995). O CART é derivado de duas moléculas precursoras (pré-pro-CART) que dão origem a três peptídeos ativos: CART 33-102, CART 55-102 e CART 62-102, denominados de acordo com a sequência de aminoácidos na molécula precursora (DOUGLASS et al., 1995; KUHAR et al., 2002). As sequências de aminoácidos

para o CART do rato e do homem apresentam semelhanças de 95%, sendo a região carboxi-terminal a mais conservada (DOUGLASS e DAOUD, 1996).

Diversas regiões do sistema nervoso central (SNC) apresentam neurônios CART ou RNAm para CART, como núcleo *accumbens*, amígdala basolateral e área tegmental ventral, associando a participação do CART aos mecanismos de recompensa. O hipotálamo possui grande expressão desse neuropeptídeo, destacando-se os núcleos paraventricular do hipotálamo (PVH), núcleo arqueado (Arc) e a LHA, indicando participação do CART no controle da homeostase energética e dos comportamentos motivados (COUCEYRO *et al.*, 1997; KOYLU *et al.*, 1997; KOYLU *et al.*, 1998; ELIAS *et al.*, 2001; SUBHEDAR *et al.*, 2014). A distribuição de fibras CART descrita por Koylu *et al.* (1998) mostra densa inervação de importantes centros vegetativos do SNC, como os núcleos paraventricular, dorsomedial e arqueado no hipotálamo, núcleo do trato solitário e coluna intermediolateral da medula espinal.

Estudos ontogênicos em ratos avaliaram a expressão do CART durante o período embrionário na região mesencefálica, mostrando que ele é detectado a partir do 11º dia embrionário, mas que, após o 16º dia, sua imunorreatividade diminui consideravelmente, sugerindo uma participação importante do CART no desenvolvimento desses neurônios na fase embrionária, devido a sua expressão transitória (BRISCHOUX *et al.*, 2002).

A expressão do RNAm do CART durante o desenvolvimento pós-natal apresenta diferenças temporais em distintos grupamentos neuronais prosencefálicos. Regiões como córtex somato-sensório, giro denteado e núcleo *accumbens* apresentam altos níveis de expressão no DPN 6 e posterior diminuição nos DPN 26 e 66. Porém, no núcleo arqueado, a expressão de RNAm do CART é menor no DPN 6 quando comparado ao DPN 26 e 66. Já na LHA e no núcleo dorsomedial do hipotálamo, a expressão do RNAm não se altera entre as diferentes idades (RODRIGUES *et al.*, 2011).

O CART está associado a diversas funções, como recompensa, regulação neuroendócrina, dor, estresse, comportamento alimentar e metabolismo energético (KIMMEL *et al.*, 2000; VRANG *et al.*, 2000; KUCHAR *et al.*, 2002; DAMAJ *et al.*, 2004; SUBHEDAR *et al.*, 2014). Kristensen *et al.* (1998) demonstraram a ação do CART como fator de saciedade, desempenhando, em conjunto com a leptina, uma função inibitória (anorexígena) da ingestão alimentar.

A presença de CART em núcleos importantes para a manutenção do metabolismo energético e controle do comportamento alimentar sugere importante participação de neurônios CART nessas funções (KOYLU *et al.*, 1997). Além disso, o CART apresenta co-localização com outros neuropeptídeos envolvidos na homeostase energética, como o pró-opiomelanocortina (POMC) no núcleo arqueado e o MCH na LHA (ELIAS *et al.*, 1998a; ELIAS *et al.*, 2001; JANCSEK *et al.*, 2018).

Em nível ultraestrutural, o CART é observado em somas com núcleo oval grande e invaginado, com grande imunorreatividade no retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi, podendo apresentar vesículas imunorreativas com grânulos densos (DALL VECHIA *et al.*, 2000), e também em terminais axônicos com vesículas escuras com núcleos densos fortemente imunorreativos (COUCEYRO *et al.*, 1997; SMITH *et al.*, 1997).

A elucidação do verdadeiro papel do MCH e do CART no comportamento alimentar depende do estudo de sua relação com os outros neuropeptídeos. Trabalhos prévios investigaram o papel desses neuropeptídeos e de seus receptores no que se refere à gênese da obesidade e suas

possíveis utilizações farmacológicas (FAN et al., 1997; BROBERGER et al., 1998; ELIAS et al., 1998b; HAKANSSON et al., 1998; SAWCHENKO, 1998; ELIAS et al., 1999; VRANG et al., 1999). Nesse contexto, a leptina produzida pelo tecido adiposo branco está envolvida na sinalização ao SNC sobre o estado energético do indivíduo, através da mediação de neurônios imunorreativos ao neuropeptídeo Y (NPY), ao peptídeo relacionado à proteína agouti (AgRP), ao POMC e ao CART do núcleo arqueado. Esses grupos neuronais, por sua vez, projetam-se para neurônios MCH ou CART da LHA que modulam os comportamentos necessários à manutenção do equilíbrio energético, dentre os quais inclui-se o comportamento de busca de água e alimentos. Assim, o MCH e o CART mostram-se como vias finais da ação da leptina sobre o neuro-eixo, veiculando informações sobre as necessidades energéticas do indivíduo (ELIAS et al., 1998b; ELIAS et al., 1999; ELIAS et al., 2001).

Além disso, a relação entre o MCH e a sinalização pela leptina é evidenciada pela presença de receptores de leptina (Ob-r) nos neurônios MCH da LHA, demonstrando que essas células são sensíveis à ação da leptina (FEI et al., 1997; HAKANSSON et al., 1998). Outros estudos mostram que os neurônios presentes no núcleo arqueado possuem receptores de insulina e exercem um papel anoréxico na homeostase energética, através de projeções para neurônios MCH e CART da LHA, sugerindo que esses neuropeptídeos possam ser via final também da insulina (MCGOWAN et al., 1993; ELIAS et al., 1998a).

Com o processo de envelhecimento, mesmo em indivíduos saudáveis, ocorre perda de gordura e peso corporais, possivelmente relacionados a um balanço energético negativo, uma vez que grupos etários mais velhos apresentam substancial redução da sua capacidade de manter um balanço energético constante (ROBERTS, 2000; AKIMOTO e MIYASAKA, 2010). Kappeler *et al.* (2003) relacionaram o envelhecimento à diminuição de expressão de genes de neuropeptídeos hipotalâmicos, como POMC, CART e MCH, o que sugere uma diminuição na ingestão alimentar.

Esse aspecto foi corroborado por estudo recente de nosso grupo, em ratos, no qual se observou que o número e a distribuição dos neurônios MCH na LHA não sofrem alteração em função da idade, desde a pré-puberdade até a senilidade, e que, após a maturação do sistema MCH-érgico, a expressão do RNAm para o MCH aumenta durante o desenvolvimento pós-natal até a idade adulta e diminui com o envelhecimento na LHA (MACHADO, 2015).

A restrição alimentar materna durante a prenhez e lactação provoca diminuição da expressão do RNAm para POMC (DELAHAYE et al., 2008) e do receptor de leptina no hipotálamo (DESAI et al., 2007b), diminuição do número de neurônios imunorreativos ao NPY no Arc (GARCIA et al., 2010), redução nos níveis plasmáticos de leptina na prole no desmame (DELAHAYE et al., 2008) e aumento na proliferação celular em núcleos do hipotálamo medial como o PVH, o VMH e o Arc até o DPN 21 (COUPE et al., 2009). No entanto, os efeitos da restrição alimentar materna em grupos neuronais no hipotálamo lateral, como os neurônios MCH e CART da LHA, importantes para o controle do metabolismo energético, são desconhecidos.

Os efeitos que a restrição alimentar materna pode gerar na organização celular ultraestrutural também são pouco conhecidos. Há pouquíssimos dados na literatura sobre a distribuição subcelular desses neuropeptídeos (JANCSIK *et al.*, 2018) e nenhuma informação relacionada à descrição ultraestrutural desses neuromoduladores no paradigma de restrição alimentar materna.

Dados na literatura mostraram que a restrição calórica materna promove redução na quantidade de citoplasma e de vesículas de secreção em células da hipófise (GOMEZ DUMM et al.,

1987), bem como redução no número de segmentos e na extensão da arborização dendrítica dos neurônios do núcleo do trato solitário (RUBIO et al., 2004). Um estudo eletrofisiológico indicou que a restrição calórica perinatal reduz as entradas sinápticas excitatórias ao hipocampo, podendo afetar o processamento de informações pela redução seletiva de espinhos dendríticos (ZHANG et al., 2013). Já a restrição proteica materna levou a uma diminuição do peso encefálico, da área dos terminais axonais no córtex occipital, sugerindo atraso no desenvolvimento da prole (JONES e DYSON, 1981).

Além disso, ainda não estão esclarecidas as futuras implicações que a restrição alimentar materna pode promover nos neurônios da LHA durante o desenvolvimento pós-natal e o envelhecimento. Assim, acreditamos que a restrição alimentar materna pode alterar o fenótipo e o metabolismo energético dos descendentes, modificando os neurônios da LHA durante o desenvolvimento pós-natal dos sistemas MCH-érgico e CART-érgico e durante o envelhecimento.

8 CONCLUSÃO

A partir da análise dos nossos resultados, podemos concluir que a restrição alimentar materna durante a prenhez e lactação:

- Provocou modificações na estrutura corporal dos descendentes que são permanentes, não havendo recuperação desse fenótipo.
- Aumentou a taxa de ingestão alimentar, modificando o comportamento alimentar.
- Não alterou de forma permanente o metabolismo de glicose e os níveis de leptina.
- Diminuiu o número e modificou a distribuição de neurônios CART da LHA, sem alterações nos neurônios MCH.
- Não provocou modificações na ultraestrutura dos neurônios CART e MCH da LHA.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIMOTO, S.; MIYASAKA, K. Age-associated changes of appetite-regulating peptides. **Geriatr Gerontol Int**, v. 10 Suppl 1, p. S107-19, 2010.
- ALLAËYS, I. et al. Characterization of mch-gene-overprinted-polypeptide-immunoreactive material in hypothalamus reveals an inhibitory role of pro-somatostatin1-64 on somatostatin secretion. **Eur J Neurosci**, v. 19, p. 925-36, 2004.
- ANDREOLLO, N. A. et al. Rat's age versus human's age: What is the relationship? **Arq Bras Cir Dig**, v. 25, p. 49-51, 2012.
- BAIZER, J. S. et al. Individual variability in the structural properties of neurons in the human inferior olive. **Brain Struct Funct**, v. 223, p. 1667-1681, 2018.
- BARKER, D. J. The developmental origins of chronic adult disease. **Acta Paediatr Suppl**, v. 93, p. 26-33, 2004.
- BERNARDIS, L. L.; BELLINGER, L. L. The lateral hypothalamic area revisited: Neuroanatomy, body weight regulation, neuroendocrinology and metabolism. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 17, p. 141-193, 1993.
- BERNARDIS, L. L.; BELLINGER, L. L. The lateral hypothalamic area revisited: Ingestive behavior. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 20, p. 189-287, 1996.
- BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between 'lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **J Endocrinol**, v. 40, p. 527-8, 1968.
- BERTHOUD, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, p. 393-428, 2002.
- BHUTTA, Z. A. et al. What works? Interventions for maternal and child undernutrition and survival. **Lancet**, v. 371, p. 417-40, 2008.
- BITTENCOURT, J. C. Anatomical organization of the melanin-concentrating hormone peptide family in the mammalian brain. **Gen Comp Endocrinol**, v. 172, p. 185-97, 2011.
- BITTENCOURT, J. C. et al. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: An immuno- and hybridization histochemical characterization. **J Comp Neurol**, v. 319, p. 218-45, 1992.
- BLACK, R. E. et al. Maternal and child undernutrition: Global and regional exposures and health consequences. **Lancet**, v. 371, p. 243-60, 2008.
- BRETON, C. et al. Maternal prenatal undernutrition alters the response of pomc neurons to energy status variation in adult male rat offspring. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 296, p. E462-72, 2009.
- BRISCHOUX, F.; FELLMANN, D.; RISOLD, P. Y. Ontogenetic development of the diencephalic mch neurons: A hypothalamic 'mch area' hypothesis. **Eur J Neurosci**, v. 13, p. 1733-44, 2001.
- BRISCHOUX, F. et al. Early and transient ontogenetic expression of the cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide in the rat mesencephalon: Correlation with tyrosine hydroxylase expression. **J Neurobiol**, v. 52, p. 221-9, 2002.
- BROBERGER, C. Hypothalamic cocaine- and amphetamine-regulated transcript (cart) neurons: Histochemical relationship to thyrotropin-releasing hormone, melanin-concentrating hormone, orexin/hypocretin and neuropeptide y. **Brain Res**, v. 848, p. 101-13, 1999.
- BROBERGER, C. Brain regulation of food intake and appetite: Molecules and networks. **J Intern Med**, v. 258, p. 301-27, 2005.
- BROBERGER, C. et al. Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone-expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: Relationship to the neuropeptide y and agouti gene-related protein systems. **J Comp Neurol**, v. 402, p. 460-74, 1998.
- BROWN, J. A.; WOODWORTH, H. L.; LEININGER, G. M. To ingest or rest? Specialized roles of lateral hypothalamic area neurons in coordinating energy balance. **Front Syst Neurosci**, v. 9, p. 9, 2015.
- CALKINS, K.; DEVASKAR, S. U. Fetal origins of adult disease. **Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care**, v. 41, p. 158-76, 2011.
- CASTRO-CHAVIRA, S. A. et al. Effects of chronic malnourishment and aging on the ultrastructure of pyramidal cells of the dorsal hippocampus. **Nutr Neurosci**, v. 19, p. 329-336, 2015.
- CHOMETTON, S. et al. The mch neuron population as a model for the development and evolution of the lateral and dorsal hypothalamus. **J Chem Neuroanat**, v. 75, p. 28-31, 2015.
- COUCEYRO, P. R.; KOYLU, E. O.; KUCHAR, M. J. Further studies on the anatomical distribution of cart by in situ hybridization. **J Chem Neuroanat**, v. 12, p. 229-41, 1997.
- COUPE, B. et al. The timing of "Catch-up growth" Affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 297, p. R813-24, 2009.
- CRIPPS, R. L.; MARTIN-GRONERT, M. S.; OZANNE, S. E. Fetal and perinatal programming of appetite. **Clin Sci (Lond)**, v. 109, p. 1-11, 2005.
- CUNHA, F. S. et al. Both food restriction and high-fat diet during gestation induce low birth weight and altered physical activity in adult rat offspring: The "Similarities in the inequalities" Model. **PLoS One**, v. 10, p. e0118586, 2015.
- DALL VECHIA, S. et al. Cart peptide immunoreactivity in the hypothalamus and pituitary in monkeys: Analysis of ultrastructural features and synaptic connections in the paraventricular nucleus. **J Comp Neurol**, v. 416, p. 291-308, 2000.
- DAMAJ, M. I. et al. Intrathecal cart (55-102) enhances the spinal analgesic actions of morphine in mice. **Brain Res**, v. 1024, p. 146-9, 2004.
- DEARDEN, L.; OZANNE, S. E. Early life origins of metabolic disease: Developmental programming of hypothalamic pathways controlling energy homeostasis. **Front Neuroendocrinol**, v. 39, p. 3-16, 2015.

- DELAHAYE, F. et al. Maternal perinatal undernutrition drastically reduces postnatal leptin surge and affects the development of arcuate nucleus proopiomelanocortin neurons in neonatal male rat pups. **Endocrinology**, v. 149, p. 470-5, 2008.
- DESAI, M. et al. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. **Br J Nutr**, v. 76, p. 591-603, 1996.
- DESAI, M. et al. Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: Modulation by newborn nutrition. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 288, p. R91-6, 2005.
- DESAI, M. et al. The timing of nutrient restriction during rat pregnancy/lactation alters metabolic syndrome phenotype. **Am J Obstet Gynecol**, v. 196, p. 555 e1-7, 2007a.
- DESAI, M. et al. Programmed hyperphagia due to reduced anorexigenic mechanisms in intrauterine growth-restricted offspring. **Reprod Sci**, v. 14, p. 329-37, 2007b.
- DINIZ, G. B.; BITTENCOURT, J. C. The melanin-concentrating hormone as an integrative peptide driving motivated behaviors. **Front Syst Neurosci**, v. 11, p. 32, 2017.
- DOUGLASS, J.; DAOUD, S. Characterization of the human cDNA and genomic DNA encoding cart: A cocaine- and amphetamine-regulated transcript. **Gene**, v. 169, p. 241-5, 1996.
- DOUGLASS, J.; MCKENZIE, A. A.; COUCEYRO, P. Pcr differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. **J Neurosci**, v. 15, p. 2471-81, 1995.
- ELIAS, C. F. et al. Leptin differentially regulates npy and pomc neurons projecting to the lateral hypothalamic area. **Neuron**, v. 23, p. 775-86, 1999.
- ELIAS, C. F. et al. Leptin activates hypothalamic cart neurons projecting to the spinal cord. **Neuron**, v. 21, p. 1375-85, 1998a.
- ELIAS, C. F. et al. Characterization of cart neurons in the rat and human hypothalamus. **J Comp Neurol**, v. 432, p. 1-19, 2001.
- ELIAS, C. F. et al. Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. **J Comp Neurol**, v. 402, p. 442-59, 1998b.
- ELIAS, S. G. et al. Childhood exposure to the 1944-1945 dutch famine and subsequent female reproductive function. **Hum Reprod**, v. 20, p. 2483-8, 2005.
- FAN, W. et al. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. **Nature**, v. 385, p. 165-8, 1997.
- FEI, H. et al. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (ob-r) in mouse brain and other tissues. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 94, p. 7001-5, 1997.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) et al. **The state of food security and nutrition in the world 2018: Building climate resilience for food security and nutrition**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018.
- GARCIA, A. P. et al. Moderate caloric restriction during gestation results in lower arcuate nucleus npy- and alphanms-neurons and impairs hypothalamic response to fed/fasting conditions in weaned rats. **Diabetes Obes Metab**, v. 12, p. 403-13, 2010.
- GOMEZ DUMM, C. L.; PUCCIARELLI, H. M.; DRESSINO, V. Quantitative ultrastructural study of somatotrophic cells in malnourished weanling rats. **Acta Anat (Basel)**, v. 129, p. 200-2, 1987.
- GUNDERSEN, H. J. et al. The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. **Apmis**, v. 96, p. 857-81, 1988.
- GUNDERSEN, H. J.; JENSEN, E. B. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. **J Microsc**, v. 147 (Pt 3), p. 229-63, 1987.
- HAHN, J. D. Comparison of melanin-concentrating hormone and hypocretin/orexin peptide expression patterns in a current parceling scheme of the lateral hypothalamic zone. **Neurosci Lett**, v. 468, p. 12-7, 2010.
- HAKANSSON, M. L. et al. Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 559-572, 1998.
- HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: The thrifty phenotype hypothesis. **Int J Epidemiol**, v. 42, p. 1215-22, 1992.
- HERVIEU, G. J. et al. The distribution of the mRNA and protein products of the melanin-concentrating hormone (mch) receptor gene, slc-1, in the central nervous system of the rat. **Eur J Neurosci**, v. 12, p. 1194-216, 2000.
- HORTA-JÚNIOR, J. A. C.; LÓPEZ, D. E. Microscopia eletrônica de transmissão aplicada à neurociência. In: BITTENCOURT, J. C.; ELIAS, C. F. **Métodos em neurociência**. São Paulo: Editora Roca, 2007. 81-114.
- HSU, S. M.; RAINE, L.; FANGER, H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. **Am J Clin Pathol**, v. 75, p. 816-21, 1981.
- HSU, S. M.; SOBAN, E. Color modification of diaminobenzidine (dab) precipitation by metallic ions and its application for double immunohistochemistry. **J Histochem Cytochem**, v. 30, p. 1079-82, 1982.
- JANCSIK, V. et al. Sub-cellular organization of the melanin-concentrating hormone neurons in the hypothalamus. **Peptides**, v. 99, p. 56-60, 2018.
- JONES, D. G.; DYSON, S. E. The influence of protein restriction, rehabilitation and changing nutritional status on synaptic development: A quantitative study in rat brain. **Brain Res**, v. 208, p. 97-111, 1981.
- KADAR, A. et al. Improved method for combination of immunocytochemistry and nissl staining. **J Neurosci Methods**, v. 184, p. 115-8, 2009.
- KAPPELER, L. et al. Age-associated changes in hypothalamic and pituitary neuroendocrine gene expression in the rat. **J Neuroendocrinol**, v. 15, p. 592-601, 2003.
- KAWAUCHI, H. et al. Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries. **Nature**, v. 305, p. 321-3, 1983.
- KESSLER, B. A. et al. Age-related loss of orexin/hypocretin neurons. **Neuroscience**, v. 178, p. 82-8, 2011.

- KIMMEL, H. L.; CARROLL, F. I.; KUHAR, M. J. Dopamine transporter synthesis and degradation rate in rat striatum and nucleus accumbens using rti-76. **Neuropharmacology**, v. 39, p. 578-85, 2000.
- KISS, A. C. et al. Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development and behavior of wistar rats. **Physiol Behav**, v. 107, p. 292-300, 2012.
- KLIMAS, J. E. Oral glucose tolerance during the life-span of a colony of rats. **J Gerontol**, v. 23, p. 31-4, 1968.
- KOLETZKO, B. et al. The power of programming and the early nutrition project: Opportunities for health promotion by nutrition during the first thousand days of life and beyond. **Ann Nutr Metab**, v. 64, p. 187-96, 2014.
- KOYLU, E. O. et al. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide immunohistochemical localization in the rat brain. **J Comp Neurol**, v. 391, p. 115-32, 1998.
- KOYLU, E. O. et al. Immunohistochemical localization of novel cart peptides in rat hypothalamus, pituitary and adrenal gland. **J Neuroendocrinol**, v. 9, p. 823-33, 1997.
- KRILOWICZ, B. L.; SZYMUSIAK, R.; MCGINTY, D. Regulation of posterior lateral hypothalamic arousal related neuronal discharge by preoptic anterior hypothalamic warming. **Brain Res**, v. 668, p. 30-38, 1994.
- KRISTENSEN, P. et al. Hypothalamic cart is a new anorectic peptide regulated by leptin. **Nature**, v. 393, p. 72-6, 1998.
- KUHAR, M. J. et al. Cart peptides. **Neuropeptides**, v. 36, p. 1-8, 2002.
- KULESZA, J., RANDY J. et al. Unbiased stereological estimates of neuron number in subcortical auditory nuclei of the rat. **Hearing Research**, v. 168, p. 12-24, 2002.
- LARSEN, P. J.; HAY-SCHMIDT, A.; MIKKELSEN, J. D. Efferent connections from the lateral hypothalamic region and the lateral preoptic area to the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 342, p. 299-319, 1994.
- LEE, M. O. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. **Physiology**, v. p. 24-33, 1929.
- LIM, A. S. et al. Sleep is related to neuron numbers in the ventrolateral preoptic/intermediate nucleus in older adults with and without alzheimer's disease. **Brain**, v. 137, p. 2847-61, 2014.
- LUMEY, L. H.; STEIN, A. D. In utero exposure to famine and subsequent fertility: The dutch famine birth cohort study. **Am J Public Health**, v. 87, p. 1962-6, 1997.
- MCARDLE, H. J. et al. Fetal programming: Causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats -- a review. **Placenta**, v. 27 Suppl A, p. S56-60, 2006.
- MCGOWAN, M. K. et al. Chronic intrahypothalamic insulin infusion in the rat: Behavioral specificity. **Physiol Behav**, v. 54, p. 1031-4, 1993.
- MCMILLEN, I. C.; ADAM, C. L.; MUHLHAUSLER, B. S. Early origins of obesity: Programming the appetite regulatory system. **J Physiol**, v. 565, p. 9-17, 2005.
- NAHON, J. L.; ABBA, J. K. The melanin-concentrating hormone. In: **Handbook of biologically active peptides**. Burlington: Academic Press, 2006. 705-714.
- NAHON, J. L. et al. Characterization of mammalian melanin concentrating hormones and their precursors. In: CASANUEVA, F. A. D., C., . **Recent advances in basic and clinical neuroendocrinology**. ELSEVIER SCIENCE PUBL B V 1989. 15-23.
- NAITO, N. et al. Melanin-concentrating hormone-like immunoreactive material in the rat hypothalamus; characterization and subcellular localization. **Cell Tissue Res**, v. 253, p. 291-5, 1988.
- NOVELLI, E. L. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Lab Anim**, v. 41, p. 111-9, 2007.
- OZANNE, S. E. Metabolic programming in animals. **Br Med Bull**, v. 60, p. 143-52, 2001.
- OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: Catch-up growth and obesity in male mice. **Nature**, v. 427, p. 411-2, 2004.
- PALOU, M. et al. Impaired insulin and leptin sensitivity in the offspring of moderate caloric-restricted dams during gestation is early programmed. **J Nutr Biochem**, v. 23, p. 1627-39, 2012.
- PARKES, D. G.; VALE, W. W. Contrasting actions of melanin-concentrating hormone and neuropeptide-e-i on posterior pituitary function. **Ann N Y Acad Sci**, v. 680, p. 588-90, 1993.
- PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates: The new coronal set - 161 diagrams**. San Diego: Academic Press, 2005.
- PICKEL, V. M. General morphological features of peptidergic neurons. In: BJÖRKLUND, A.; HÖKFEL, T. **Handbook of chemical neuroanatomy**. Amsterdam: Elsevier, 1985. 72-92.
- PICO, C. et al. Metabolic programming of obesity by energy restriction during the perinatal period: Different outcomes depending on gender and period, type and severity of restriction. **Front Physiol**, v. 3, p. 436, 2012.
- PLAGEMANN, A. et al. Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. **J Nutr**, v. 130, p. 2582-9, 2000.
- PORTA, E. A. Advances in age pigment research. **Arch Gerontol Geriatr**, v. 12, p. 303-20, 1991.
- PRESSE, F.; NAHON, J. L. Differential regulation of melanin-concentrating hormone gene expression in distinct hypothalamic areas under osmotic stimulation in rat. **Neuroscience**, v. 55, p. 709-20, 1993.
- PRESSE, F. et al. Melanin-concentrating hormone is a potent anorectic peptide regulated by food-deprivation and glucopenia in the rat. **Neuroscience**, v. 71, p. 735-45, 1996.
- QU, D. et al. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. **Nature**, v. 380, p. 243-7, 1996.
- QUINN, R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? **Nutrition**, v. 21, p. 775-7, 2005.
- REMMERS, F.; DELEMARRE-VAN DE WAAL, H. A. Developmental programming of energy balance and its hypothalamic regulation. **Endocr Rev**, v. 32, p. 272-311, 2011.
- REMMERS, F.; FODOR, M.; DELEMARRE-VAN DE WAAL, H. A. Neonatal food restriction permanently alters rat body dimensions and energy intake. **Physiol Behav**, v. 95, p. 208-15, 2008a.

- REMMERS, F. et al. Hypothalamic neuropeptide expression of juvenile and middle-aged rats after early postnatal food restriction. **Endocrinology**, v. 149, p. 3617-25, 2008b.
- RICE, D.; BARONE, S., JR. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. **Environ Health Perspect**, v. 108 Suppl 3, p. 511-33, 2000.
- ROBERTS, S. B. Energy regulation and aging: Recent findings and their implications. **Nutrition Reviews**, v. 58, p. 91-97, 2000.
- RODRIGUES, B. C.; CAVALCANTE, J. C.; ELIAS, C. F. Expression of cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the rat forebrain during postnatal development. **Neuroscience**, v. 195, p. 201-14, 2011.
- ROSSI, M. et al. Melanin-concentrating hormone acutely stimulates feeding, but chronic administration has no effect on body weight. **Endocrinology**, v. 138, p. 351-355, 1997.
- RUBIO, L. et al. Alterations in the solitary tract nucleus of the rat following perinatal food restriction and subsequent nutritional rehabilitation. **Nutr Neurosci**, v. 7, p. 291-300, 2004.
- SAITO, Y. et al. Expression of the melanin-concentrating hormone (mch) receptor mrna in the rat brain. **Journal of Comparative Neurology**, v. 435, p. 26-40, 2001.
- SAPER, C. B. Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Hypothalamocortical projections. **Journal of Comparative Neurology**, v. 237, p. 21-46, 1985.
- SAPER, C. B. Image is everything. **J Comp Neurol**, v. 412, p. 381-2, 1999.
- SAPER, C. B.; AKIL, H.; WATSON, S. J. Lateral hypothalamic innervation of the cerebral cortex: Immunoreactive staining for a peptide resembling but immunochemically distinct from pituitary/arcuate $\pm$ -melanocyte stimulating hormone. **Brain Res Bull**, v. 16, p. 107-120, 1986.
- SAPER, C. B.; CHOU, T. C.; ELMQUIST, J. K. The need to feed: Homeostatic and hedonic control of eating. **Neuron**, v. 36, p. 199-211, 2002.
- SAPER, C. B.; SWANSON, L. W.; COWAN, W. M. An autoradiographic study of the efferent connections of the lateral hypothalamic area in the rat. **J Comp Neurol**, v. 183, p. 689-706, 1979.
- SATINOFF, E.; SHAN, S. Y. Loss of behavioral thermoregulation after lateral hypothalamic lesions in rats. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 77, p. 302-312, 1971.
- SAWCHENKO, P. E. Toward a new neurobiology of energy balance, appetite, and obesity: The anatomists weigh in. **J Comp Neurol**, v. 402, p. 435-41, 1998.
- SCHENK, M. P.; MANNING, R. J.; PAALMAN, M. H. Going digital: Image preparation for biomedical publishing. **Anat Rec**, v. 257, p. 128-36, 1999.
- SCHWARTZ, M. W. et al. Central nervous system control of food intake. **Nature**, v. 404, p. 661-71, 2000.
- SHIMADA, M. et al. Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. **Nature**, v. 396, p. 670-4, 1998.
- SIMERLY, R. B.; PAXINOS, G. Anatomical substrates of hypothalamic integration. In: **The rat nervous system (third edition)**. Burlington: Academic Press, 2004. 335-368.
- SIMSON, E. L.; GOLD, R. M. The lee obesity index vindicated? **Physiology and Behavior**, v. 29, p. 371-376, 1982.
- SITA, L. V.; ELIAS, C. F.; BITTENCOURT, J. C. Connectivity pattern suggests that incerto-hypothalamic area belongs to the medial hypothalamic system. **Neuroscience**, v. 148, p. 949-69, 2007.
- SLOMIANKA, L.; WEST, M. J. Estimators of the precision of stereological estimates: An example based on the ca1 pyramidal cell layer of rats. **Neuroscience**, v. 136, p. 757-67, 2005.
- SMITH, Y. et al. Ultrastructural localization of cart (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) peptides in the nucleus accumbens of monkeys. **Synapse**, v. 27, p. 90-4, 1997.
- SOULIMANE-MOKHTARI, N. A. et al. Modulation of lipid metabolism by n-3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring. **Clin Sci (Lond)**, v. 109, p. 287-95, 2005.
- SPARY, E. J.; MAQBOOL, A.; BATTEN, T. F. Changes in oestrogen receptor alpha expression in the nucleus of the solitary tract of the rat over the oestrous cycle and following ovariectomy. **J Neuroendocrinol**, v. 22, p. 492-502, 2010.
- STEININGER, T. L. et al. Comparison of hypocretin/orexin and melanin-concentrating hormone neurons and axonal projections in the embryonic and postnatal rat brain. **J Chem Neuroanat**, v. 27, p. 165-81, 2004.
- STEPHENS, D. N. Does the lee obesity index measure general obesity? **Physiol Behav**, v. 25, p. 313-5, 1980.
- SUBHEDAR, N. K. et al. Cart in the brain of vertebrates: Circuits, functions and evolution. **Peptides**, v. 54, p. 108-30, 2014.
- SUGAYA, A. et al. Experimental diabetes accelerates accumulation of fluorescent pigments in rat trigeminal neurons. **Brain Res**, v. 999, p. 132-4, 2004.
- SWANSON, L. W.; SANCHEZ-WATTS, G.; WATTS, A. G. Comparison of melanin-concentrating hormone and hypocretin/orexin mrna expression patterns in a new parceling scheme of the lateral hypothalamic zone. **Neurosci Lett**, v. 387, p. 80-4, 2005.
- SZEKELY, M.; SZELENYI, Z. Regulation of energy balance by peptides: A review. **Curr Protein Pept Sci**, v. 6, p. 327-353, 2005.
- SZYMUSIAK, R.; IRIYE, T.; MCGINTY, D. Sleep-waking discharge of neurons in the posterior lateral hypothalamic area of cats. **Brain Res Bull**, v. 23, p. 111-120, 1989.
- TAI, M. M. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. **Diabetes Care**, v. 17, p. 152-4, 1994.
- TOUMANIANTZ, G.; BITTENCOURT, J. C.; NAHON, J. L. The rat melanin-concentrating hormone gene encodes an additional putative protein in a different reading frame. **Endocrinology**, v. 137, p. 4518-21, 1996.
- TOUMANIANTZ, G. et al. Differential neuronal expression and projections of melanin-concentrating hormone (mch) and mch-gene-overprinted-polypeptide (mgop) in the rat brain. **Eur J Neurosci**, v. 12, p. 4367-80, 2000.

- TRUE, C. et al. Early high-fat diet exposure causes dysregulation of the orexin and dopamine neuronal populations in nonhuman primates. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 9, p. 508, 2018.
- VAUGHAN, J. M. et al. Characterization of melanin-concentrating hormone from rat hypothalamus. **Endocrinology**, v. 125, p. 1660-5, 1989.
- VON BARTHELD, C. S.; ALTICK, A. L. Multivesicular bodies in neurons: Distribution, protein content, and trafficking functions. **Prog Neurobiol**, v. 93, p. 313-40, 2011.
- VRANG, N. et al. Neurochemical characterization of hypothalamic cocaine- amphetamine-regulated transcript neurons. **J Neurosci**, v. 19, p. RC5, 1999.
- VRANG, N. et al. Central administration of cocaine-amphetamine-regulated transcript activates hypothalamic neuroendocrine neurons in the rat. **Endocrinology**, v. 141, p. 794-801, 2000.
- WANG, C. et al. Intrauterine growth retardation promotes fetal intestinal autophagy in rats via the mechanistic target of rapamycin pathway. **J Reprod Dev**, v. 63, p. 547-554, 2017.
- WEST, M. J.; GUNDERSEN, H. J. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. **J Comp Neurol**, v. 296, p. 1-22, 1990.
- WEST, M. J.; SLOMIANKA, L.; GUNDERSEN, H. J. G. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. **The Anatomical Record**, v. 231, p. 482-497, 1991.
- WOODSIDE, B. et al. Many mouths to feed: The control of food intake during lactation. **Front Neuroendocrinol**, v. 33, p. 301-14, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION Malnutrition is an impediment to the progress (who reference number: Who/nmh/nhd/14.1). **World Health Organization**, v. p. 22, 2014.
- WURTMAN, J. J.; MILLER, S. A. Effect of litter size on weight gain in rats. **J Nutr**, v. 106, p. 697-701, 1976.
- ZELTSE, L. M. Feeding circuit development and early-life influences on future feeding behaviour. **Nat Rev Neurosci**, v. 19, p. 302-316, 2018.
- ZHANG, M.; HAN, L.; XU, Y. Roles of cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the central nervous system. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 39, p. 586-92, 2012.
- ZHANG, Y. et al. Effects of maternal food restriction on physical growth and neurobehavior in newborn wistar rats. **Brain Res Bull**, v. 83, p. 1-8, 2010.
- ZHANG, Y.; WEI, J.; YANG, Z. Perinatal undernutrition attenuates field excitatory postsynaptic potentials and influences dendritic spine density and morphology in hippocampus of male rat offspring. **Neuroscience**, v. 244, p. 31-41, 2013.
- ZHANG, Y. H. et al. Effect of midbrain stimulations on thermoregulatory vasomotor responses in rats. **Journal of Physiology**, v. 503, p. 177-186, 1997.