

Efeito da Desnutrição Materna sobre o Comportamento Alimentar em Ratos Neonatos

Effect of Maternal Malnutrition on the Food Behavior in Neonates Rats

*Aline Isabel da Silva, Matilde Cesiana da Silva, Keite Elem Campos Bezerra, Tássia Karin Ferreira Borba, Lívia de Almeida Lira, Amanda Alves Marcelino da Silva, Lígia Cristina Monteiro Galindo Novaes, Raul Manhães-de-Castro e Sandra Lopes de Souza**

ABSTRACT

The nutritional deficiency alters morphogenetic events occurring during the critical period of development of the nervous system, with deleterious consequences in the maturation of morphophysiological patterns of the system. Studies found that malnutrition during pregnancy leads to overeating and a small increase in levels of serotonin (5-HT) brain. The 5-HT is directly related to satiety, though the anorexic effects of this neurotransmitter are affected by malnutrition. We had to evaluate the relationship between the effects of pregnancy malnutrition on the control of feeding behavior offspring. The pregnant rats were subjected to nutritional manipulation during pregnancy constituted two experimental groups: Control Pregnancy (CG-casein 17%) and Malnourished Pregnancy (DG-casein, 8%). The DG rats showed a reduced number of pups born, but there was no difference in weight at birth between groups CG and DG. The malnourished group had a significant decrease of weight body from the 9th day of life. The duration of suction decreased on the 7th day and increased on the 21st day, while intake lactation was reduced in the 3rd and 21st days of life. Malnutrition during pregnancy promotes hyperphagia after weaning. Because of these observations we suggest that malnutrition may be an important modulator of feeding behavior.

KEY WORDS: malnutrition, pregnancy, feeding behavior, neonatal, critical period.

ENDEREÇO:

*Departamento de Anatomia
Universidade Federal de Pernambuco/UFPE
Avenida Prof. Moraes Rêgo, 1235. Cidade Universitária,
CEP.: 50.670-420 - Recife/Pernambuco, Brazil.
Fone: + 00 55 81 2126 – 8555

RESUMO

A deficiência nutricional altera eventos morfogênicos ocorridos no período crítico de desenvolvimento do Sistema Nervoso, com conseqüências deletérias na maturação de padrões morfofuncionais deste sistema. Estudos observaram que desnutrição na gestação provoca hiperfagia e um pequeno aumento dos níveis de serotonina (5-HT) encefálica. A 5-HT está diretamente relacionada à saciedade, entretanto os efeitos anoréxicos deste neurotransmissor são alterados pela desnutrição protéica. Tivemos como objetivo avaliar a relação entre os efeitos da desnutrição gestacional sobre o controle do comportamento alimentar da prole. As ratas prenhas foram submetidas à manipulação nutricional durante gestação constituindo dois grupos: experimentais Controle Gestação (CG-caseína 17%) Desnutrido Gestação (DG-caseína, 8%). As ratas DG apresentaram redução no número dos filhotes nascidos, mas não houve diferença no peso dos filhotes ao nascimento entre os grupos CG e DG. O grupo desnutrido apresentou diminuição significativa do peso corporal a partir do 9º dia de vida. A duração da sucção diminuiu no 7º dia e aumentou no 21º dia, enquanto que a ingestão lactacional foi reduzida no 3º e 21º dias de vida. A desnutrição durante a gestação promove hiperfagia após o desmame. Diante dessas observações podemos sugerir que a desnutrição pode ser um fator modulador do comportamento alimentar.

PALAVRAS CHAVES: desnutrição, gestação, comportamento alimentar, neonatal, período crítico.

INTRODUÇÃO

Atuando sobre o período crítico de desenvolvimento do Sistema Nervoso, a deficiência nutricional é capaz de alterar eventos morfogênicos ocorridos nesta fase, com conseqüências deletérias para a maturação de padrões morfofuncionais deste sistema [1-3]. As características morfofuncionais do sistema nervoso maduro dependem dos processos de formação e diferenciação neuronal, sinaptogênese, multiplicação glial e mielinização que ocorrem nestes períodos críticos [2]. Os períodos de gestação e lactação, no rato, constituem a fase de maior desenvolvimento do encéfalo e, por conseguinte, de maior vulnerabilidade a vários tipos de agressões [2].

Quando em contato com ambiente hostil, o organismo pode adaptar sua estrutura e função para interagir com este ambiente [4]. Entretanto, a alteração das condições ambientais iniciais propiciará o desenvolvimento de várias patologias em fase tardia na vida do organismo que foi precocemente "programado" [5, 6]. Sendo assim, agressões nutricionais ou farmacológicas durante a gestação e/ou a lactação podem levar a alterações morfológicas e funcionais permanentes, inclusive sobre a expressão comportamental [7-9].

Uma das principais estruturas responsáveis pelo controle do balanço energético é o hipotálamo que é densamente inervado por fibras serotoninérgicas [6], onde a serotonina participa das mais diversas funções tais como ingestão alimentar, controle da temperatura e secreção hormonal (23,33,36,38) Essa relação entre o sistema serotoninérgico e a ingestão alimentar, pode ser exemplificada por estudos que descreveram a elevação dos níveis de serotonina no hipotálamo, promovendo saciedade [10], enquanto sua redução promoveria hiperfagia [11].

O padrão dietético influencia a síntese, liberação e expressão de diversas moléculas que regulam o comportamento alimentar, entre elas o neurotransmissor serotonina, o qual é derivado do aminoácido essencial L-triptofano [12]. A desnutrição ocorrida em períodos pré e pós-natais é capaz de alterar a disponibilidade de 5-HT no encéfalo, em decorrência da redução nos níveis de seu precursor [13]. Este insulto nutricional causa alteração irreversível no sistema serotoninérgico [1] com prejuízos ao comportamento alimentar. Foram relatadas alterações nos receptores serotoninérgicos em resposta a agressões nutricionais na vida fetal [14]. Recentemente, nosso grupo de pesquisa verificou que ratos submetidos à restrição protéica

durante a gestação e a lactação apresentam, após o desmame, hiperfagia acompanhada por retardo no disparo da saciedade e redução dos efeitos anoréxicos da serotonina [15]. No entanto, os detalhes da regulação e ativação dos receptores serotoninérgicos em animais desnutridos ainda não estão esclarecidos.

Durante os períodos de gestação ou lactação, fármacos serotoninérgicos podem induzir alterações no crescimento e desenvolvimento do sistema nervoso promovendo alterações na expressão comportamental [8, 16].

O estudo teve por objetivo avaliar a capacidade da desnutrição gestacional em alterar o consumo alimentar de ratos neonatos, através de possíveis modificações do sistema serotoninérgico. A manipulação do sistema serotoninérgico associada à desnutrição protéica na gestação nos fornecerá importantes esclarecimentos, pois a literatura relata que ratos submetidos à desnutrição protéica durante a gestação e lactação apresentam aumento dos níveis de serotonina cerebrais e que os efeitos anoréxicos persistem durante o desenvolvimento [14, 17].

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas ratas prenhas albinas da linhagem *Wistar*, pesando entre 220–240g,

provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, com alimentação e água *ad libitum*, ciclo claro-escuro 12/12 h (claro: 6:00h às 18:00h). Os procedimentos experimentais obedeceram aos princípios do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA, protocolo 009367/2006-12) da Universidade Federal de Pernambuco.

Grupos Experimentais

As fêmeas foram postas junto aos machos durante o período estral e o acasalamento foi identificado através da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal. Confirmado o acasalamento, foram consideradas prenhas as ratas que apresentaram aumento diário no peso corporal. As ratas prenhas receberam dieta normoproteica (CS, caseína 17%) ou hipoproteica (DS, caseína 8%) durante toda a gestação. O dia seguinte ao nascimento dos filhotes foi considerado o primeiro dia de lactação. Neste dia, todas as nutrizas passaram a receber dieta normoproteica e foram formadas ninhadas compostas pela nutriz e seis filhotes machos (Figura 1). Os filhotes restantes foram retirados e sacrificados em câmara de dióxido de carbono. A composição das dietas seguiu as normas da American Society for Nutritional Sciences (AIN 93) [18](Tabela 1).

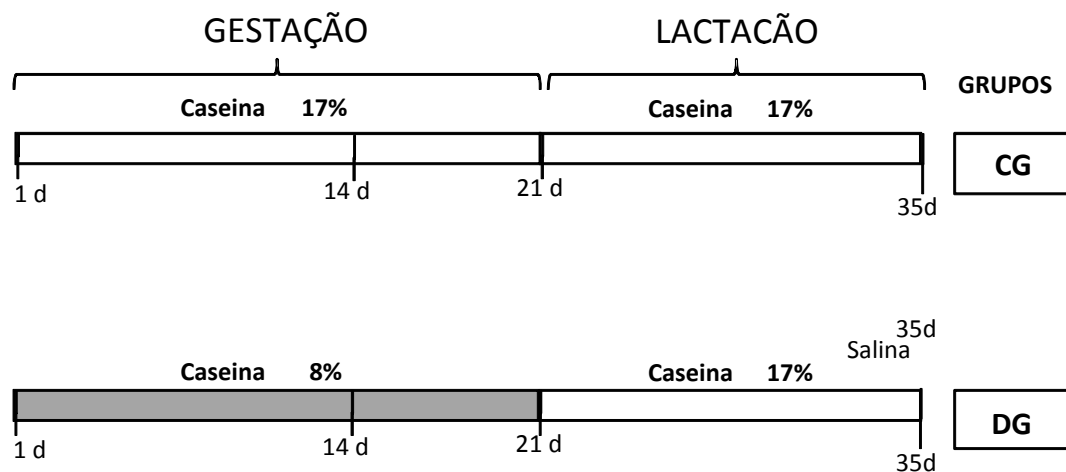


Figura 1 – Esquema da distribuição dos grupos experimentais. Ratos receberam dieta normoprotéica (CG, caseína 17%) ou hipoprotéica (DG, caseína 8%) durante o período de gestação.

Tabela 1

Composição das dietas experimentais oferecidas durante o período de gestação

Constituintes	Dieta hipoprotéica (8%)	Dieta normoprotéica (17%)
g %	100,00	100,0
Proteínas	8,10	17,30
Carboidratos	75,10	65,90
Lipídios	7,00	7,00
Fibras	5,00	5,00
Vitaminas	1,00	1,00
Minerais	3,50	3,50
Metionina	0,30	0,30
% Kcal	362,48	363,44

Procedimentos

Análise da Duração de Sucção

A avaliação da duração da sucção foi precedida pela privação alimentar das ninhadas dos diferentes grupos experimentais. A privação alimentar objetivou estimular a busca por alimento e consistiu na retirada dos filhotes da gaiola por um período de 4 horas (12:00 às 16:00h), durante o qual os filhotes não tiveram acesso a qualquer tipo de alimentação nem ingeriram água. Durante o período de privação, as ninhadas permaneceram em gaiolas com características semelhantes às de origem, incluindo a presença do ninho. Devido ao controle ainda imaturo da temperatura corporal, as ninhadas com idade de 3 e 7 dias foram mantidas em gaiolas com temperatura de ± 31 °C. Imediatamente após o período de privação foi realizada avaliação comportamental durante o intervalo de tempo de 40 minutos.

Nos dias de avaliação (3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias de aleitamento), foi registrada a duração (em segundos) do comportamento de sucção através de protocolo comportamental e cronômetro digital. O avaliador permaneceu a 1,5m de distância da gaiola em observação. Cada avaliador observou apenas uma gaiola por dia e todas as avaliações foram realizadas por duas pessoas previamente treinadas. As gaiolas foram transferidas das estantes para o local de avaliação cinco dias antes do teste. Os testes foram realizados entre 16-17h.

Análise da Ingestão Alimentar Neonatal

O consumo alimentar individual dos filhotes, em miligramas (mg), foi obtido em todos os

dias de avaliação comportamental. Este foi quantificado através do ganho de peso dos filhotes [19] após os 40 minutos de observação. O consumo foi o resultado da subtração entre o peso corporal obtido após a observação comportamental e o peso obtido antes do início da observação. Antes de obter o peso corporal pré-observação, foi realizada estimulação através de fricção de objeto macio sobre a região genital dos filhotes para promover a excreção de urina e fezes. Esse procedimento garante maior confiabilidade à quantificação do consumo alimentar em ratos com 3, 7 e 14 dias de vida.

Consumo Alimentar Pós-Desmame

A avaliação de ingestão alimentar aos 35 dias de vida foi obtida pela diferença entre o peso da ração antes e após período de observação.

Análise Estatística

Para análise estatística foi utilizada ANOVA two-way seguida por teste de Tukey. O peso corporal foi analisado por teste t de Student com nível de significância $p < 0.05$.

RESULTADOS

Efeito da desnutrição sobre as gestantes

A desnutrição no período gestacional reduziu ($p < 0,01$) no número de filhotes nascidos, porém não provocou alterações na duração da gestação nem no percentual de ganho de peso das gestantes (**Tabela 2**) (**Figura 2**).

Tabela 2

Efeito da desnutrição na gestação sobre duração da gestação, do número de filhotes e do ganho de peso materno

Parâmetros de gestação	Controle	Desnutrido
Duração da gestação em dias	22,0 ± 0,3	22,3 ± 0,7
Número de filhotes nascidos	12,9 ± 1,2	7,3 ± 0,7 *
Ganho de peso total das ratas (%).	39 ± 4,7	31,4 ± 9,2

Os dados estão representados em média (\bar{x}) ± desvio padrão (DP). n=8 para todos os grupos. Teste *t* de Student ($p < 0,01$). * indica diferença entre os grupos desnutrido e controle.

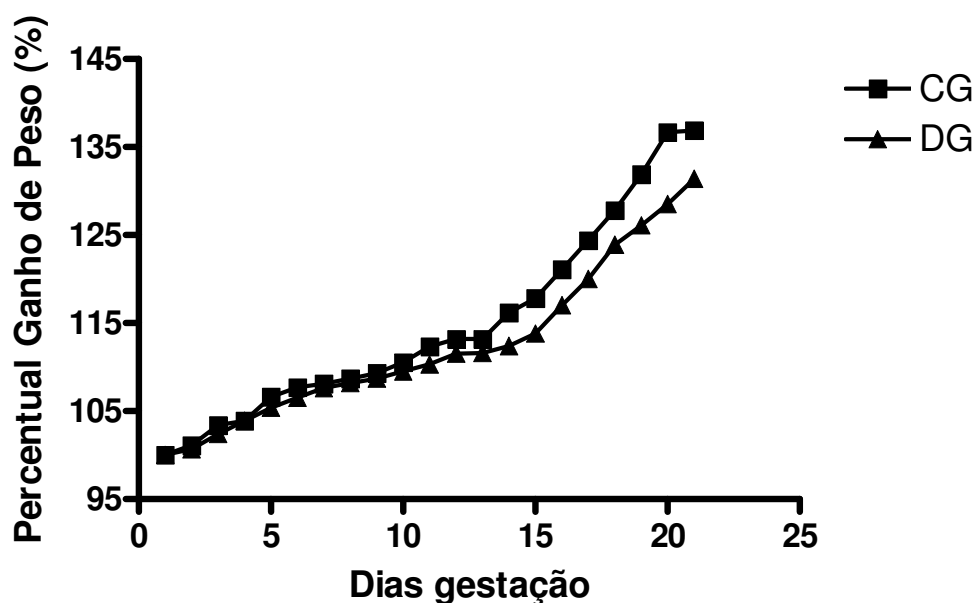


Figura 2 - Efeito da desnutrição gestacional sobre o percentual de ganho de peso em ratas gestantes. As ratas receberam durante o período de gestação caseína 17% (n=8) ou a 8% (n=8). Os dados estão representados em média ± DP (desvio padrão).

Peso Corporal Neonatal

O peso corporal dos filhotes desnutridos foi menor ($p < 0,01$) que aquele dos controles a partir do 9º

dia de vida (CS=16,7 ± 1,77; DS= 15,7 ± 2,5) (Figura 3).

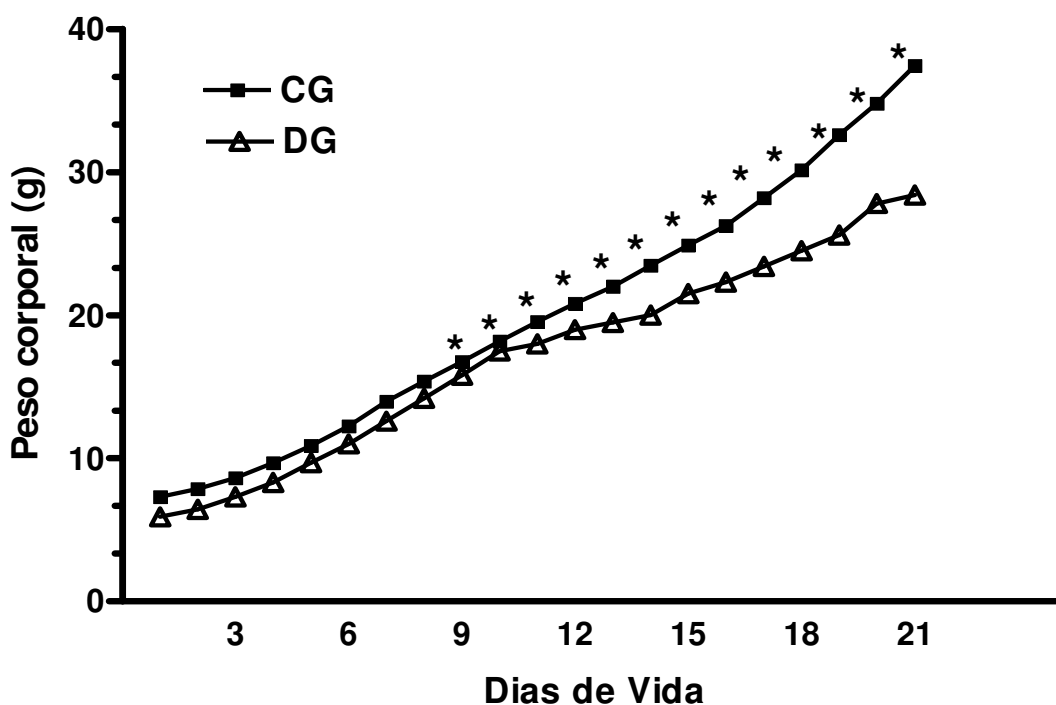


Figura 3 - Efeito da desnutrição gestacional sobre o ganho de peso em ratos lactentes. Os ratos foram desnutridos durante o período de gestação caseína 17% (n=8) ou a 8% (n=8). Os dados estão representados em média \pm DP (desvio padrão). * indica diferenças entre os grupos CG e DG.

Sucção e Ingestão Alimentar Neonatal

O grupo desnutrido apresentou redução ($p < 0,05$) na duração do comportamento de sucção no 7º dia de vida (CG = 3308 (3462,0 - 2767,0); DG = 3036,5 (3307,0 - 1460,0) e aumento ($p < 0,05$) no 21º dia (CG = 2025,0 (2981,0 -

120,0); DG = 2897 (3568 - 2096,0) quando comparado ao controle (Figura 4A). A ingestão alimentar no grupo desnutrido diminuiu ($p < 0,05$) no 3º (DG = $0,2 \pm 0,1$; CG = $0,2 \pm 0,07$) e no 21º (DG = $0,7 \pm 0,1$; CG = $0,9 \pm 0,1$) dia pós-natal (Figura 4B).

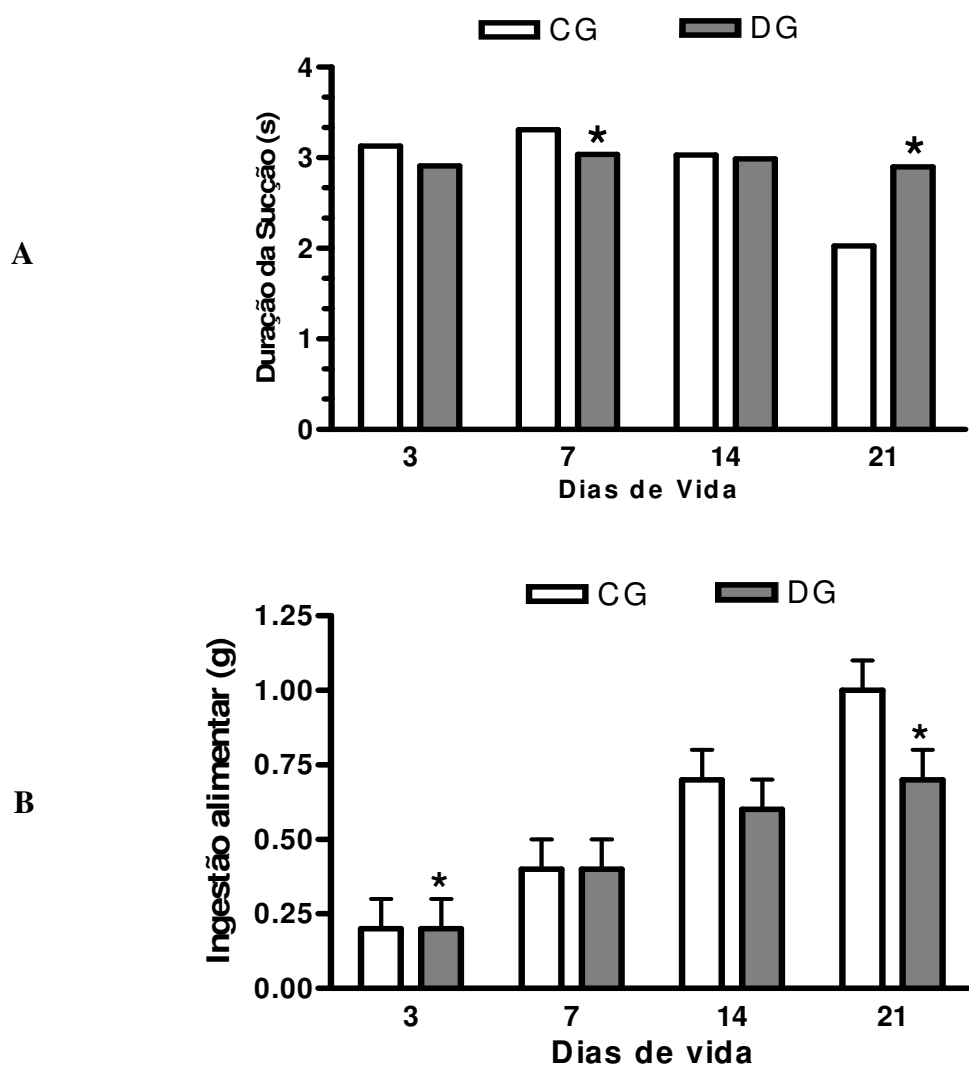


Figura 4 - Efeito da desnutrição gestacional sobre a duração do comportamento de sucção (A) e a ingestão alimentar absoluta (B) durante a lactação. A duração do comportamento de sucção e a ingestão alimentar (g) foram obtidos no período de 40 minutos após 4h de privação alimentar. Durante a gestação o grupo controle (CG) recebeu dieta normoproteica (n=8, caseína 17%) e o desnutrido dieta hipoprotéica (n=8, caseína 8%). Os dados estão representados em média \pm DP. * indica diferença entre os grupos CG e DG, ANOVA.

Peso Corporal e Ingestão Alimentar Pós-Desmame

Os filhotes do grupo DG quando comparado ao grupo CG apresentaram uma redução ($p < 0,05$) do peso corporal (CG=141,6 \pm 5,9;

DG=123,3 \pm 7,8;) (Figura 5A) e um aumento ($p < 0,05$) da ingestão alimentar relativa (CG=1,6 \pm 0,1; DG=2,58 \pm 0,1;) (Figura 5B) aos 35 dias de vida

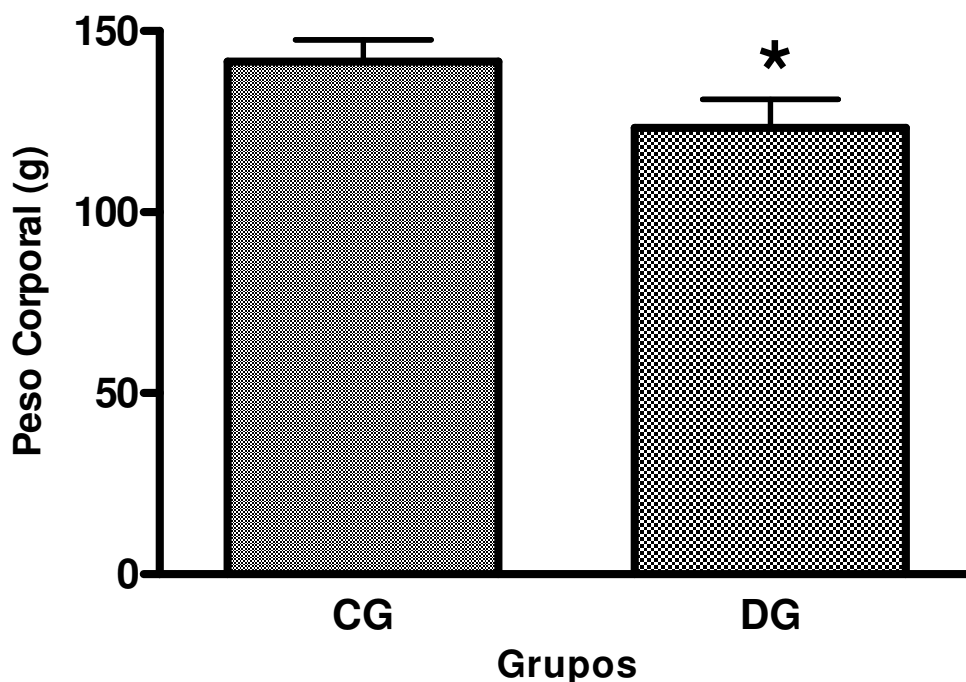


Figura 5 - Efeito da desnutrição durante a gestação sobre o peso corporal (A) e a ingestão alimentar (B) em ratos após o desmame. A duração da ingestão alimentar foi obtida no período de 1h após 4h de privação alimentar. O grupo controle (CG) recebeu dieta normoprotéica (n=18, caseína 17%) e o desnutrido (DG) dieta hipoprotéica (n=18, caseína 8%). Os dados estão representados em média \pm DP. *Indica diferença entre os grupos, ANOVA.

DISCUSSÃO

A desnutrição neonatal promove várias alterações na integridade estrutural, neuroquímica e funcional do sistema nervoso [1]. Para testar esta hipótese, foi realizada, neste estudo, a avaliação do comportamento alimentar neonatal de filhotes provindos de ratas que foram submetidas à desnutrição protéica durante todo o período gestacional. O modelo proposto não alterou o ganho de peso materno, mas promoveu redução no peso dos filhotes ao nascimento e do número de filhotes nascidos. O peso corporal é uma variável vulnerável ao processo de desnutrição, mas durante o período de gestação parecem ocorrer adaptações que não permitem grande déficit no peso corporal materno já que, neste estudo, o percentual de ganho de peso das gestantes não foi afetado. Quando a desnutrição incide sobre períodos críticos como a gestação, processos adaptativos ocorrem

para preservação da prole [20]. Na primeira metade da gestação há uma fase de anabolismo protéico que ocorre para compensar o catabolismo, que é característico da segunda fase [21]. Esse processo metabólico pode ser constatado através da análise protéica da carcaça de gestantes que foram alimentadas com dietas contendo diferentes percentuais proteicos [21]. O conteúdo de proteína da carcaça pode estar diminuído após o período gestacional de ratas submetidas à desnutrição protéica apesar de, sob as mesmas condições, não haver prejuízo em relação ao tamanho do estoque de tecido adiposo e ao peso dos órgãos das ratas [22]. Os filhotes gerados por ratas submetidas à dieta hipoproteica também não apresentaram alterações referentes à sua composição ou tamanho [22] o que corrobora com achados peso ao nascimento encontrados no modelo experimental proposto. Fagundes et al [23] observou um desproporcional crescimento fetal quando ofertadas

dietas com restrição protéica a filhotes recém nascidos. Alterações no crânio e na face de ratos em desenvolvimento submetidos à dieta com baixa quantidade de proteína também foram descritos [24].

A duração do comportamento de sucção através da lactação declina em ratos nutridos [25]. Neonatos desnutridos apresentaram declínio na duração da sucção no 7^o dia de vida e aumento nesta duração no 21^o dia, corroborando parcialmente com achados de [26] que observaram aumento na duração de sucção no 14^o e no 21^o dias de vida. Além de alterar a duração da sucção, a desnutrição reduziu a ingestão alimentar no 3^o e no 21^o dias de vida. É conhecido que a dieta hipoprotéica durante a gestação reduz a quantidade de lactose com conseqüências sobre a osmolaridade do leite e seu volume [27]. Em ratas nutridas, a produção materna de leite aumenta oito vezes entre o 10^o e 20^o dias de lactação favorecendo aumento progressivo da ingestão pelos filhotes [28]. O aumento do período de sucção dos lactentes desnutridos poderia estar associado à tentativa de estimular maior secreção de leite [29]. Por outro lado, a redução do consumo em desnutridos poderia ser explicada, entre outros fatores, pela redução no volume de leite ocasionada por restrição alimentar em gestantes e lactantes [21, 30-32]. Até os filhotes atingirem a maturidade do comportamento alimentar, a mãe exerce papel no início da sucção [33]. Estudo com animais desnutridos mostrou que a interação mãe-filhote é modificada, alterando o comportamento maternal [34] e, conseqüentemente, a ingestão de leite pelos filhotes. Estes fatores podem ter contribuído para a presença das alterações no comportamento alimentar neonatal observadas neste estudo. O baixo peso corporal observado nos filhotes de ratas submetidas à dieta pobre em proteína durante o período gestacional caracterizou o quadro de desnutrição destes animais, exatamente como o constatado também em outros trabalhos [35-37]. Neste estudo, a desnutrição protéica reduziu o peso corporal em ratos a partir do 9^o dia de vida.

Por outro lado, a desnutrição protéica parece estar associada ao aumento do consumo alimentar diário após o desmame [15, 38-41]. Isto ocorre como forma de compensar o déficit de nutrientes oriundos daqueles períodos críticos de desenvolvimento, ocasionando um catch-up de crescimento como observado por [42]. Neste estudo, os animais desnutridos durante a gestação continuaram apresentando redução no peso corporal em relação ao controle aos 35 dias de vida, o que caracterizou um quadro de desnutrição [42]. O catch-up de crescimento citado anteriormente pode não ter sido observado devido ao período precoce de avaliação no nosso estudo. No os animais avaliados apresentaram-se hiperfágicos, corroborando com os achados de Desai [38] e Vickers [43]. O estado hiperfágico parece estar relacionado ao desequilíbrio de centros de controle do comportamento alimentar e, conseqüentemente, do metabolismo do alimento ingerido quando ocorrem alterações em padrões normais do crescimento e desenvolvimento [44]. Crescentes evidências sugerem que nutrientes e sinalização hormonal convergem e diretamente atuam nos centros cerebrais levando à mudanças no metabolismo e, assim, estabilizando o peso corporal ao longo do tempo [45]. No entanto, reguladores da plasticidade sináptica podem funcionar como moduladores metabólicos para ingestão alimentar [46].

Há 50 anos atrás Jean Mayer [47] já havia relatado o Hipotálamo como principal controlador da ingestão alimentar. Devido a conexões eferentes e aferentes com várias regiões cerebrais, o hipotálamo tem um papel integrativo em cérebros de mamíferos facilitando muitas funções fisiológicas [48]. Esta estrutura é local de integração de processos endócrinos, nervosos e comportamentais, estando diretamente envolvida na regulação do comportamento alimentar [49]. Durante o desenvolvimento pré ou pós-natal, o hipotálamo pode receber influências e alterar sua complexa rede envolvida no controle desse comportamento, resultando em alterações estruturais e funcionais na vida

adulto [50, 51]. Os níveis alterados de hormônios e de neurotransmissores promovidos por desnutrição podem promover disfunção em centros nervosos, como por exemplo, do hipotálamo [52]. O hipotálamo é densamente inervado por fibras serotoninérgicas [53, 54] onde a serotonina participa das mais diversas funções, tais como ingestão alimentar, controle da temperatura e secreção hormonal [48, 55-57] através da ativação de vários receptores serotoninérgicos [58].

A investigação do sistema de neurotransmissão serotoninérgica em ratos desnutridos durante o desenvolvimento do sistema nervoso revela alterações estruturais e funcionais permanentes [16, 59-61]. Os animais submetidos à desnutrição gestacional e posterior recuperação nutricional, apresentam os níveis normais do aminoácido precursor da serotonina, o triptofano [62]. Por outro lado, os níveis da enzima de síntese da serotonina, a triptofano hidroxilase permanece aumentada [36]. Estas alterações promovem aumento na concentração de serotonina encefálica [63-65]. A ação inibitória da serotonina sobre a ingestão alimentar é bem conhecida e parece ser determinante no processo de desmame [66].

CONCLUSÃO

No comportamento alimentar adulto, a serotonina atua sobre mecanismos envolvidos com o término da alimentação. Alterações nos níveis de serotonina podem, então, promover modificações nos eventos seqüenciais do desenvolvimento e crescimento. Contudo, as repercussões de manipulações nutricionais, como a desnutrição, sobre o desenvolvimento estrutural, neuroquímico e integridade funcional de células nervosas são bem conhecidas [1]. Diante dessas observações podemos sugerir que a desnutrição promovida por esse modelo experimental pode ser um dos fatores moduladores das funções hipotalâmicas, em especial do controle da ingestão alimentar, uma vez que este déficit nutricional alterou padrões comportamentais controlados pelo hipotálamo.

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

REFERÊNCIAS

1. Morgane, P.J., et al., *Prenatal malnutrition and development of the brain*. Neurosci Biobehav Rev, 1993. 17(1): p. 91-128.
2. Leahy, J.P., et al., *A neuropharmacological analysis of central nervous system catecholamine systems in development protein malnutrition*. Dev Psychobiol, 1978. 11(4): p. 361-70.
3. Winick, M. and J. Coombs, *Nutrition, environment, and behavioral development*. Annu Rev Med, 1972. 23: p. 149-60.
4. Lucas, A., *Programming by early nutrition in man*. Ciba Found Symp, 1991. 156: p. 38-50; discussion 50-5.
5. Hales, C.N. and D.J. Barker, *Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis*. Diabetologia, 1992. 35(7): p. 595-601.
6. Godfrey, K.M. and D.J. Barker, *Fetal programming and adult health*. Public Health Nutr, 2001. 4(2B): p. 611-24.
7. Mendes-da-Silva, C., et al., *Neonatal treatment with fluoxetine reduces depressive behavior induced by forced swim in adult rats*. Arq Neuropsiquiatr, 2002. 60(4): p. 928-31.
8. Manhaes de Castro, R., et al., *Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor*. Braz J Med Biol Res, 2001. 34(1): p. 121-4.
9. Halford, J.C., S.C. Wanninayake, and J.E. Blundell, *Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake*. Pharmacol Biochem Behav, 1998. 61(2): p. 159-68.

10. Schreiber, R., et al., *Effects of serotonin(1/2) receptor agonists on dark-phase food and water intake in rats*. Pharmacol Biochem Behav, 2000. 67(2): p. 291-305.
11. Halford, J.C., *Pharmacotherapy for obesity*. Appetite, 2006. 46(1): p. 6-10.
12. Gal, E.M., *Tryptophan-5-hydroxylase: function and control*. Adv Biochem Psychopharmacol, 1974. 11(0): p. 1-11.
13. Zeisel, S.H., et al., *Developmental changes in brain indoles, serum tryptophan and other serum neutral amino acids in the rat*. Brain Res, 1981. 227(4): p. 551-64.
14. Manjarrez, G., et al., *Serotonergic receptors in the brain of in utero undernourished rats*. Int J Dev Neurosci, 2003. 21(5): p. 283-9.
15. Lopes de Souza, S., et al., *Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake*. Eur J Neurosci, 2008. 27(6): p. 1400-8.
16. Barreto-Medeiros, J.M., et al., *Malnutrition during brain growth spurt alters the effect of fluoxetine on aggressive behavior in adult rats*. Nutr Neurosci, 2004. 7(1): p. 49-52.
17. Stanley, B.G., et al., *Patterns of extracellular 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) in the paraventricular hypothalamus (PVN): relation to circadian rhythm and deprivation-induced eating behavior*. Pharmacol Biochem Behav, 1989. 33(1): p. 257-60.
18. Reeves, P.G., F.H. Nielsen, and G.C. Fahey, Jr., *AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet*. J Nutr, 1993. 123(11): p. 1939-51.
19. Houpt, K.A. and T.R. Houpt, *Effects of gastric loads and food deprivation on subsequent food intake in suckling rats*. J Comp Physiol Psychol, 1975. 88(2): p. 764-72.
20. Bellinger, L., C. Lilley, and S.C. Langley-Evans, *Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat*. Br J Nutr, 2004. 92(3): p. 513-20.
21. Pine, A.P., et al., *Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. 2. Effects of dietary protein restriction during gestation and lactation on tissue protein metabolism and Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase (EC 3.6.1.3) activity*. Br J Nutr, 1994. 72(2): p. 181-97.
22. Pine, A.P., N.S. Jessop, and J.D. Oldham, *Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats. 3. The effects of dietary protein restriction and stage of lactation on milk composition*. Br J Nutr, 1994. 72(6): p. 815-30.
23. Fagundes, A.T., et al., *Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring*. Br J Nutr, 2007. 98(5): p. 922-8.
24. Miller, J.P. and R.Z. German, *Protein malnutrition affects the growth trajectories of the craniofacial skeleton in rats*. J Nutr, 1999. 129(11): p. 2061-9.
25. Galler, J.R. and K.J. Propert, *Early maternal behaviors predictive of the survival of suckling rats with intergenerational malnutrition*. J Nutr, 1982. 112(2): p. 332-7.
26. Pachon, H., M.K. McGuire, and K.M. Rasmussen, *Nutritional status and behavior during lactation*. Physiol Behav, 1995. 58(2): p. 393-400.
27. Grimble, R.F. and Y.K. Mansaray, *Effects in rats of dietary protein inadequacy on lactose production, milk volume and components of the lactose synthetase complex (EC 2.4.1.22)*. Ann Nutr Metab, 1987. 31(3): p. 179-84.

28. Godbole, V.Y., et al., *Composition of rat milk from day 5 to 20 of lactation and milk intake of lean and preobese Zucker pups*. J Nutr, 1981. 111(3): p. 480-7.
29. Lau, C. and S.J. Henning, *Regulation of milk ingestion in the infant rat*. Physiol Behav, 1984. 33(5): p. 809-15.
30. Barnes, L.A., *Possible explanation for the decline of hypercalcemia*. Pediatrics, 1968. 41(3): p. 691.
31. Rasmussen, K.M. and N.L. Warman, *Effect of maternal malnutrition during the reproductive cycle on growth and nutritional status of suckling rat pups*. Am J Clin Nutr, 1983. 38(1): p. 77-83.
32. Young, C.M. and K.M. Rasmussen, *Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups*. Am J Clin Nutr, 1985. 41(5): p. 979-87.
33. Galef, B.G., Jr. and M.M. Clark, *Social factors in the poison avoidance and feeding behavior of wild and domesticated rat pups*. J Comp Physiol Psychol, 1971. 75(3): p. 341-57.
34. Riul, T.R., et al., *Ethological analysis of mother-pup interactions and other behavioral reactions in rats: effects of malnutrition and tactile stimulation of the pups*. Braz J Med Biol Res, 1999. 32(8): p. 975-83.
35. Miller, M., et al., *Tryptophan availability: relation to elevated brain serotonin in developmentally protein-malnourished rats*. Exp Neurol, 1977. 57(1): p. 142-57.
36. Manjarrez, G.G., et al., *Nutritional recovery does not reverse the activation of brain serotonin synthesis in the ontogenetically malnourished rat*. Int J Dev Neurosci, 1996. 14(5): p. 641-8.
37. Manjarrez, G.G., G.G. Chagoya, and J. Hernandez, *Desnutrición intrauterina. II. L-triptófano, triptófano-5-hidroxilasa y serotonina en el cerebro de rata*. Bol. Med. Hops. Infant. Mex, 1988. 45(12): p. 808-816.
38. Desai, M., et al., *Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005. 288(1): p. R91-6.
39. Vickers, M.H., et al., *Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000. 279(1): p. E83-7.
40. Desai, V.G., et al., *Influences of age and dietary restriction on gastrocnemius electron transport system activities in mice*. Arch Biochem Biophys, 1996. 333(1): p. 145-51.
41. Bellinger, L., D.V. Sculley, and S.C. Langley-Evans, *Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats*. Int J Obes (Lond), 2006. 30(5): p. 729-38.
42. Prader, A., *Catch-up growth*. Postgrad Med J, 1978. 54 Suppl 1: p. 133-46.
43. Vickers, M.H., et al., *The effect of neonatal leptin treatment on postnatal weight gain in male rats is dependent on maternal nutritional status during pregnancy*. Endocrinology, 2008. 149(4): p. 1906-13.
44. Williams, G., et al., *The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes*. Physiol Behav, 2001. 74(4-5): p. 683-701.
45. Sandoval, D., D. Cota, and R.J. Seeley, *The integrative role of CNS fuel-sensing mechanisms in energy balance and glucose regulation*. Annu Rev Physiol, 2008. 70: p. 513-35.
46. Gomez-Pinilla, F., *Brain foods: the effects of nutrients on brain function*. Nat Rev Neurosci, 2008. 9(7): p. 568-78.
47. Mayel-Afshar, S. and R.F. Grimble, *Changes in protein turnover during gestation in the*

- foetuses, placentas, liver, muscle and whole body of rats given a low-protein diet. *Biochim Biophys Acta*, 1983. 756(2): p. 182-90.
48. Jacobs, B.L. and E.C. Azmitia, *Structure and function of the brain serotonin system*. *Physiol Rev*, 1992. 72(1): p. 165-229.
49. Kruk, M.R., et al., *The hypothalamus: crossroads of endocrine and behavioural regulation in grooming and aggression*. *Neurosci Biobehav Rev*, 1998. 23(2): p. 163-77.
50. Levin, B.E. and A.A. Dunn-Meynell, *Sibutramine alters the central mechanisms regulating the defended body weight in diet-induced obese rats*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000. 279(6): p. R2222-8.
51. Plagemann, A., et al., *Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams*. *J Nutr*, 2000. 130(10): p. 2582-9.
52. Laplante, P., J. Diorio, and M.J. Meaney, *Serotonin regulates hippocampal glucocorticoid receptor expression via a 5-HT7 receptor*. *Brain Res Dev Brain Res*, 2002. 139(2): p. 199-203.
53. Azmitia, E.C. and M. Segal, *An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat*. *J Comp Neurol*, 1978. 179(3): p. 641-67.
54. Steinbusch, H.W., *Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals*. *Neuroscience*, 1981. 6(4): p. 557-618.
55. Fuller, R.W., *Serotonin receptors and neuroendocrine responses*. *Neuropsychopharmacology*, 1990. 3(5-6): p. 495-502.
56. Leibowitz, S.F., *The role of serotonin in eating disorders*. *Drugs*, 1990. 39 Suppl 3: p. 33-48.
57. Lesch, K.P., et al., *Pharmacology of the hypothermic response to 5-HT1A receptor activation in humans*. *Eur J Clin Pharmacol*, 1990. 39(1): p. 17-9.
58. Barnes, N.M. and T. Sharp, *A review of central 5-HT receptors and their function*. *Neuropharmacology*, 1999. 38(8): p. 1083-152.
59. Pine, A.P., N.S. Jessop, and J.D. Oldham, *Maternal protein reserves and their influence on lactational performance in rats*. *Br J Nutr*, 1994. 71(1): p. 13-27.
60. Seidler, F.J., J.M. Bell, and T.A. Slotkin, *Undernutrition and overnutrition in the neonatal rat: long-term effects on noradrenergic pathways in brain regions*. *Pediatr Res*, 1990. 27(2): p. 191-7.
61. Pedrosa, M.L. and T. Moraes-Santos, *Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats*. *Braz J Med Biol Res*, 1987. 20(3-4): p. 331-8.
62. Hernandez, R.J., *Developmental pattern of the serotonin synthesizing enzyme in the brain of postnatally malnourished rats*. *Experientia*, 1973. 29(12): p. 1487-8.
63. Manjarrez, G., et al., *Free tryptophan as an indicator of brain serotonin synthesis in infants*. *Pediatr Neurol*, 1998. 18(1): p. 57-62.
64. Manjarrez, G.G., G.G. Chagoya, and J. Hernandez, *Early nutritional changes modify the kinetics and phosphorylation capacity of tryptophan-5-hydroxylase*. *Int J Dev Neurosci*, 1994. 12(8): p. 695-702.
65. Singh, K.P. and A.K. Sanyal, *Effect of undernutrition and subsequent rehabilitation on brain 5-HT (serotonin) profile of developing newborn rats*. *Indian J Med Sci*, 2004. 58(4): p. 155-60.
66. Leibowitz, S.F., et al., *Medial hypothalamic serotonin: role in circadian patterns of feeding and macronutrient selection*. *Brain Res*, 1989. 503(1): p. 132-40.