

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA

Márcio Bonesso Alves

**IMPULSIVIDADE, PLASTICIDADE SINÁPTICA E CARACTERIZAÇÃO DA
TRANSMISSÃO DOPAMINÉRGICA NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL MEDIAL E
NO CÓRTEX ORBITOFRONTAL DE RATAS EXPOSTAS À RESTRIÇÃO DE
CRESCIMENTO INTRAUTERINO**

Porto Alegre

2019

Márcio Bonesso Alves

**IMPULSIVIDADE, PLASTICIDADE SINÁPTICA E CARACTERIZAÇÃO DA
TRANSMISSÃO DOPAMINÉRGICA NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL MEDIAL E
NO CÓRTEX ORBITOFRONTAL DE RATAS EXPOSTAS À RESTRIÇÃO DE
CRESCIMENTO INTRAUTERINO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Bioquímica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carla Dalmaz
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Patrícia Pelufo Silveira

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Bonesso Alves, Márcio
Impulsividade, plasticidade sináptica e
caracterização da transmissão dopaminérgica no córtex
pré-frontal medial e no córtex orbifrontal de ratas
expostas à restrição de crescimento intrauterino /
Márcio Bonesso Alves. -- 2019.
134 f.
Orientadora: Carla Dalmaz.

Coorientadora: Patrícia Pelufo Silveira.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:
Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Restrição de Crescimento Intrauterino. 2.
Dopamina. 3. Impulsividade. 4. Córtex Pré-frontal. I.
Dalmaz, Carla, orient. II. Silveira, Patricia Pelufo,
coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais por todo o carinho, apoio e suporte para que esta etapa fosse concluída. Nada disso seria possível sem vocês.

À Érica por todo o amor, pelo incentivo, pelos conselhos, por todo o auxílio e por tornar este período mais doce e leve. Amo você.

À minha tia Inêz por estar sempre por perto, pela atenção e por participar de toda a minha formação acadêmica.

Às minhas orientadoras Prof^a Dr^a Carla Dalmaz e Prof^a Dr^a Patrícia Pelufo Silveira pela confiança, paciência, disponibilidade e pelos ensinamentos mesmo à distância. Vocês são um exemplo pra mim.

Aos colegas de Grupo DOHaD, especialmente à Dani, Roberta, Tania e Paty Miguel pelo companheirismo, pelas inúmeras ajudas, pelos bate-papos e por estarem sempre disponíveis.

Aos colegas do laboratório 37 pela parceria, pelo auxílio e por me emprestar o cantinho de vocês. Obrigado Carine e Nati por todos os ensinamentos.

À toda a equipe da Unidade de Experimentação Animal do HCPA pelo trabalho impecável, pelo respeito aos animais de laboratório e por estarem sempre dispostas a ajudar.

Aos professores da banca examinadora pela disponibilidade, pelas valiosas sugestões.

Aos coordenadores, professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Bioquímica.

A todos meus amigos e demais familiares que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desta tese.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aos órgãos financiadores de pesquisa: FINE-PCPA, CNPq e especialmente à CAPES pela bolsa de doutorado.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	1
LISTA DE ABREVIATURAS.....	3
RESUMO	4
ABSTRACT	5
1. INTRODUÇÃO	6
1.1. Restrição de Crescimento Intrauterino	6
1.2. Impulsividade	10
1.3. Reatividade a pistas alimentares.....	13
1.4. Sistema dopamimérgico.....	16
1.5. Córtex pré-frontal.....	21
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. Objetivo geral	25
2.2. Objetivos específicos.....	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1. Animais e condições experimentais.....	26
3.2. Teste de tolerância ao atraso da recompensa	27
3.2.1. Habituação	29
3.2.2. Pré-treino	29
3.2.3. Treino	29
3.2.4. Teste.....	30
3.3. Análises neuroquímicas.....	30
3.3.1. Coleta de tecidos.....	30
3.3.2. Western Blot	31
3.4. Registro eletroquímico da liberação de dopamina	33
3.4.1. Cirurgia estereotáxica	33
3.4.2. Eletrodos e registro eletroquímico	33
3.4.3. Testes comportamentais.....	35
3.5. Análises estatísticas.....	39
3.6. Aspectos éticos.....	39
4. Capítulo 1	40
Intrauterine growth restriction increases impulsive behavior and is associated with altered dopamine transmission in both medial prefrontal and orbitofrontal cortex in female rats. . 40	

4.1.	RESULTADOS COMPLEMENTARES.....	52
5.	Capítulo 2	57
5.1.	RESULTADOS	58
5.1.1.	Níveis de sinaptofisina	58
5.1.2.	Registro eletroquímico da liberação de dopamina - dia 1 de registro.....	60
5.1.3.	Registro eletroquímico da liberação de dopamina - dia 2 de registro.....	66
6.	DISCUSSÃO	85
7.	CONCLUSÃO	105
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: representação do encéfalo de roedores mostrando as sub-regiões do PFC ...	22
FIGURA 2: representação esquemática do T-maze.	28
FIGURA 3: imagens ilustrando a realização do protocolo de cronoamperometria	35
FIGURA 4: protocolo obedecido no dia 1 de registro eletroquímico.....	37
FIGURA 5: linha do tempo dos experimentos eletroquímicos.....	38
FIGURA 6: níveis de fosfo-tirosina hidroxilase (pTH), tirosina hidroxilase (TH) e razão pTH/TH no córtex pré-frontal de recém-nascidos.....	53
FIGURA 7: níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT no córtex pré-frontal de recém-nascidos.....	54
FIGURA 8: níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT no córtex pré-frontal medial aos 21 dias de vida	55
FIGURA 9: níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT no córtex orbitofrontal aos 21 dias de vida.....	56
FIGURA 10: níveis de sinaptofisina (syn) no córtex pré-frontal medial e no córtex orbitofrontal no dia pós-natal 21.....	58
FIGURA 11: níveis de sinaptofisina no córtex pré-frontal medial e no córtex orbitofrontal no dia pós-natal 80	59
FIGURA 12: níveis médios de dopamina registrados durante o consumo da primeira e da última unidade de froot loops no mPFC	61
FIGURA 13: níveis médios de dopamina registrados durante o consumo da primeira e da última unidade de froot loops no OFC.....	62
FIGURA 14: níveis médios de dopamina registrados no mPFC e no OFC ao longo de 60 minutos após o início da exposição ao froot loops.	63
FIGURA 15: representação gráfica dos três parâmetros avaliados: amplitude, tempo para atingir o pico e tempo para voltar aos níveis basais	64
FIGURA 16: amplitude máxima dos níveis de dopamina e tempo para os níveis de dopamina atingirem o pico e para voltarem aos níveis basais no mPFC.....	65
FIGURA 17: amplitude máxima dos níveis de dopamina e tempo para os níveis de dopamina atingirem o pico e para voltarem aos níveis basais no OFC.	66
FIGURA 18: níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes.....	68
FIGURA 19: níveis médios de dopamina registrados no mPFC durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes no trial em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande	69

FIGURA 20: níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes.....	71
FIGURA 21: níveis médios de dopamina registrados no mPFC durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes no primeiro trial em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa.	72
FIGURA 22: níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes.....	73
FIGURA 23: níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes.....	74
FIGURA 24: níveis médios de dopamina registrados no OFC: durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes no primeiro trial em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande e em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa.	75
FIGURA 25: níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais controle durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas e os 30 segundos seguintes.	77
FIGURA 26: níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais do grupo FR durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas e os 30 segundos seguintes.	79
FIGURA 27: níveis médios de dopamina no mPFC no segundo após o término do sinal sonoro.....	81
FIGURA 28 níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais controle durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas e os 30 segundos seguintes	82
FIGURA 29: níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais do grupo FR durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas e os 30 segundos seguintes	83
FIGURA 30: níveis médios de dopamina no OFC no segundo após o término do sinal sonoro.....	84
FIGURA 31: síntese dos principais achados deste trabalho.	85

LISTA DE ABREVIATURAS

aCg - córtex cingulado anterior

Ald - córtex insular agranular dorsal

Alv - córtex insular agranular ventral

DAT - transportador de dopamina

dIOFC - córtex orbitofrontal dorsolateral

EPR - erro na previsão da recompensa

FL - Froot Loops

FR - food restriction

GEE - equações de estimativas generalizadas

IL - córtex infralímbico

mPFC - córtex pré-frontal medial

NAcc - núcleo accumbens

OFC - córtex orbitofrontal

PFC - córtex pré-frontal

PL - córtex pré-límbico

RCIU - restrição de crescimento intrauterino

Syn - sinaptofisina

TH - tirosina hidroxilase

vmOFC - córtex orbitofrontal ventromedial

VTA - área tegmentar ventral

RESUMO

Indivíduos com restrição de crescimento intrauterino (RCIU) demonstram um risco aumentado de apresentar desfechos metabólicos adversos ao longo da vida. Estudos mais recentes têm sugerido que a RCIU também possa alterar de forma persistente as preferências alimentares nestes indivíduos. Uma vez que alterações nos hábitos alimentares podem estar na origem do desenvolvimento de várias das doenças associadas à RCIU, torna-se importante identificar variações no comportamento desses indivíduos que favoreçam o consumo alimentar inadequado e investigar os mecanismos neuroquímicos potencialmente associados a essas alterações. Uma maior compreensão destes mecanismos poderia auxiliar tanto na prevenção quanto no manejo mais eficiente destes desfechos adversos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento impulsivo, a plasticidade sináptica e a sinalização dopaminérgica no córtex pré-frontal medial (mPFC) e no córtex orbitofrontal (OFC) de ratas expostas a um protocolo de RCIU. Os resultados obtidos demonstram que a RCIU está associada a uma maior impulsividade em uma tarefa que avalia a tolerância dos animais ao atraso no recebimento de recompensas. Ao analisarmos os níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT em diferentes fases da vida dos animais (dias 1, 21, 80 e 160 pós natal), foram observadas diferenças apenas na idade adulta, onde os animais RCIU apresentaram níveis reduzidos de receptores D1 no OFC e níveis elevados de receptores D2 no mPFC. Adicionalmente, encontramos níveis aumentados da enzima tirosina hidroxilase fosforilada no córtex pré-frontal dos animais restritos já no primeiro dia de vida. Em relação à plasticidade sináptica, encontramos um padrão alterado dos níveis de sinaptofisina no OFC no período compreendido entre a idade pré-púbere e o início da vida adulta. Por meio do registro eletroquímico dos níveis de dopamina, encontramos uma liberação atenuada deste neurotransmissor no mPFC dos animais restritos em resposta à exposição e ao consumo de alimentos palatáveis. Mais uma vez no mPFC, observamos um padrão alterado de liberação de dopamina nos animais RCIU durante a ocorrência de um sinal sonoro que previa o recebimento de diferentes magnitudes de recompensas alimentares. Estes resultados sugerem que a RCIU possa induzir o aparecimento de comportamentos associados a um maior consumo alimentar, programar o sistema dopaminérgico mesocortical em favor de uma hipofuncionalidade em resposta ao consumo de alimentos palatáveis e favorecer a atenção em relação a pistas alimentares. Alterações precoces na síntese/liberação de dopamina, associados a alterações no padrão de desenvolvimento sináptico podem estar subjacentes às disfunções dopaminérgicas encontradas nestas diferentes regiões do PFC na vida adulta. Com este trabalho, avançamos na investigação dos mecanismos bioquímicos e comportamentais que conectam a RCIU a um risco aumentado de apresentar doenças metabólicas e obesidade ao longo da vida.

ABSTRACT

Individuals born with intrauterine growth restriction (IUGR) show an increased risk for adverse outcomes throughout their lives. Recent studies have suggested that IUGR could permanently change the food preferences in these individuals. Since changes in feeding habits may be at the origin of the development of many of the IUGR associated diseases, it becomes important to identify behavioral deviations in these individuals that favor an inappropriate food intake and to identify the neurochemical mechanisms potentially related to these alterations. A better comprehension of these mechanisms could help in the prevention and a more efficient management of these outcomes. In this context, the aim of this study was to evaluate impulsive behavior, synaptic plasticity and dopaminergic signaling at the medial prefrontal cortex (mPFC) and the orbitofrontal cortex (OFC) from female rats exposed to an IUGR protocol. Our results showed that the IUGR is associated with an increased impulsiveness in a task that evaluates the animal's tolerance to a delayed reward. When we look at the levels of D1 and D2 dopamine receptors and DAT transporter at different life phases (PND 1, 21, 80 and 160), we found differences only at the adult life, where the IUGR animals showed decreased levels of D1 receptors at the OFC and increased levels of D2 receptors at the mPFC. Additionally, we found altered levels of tyrosine hydroxylase at the PFC of IUGR animals already on the first day of life. Regarding synaptic plasticity, we observed an altered pattern of synaptophysin at the OFC in the period comprehended between prepubertal age and the early adult life. Through electrochemical recordings of dopamine levels, we found a blunted release in the mPFC of IUGR animals in response to the exposure and the intake of palatable foods. Once more in the mPFC, we found an altered pattern of dopamine release in the IUGR animals during the occurrence of a tone that predicted the receipt of different food reward magnitudes. The results we obtained suggest that IUGR can induce behaviors associated with an increased food intake, program mesolimbic dopaminergic system in order to favor a hypofunctionality in response to palatable foods and favor the attention toward food cues. Early changes in dopamine synthesis, associated with changes in the pattern of synaptic development may be underlying the dopaminergic dysfunctions we observed in different regions of the PFC in adult animals. With this work, we advanced in the investigation regarding the biochemical and behavioral mechanisms that link the IUGR to an increased risk of metabolic diseases and obesity throughout life.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Restrição de Crescimento Intrauterino

A Restrição de Crescimento Intrauterino (RCIU) ocorre quando há uma diminuição na velocidade de crescimento fetal, resultando em um feto incapaz de atingir o tamanho determinado pelo seu potencial genético (CETIN; MANDO; CALABRESE, 2013; GEVA, 2012). Em geral, seu diagnóstico se dá pela associação de dois critérios relativamente simples: peso ao nascer abaixo do percentil 10 para a idade gestacional e a presença de indicadores de um ambiente gestacional adverso, tais como má nutrição, tabagismo e a ocorrência de infecções durante a gestação (CAMPRUBÍ et al., 2017; DEVASKAR; CHU, 2019). Entretanto, a RCIU compreende uma definição clínica que se aplica a neonatos nascidos com características clínicas de má-nutrição e, principalmente, de retardo no crescimento durante o período gestacional, independentemente do peso registrado no momento do nascimento (SHARMA; SHASTRI; SHARMA, 2016; ZHANG et al., 2011). Desta forma, seu preciso diagnóstico requer o acompanhamento do crescimento fetal através de medidas seriais de ultrassonografia, o que deixaria evidente qualquer grau anormal de desaceleração no crescimento. Este critério faz com que crianças nascidas com peso apropriado para a idade gestacional também possam ser classificadas como RCIU, bastando que seu crescimento tenha sido retardado, por qualquer motivo, durante a gestação.

Embora sua incidência varie de acordo com a população estudada, com a localização geográfica e com a curva de referência utilizada, estima-se que a restrição de crescimento intrauterino atinja de 7 a 10% de todas as gestações

(CETIN; MANDO; CALABRESE, 2013; HUNTER et al., 2016; SALEEM et al., 2011). Contudo, esta incidência pode ser até seis vezes maior em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (SHARMA; SHASTRI; SHARMA, 2016). No Brasil, estudos relativamente recentes registraram uma prevalência de 10,3% na cidade de São Luís/Maranhão (MA) no ano de 2010 e de 9,2% em Pelotas (RS) no ano de 2011 (CAVALCANTE et al., 2017; SADOVSKY et al., 2016). Considerando-se o país como um todo, estima-se que incidência de RCIU esteja entre 10% e 15% (NETO et al., 2011), configurando um problema obstétrico bastante comum.

Uma vez que o crescimento fetal é um processo multifatorial e bastante complexo, diversos fatores podem contribuir para a etiologia da RCIU. Na grande maioria dos casos, estes fatores estão associados a uma insuficiência na perfusão de nutrientes e oxigênio para o feto, e incluem malformações congênitas, doenças crônicas maternas como hipertensão, obesidade e diabetes, uso de drogas e má-nutrição (BANSIL; KUKLINA, 2012; CETIN; MANDO; CALABRESE, 2013; DEVASKAR; CHU, 2019). De forma interessante, a má nutrição gestacional e o baixo peso pré-gestacional são os maiores determinantes para a restrição de crescimento intrauterino nos países em desenvolvimento. Nos países desenvolvidos, o tabagismo torna-se o fator preponderante (BLACK et al., 2011).

A RCIU representa um motivo de grande preocupação, particularmente devido a sua associação com altas taxas de mortalidade e morbidades perinatais (BANSIL; KUKLINA, 2012; FARACI et al., 2011). No período pós-parto imediato, recém-nascidos afetados por esta condição apresentam um risco significativamente elevado para distúrbios hematológicos e imunológicos,

problemas respiratórios, paralisia cerebral, hipotermia, intolerância alimentar, infecções, entre outras condições que podem exigir prolongada hospitalização e intervenção médica (LONGO et al., 2013; MAYER; JOSEPH, 2013; SALAM; DAS; BHUTTA, 2014; SHARMA et al., 2016).

Nos últimos anos, diversos estudos têm demonstrado que a RCIU pode promover desfechos desfavoráveis também a longo prazo sobre a saúde dos indivíduos. Entre estes desfechos, podemos citar um aumento nas taxas de obesidade, resistência à insulina e diabetes tipo II, doenças cardiovasculares e na ocorrência de síndrome metabólica na vida adulta (DESAI; JELLYMAN; ROSS, 2015; DESAI et al., 2007; HALES; BARKER, 2001; LAW et al., 2002; MANALICH et al., 2000; ONG, 2006; PETTITT; JOVANOVIC, 2001; PILGAARD et al., 2011). Em geral, estes desfechos parecem ser ainda mais evidentes em casos onde ocorra uma taxa de crescimento acelerada (catch-up growth) durante a infância (LAW et al., 2002).

Estes achados evidenciam a capacidade dos organismos adaptarem-se a ambientes precoces adversos a fim de aumentar as suas chances de sobrevivência a curto prazo. Num contexto de escassez nutricional crônica, como normalmente observado na RCIU, tais adaptações fisiológicas tendem a tornar estes indivíduos mais eficientes na aquisição e na estocagem de energia e nutrientes, o que lhes confere uma valiosa vantagem em ambientes com baixa disponibilidade de recursos (BARKER et al., 1993; HALES; BARKER, 2013). Contudo, tal estratégia pode se mostrar prejudicial a longo prazo, promovendo um ganho de peso excessivo e estimulando o desenvolvimento de obesidade e de todas as comorbidades a ela associadas (HALES; BARKER, 2001; PORTELLA; SILVEIRA, 2014). Tal estratégia torna-se ainda mais desajustada em face ao

típico ambiente pós-natal do mundo moderno, que oferece alimentos hiperpalatáveis e densamente calóricos em excesso e, desta forma, contribui ainda mais para a predisposição dos indivíduos RCIU ao desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta (MORRIS et al., 2015).

Além de alterações no metabolismo energético, estudos mais recentes têm demonstrado que indivíduos com restrição de crescimento intrauterino apresentam alterações em diferentes aspectos do comportamento alimentar ao longo da vida. De forma bastante interessante, é possível observar uma correlação negativa entre o grau de RCIU e a resposta hedônica a uma solução doce já no primeiro dia de vida (AYRES et al., 2012). Mais especificamente, quanto mais severa a restrição de crescimento, menor a resposta hedônica observada nestes recém-nascidos. Recentemente, estes resultados foram corroborados por um estudo que investigou os efeitos da RCIU em um modelo animal (ratos Sprague-Dawley) (LAUREANO et al., 2016). Juntos, estes resultados sugerem uma menor sensibilidade ao sabor doce, possivelmente exigindo um maior consumo deste tipo de alimento para atingir um alto grau de prazer. Mais do que isso, esses resultados evidenciam que o comportamento alimentar começa a ser programado ainda durante o período intrauterino.

Durante a infância e na vida adulta, diversos estudos têm associado a RCIU a preferências alimentares específicas, as quais estariam relacionadas a um aumento no consumo de alimentos ricos em açúcar e/ou gordura (palatáveis) (BARBIERI et al., 2009; CRUME et al., 2014; KASEVA et al., 2013; LUSSANA et al., 2008; PERÄLÄ et al., 2012). Além disso, é interessante observar que alguns destes estudos têm encontrado alterações no comportamento alimentar somente em indivíduos do sexo feminino (BARBIERI et al., 2009; KAMPMANN et al., 2018;

SILVEIRA et al., 2012), sugerindo não só que seus efeitos sejam sexo-específicos, mas também que fêmeas possam ser mais susceptíveis aos efeitos da RCIU.

Desta forma, temos um cenário onde metabolismo e comportamento convergem para promover um maior acúmulo de energia e um maior consumo alimentar em indivíduos RCIU. Ao longo da vida, acredita-se que este padrão alterado possa impactar a saúde destes indivíduos e contribuir significativamente com o seu risco aumentado para o desenvolvimento de doenças crônicas.

Ainda num contexto de alterações comportamentais relacionadas à RCIU, dois estudos em particular tornaram-se especialmente relevantes para o desenvolvimento deste trabalho. Neles, os autores evidenciaram que a expressão do comportamento impulsivo e do controle inibitório poderia ser programada pela restrição de crescimento intrauterino (REIS et al., 2015; SILVEIRA et al., 2012). Estes traços comportamentais têm sido consistentemente associados a escolhas alimentares não saudáveis e ao desenvolvimento de obesidade, numa relação que será abordada com mais detalhes no capítulo a seguir.

1.2. Impulsividade

A impulsividade pode ser entendida como a tendência de um sujeito em agir prematuramente, sem deliberar sobre as consequências de seus atos (DALLEY; EVERITT; ROBBINS, 2011; PATTIJ; VANDERSCHUREN, 2008; WANG et al., 2016). Embora a distinção entre comportamentos impulsivos socialmente aceitáveis e inaceitáveis seja motivo de considerável discussão (EVENDEN, 1999), tal fenômeno abrange uma série de comportamentos mal adaptativos, neurobiologicamente dissociados, e que geralmente incluem ações mal concebidas, prematuramente expressas e excessivamente arriscadas ou

inadequadas para a situação, podendo resultar em consequências indesejáveis (DE WIT, 2008; EVENDEN, 1999; WINSTANLEY, 2004).

Considera-se que a impulsividade não se trate de um constructo unitário, e sim, que possa ser dividida em duas categorias distintas: ação impulsiva e escolha (tomada de decisão) impulsiva (DIERGAARDE et al., 2008; PARDEY et al., 2013a). Na ação impulsiva, vemos certa incapacidade na inibição de uma resposta motora, o que pode ser produzido quando muita ênfase é colocada na velocidade da realização de uma ação, e não na sua precisão (KIM; LEE, 2011). Por sua vez, a escolha impulsiva é um aspecto da impulsividade que envolve a tendência de escolher recompensas imediatas menores em detrimento de recompensas maiores que são oferecidas após certo atraso (CARDINAL et al., 2001; PERRY; STAIRS; BARDO, 2015; WINSTANLEY et al., 2005). De acordo com esta perspectiva, à medida em que o atraso para a obtenção de uma recompensa aumenta, o valor subjetivo desta recompensa é reduzido, fazendo com que a preferência seja direcionada para a recompensa pequena porém imediata (TEDFORD; PERSONS; NAPIER, 2015).

Embora ações e decisões impulsivas muitas vezes façam parte de nosso comportamento habitual, em suas formas patológicas a impulsividade está associada a diversos transtornos psiquiátricos (MOELLER et al., 2001). Estudos têm indicado que a impulsividade represente uma característica central de transtornos como o déficit de atenção e hiperatividade (TDAH; BARKLEY et al., 2001; PALOYELIS et al., 2010), mania (GIOVANELLI et al., 2013), esquizofrenia (HEEREY et al., 2007), transtorno bipolar (AHN et al., 2011), depressão (IMHOFF et al., 2014) e abuso de drogas (BEDNARSKI et al., 2012; CREWS; BOETTIGER, 2009; HU et al., 2015; LUO et al., 2013).

Além desta associação com transtornos psiquiátricos, diversos estudos têm demonstrado uma forte relação entre impulsividade e o desenvolvimento de sobrepeso/obesidade (WAXMAN, 2009). Grande parte destes estudos avaliou o comportamento impulsivo em homens e mulheres obesos, e os resultados são bastante consistentes no sentido de indicar uma maior impulsividade nesses indivíduos (APPELHANS et al., 2012b; DAVIS; STRACHAN; BERKSON, 2004; FIELDS; SABET; REYNOLDS, 2013; GUERRIERI et al., 2007; NEDERKOORN et al., 2006a). Alguns estudos têm revelado inclusive que, quanto mais grave a obesidade, maiores os níveis de impulsividade observados (GUERRIERI; NEDERKOORN; JANSEN, 2008; RYDÉN et al., 2003).

Até o momento, diversas explicações têm sido sugeridas para justificar esta associação. A mais simples delas sugere que a impulsividade torne mais difícil resistir à tentação de comer alimentos hiperpalatáveis, o que pode se tornar especialmente desafiador em ambientes abundantes em recursos alimentares (NEDERKOORN et al., 2006b). Já de acordo com Van der Laan, traços de impulsividade poderiam predispor os indivíduos a selecionar alimentos palatáveis e facilmente disponíveis em detrimento de alternativas mais saudáveis (que normalmente são mais difíceis de serem obtidas, envolvem mais preparação e fornecem menos prazer sensorial (VAN DER LAAN et al., 2016). Além disso, indivíduos impulsivos apresentariam maior dificuldade em aderir a objetivos de longo prazo, tornando-os menos capazes de planejar refeições (o que favorece o consumo de *snacks*), e fazendo com que apresentem menos sucesso em programas de emagrecimento (GUERRIERI; NEDERKOORN; JANSEN, 2008).

Embora alguns indícios sugiram que a obesidade possa manter, ou até mesmo elevar os níveis de impulsividade observados (SMITH et al., 2011),

acredita-se que o controle inadequado dos impulsos seja um fator que normalmente anteceda o desenvolvimento da obesidade (KISHINEVSKY et al., 2012; SCHLAM et al., 2013). Neste sentido, resultados preliminares de nosso grupo de pesquisa sugerem que, aos 3 anos de idade, meninas nascidas com RCIU apresentem maior impulsividade em um teste que envolve o consumo de alimento doce como recompensa (SILVEIRA et al., 2012).

Este aumento precoce nos níveis de impulsividade em indivíduos RCIU poderia predispor-los a um padrão alimentar que favorece o ganho de peso desde as fases iniciais da vida, desta forma representando um importante fator de risco para o desenvolvimento de obesidade nesta população já metabolicamente vulnerável.

1.3. Reatividade a pistas alimentares

Em conjunto com a impulsividade, outro fator que pode contribuir significativamente para o estabelecimento de dificuldades na regulação do comportamento alimentar é a reatividade a pistas alimentares (AKKER et al., 2014; TETLEY; BRUNSTROM; GRIFFITHS, 2010a). Após repetidas exposições, alimentos palatáveis (estímulo incondicionado) podem tornar-se associados a estímulos ambientais (estímulo condicionado) presentes no momento do seu recebimento e/ou consumo (BOSWELL; KOBER, 2016; MARTIN-SOELCH; LINTHICUM; ERNST, 2007). Estes estímulos - que podem incluir cheiros, imagens, sons, lugares, situações sociais, entre outras - tornam-se pistas capazes de prever o recebimento destes alimentos, e podem adquirir por si só a capacidade de induzir um conjunto de respostas relacionadas ao consumo alimentar (BOGGIANO et al., 2009; VAN DEN AKKER et al., 2013).

O termo reatividade a pistas alimentares refere-se justamente a este conjunto de respostas, e inclui aumentos no desejo de comer e na sensação de fome (reações psicológicas), além de alterações na secreção de insulina, na salivação, na pressão sanguínea e na atividade gástrica (reações fisiológicas) (JANSEN, 1998; JANSEN et al., 2010; NEDERKOORN et al., 2004; TETLEY; BRUNSTROM; GRIFFITHS, 2009; YOKUM; JANET; STICE, 2011), tendo como função motivar o organismo a obter e consumir o alimento e prepará-lo para melhor digerir, absorver e metabolizar seus nutrientes (MATTES, 1997; POWER; SCHULKIN, 2008).

Assim como para a impulsividade, diversos estudos têm sugerido uma associação positiva entre o grau de reatividade a pistas alimentares e o IMC. Em um dos primeiros estudos a investigar esta relação, Jansen e colaboradores observaram que, entre 8 e 12 anos de idade, crianças com sobrepeso são mais responsivas a pistas alimentares que crianças com peso considerado adequado (JANSEN et al., 2003). Da mesma forma, mulheres com sobrepeso demonstram a tendência de consumir porções maiores do alimento associado à pista em comparação aos seus pares com peso normal (TETLEY; BRUNSTROM; GRIFFITHS, 2009). Outros autores encontraram que indivíduos com sobrepeso apresentam um aumento mais pronunciado no desejo de comer e na salivação em resposta à visualização e ao cheiro do alimento quando comparados aos indivíduos com peso normal (FERRIDAY; BRUNSTROM, 2011). Além disso, indivíduos obesos parecem apresentar uma ativação aumentada em áreas como a ínsula e o córtex orbitofrontal quando expostos a pistas alimentares, e se mantêm mais atentos e motivados por essas pistas independentemente de seu

status de saciedade e de fome (CASTELLANOS et al., 2009; PURSEY et al., 2014).

Em conjunto, estes resultados sugerem que a reatividade aumentada a pistas alimentares possa promover um consumo calórico em excesso e estimular o consumo alimentar mesmo na ausência de fome, tornando estes indivíduos propensos à obesidade e aos demais distúrbios a ela associados (POLIVY; HERMAN; COELHO, 2008; STICE et al., 2010; TETLEY; BRUNSTROM; GRIFFITHS, 2010a). Além disso, um ambiente obesogênico poderia prover diversas oportunidades de associação entre estímulos corriqueiros e o consumo de alimentos, podendo tornar recorrente a alimentação excessiva em contextos cotidianos (VAN DEN AKKER et al., 2013).

De forma interessante, tem sido proposto que a impulsividade apresenta um importante papel moderador nesta relação entre reatividade a pistas alimentares e consumo alimentar. Nestes estudos, os autores observaram que a reatividade a pistas alimentares esteve associada a um maior consumo alimentar somente em indivíduos que apresentaram um desempenho inadequado em tarefas que avaliam a escolha impulsiva (GUERRIERI et al., 2009; ROLLINS; DEARING; EPSTEIN, 2010; TETLEY; BRUNSTROM; GRIFFITHS, 2010b). Neste contexto, uma maior reatividade a pistas alimentares poderia traduzir-se mais facilmente em um consumo alimentar excessivo caso ela também esteja associada a um comportamento impulsivo (APPELHANS et al., 2012a; NEDERKOORN et al., 2006b). Além disso, acredita-se que a impulsividade poderia levar a um aumento na atenção dirigida às pistas alimentares, desta forma facilitando o processo de aquisição da associação entre os estímulos (HOU et al., 2011).

1.4. Sistema dopaminérgico

Diversos estudos têm sustentado que a sinalização dopaminérgica influencia de forma bastante importante a expressão do comportamento impulsivo (PARDEY et al., 2013a; WINSTANLEY, 2004) e a sensibilidade a pistas alimentares (PICKERING; GRAY, 2001; STICE et al., 2008). De uma forma mais geral, o sistema dopaminérgico parece ser a engrenagem central de um mecanismo que atribui valor e modula a expectativa, a motivação e o aprendizado condicionado a recompensas (SCHULTZ; DAYAN; MONTAGUE, 1997; VOLKOW et al., 2006). Além disso, a ação da dopamina em suas áreas alvo apresenta um papel fundamental na regulação de funções executivas e do controle motor, e está intimamente relacionada a comportamentos aditivos (MORALES; PICKEL, 2012; VOLKOW et al., 2013; WALKER et al., 2010).

A dopamina é um neurotransmissor que faz parte da família das catecolaminas, e cuja síntese se dá principalmente nos neurônios mesencefálicos da substância nigra e da área tegmentar ventral (VTA). Os neurônios originários destas regiões formam quatro vias dopaminérgicas principais no encéfalo de mamíferos: a nigroestriatal, a tuberoinfundibular, a mesolímbica e a mesocortical (que coletivamente com a mesolímbica forma a via mesocorticolímbica) (RANGEL-BARAJAS; CORONEL; FLORÁN, 2015), as quais projetam-se para distintas estruturas encefálicas, formando um sistema modulatório complexo e essencial para inúmeros processos neurofisiológicos.

Os receptores dopaminérgicos (receptores DA) pertencem à família de receptores acoplados à proteína G, cuja ativação leva à formação de segundos mensageiros com subsequente ativação ou repressão de vias de sinalização específicas. Baseado em suas propriedades estruturais e farmacológicas, são

reconhecidos cinco subtipos de receptores DA, os quais medeiam essencialmente todas as funções fisiológicas da dopamina, e são subdivididos em duas famílias: receptores D1 (D1 e D5), que possuem atividade excitatória, e receptores D2 (D2, D3 e D4), com atividade inibitória (BAIK, 2013; BEAULIEU; ESPINOZA; GAINETDINOV, 2015). Além de diferenças funcionais, estes diferentes tipos de receptores dopaminérgicos apresentam padrões únicos de distribuição regional dentro do sistema nervoso (ABI-DARGHAM; MOORE, 2003).

Os receptores do tipo D1 são encontrados em altas densidades em áreas como o estriado, núcleo accumbens, amígdala e córtex pré-frontal, assim como estão presentes, mas em menor grau, no hipocampo e em áreas hipotalâmicas (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011; CADET et al., 2010; LIGGINS, 2009). Nessas estruturas, a ativação dos receptores do tipo D1 estaria particularmente envolvida com a atividade locomotora e a funcionalidade do sistema de recompensas (BEAULIEU; ESPINOZA; GAINETDINOV, 2015; LAND et al., 2014; RANGEL-BARAJAS; CORONEL; FLORÁN, 2015), além de exercer efeitos modulatórios significativos sobre a memória de trabalho e o aprendizado (AMICO et al., 2007; VIJAYRAGHAVAN et al., 2007). De forma importante, é comumente aceito que os receptores do tipo D1 são expressos exclusivamente na membrana pós-sináptica das células receptivas à dopamina (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011).

Já em relação aos receptores do tipo D2, os maiores níveis destes receptores são encontrados na substância nigra, na área tegmentar ventral, no estriado dorsal e no núcleo accumbens, embora níveis significativos também sejam encontrados em regiões como hipotálamo e córtex pré-frontal (LIGGINS, 2009; MISSALE et al., 1998; SEEMAN, 2006; VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000). Ao contrário do que é observado para os receptores D1, os receptores do

tipo D2 são expressos tanto na membrana pós-sináptica de células-alvo da dopamina (heterorreceptores), quanto pré-sinápticamente em neurônios dopaminérgicos, onde fornecem um importante mecanismo responsável por regular a síntese e a liberação de dopamina (autorreceptores; BONCI; HOPF, 2005; RONDOU; HAEGEMAN; VAN CRAENENBROECK, 2010). Além de representar uma maior dificuldade no estudo de seus efeitos fisiológicos e comportamentais, o fato de serem expressos tanto pós- quanto pré-sinápticamente faz com que as funções associadas aos receptores D2 sejam intrinsecamente mais complexas (MISSALE et al., 1998).

Assim como a densidade e a distribuição dos receptores DA, a forma na qual a dopamina é liberada em seus alvos apresenta um papel de extrema importância para os processos regulados por este neurotransmissor. Registros eletrofisiológicos em neurônios dopaminérgicos demonstram que estas células apresentam três padrões principais de atividade dentro do sistema nervoso: um padrão inativo (hiperpolarizado), um padrão tônico (ou lento) e um padrão fásico (rápido) de disparos, os quais induzem liberações proporcionais de dopamina (FLORESCO et al., 2003; GRACE et al., 2007).

No padrão tônico, vemos que os neurônios dopaminérgicos disparam, e conseqüente liberam neurotransmissores, em uma frequência relativamente lenta e constante, de forma semelhante a um marca-passo (GRACE, 2016; HAUBER, 2010). No encéfalo de roedores, por exemplo, esta taxa de disparos gira em torno de 4,5 Hz (LISS; ROEPER, 2008). Esta forma de liberação seria responsável por determinar os níveis basais de dopamina e garantir um funcionamento apropriado do sistema nervoso, permitindo um desempenho adequado em funções cognitivas como a memória de trabalho e a atenção (COOLS et al., 2008; PHILLIPS; AHN;

FLORESCO, 2004). Evidências ainda sugerem a existência de uma relação em formato de U invertido entre os níveis basais de DA e o desempenho em funções cognitivas, onde níveis dopaminérgicos muito reduzidos ou muito elevados trariam prejuízos à execução dessas funções (GOTO; OTANI; GRACE, 2007; TAKAHASHI; YAMADA; SUHARA, 2012).

Já no padrão de atividade fásico, podemos observar uma alta frequência de disparos (>20 Hz) por curtos períodos de tempo (na faixa de centenas de milissegundos), resultando em um aumento transitório e de alta amplitude nos níveis de dopamina na fenda sináptica (ELLWOOD et al., 2017; FLORESCO et al., 2003; GRACE; BUNNEY, 1984). Embora se dê em grandes quantidades, acredita-se que a dopamina liberada durante a ativação fásica afete um número relativamente restrito de neurônios pós-sinápticos. Isto se deve à ação da molécula transportadora de dopamina (DAT), que restringe a difusão deste neurotransmissor e promove a sua recaptação para o interior do neurônio pré-sináptico (FLORESCO et al., 2003)

A liberação fásica de dopamina constitui um sinal altamente tempo-específico, e apresenta um papel crucial em processos como a tomada de decisões e a flexibilidade comportamental (PHILLIPS; AHN; FLORESCO, 2004; TAKAHASHI; YAMADA; SUHARA, 2012). Contudo, sua ocorrência mais evidente se dá em resposta a eventos relacionados a recompensas, onde acredita-se que esteja envolvida com a reorganização do comportamento em resposta a alterações ambientais e que facilite o aprendizado dependente de recompensas (FLORESCO et al., 2001; HOLLERMAN; SCHULTZ, 1998; REDGRAVE; PRESCOTT; GURNEY, 1999; SCHULTZ, 2007b).

Neste contexto de aprendizado dependente de recompensas, diversos estudos têm demonstrado que neurônios dopaminérgicos da área tegmentar ventral (VTA) são ativados de forma diferencial em resposta a discrepâncias entre as recompensas previstas e as de fato recebidas pelo animal, gerando "códigos" conhecidos como sinais de erro na previsão (*prediction error signals*) (COHEN et al., 2012; ROESCH; CALU; SCHOENBAUM, 2007; SCHULTZ; APICELLA; LJUNGBERG, 1993). Estes códigos atuam como um sinal de ensinamento, sendo utilizados para corrigir previsões imprecisas e levar a novos aprendizados (GLIMCHER, 2011; STEINBERG et al., 2013).

Nestes estudos, o recebimento de uma recompensa não prevista ou melhor que a esperada induz um pronunciado aumento na taxa de disparos neuronais na VTA, gerando um sinal de erro positivo na previsão da recompensa. A apresentação de uma recompensa perfeitamente prevista não induziria alterações na taxa de disparos, tampouco geraria sinais de erros na previsão. Por outro lado, a omissão ou a apresentação de uma recompensa pior que a prevista levaria os neurônio da VTA a uma supressão na taxa de disparos até um nível abaixo da sua taxa basal, gerando um erro de previsão negativo (COHEN et al., 2012; DAY et al., 2007; ROESCH; CALU; SCHOENBAUM, 2007). Esses sinais seriam utilizados para corrigir previsões imprecisas e levar a novos aprendizados (GLIMCHER, 2011; STEINBERG et al., 2013), numa capacidade crucial para melhorar as escolhas que o animal fará no futuro e ajudá-lo a decidir entre diferentes cursos de ação que poderiam levar a encontrar recursos alimentares ou resultar em danos ou prejuízos (SCHULTZ; DAYAN; MONTAGUE, 1997).

Nos últimos anos, uma série de estudos tem indicado que o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico seja especialmente vulnerável aos efeitos da

restrição de crescimento intrauterino. Em um trabalho que utilizou-se de neuroimagem funcional, os autores puderam observar uma menor conectividade entre o córtex orbitofrontal (OFC) e estruturas como a amígdala, o estriado dorsal e o núcleo accumbens (NAcc) em humanos com RCIU, sugerindo uma diminuição na integração funcional deste circuito (DALLE MOLLE, 2014). Estudos experimentais de nosso grupo de pesquisa já demonstraram que animais expostos à RCIU apresentam uma redução nos níveis de receptores D2 e um aumento nos níveis de tirosina hidroxilase (TH) no NAcc (DALLE MOLLE et al., 2015), além de apresentarem alterações na liberação de DA nesta região em resposta ao consumo de alimentos palatáveis (LAUREANO et al., 2019). Em outro trabalho, o consumo de alimento doce levou a um aumento significativamente maior nos níveis de TH no OFC de fêmeas RCIU (ALVES et al., 2015). Uma vez que a TH é uma enzima limitante na biossíntese de dopamina, este resultado sugere uma liberação exacerbada de DA no OFC em resposta a alimentos palatáveis. Não surpreendentemente, estas alterações neuroquímicas foram acompanhadas por alterações em comportamentos relacionados à sinalização dopaminérgica.

1.5. Córtex pré-frontal

Uma vez que parece estar envolvido em diversas das alterações comportamentais encontradas na RCIU, o córtex pré-frontal (PFC) tem surgido como um interessante alvo no estudo dos mecanismos associados a estas alterações. O PFC é o substrato neural para diversos processos cognitivos sofisticados que servem para organizar e guiar comportamentos complexos (LIGGINS, 2009). Nesta área, a ação da dopamina modula funções como memória de trabalho, tomada de decisões, atenção, flexibilidade cognitiva e o

processamento do valor de recompensas (FLORESCO et al., 2006; JENNI; LARKIN; FLORESCO, 2017; ONGE; ABHARI; FLORESCO, 2011; PHILLIPS; AHN; FLORESCO, 2004).

De forma ampla, o PFC é normalmente dividido em córtex pré-frontal medial (mPFC) e córtex orbitofrontal (OFC), mas uma análise anatômica mais detalhada mostra que estas estruturas podem ser divididas em distintas sub-regiões (LODGE, 2011). O mPFC, abriga os córtices cingulado anterior (aCg), pré-límbico (PL) e infralímbico (IL), enquanto o OFC compreende as regiões ventromedial (vmOFC) e dorsolateral (dlOFC), assim como o córtex insular agranular ventral e medial (Alv e Aid respectivamente; HEIDBREder; GROENEWEGEN, 2003; ONGUR; PRICE, 2000) (Figura 1).

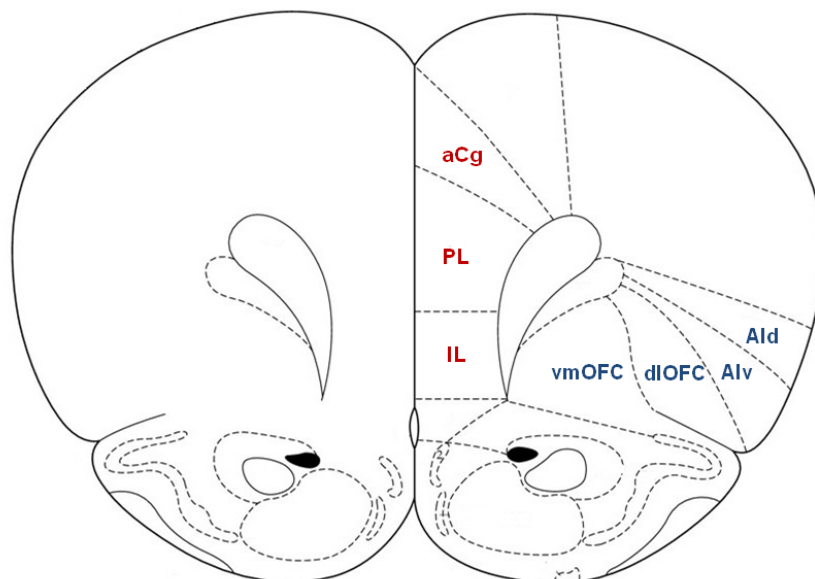


Figura 1: representação do encéfalo de roedores mostrando as sub-regiões do córtex pré-frontal. Siglas: aCg=córtex cingulado anterior; PL= pré-límbico; IL=infralímbico ; vmOFC= córtex orbitofrontal ventromedial, dlOFC= córtex orbitofrontal dorsolateral, Alv= córtex insular agranular ventral, Aid= córtex insular agranular dorsal. Imagem adaptada de Mouse Brain Atlas (<http://labs.gaidi.ca/mouse-brain-atlas/>).

Conexões recíprocas entre o mPFC e o OFC permitem uma eficiente comunicação entre estas áreas, que também compartilham conexões com estruturas como a amígdala, o tálamo, o hipocampo e o estriado (HEIDBREder; GROENEWEGEN, 2003; HOOVER; VERTES, 2011). Contudo, distinções importantes nos padrões de projeção, na trajetória de desenvolvimento e na vulnerabilidade a estressores ambientais podem ser observadas entre estas duas regiões (SHAPIRO et al., 2017). Além disso, diversos estudos têm sugerido que estas áreas apresentam papéis distintos, independentes e complementares na modulação de diversos tipos de comportamento (FLORESCO; MAGYAR, 2006; MCALONAN; BROWN, 2003; PARDEY et al., 2013b).

Em relação a impulsividade, diversos trabalhos têm se dedicado a tentar dissociar o papel do mPFC e do OFC na expressão deste comportamento. Pardey e colaboradores observaram um aumento no comportamento impulsivo de roedores após a injeção do antagonista D2 SCH23390 tanto no OFC quanto no mPFC. Por outro lado, o tratamento com o antagonista D1 Racloprida apresentou o mesmo efeito somente no mPFC (PARDEY et al., 2013b). Já em um outro estudo, os autores observaram que o bloqueio dos receptores D2 com eticloprida no mPFC aumentou a escolha impulsiva dos animais. Tal bloqueio, quando realizado no OFC, não apresentou efeitos sobre a impulsividade (YATES et al., 2014). Mais tarde, os mesmos autores observaram que uma diminuição na função da proteína transportadora de dopamina (DAT) no OFC, mas não no mPFC, estaria associada a um aumento na ação impulsiva dos animais. De forma interessante, a função da DAT nessas regiões não esteve relacionada com a escolha impulsiva (YATES et al., 2016).

Estes resultados demonstram haver uma interação complexa e ainda pouco compreendida entre estas diferentes estruturas do PFC. Além disso, o estudo das funções do PFC e a busca por mecanismos associados a suas disfunções parece exigir que o mPFC e o OFC sejam investigados de forma independente e complementar. Esta distinção evitaria que pequenas alterações neuroquímicas regionais fossem mascaradas ou compensadas por outras alterações dentro do próprio PFC.

Considerando que a restrição de crescimento intrauterino é um problema clínico bastante comum, e que os indivíduos expostos a esta condição possuem um risco aumentado de apresentar doenças crônicas ao longo da vida, torna-se importante investigar alterações comportamentais que podem favorecer um consumo alimentar inadequado e identificar as particularidades no funcionamento do sistema nervoso destes indivíduos, principalmente no que diz respeito à sinalização em resposta à exposição e ao consumo de alimentos palatáveis. Além disso, um maior conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos que modulam estas alterações poderia auxiliar tanto na prevenção quanto no manejo mais eficiente destes desfechos.

Desta forma, o presente trabalho tem como **hipótese** que animais expostos à restrição de crescimento intrauterino apresentarão um aumento no comportamento impulsivo, um desequilíbrio precoce na densidade de receptores dopaminérgicos e alterações na plasticidade sináptica das estruturas pré-frontais. Concomitantemente, estes animais apresentarão uma liberação atenuada de dopamina em resposta a estímulos associados a alimentos palatáveis. De forma importante, os parâmetros neuroquímicos supracitados serão diferencialmente afetados pela RCIU no mPFC e no OFC.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar alterações no comportamento impulsivo, na plasticidade sináptica e na sinalização dopaminérgica no córtex pré-frontal medial e no córtex orbitofrontal de ratas submetidas à restrição de crescimento intrauterino.

2.2. Objetivos específicos

a) Investigar o comportamento do tipo impulsivo em fêmeas expostas a RCIU;

b) Analisar os níveis de receptores de dopamina do tipo D1 e D2 e do transportador DAT no mPFC e no OFC em diferentes fases da vida dos animais (neonato, pré-puberdade, início da vida adulta e vida adulta plena);

c) Avaliar os níveis de tirosina hidroxilase no córtex pré-frontal de animais neonatos;

d) Investigar os níveis de sinaptofisina no mPFC e no OFC durante o desenvolvimento

e) Avaliar a dinâmica de liberação de dopamina no mPFC e no OFC em resposta ao consumo de ração padrão e de alimentos palatáveis;

f) Avaliar e descrever as flutuações nos níveis de dopamina no mPFC e no OFC em resposta a pistas alimentares e em resposta à ocorrência de erros na previsão da recompensa.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais e condições experimentais

Neste estudo foi utilizada uma colônia de ratos Sprague Dawley provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica/CEMIB – UNICAMP e mantidos na Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os animais foram alojados em caixas-moradia confeccionadas em plexiglas, medindo 49 cm x 34 cm x 16 cm e mantidos em um ambiente controlado: ciclo claro/escuro padrão (luzes acesas entre as 7:00h e às 19:00h), temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, limpeza das caixas-moradia uma vez por semana, com ração padrão e água *ad libitum*. Com aproximadamente 70 dias de vida, o ciclo estral das fêmeas passou a ser avaliado diariamente através da coleta do esfregaço vaginal. Quando em período fértil (proestro), a rata foi colocada junto com um macho de aproximadamente três meses de vida da mesma linhagem. No dia posterior, o acasalamento foi confirmado através da visualização de espermatozoides no esfregaço vaginal, sendo este considerado o dia 1 da gestação. No dia 10 da gestação, as ratas foram aleatoriamente divididas em dois grupos: grupo Controle = prenhas que continuaram a receber dieta padrão *ad libitum* até o final da gestação, e grupo Food Restriction (FR) = prenhas que, a partir deste dia e até o final da gestação, receberam diariamente apenas 50% da quantidade de ração consumida pelas prenhas do grupo controle (determinado pela quantificação do consumo médio diário do grupo controle) (Protocolo adaptado de DESAI et al., 2005).

Nas primeiras 24 horas após o nascimento, os filhotes foram individualmente pesados e padronizados em no máximo 8 filhotes/ninhada,

sempre que possível com 4 fêmeas e 4 machos. Após a padronização, os filhotes passaram pelo protocolo de adoção cruzada, onde todas as ninhadas foram adotadas por outras mães controle, formando os seguintes grupos (considerando a mãe biológica/adotiva): Controle/Controle (n = 13) e FR/Controle (n = 11). Somente filhotes fêmeas foram utilizados neste estudo. Os filhotes machos foram destinados a outros projetos do nosso grupo. Os filhotes excedentes à padronização foram decapitados e tiveram o encéfalo dissecado para a coleta de amostras.

No dia 21 pós-natal ocorreu o desmame, onde os filhotes foram separados por sexo e mantidos entre 2-4 animais por caixa no mesmo ambiente controlado descrito anteriormente, sendo também alimentados com ração padrão e água *ad libitum*. Exceto pela limpeza da caixa-moradia (uma vez semana), os animais não foram perturbados desde o dia do desmame até ao início de tarefas comportamentais. Os animais foram pesados imediatamente antes do início das tarefas comportamentais e dos registros eletroquímicos. Foram utilizados no máximo 2 animais por ninhada em cada experimento, e os animais que tiveram o cérebro coletado para dissecação e coleta de amostras não foram os mesmos submetidos aos testes comportamentais e aos registros eletroquímicos.

3.2. Teste de tolerância ao atraso da recompensa

O comportamento impulsivo dos animais foi avaliado através do teste de tolerância ao atraso da recompensa, em um protocolo adaptado de Bizot e colaboradores (2007). Neste protocolo, a impulsividade dos animais é medida mediante a apresentação de dois parâmetros distintos de recompensa alimentar: (1) pequena quantidade, mas entregue de forma imediata ou (2) em grande

quantidade mas entregue com atraso. O experimento foi realizado em um labirinto em T de madeira onde um dos braços foi utilizado como ponto de partida, enquanto os outros dois braços, cada um com 50 cm de comprimento, permitiram ao animal dobrar a direita ou a esquerda em busca de recompensas. O aparato era equipado com portas removíveis na entrada (porta proximal) e na porção final (porta distal) de cada braço (Figura 2). No final de um dos braços, escolhido aleatoriamente para cada animal, foi colocada sempre uma recompensa pequena (2 pedaços de 1/4 de *froot loops*®), enquanto no braço oposto foi colocada uma recompensa grande (8 pedaços de 1/4 de *froot loops*®). Na semana anterior e durante a realização da tarefa, os animais receberam apenas 80% de seu consumo habitual de ração e, adicionalmente, receberam alguns pedaços de Froot Loops para familiarizarem-se com o alimento palatável. A idade dos animais no início deste experimento foi de aproximadamente 120 dias de vida e o protocolo foi dividido em quatro diferentes fases: habituação, pré-treinamento, treinamento e testes.

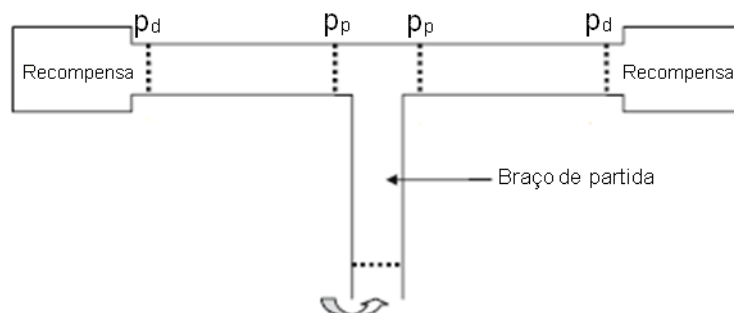


Figura 2: Representação esquemática do T-maze. Pp e Pd representam as posições onde são inseridas respectivamente as portas proximais e distais.

3.2.1. Habituação

No primeiro dia de experimento os animais foram submetidos a duas sessões de habituação. Em cada sessão, as ratas foram colocadas individualmente no braço de partida e puderam explorar livremente o aparato por 5 minutos. Durante este período, foi permitido aos animais comerem as recompensas alimentares presentes na porção final de cada um dos braços.

3.2.2. Pré-treino

A partir do segundo dia, as recompensas pequena e grande passaram a ser colocadas sempre nos braços determinados para cada animal. O pré treino foi realizado durante 3 dias, com duas sessões diárias de cinco *trials*. Durante esta fase, todas as portas permaneceram abertas, com os animais tendo livre acesso e podendo comer a recompensa de ambos os braços. Após consumir as recompensas, os animais foram removidos do aparato e devolvidos a sua caixa-moradia para um intervalo *intertrial* de 2 a 3 min.

3.2.3. Treino

Assim como no pré-treinamento, nesta fase foi permitido aos animais entrarem no braço contendo a recompensa pequena e a recompensa grande. No entanto, ao escolher um dos braços a porta contida em seu início era fechada assim que o animal a cruzasse, evitando que pudesse voltar ou escapar para o outro braço. A segunda porta deste braço permaneceu aberta para permitir o livre acesso a sua recompensa alimentar. Após comer a recompensa, os animais eram devolvidos a sua caixa-moradia para o intervalo *intertrial*. Nesta fase foram realizadas duas sessões diárias, cada uma composta de cinco *trials*. Para concluir o treinamento e passar para a próxima fase, o animal deveria atingir o critério de selecionar a recompensa grande em pelo menos 80% dos *trials* em um mesmo

dia de treino (oito de dez trials). Estipulou-se que, independente da performance, os animais permaneceriam por um mínimo de 5 dias nesta fase antes de prosseguir para o teste.

3.2.4. Teste

Nesta fase, foi estipulado um período de espera antes de o animal ter acesso a grande recompensa. Ao entrar no braço com a grande recompensa, ambas as portas eram fechadas, confinando o animal no espaço entre as portas por um período de 8, 15 ou 30 segundos. Após este período, a porta distal era aberta e, aí sim, o animal tinha acesso à recompensa. Caso o animal entrasse no braço que leva à recompensa a porta proximal deste braço era fechada mas nenhum atraso era imposto para o acesso a essa recompensa. Cada período de espera (8, 15 ou 30 segundos) foi realizado por um período de cinco dias consecutivos. Na fase de teste os animais foram submetidos a uma única sessão diária de cinco *trials*, e o número de escolhas das recompensas pequena e imediata ou grande mas atrasada foi registrado. Nestes protocolo, a incapacidade de esperar pela grande recompensa é considerada uma medida de comportamentos associados à escolha impulsiva (BIZOT et al., 2007).

3.3. Análises neuroquímicas

3.3.1. Coleta de tecidos

No dia do nascimento, no dia do desmame, e com aproximadamente 80 e 160 dias de vida, fêmeas foram mortas por meio de decapitação em guilhotina, em uma sala adequada para o procedimento e separada de onde se encontram os outros ratos. Os encéfalos foram removidos logo após a decapitação e rapidamente congelados em isopentano e gelo seco até serem armazenados em

freezer -80°C para posterior dissecação das estruturas de interesse. As fêmeas adultas (80 e 160 dias de vida) foram decapitadas e tiveram o encéfalo coletado somente quando nas fases metaestro e diestro do ciclo estral.

Para a dissecação das estruturas, os encéfalos foram mantidos a -20 °C e as regiões de interesse (mPFC e OFC) de ambos os hemisférios foram macroscopicamente dissecados com a ajuda de um atlas (Paxinos e Watson, 2007). Nos encéfalos de recém-nascidos, o córtex pré-frontal foi considerado como uma única estrutura, sem subdividir em mPFC e OFC. Os tecidos obtidos foram processados para análise, via Western Blot, dos níveis de receptores do tipo D1 e D2, DAT, Sinaptofisina e, em recém-nascidos, dos níveis de tirosina hidroxilase (e sua forma fosforilada - pTH).

3.3.2. Western Blot

Os tecidos coletados foram homogeneizados em tampão de lise contendo inibidores de protease (*Complete*, Roche) e de fosfatase (*Phostop*, Roche). As amostras destinadas à quantificação de TH e pTH foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C para a extração da porção citosólica. Já as amostras destinadas à quantificação de receptores D1, D2 e DAT passaram por uma centrifugação adicional a 13000 rpm durante 30 minutos a 4°C para obter uma extração citosólica purificada. Os níveis totais de proteína foram quantificados utilizando-se um kit BCA com albumina sérica bovina como padrão (*Pierce BCA Protein*, Thermo Scientific). Amostras contendo 40 µg de proteína total e um marcador de peso molecular padrão (*Magic Marker*®, Invitrogen) foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (*NUPAGE 4-12% bis-tris gel*, Invitrogen) a 4-15% (Invitrogen), e em seguida foram transferidas para uma

membrana de nitrocelulose (*Hybond-C*, GE Healthcare). As membranas resultantes foram bloqueadas em uma solução contendo 5% de leite em pó desnatado e 1% de Tween-20 diluído em tampão *Tris-Base*. As membranas foram incubadas *overnight* em câmara fria com os anticorpos primários e na manhã do dia seguinte foram incubadas por 2h em temperatura ambiente com o anticorpo secundário (*anti-mouse* (Cell Signaling, 7076 s, 1:1000) ou *anti-rabbit* (Cell Signaling, 7074 s, 1:1000). Foram utilizados os seguintes anticorpos primários: TH (Millipore AB152, 1:2000), pTH específico para tirosina hidroxilase fosforilada no sítio Ser40 (Invitrogen, num: 368600, 1:1000), D1 (Millipore, AB9141, 1:500), D2 (Millipore, AB5084P, 1:1000), DAT (Sigma-Aldrich, AB1591P, 1:500) e Sinaptofisina (SYN; Millipore, MAB368, 1:1000). A quimiluminescência foi detectada através do sistema ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare) e com o uso de ECL (GE healthcare, RNP2106). A intensidade das bandas foi quantificada por densitometria utilizando o software Image J[®] (National Institutes of Health, EUA). Os resultados foram expressos como uma razão entre a intensidade da proteína de interesse e a intensidade dos níveis de beta-actina (Sigma-Aldrich, A4700, 1:1000) da mesma banda. A análise dos níveis de TH e pTH foi realizada somente em animais recém-nascidos, enquanto os níveis de D1, D2 e DAT foram avaliados em 4 diferentes idades (1, 21, aprox. 80 e aprox. 160 dias de vida). Os níveis de sinaptofisina foram avaliados aos 21 e aos 80 dias de vida.

3.4. Registro eletroquímico da liberação de dopamina

3.4.1. Cirurgia estereotáxica

Com aproximadamente 100 dias de vida, os animais (n=33) foram submetidos ao procedimento cirúrgico para a implantação de microeletrodos no córtex pré-frontal medial ou no córtex orbitofrontal. Os animais foram anestesiados por via inalatória com isoflurano e cuidadosamente posicionados em um aparelho estereotáxico. A assepsia da região a ser operada foi realizada com aplicação de iodo. Com o auxílio de bisturi, pinça e tesoura, foi realizado um corte na cabeça do animal, e a região do crânio que ficou exposta foi raspada com uma espátula e água oxigenada para permitir a visualização da região do bregma. Com a utilização de uma furadeira odontológica, um orifício foi realizado no local de inserção dos microeletrodos (coordenadas mPFC: 3,2 mm anterior ao *bregma* (AP), +0,7 mm lateral a linha média (L), 4,2 mm ventral à superfície do córtex (DV); coordenadas OFC: 3,2 mm AP, + 2,0 mm L, 5,5 mm DV) (WINSTANLEY et al., 2006; ZHANG, 2005). Adicionalmente foram realizados outros três orifícios, um no córtex parietal contralateral para a implantação do eletrodo de referência e outros dois onde foram rosqueados parafusos de sustentação. Os eletrodos foram fixados com o auxílio de cimento acrílico autopolimerizante. Os animais passaram por um período de observação pós-cirúrgica de 3-5 horas, e após este período foram devolvidos a suas caixas-moradia.

3.4.2. Eletrodos e registro eletroquímico

Os eletrodos utilizados consistem de uma fibra de carbono com diâmetro aproximado de 30 μm e que se estende cerca de 150-250 μm a partir da ponta de um capilar de vidro (Center for Microelectrode Technology, Lexington, KY) (figura

3). Antes de sua implantação, cada eletrodo foi revestido com uma solução de Nafion[®], um polímero que previne a detecção de substâncias aniônicas como o ácido ascórbico e DOPAC, desta forma aumentando a seletividade dos eletrodos para dopamina. A sensibilidade de cada eletrodo para as moléculas de dopamina foi determinada por meio de calibração *in vitro* no momento imediatamente anterior à sua implantação. Foram utilizados somente aqueles eletrodos que apresentaram uma elevada sensibilidade e seletividade à dopamina.

Os registros eletroquímicos foram realizados utilizando um aparato cronoamperométrico de alta velocidade (Quanteon, Lexington, KY, USA). Em seu funcionamento, um potencial de oxidação de +0,55 mV (em relação ao eletrodo de referência) é aplicado ao eletrodo de registro pelo período de 100 ms a uma taxa de 5 Hz. A corrente gerada por estes repetidos pulsos de oxidação (e subsequente redução) das moléculas de dopamina foi integrada digitalmente e convertida em valores equivalentes de concentração de DA (figura 3).

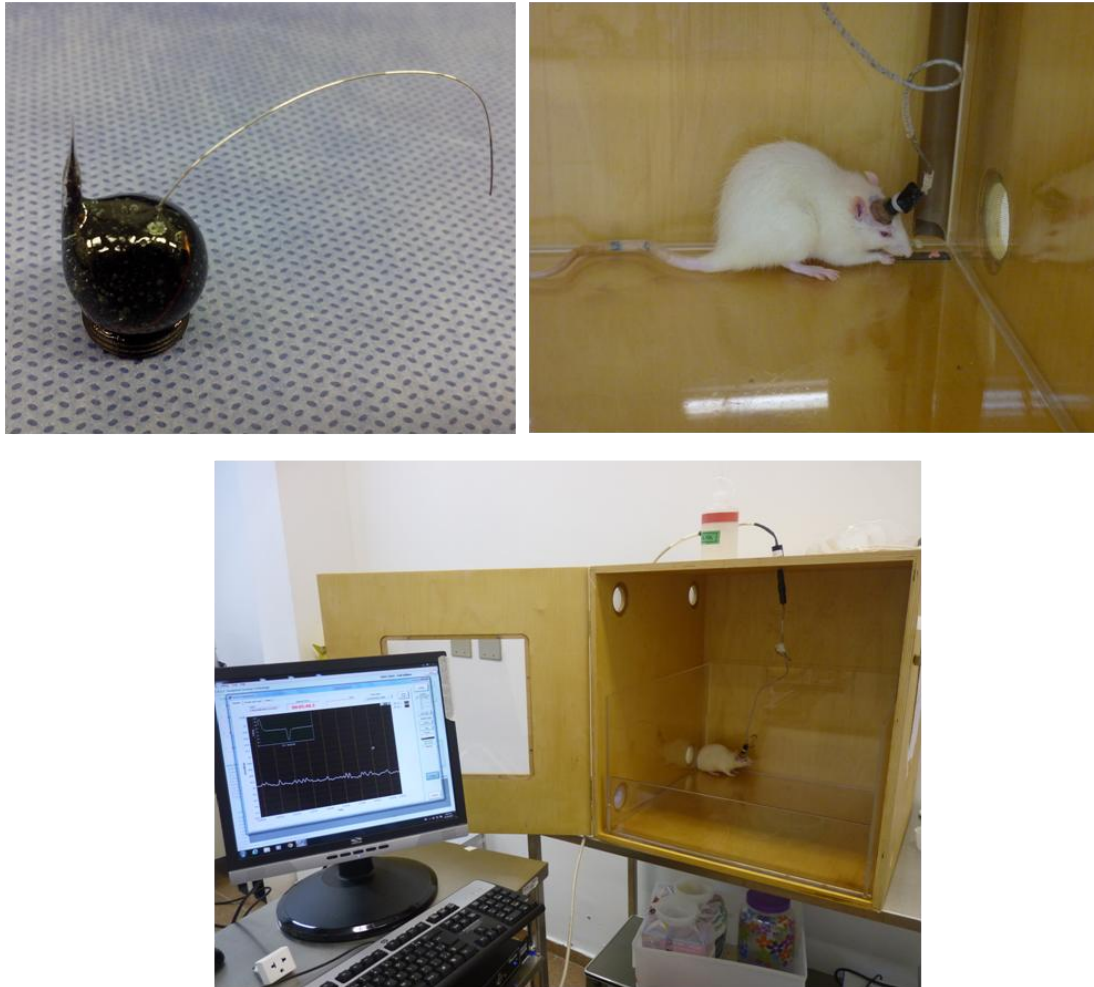


Figura 3: Imagens ilustrando a realização do protocolo de cronoamperometria. (A) eletrodo utilizado nos registros; (B) animal na caixa de registro consumindo pellets de Froot Loops, (C) representação geral dos aparatos utilizados.

3.4.3. Testes comportamentais

Os animais foram habituados à caixa de voltametria (fabricada em madeira e medindo 60 x 60 x 60 cm) durante os 2 dias anteriores e no terceiro dia após a cirurgia. No primeiro dia de habituação, os animais permaneceram por 60 minutos na caixa e receberam alguns pedaços de Froot Loops para consumo. No segundo e no terceiro dia de habituação, os animais inicialmente receberam alguns pedaços de Froot Loops, e após, foram submetidos a um protocolo de condicionamento composto de 25 *trials* por dia. Cada *trial* consistiu da

apresentação de um sinal sonoro (~90-dB) pelo período de 30 segundos. Imediatamente após o término deste sinal, um pedaço de Froot Loops (1/4 de pellet) era liberado ao animal através de um tubo que dá acesso ao interior da caixa. O intervalo entre os *trials* variou aleatoriamente entre 60 e 120 segundos. Do terceiro dia pós operatório em diante, os animais tiveram sua dieta restrita em 80% da quantidade de ração habitualmente consumida.

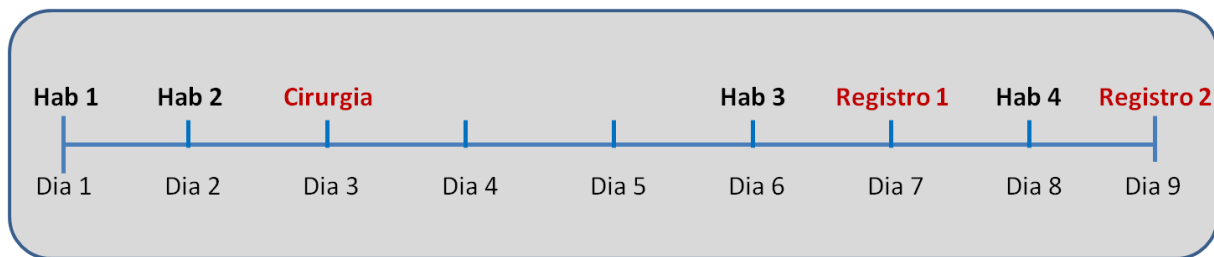
O primeiro registro eletroquímico da liberação de dopamina ocorreu quatro dias após a cirurgia, e teve uma duração total de 6 horas. Neste dia, os animais foram conectados ao aparelho cronoamperométrico e submetidos a um período inicial de habituação de 120 minutos, onde nenhum tipo de estímulo foi apresentado ao animal. Este longo período de habituação é necessário para a estabilização do sinal registrado pelo aparato. Posteriormente, 30 gramas de ração padrão foram oferecidas ao animal, por um período de 30 minutos (Fase de estímulo 1). Durante esta fase do teste, o comportamento do animal foi monitorado, e sempre que ele se aproximou, cheirou ou consumiu a ração, estes eventos foram registrados no computador. Ao final deste período, as sobras de ração foram retiradas e o animal passou por um intervalo de 60 minutos, onde o registro eletroquímico continuou sendo realizado, porém na ausência de estímulos alimentares. Na próxima fase do teste, os animais receberam 15 pellets de Froot Loops, e mais uma vez tiveram seu comportamento monitorado e registrado pelos próximos 30 minutos (Fase de estímulo 2). O teste foi encerrado com mais um período de 120 minutos onde o registro foi feito na ausência de estímulos. A quantidade de ração e de alimento palatável consumidos durante o teste foi registrada, assim como a latência para iniciar o consumo destes alimentos (Figura 4).



Figura 4: Protocolo obedecido no dia 1 de registro eletroquímico.

No quinto dia após a operação os animais foram expostos a uma sessão adicional de habituação, onde mais uma vez foram expostos a 25 trials de condicionamento (sinal sonoro seguido do recebimento de 1/4 de Froot Loops).

No dia seguinte (6° dia pós-operatório), os animais foram novamente conectados ao aparelho cronoamperométrico para o registro da liberação de dopamina em resposta a pistas alimentares (resposta antecipatória) e à ocorrência de erros na previsão da recompensa (protocolo adaptado de NAEF et al., 2013). Após novo período de habituação de 120 minutos, os animais foram expostos a 15 *trials* de condicionamento idênticos aos experimentados nas sessões de habituação anteriores (sinal sonoro de 30 segundos seguido do recebimento de 1/4 de pellet de Froot Loops). Nos 5 trials seguintes, o final do sinal sonoro foi seguido do recebimento de uma recompensa maior que a habitualmente recebida (seis pedaços de 1/4 de Froot Loops). Já nos últimos 5 trials, nenhuma recompensa alimentar foi recebida ao final do tom. Assim como nas sessões de habituação, o teste foi composto por um total de 25 *trials* (15 com a recompensa habitual, 5 com recompensa grande e 5 sem recompensa após o tom), e respeitou-se um intervalo aleatório de 60-120 segundos entre a apresentação dos sinais.



Habituação 1: Exposição ao alimento palatável (Froot Loops) na caixa de registro

Habituação 2: Condicionamento sinal sonoro + Froot Loops

Cirurgia: Procedimento cirúrgico para implantação dos eletrodos

Habituação 3: Condicionamento sinal sonoro + Froot Loops

Registro 1: Registro eletroquímico dos níveis de dopamina durante a exposição e o consumo de ração e de alimento palatável

Habituação 4: Condicionamento sinal sonoro + Froot Loops

Registro 2: Registro eletroquímico dos níveis de dopamina em resposta a pistas alimentares e a erros na previsão da recompensa

Figura 5: Linha do tempo dos experimentos eletroquímicos

Ao final do último dia de registro, os animais foram mortos por meio de sobredose anestésica e imediatamente decapitados. Os encéfalos foram removidos e fixados em solução de paraformaldeído 4% em PBS por 24 horas. Após, foram crioprotetidos em solução de sacarose 30% por 3-4 dias, congelados em nitrogênio líquido e mantidos em freezer -80° até serem fatiados em um criostato. As seções coronais obtidas ($30\ \mu\text{m}$) foram dispostas em lâminas gelatinizadas e coradas com hematoxilina-eosina para a verificação, em microscópio óptico, da lesão causada pela inserção do microeletrodo. Os dados dos animais cujos eletrodos estiveram mal posicionados foram excluídos do estudo.

3.5. Análises estatísticas

O desempenho no teste de tolerância ao atraso na recompensa foi analisado usando-se Equações de Estimativas Generalizadas (GEE), com grupo e tempo como fatores. O peso ao nascer foi analisado por GEE utilizando a ninhada como *cluster* e ajustando para o número de filhotes de cada ninhada. Quando apropriado, as análises foram seguidas de *post-hoc* de Bonferroni. Teste *t* de *Student* foi utilizado para comparar o peso dos animais adultos e para as análises de *Western Blot*. ANOVA de duas vias foi utilizada para analisar os dados comportamentais da voltametria e para comparar os sinais eletroquímicos nos instantes selecionados. Uma análise por regressão linear foi realizada para determinar o efeito do grupo, da disponibilidade de recompensa e do tempo sobre os níveis de dopamina durante o sinal sonoro. Todas as variáveis foram expressas como média \pm erro padrão da média, e os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Os dados foram digitados e analisados no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 18.0 (SPSS Inc., IBM Company, Chicago, EUA), enquanto seus gráficos foram confeccionados no programa Prism 5 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

3.6. Aspectos éticos

Todos os procedimentos deste trabalho foram aprovados em seus aspectos éticos e metodológicos pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (Projetos número 12-0353 e 15-0490), estando de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, que estabelecem os procedimentos para o uso científico de animais.

4. CAPÍTULO 1

Intrauterine growth restriction increases impulsive behavior and is associated with altered dopamine transmission in both medial prefrontal and orbitofrontal cortex in female rats.

Artigo publicado na revista Physiology & Behavior.

Alves MB, Laureano DP, Dalle Molle R, Machado TD, Salvador APA, Miguel PM, Lupinsky D, Dalmaz C, Silveira PP. Intrauterine growth restriction increases impulsive behavior and is associated with altered dopamine transmission in both medial prefrontal and orbitofrontal cortex in female rats. *Physiology and Behavior*, [s. l.], v. 204, n. February, p. 336–346, 2019.



Contents lists available at ScienceDirect

Physiology & Behavior

journal homepage: www.elsevier.com/locate/physbeh

Intrauterine growth restriction increases impulsive behavior and is associated with altered dopamine transmission in both medial prefrontal and orbitofrontal cortex in female rats

Márcio Bonesso Alves^{a,*}, Daniela Pereira Laureano^b, Roberta Dalle Molle^c, Tania Diniz Machado^c, Ana Paula de Ascensão Salvador^d, Patrícia Maidana Miguel^b, Derek Lupinsky^{e,f}, Carla Dalmaç^{a,b}, Patrícia Pelufo Silveira^{b,e,f,g}

^a Programa de Pós Graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^b Programa de Pós Graduação em Neurociências, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^c Programa de Pós Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

^d Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^e Douglas Mental Health University Institute, McGill University, Montreal, QC, Canada

^f Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, McGill University, Montreal, QC, Canada

^g Sackler Program for Epigenetics & Psychobiology, McGill University, Canada

ARTICLE INFO

Keywords:

IUGR
Impulsivity
Dopamine
Medial prefrontal cortex
Orbitofrontal cortex

ABSTRACT

Recent studies have implicated a role for impulsivity in the altered eating behaviors and the increased risk for obesity consistently associated with intrauterine growth restriction (IUGR). Changes in dopamine transmission within prefrontal areas are believed to contribute to these adverse outcomes. Here we investigated the impulsive behavior toward a delayed reward and evaluated dopamine levels and its receptors in the medial prefrontal (mPFC) and orbitofrontal (OFC) cortex of female adult rats exposed to IUGR. From day 10 of pregnancy and until birth, Sprague–Dawley dams received either an *ad libitum* (Adlib) or a 50% food-restricted (FR) diet. At birth, all pups were adopted by Adlib mothers, generating the groups Adlib/Adlib (control) and FR/Adlib (intrauterine growth-restricted). Adult impulsive behavior was evaluated using a Tolerance to Delay of Reward Task. *In vivo* dopamine responses to sweet food intake were measured by voltammetry, and D1, D2 and DAT levels were accessed by Western Blot. Animals from FR group showed a pronounced aversion to delayed rewards. DA response to sweet food was found to be blunted in the mPFC of FR animals, whereas in the OFC, the DA levels appear to be unaffected by reward consumption. Moreover, FR animals presented reduced D1 receptors in the OFC and a later increase in the mPFC D2 levels. These findings suggest that IUGR female rats are more impulsive and that the associated mechanism involves changes in the dopamine signaling in both the mPFC and OFC.

1. Introduction

Intrauterine growth restriction (IUGR) refers to a situation in which the fetus is unable to reach its genetically determined growth potential [1,2]. Considered a common and complex complication of pregnancy, the onset of IUGR has been associated with several maternal, fetal and uterine factors that, in general, lead to a compromised placental function [3,4]. This includes conditions such as maternal infections, diabetes, hypertension, tobacco exposure as well as under nutrition [5].

Growth restricted individuals comprise a population particularly vulnerable to chronic diseases including type II diabetes [6], hypertension [7], metabolic syndrome [6] and a diversity of psychiatric

disorders [8]. Moreover, recent studies have associated IUGR with altered food preferences from early life until adulthood; always in a tendency to favor the intake of non-healthy (rich in sugar and/or fat) foods [9–11]. Throughout the life course, this different behavioral pattern is believed to contribute significantly to the increased risk for diseases largely reported for these individuals [12,13]. In addition, it is interesting to note that some of these studies have observed sex differences in the incidence of metabolic and behavioral disorders, suggesting that females may be more susceptible to the effects of IUGR [10,14–16].

In this context, recent findings from our group have shown that IUGR children are more impulsive toward a sweet reward, and have a

* Corresponding author at: Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Rua Ramiro Barcelos, 2600 (Anexo), Lab. 37, Porto Alegre 90035-003, RS, Brazil.
E-mail address: 00161066@ufrgs.br (M.B. Alves).

poor inhibitory control [15,17], two elements that have been consistently linked to unhealthy food choices, overeating and overweight/obesity [18,19]. According to Van der Laan [20], an explanation for this link is that more impulsive individuals are more tempted by immediately rewarding foods. Also, impulsive individuals have more difficulty in adhering to longer term goals (including dietary goals) and might be less able to plan meals, which might stimulate snack food consumption [21]. Therefore, impulsivity emerges as a factor that could significantly influence feeding behavior among IUGR individuals.

However, the neural mechanism connecting IUGR to impulsivity has yet to be better understood. Evidence from lesion and neuropharmacological studies has implicated dopamine (DA) transmission in prefrontal and limbic areas with distinct aspects of impulsivity. In medial prefrontal cortex (mPFC), higher levels of DA D2 receptors are associated with lower levels of impulsivity [22]. On the other hand, mPFC overexpression of DA D1 receptors is associated with increased impulsive choice in a delay-discounting task [23]. In the orbitofrontal cortex (OFC), both the decrease in dopamine transporter (DAT) function and the infusion of a D2 receptor antagonist (raclopride) are associated with higher measures of impulsivity [24,25]. Interestingly, rodent studies have suggested that dopamine transmission in these areas is especially vulnerable to the adverse effects of IUGR [14,26,27], making this system an interesting target in the search for the mechanisms related to the increased impulsivity observed in IUGR subjects.

Based on these findings, we aimed to investigate impulsive behavior and different components of dopaminergic signaling in the medial prefrontal (mPFC) and the orbitofrontal cortex (OFC) in an animal model of IUGR. We hypothesized that IUGR rodents would show greater impulsivity in a “tolerance to delay of reward” task, and that IUGR would differentially modulate the levels of DA receptors and the dynamics of DA release in response to sweet food intake in the mPFC and OFC.

2. Material and methods

Primiparous Sprague Dawley rats (CEMIB Laboratory Animal Reference Center, Campinas, SP, Brazil) at approximately 70 days of age were housed in Plexiglas home cages (49 cm × 34 cm × 16 cm) and maintained in a controlled environment: standard dark/light cycle (lights on between 7:00 a.m. and 7:00 p.m.), temperature of 22 ± 2 °C, cage cleaning once a week, food and water provided *ad libitum*. Estrous cycle was determined daily by vaginal smearing, and females were placed with males when receptive (proestrous). Gestation was confirmed at day 1 by visualizing the presence of sperm cells on the vaginal smear. On gestational day 10, dams were randomly allocated into one of following dietary groups: control group (Adlib, n = 24), which received an *ad libitum* diet of standard laboratory chow (Nuvilab®: 3.06 kcal/g, 22% protein, 4% fat, 45.5% carbohydrate, no sucrose), or a 50% food restricted group (FR, n = 14), based on the IUGR model described by Desai et al. [28], which received 50% of the *ad libitum*-fed dams intake (determined by the quantification of the mean daily intake of the control group). These diets were provided from day 10 of pregnancy until offspring birth.

Within 24 h of birth, pups were individually weighed and standardized to a maximum of 8 pups/litter, with 4 females and 4 males. Cross-fostering was performed and all litters were adopted by Adlib mothers, forming the following groups (considering the biological/adoptive mother): adlib/adlib (n = 13) and FR/adlib (n = 11). Only female offspring were used in this study and the remaining animals were destined to other projects from our group. On postnatal day (PND) 21, pups were weaned, separated into groups of two or three same-sex (same litter/group) individuals per cage, and kept in a controlled environment as previously described. Except for the cage cleaning (once a week), animals were left undisturbed from PND 21 until the commencement of behavioral tasks. Animals were weighed at birth and

immediately prior the start of the electrochemical measurements and the tolerance to delay of reward task. No > 2 animals per litter were used in each experiment, and the animals that had the brain collected for the Western Blot were not the same submitted to the electrochemical recordings or the impulsivity task. Each animal was submitted to only one of the behavioral tasks (tolerance to delay of reward OR electrochemical recordings).

All procedures were approved by the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA, projects number 12-0353 and 15-0490), and performed according to National (Brazilian Law No. 11,794, 2008) and International (Directive 86/609/EEC) guidelines for animal research. All efforts were made to minimize animal suffering and reduce the number of animals used in the study. Tasks were performed in climate-controlled rooms within our animal research facility (Unidade de Experimentação Animal/HCPA).

2.1. Tolerance to delay of reward

Tolerance to delay of reward task was performed in a wood-made black T-maze consisting of a starting runway and two arms (50 cm long, 40 cm high and 10 cm internal width) equipped with removable doors at the entrance and 10-cm from the end of each arm. The protocol was divided into four different phases: habituation, pre-training, training and testing, and was adapted from a previous work of Bizot et al. [29]. One week prior and throughout this behavioral task, animals were food-restricted, receiving 80% of their habitual food consumption and a few pellets of Froot Loops® to gain familiarity with the palatable food. For all the phases of the test, sample sizes were 11 for both groups.

2.1.1. Habituation

Tolerance to delay of reward task began at approximately 120 days of life. On the first day, animals were subjected to two habituation sessions. In each session, rats were individually placed on the starting runway and allowed to freely explore the apparatus for 5 min and to eat the food reward (same amount) at the end of both arms.

2.1.2. Pre-training

From the second day onward, one of the arms (left or right, randomly distributed among the rats) was always provided with a large reward (eight pieces of ¼ Froot Loops, Kellogg's®) at its end, and the other with a small reward (two pieces of ¼ Froot Loops). Animals had equal access to both arms, independently of the amount of reward. Pre-training was conducted for 3 days with two daily sessions of five trials. During this phase, all the doors remained open and the animals could eat the reward from both arms. After eating both rewards, rats were removed from the apparatus and returned to its home cage for an inter-trial interval of 2 to 3 min.

2.1.3. Training

As in pre-training, each rat was placed on the starting runway, and could choose between the small and the large reward. However, when the animal turned to one of the arms and crossed the first door, it was immediately closed in order to prevent the animal from escaping to the other arm. The second door from that arm remained open to allow free access to its reward. After eating the reward, the animal was returned to its home cage for the inter-trial interval. There were two daily sessions of five trials, and the criteria to conclude the training phase were to select the large reward in > 80% of the trials within a day (eight out of ten trials). It was stipulated that the animals would spend a minimum of 5 days in this phase before proceeding to the test.

2.1.4. Test

At this stage, a delay was introduced before the animal had access to the large reward. For instance, after choosing the arm with the large reward, both doors were closed immediately after the animal crossed the first one, confining the animal between the doors for a period of 8,

15 or 30 s before having access to the reward. No delay was imposed if the animal chose the arm leading to the small reward. Each waiting period was conducted for a period of five consecutive days (8 s in the first five days, 15 s in the following five days and 30 s in the last five days). At the test phase, animals were submitted to a single daily session (five trials), and the number of choices to the large-but-delayed reward or to the small-and-immediate reward was counted. The inability to wait for the large gratification is considered as a measure of impulsive-related behaviors [29].

2.2. *In vivo* electrochemical measurements

2.2.1. Surgery

At approximately 100 days of life, animals ($n = 33$) were anesthetized with isoflurane using an anesthesia vaporizer, placed in a stereotaxic apparatus and then implanted with a voltammetric electrode at either the right mPFC (coordinates: +3.2 mm AP, +0.7 mm ML, -4.2 mm DV) or OFC (+3.2 mm AP, +2.0 mm ML, -5.5 mm DV) [30,31]. In addition, animals were implanted with an Ag/AgCl reference electrode in the contralateral parietal cortex in a site remote from the recording area. Miniature pin connectors soldered to the voltammetric and reference electrodes were inserted into a plastic connector (9-pin ABS Plug, Ginger Scientific, GS09PLG-220) and this assembly was fixed with acrylic dental cement to two stainless steel screws threaded into the cranium. Animals were returned to their home cages after a 3–5 h recovery period.

2.2.2. Electrochemical probes

Electrochemical probes consisted of a single 30- μm -diameter carbon-fiber (Center for Microelectrode Technology, Lexington, KY) extending 150–250 μm beyond the sealed tip of a pulled glass capillary (outer diameter 0.5 mm). The fibers were repeatedly coated at high temperature with a 5% solution of the ion exchange polymer Nafion[®] (Sigma-Aldrich), a perfluorinated ionomer that prevents detection of anionic substances (such as ascorbic acid (AA) and DOPAC) and thus increases the sensitivity of the electrode for DA. Prior to the implantation, each electrode was calibrated to determine DA sensitivity and selectivity compared with AA (250 μM) in a 0.1 M phosphate-buffered saline (pH 7.4) solution. Only electrodes exhibiting a DA-to-AA selectivity ratio > 1000:1 and a highly linear response ($r > 0.997$) to increasing concentrations of DA were used.

2.2.3. Electrochemical measurements

Electrochemical recordings were performed using a computer controlled, high-speed chronoamperometric apparatus (Quanteon, Lexington, KY). An oxidation potential of +0.55 mV, with respect to the reference electrode, was applied to the electrode for 100 ms at a rate of 5 Hz. The amplitude of the resulting oxidation current was digitally integrated over the last 80 ms of each pulse. The sums of every 10 digitized oxidative cycles of the chronoamperometric waveform were automatically converted into equivalent values of DA concentration using the *in vitro* calibration factor for each electrode. The reduction current generated when the potential was returned to resting level (0.0 mV for 100 msec) was similarly digitized and summed and served as an index to identify the main electroactive species contributing to the electrochemical signals. With these conditions, the magnitude of the increase in reduction current in response to increases in DA is typically 60–80% of the corresponding increase in oxidation current (Red/Ox ratio = 0.6–0.8), whereas oxidation of AA is virtually irreversible (Red/Ox = 0) and that of DOPAC is almost entirely reversible (Red/Ox ratio = 0.9–1.0) [32,33].

2.2.4. Apparatus and procedure

In the two days prior to the surgery and in the third post-operative day, rats were habituated to the testing apparatus (a wooden box (60 × 60 × 60 cm) for 1 h/day. During these periods, animals were free

to eat some pellets of Froot Loops previously put inside the box. Voltammetry recordings occurred in the fourth post-operative day and lasted a total of 5 h. Each animal was connected to the chronoamperometric instrument by a shielded cable and remained in the apparatus for an initial period of 120 min for acclimatization and electrochemical signal stabilization. Thereafter, 30 g of standard rat chow were offered to the animal for a period of 30 min. During this phase, the animal's behavior was monitored and registered whenever it consumed or stopped consuming chow. At the end of this period, not consumed chow was removed and the animal underwent a 60 min interval, where the electrochemical recording continued but in the absence of food stimuli. After the interval period, animals received 15 pellets of Froot Loops for 30 min and again its behavior was monitored and recorded for the next 30 min. Testing was finalized after further 60 min of recording in the absence of food stimuli. During the protocol, the amount of chow and Froot Loops consumed was measured, as well as the latency to eat both foods.

2.2.5. Data format

Data were analyzed in accordance with Richardson [34]. Due to the inherent differences in sensitivity between different electrodes, *in vivo* changes in current recorded in different animals (each one with a different electrode) cannot be assumed to be equivalent. Thus, comparisons are valid only if the sensitivity of each electrode is calibrated *in vitro* against a standard, and the electrochemical data are expressed as equivalent values. Oxidation current are expressed as changes in electrochemical signal (μM DA equivalent) relative to the signal level 15 s prior to the beginning of the consumption of chow or froot loops (Time - 15). Because the recording at Time - 15 was the point of comparison for changes in electrochemical signal that followed, it was arbitrarily given a value of 0 (μM). Therefore, instead of corresponding to the absolute concentration of extracellular DA, electrochemical data represent relative changes in extracellular DA levels elicited by the stimulus (food consumption). Electrochemical records with movement-related artifacts were excluded from the data analysis.

2.2.6. Histology

At the conclusion of testing, animals were deeply anesthetized with isoflurane and a +4.5 DC current was applied to the carbon fiber electrode in order to increase the lesion area, and thus facilitate the visualization of the exact recording site in the brain [35]. Subsequently, rats were decapitated, and brains were fixed in a 4% paraformaldehyde (PFA) solution for 24 h. After this process, brains were cryoprotected in a 30% sucrose solution for 3–4 days and then frozen until being sliced. Electrode placements were confirmed from 30 μm hematoxylin-eosin stained coronal sections. Only data from animals with histologically confirmed electrode position were analyzed.

2.3. Neurochemical analysis

2.3.1. Tissue collection

Tissue collection for protein levels analysis takes place at two different ages: 80 days of life (providing data from protein levels prior the beginning of the behavioral tasks) and 160 days of life (protein levels after the conclusion of the behavioral tasks). Tissues were obtained from animals that were not submitted to behavioral tasks. The animals were decapitated and the brains were quickly removed and flash-frozen in isopentane under dry ice and stored at -80 °C until analysis. For the structures dissection, brains were warmed to -20 °C and the regions of interest (mPFC and OFC) of both hemispheres were macroscopically dissected through thick sections (0.1 cm) with the aid of an atlas [36]. The tissues obtained were processed for Western blot analysis as described below.

2.3.2. Western blot

Tissue samples were homogenized in a cytosolic extraction buffer

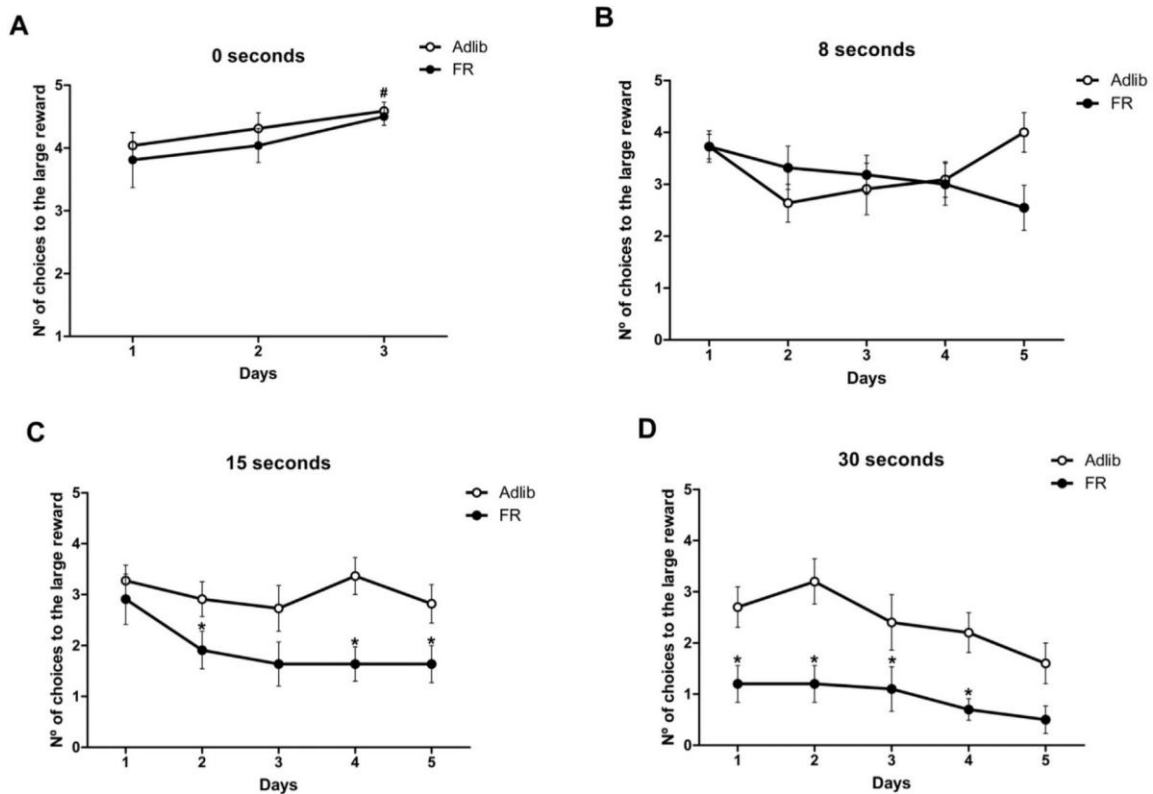


Fig. 1. Number of choices to the large reward in the tolerance to delay of reward task. Rats were submitted to different waiting times to reach the large reward: (A) Training-0 s, (B) 8 s, (C) 15 s and (D) 30 s of waiting. # indicates difference from the first day. * Indicates difference from Adlib group in the same day. Data are expressed as mean \pm S.E.M. Group sizes: Adlib = 11; FR = 11. Generalized Estimating Equations (GEE), $p < 0.05$. Details are shown in text.

with protease (Complete, Roche) and phosphatase inhibitors (Phostop, Roche). Samples were then centrifuged at 3000 rpm (4 °C) for 10 min for cytosolic protein extraction and thereafter at 13,000 rpm (4 °C) for 30 min for purification of the cytosolic fraction. Total protein was quantified using a BCA kit with bovine serum albumin as standard (Thermo Scientific). Samples containing 40 μ g of total protein were loaded on 4–15% polyacrylamide gradient gels (Invitrogen), subjected to electrophoresis, and transferred to a nitrocellulose membrane (GE Healthcare). A standard molecular weight marker (Magic Marker[®], Invitrogen) was run simultaneously to compare the molecular weights of the visualized proteins. Resulting membranes were blocked in a Tris-Base solution containing 5% of nonfat dry milk and 1% Tween-20. The membranes were incubated overnight at 4 °C with the following primary antibodies: anti-DA transporter-DAT (Sigma-Aldrich, AB1591P, 1:500), anti-DA D1 receptor (Millipore, AB9141, 1:500), anti-DA D2 receptor (Millipore, AB5084P, 1:1000). On the next day, membranes were incubated with the respective secondary antibodies, anti-mouse (Cell Signaling, 7076 s, 1:1000) or anti-rabbit (Cell Signaling, 7074 s, 1:1000), for 2 h at room temperature. The chemiluminescence signal was detected in an ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare) system using ECL (ECL Western Blotting Analysis System, GE healthcare, RNP2106), and the intensity of the bands was quantified by densitometry using Image J[®] software (National Institutes of Health, USA). Results were expressed as the ratio between the intensity of the protein of interest and the β -actin (Sigma-Aldrich, A4700, 1:1000) from the same band.

2.4. Statistical analysis

Performance in the “Tolerance to delay of reward” task was analyzed using generalized estimating equations (GEE) with group and time as

factors. Body weight at birth was analyzed by GEE using the litter as a cluster and adjusting for the number of pups in the litter. The analyses were followed by Bonferroni multiple comparison test when appropriate. Two-way ANOVA was used to analyze behavioral data from voltammetry, and to compare the electrochemical signal levels at Time - 15 (15th second before starting food intake), Time 0 (beginning of food intake) and Time 50 (50th second after starting food intake). Student's *t*-test was used for adults' weight and Western Blot analysis. All variables were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM), and the results were considered significant when $p < 0.05$. Data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 18.0 software (SPSS Inc., IBM Company, Chicago, IL, USA), and their respective graphics obtained from Prism 5 software (GraphPad, San Diego, CA, USA).

3. Results

A Generalized Estimated Equations analysis using the litter as a cluster and adjusting for the number of pups in the litter shows an effect of the group (Adlib 6.30 ± 0.81 ; FR 5.31 ± 0.88 ; $B = 0.986$, $p < 0.0001$, $n = 114-77/\text{group}$), in which the FR females weight less than Adlib females. The same could not be found in adulthood, when the animals from Adlib and FR groups did not differ in body weight at the time of the behavioral tasks (before the electrochemical measurements: Adlib 290.8 ± 4.65 ; FR 286.0 ± 6.67 ; at beginning of the impulsivity task: Adlib 289.23 ± 5.58 ; FR 288.13 ± 6.61), suggesting that the animals catch up on growth during development.

3.1. Tolerance to delay of reward

During the training phase, we analyzed the number of choices to the large reward (without delay) during the last three days of training. GEE analysis showed a significant effect of time (Wald = 12.018; df = 2 $p < 0.005$), in which there is an increase in the number of choices to the large reward on the third day of training, in comparison to the first day in both groups. No effect of the group (Wald = 0.581; df = 1 $p > 0.05$) and no interactions were observed (Wald = 0.349; df = 2 $p > 0.05$) (Fig. 1-A).

During the test phase, five consecutive daily sessions were performed at each delay magnitude (8, 15 or 30 s). When a delay of 8-s was imposed for the large reward, GEE analysis revealed no main effect of the group (Wald = 0.131; df = 1 $p = 0.717$), nor main effect of time (Wald = 20.595; df = 4 $p < 0.005$). However, this analysis yielded a significant interaction between group and time (Wald = 20.595; df = 4 $p < 0.005$), in which over time, animals from FR group show a progressive decrease in the preference for the large reward (Fig. 1-B).

In comparison to the 15-s delay, analysis showed a main effect of group (Wald = 7.266; df = 1 $p < 0.05$) and time (Wald = 10.671; df = 4 $p < 0.05$). Bonferroni *post hoc* test showed that at days 2, 4 and 5, FR animals displayed a reduced number of choices for the large reward compared to the Adlib group. No interaction was found between group and time (Wald = 8.615; df = 4 $p > 0.050$) (Fig. 1-C).

When a delay of 30-s was applied, once again the analysis showed a significant main effect of group (Wald = 9.337; df = 1 $p = 0.002$) and time (Wald = 35.917; df = 4 $p < 0.005$). Bonferroni *post hoc* test showed that FR animals show a decreased preference for the large reward when compared to the Adlib group on days 1 to 4. The interaction between the variables was not statistically significant (Wald = 9.106; df = 4 $p > 0.05$) (Fig. 1-D).

3.2. Behavioral data

Chow and Froot Loops consumption during the 30-min exposure were analyzed by Two-way ANOVA with group and type of food as independent factors (Fig. 2-A). We observed a main effect of the type of food ($F(1,40) = 23.77, p < 0.001$), in which animals from both groups ate more Froot Loops than standard chow during the test. No main effect of group or interactions were found. When analyzing the latency to start eating, a two-way ANOVA showed a significant main effect of time ($F(1,42) = 4.41, p < 0.05$) and group ($F(1,42) = 5.04, p < 0.05$), demonstrating that both groups take less time to start eating Froot Loops than chow (Fig. 2-B). Moreover, animals from the FR group take less time to eat both chow and Froot Loops when compared to the Adlib group. No interaction was observed ($F(1,42) = 0.15, p = 0.70$). Data on food intake and latency to eat were analyzed even in animals that were excluded from the electrochemical analysis due to a wrong

electrode placement (Adlib $n = 12$; FR $n = 13$ - Animals from the same group were grouped independently of the region of electrode placement (mPFC or OFC)).

3.3. Electrochemical recordings

From the initial 33 animals submitted to probe implantation surgery, only 25 performed the electrochemical recordings.

Data from electrochemical recordings were obtained from 23 animals that did not suffer from complications during the probe implantation surgery and with subsequently confirmed electrode placement in the mPFC (Adlib $n = 6$; FR $n = 6$) or the OFC (Adlib $n = 5$; FR $n = 6$). Fig. 3 is a schematic reconstruction of the electrode placements for the animals used in this study.

The data in Fig. 4 display the mean relative changes in mPFC and OFC DA levels recorded 15 s before and 50 s after consumption of the first Froot Loops. As described in the methodology, DA levels are represented as a change in DA signal relative to that measured at Time - 15.

In the mPFC, we observed a persistent and gradual increase in DA levels starting around 5 s before the onset of Froot Loops intake. An entirely different pattern of DA fluctuation was observed in the OFC region whereby both groups showed no significant fluctuations in DA levels before, during or after consumption of Froot Loops.

Regarding mPFC DA, Adlib and FR animals demonstrated notable differences in the pattern and the amplitude of the DA levels over time. While animals from the Adlib group showed a pronounced and continuous increase in DA, with maximum amplitude near Time 50, FR animals showed a smaller and stable increase, with comparable levels at Time 0 and Time 50. Statistical analysis showed a significant main effect of group ($F(1,30) = 7.86, p < 0.01$) and time ($F(2,30) = 6.97, p < 0.01$) as well as a significant interaction ($F(2,30) = 3.44, p < 0.05$). Bonferroni *post hoc* tests showed that at Time 50, DA levels from Adlib rats were significantly increased in comparison with those from times -15 and 0. Moreover, at Time 50, rats from the FR group exhibited significantly lower levels of DA in comparison to those measured in Adlib rats (Fig. 5).

We also compared DA levels elicited by Froot Loops with those elicited by the consumption of standard chow in both groups at Time 50. These data were analyzed by Two-way ANOVA (with food type and group as independent factors). We found significant main effects of group ($F(1,20) = 8.93, p < 0.01$) and food type ($F(1,20) = 11.36, p < 0.01$). In animals from the Adlib group, DA levels associated with Froot Loops consumption were significantly greater than those associated with the consumption of standard chow (Fig. 6). In animals from the FR group, DA amplitude did not differ according to food type. Notably, when comparing the amplitude of DA levels elicited by Froot Loops or chow, we did not detect differences in the OFC (data not

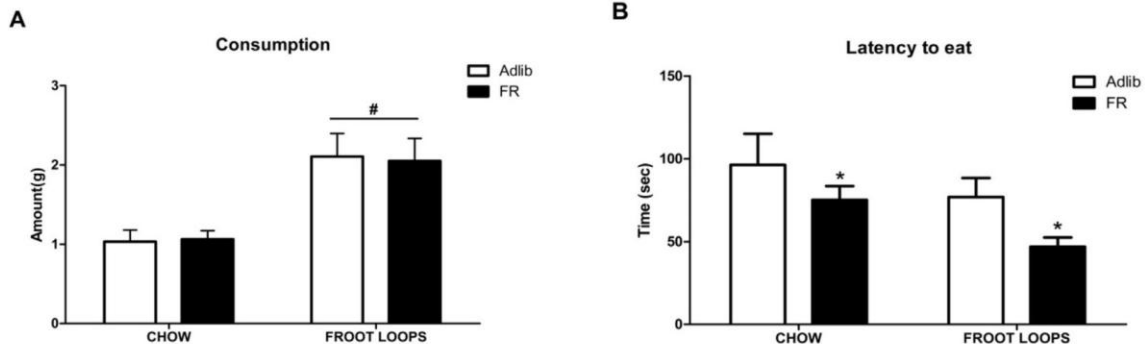


Fig. 2. Amount of chow and Froot loops consumed (grams) during the 30-min period (A) and latency (in seconds) to start eating (B). #indicates difference from chow; *indicates difference from Adlib group. Data are expressed as mean ± S.E.M. Group sizes: Adlib = 12; FR = 13. Two-way ANOVA, $p < 0.05$. Details are shown in text.

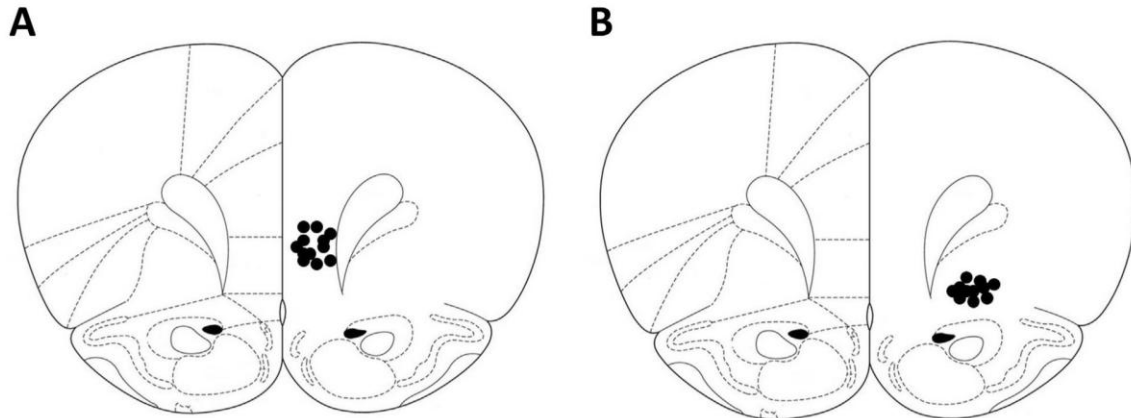


Fig. 3. Histological verification of electrode placements. Schematic illustration of the location of electrode tip placements within the mPFC (A) and OFC (B).

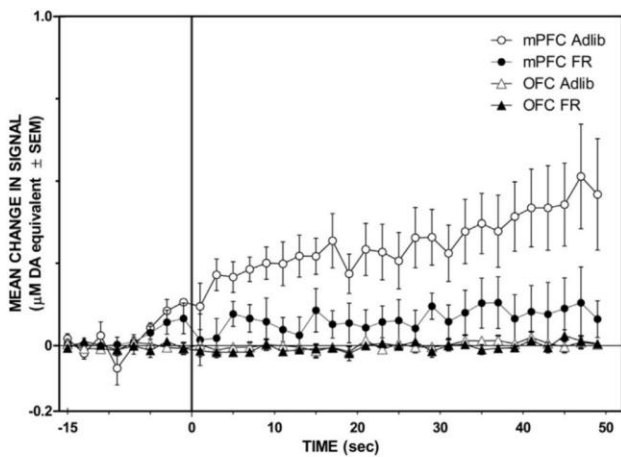


Fig. 4. Mean relative changes in mPFC and OFC DA signals recorded during the previous 15 s and the 50 s after the beginning of consumption of the first Froot Loops pellet. Positive and negative values indicate DA signal levels that were higher and lower, respectively, than those at the Time – 15. Open circles = animals from Adlib group with electrode placement at mPFC (n = 6); filled circles = animals from FR group with the electrode at mPFC (n = 6); open triangles = animals from Adlib group with the electrode at OFC (n = 5); filled triangles = animals from FR group with the electrode at OFC (n = 6). Data are expressed as mean ± S.E.M. Details are shown in text.

shown).

3.4. Western blot

Levels of DA receptors (D1 and D2) and DA transporter (DAT) in the mPFC and the OFC from both ages are shown in Table 1. Levels of D1 receptors were found to be decreased in the OFC of food restricted animals for both ages (80 days: $t(12) = 2.35$; $P < 0.05$; 160 days: $t(12) = 1.38$; $P > 0.05$). No differences in the D1 levels were found in the mPFC (80 days: $t(12) = 1.13$; $P > 0.05$; 160 days: $t(12) = 0.20$; $P > 0.05$). Regarding D2 receptors levels, we did not find differences in the OFC for any of the ages (80 days: $t(12) = 0.69$; $P > 0.05$; 160 days: $t(12) = 0.35$; $P > 0.05$). However, FR animals at 160 days of life showed increased levels of D2 in the mPFC ($t(12) = 3.17$; $P < 0.05$), which was not found at the younger age (80 days: $t(12) = 0.76$; $P > 0.05$). DAT levels remained unchanged between the groups for both ages in the OFC (80 days: $t(12) = 0.98$; $P > 0.05$; 160 days: $t(12) = 0.09$; $P > 0.05$) and the mPFC (80 days: $t(12) = 1.08$; $P > 0.05$; 160 days: $t(12) = 0.12$; $P > 0.05$).

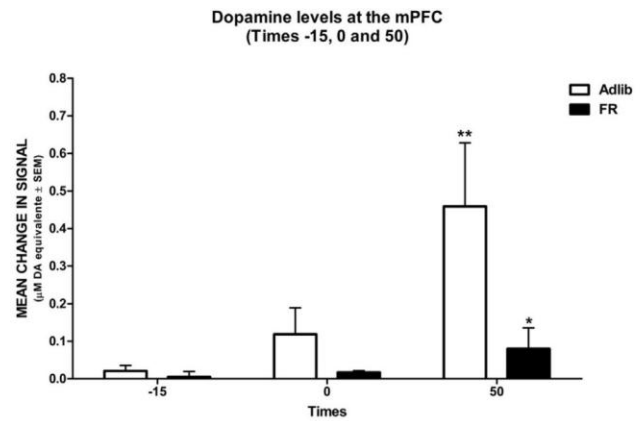


Fig. 5. Dopamine levels recorded at times – 15, 0 and 50 (sec) from the first Froot Loops consumed. **indicates difference from times – 15 and 0; *indicates difference from Adlib group at Time 50. Group sizes: Adlib = 6; FR = 6. Data are expressed as mean ± S.E.M. Two-way ANOVA, $p < 0.05$. Details are shown in text.

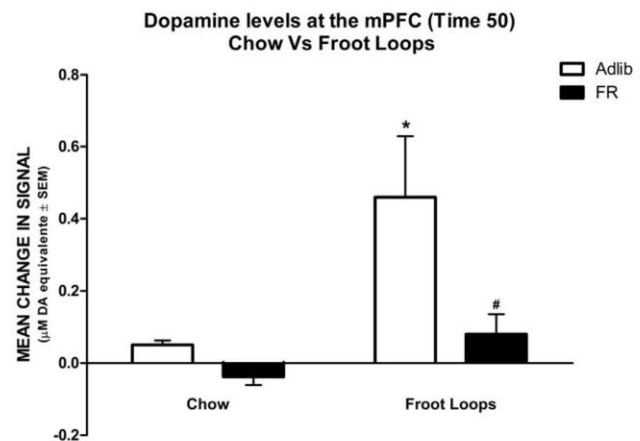


Fig. 6. Dopamine levels recorded at Time 50 from the consumption of chow and Froot Loops. In this figure, white bars represents chow and black bars represents Froot Loops levels. *indicates difference from chow levels; # indicates difference from Adlib levels to Froot Loops. Group sizes: Adlib = 6; FR = 6. Data are expressed as mean ± S.E.M. Two-way ANOVA, $p < 0.05$. Details are shown in text.

Table 1

Protein levels of D1 and D2 Receptors and Dopamine Transporter (DAT) in the mPFC and the OFC at 80 and 160 days of life.

	80 days of life			
	mPFC		OFC	
	Adlib	FR	Adlib	FR
D1	100 ± 5.50	112.11 ± 7.85	100 ± 14.17	61.51 ± 12.75 ^a
D2	100 ± 9.05	124.46 ± 24.40	100 ± 14.09	89.29 ± 6.67
DAT	100 ± 6.10	122.81 ± 17.57	100 ± 13.24	85.84 ± 6.25
	160 days of life			
	mPFC		OFC	
	Adlib	FR	Adlib	FR
D1	100 ± 11.42	119.32 ± 6.61	100 ± 7.37	68.77 ± 9.95 ^a
D2	100 ± 29.35	258.95 ± 14.07 ^a	100 ± 6.48	94.34 ± 14.34
DAT	100 ± 13.62	98.07 ± 7.18	100 ± 37.30	95.41 ± 31.73

Data are expressed as percent of control (Adlib) levels ± SEM. Student *t*-test, *p* < 0.05.

n = 7–7/group.

^a Indicates difference between groups.

4. Discussion

In the current work, our results were in agreement with previous studies that found an increased impulsive behavior in individuals born IUGR. Also, we deepened the knowledge regarding the mechanisms associated with this outcome, demonstrating that changes in different parameters of the dopaminergic signaling in the mPFC and in the OFC are likely involved in this link between IUGR and increased impulsivity.

The food restriction model that we used in this study was based on the successful intrauterine growth restriction model described by Desai et al. [28]. This model has established an useful approach, able to mimic many of the adverse outcomes frequently observed in IUGR humans, including decreased plasma leptin levels, increased food intake, obesity, increased percentage of body fat, insulin resistance and catch up growth [14,26,28,37–39]. More recently, this model has been used to investigate alterations in feeding behavior itself and in behaviors that, in some way, influence food choices and consumption. In this context, interesting changes were found in attentional skills [14], in physical activity [40], in reward sensitivity (indicated by a decreased conditioning for palatable food in a place preference test) [26], in hedonic responses to sweet food [41] and now, in the impulsive behavior.

Here, we found that a 50% food restriction during gestation was able to reduce fetal growth, with a significant decrease in body weight at birth. In adulthood, food restricted animals showed no differences in body weight when compared to their Adlib counterparts. These results are in agreement with previously studies that observed a compensatory weight gain throughout life in subjects exposed to IUGR [12,28,42,43]. This compensatory (catch-up) growth is believed to be an important factor in determining the metabolic disadvantages in individuals born growth restricted [44,45].

It is hypothesized that, during prenatal and early postnatal periods, environmental stimuli lead to adaptive responses in order to make the individual best suited for the environment it will probably face in later life [46,47]. Regarding IUGR, the expectation of living in an environment with scarce energy resources makes impulsivity a potentially advantageous feature in the long-term by increasing reward-related responsiveness and shifting decision-making in order to favor the selection of palatable/high energy foods [20]. However, today's postnatal life is frequently accompanied by an environment abundant in food resources, which makes impulsive behavior a maladjusted trait that predisposes these individuals to overeating and weight gain.

It is currently accepted that impulsivity can be divided into two broad categories: impulsive action and impulsive choice [31]. In the first category, we find a certain inability in the inhibition of motor responses, *i.e.*, responding immediately without thinking [20]. In turn, impulsive choice involves a decision-making process, and is expressed by the tendency to prefer immediate gains over long-term ones [25,48]. Both categories are believed to contribute to the emergence of overeating; however, the increased sensitivity/responsivity to rewards and the abnormal preference for immediate gratification usually seen in the impulsive choice makes this category particularly important in the context of obesity [48,49]. It is precisely this type of impulsivity that the Tolerance to Delay of Reward Task proposes to evaluate.

First, it is important to note that there was no difference between the groups in the training phase, and that both showed a pronounced preference for the larger reward. This excludes the possibility of potential learning and/or memory difficulties in the execution of the task for the IUGR animals. These kinds of deficits are frequently observed in humans [50,51] and in different animal models of IUGR [52,53], and could interfere in the behavioral effects observed in the subsequent phases of the task.

On the other hand, we observed clear differences between the groups when the animals were faced with increasing periods of delay before having access to the large reward. It is largely known that the value attributed to a reward decreases (is discounted) as a function of the delay established for its delivery, so that it is expected for the animals to present a decrease in the choice for the large reward as the delay to obtain them increases [49,54]. However, this “discounting rate” is found to be exaggerated for some individuals that demonstrate an abnormal preference for immediate gratifications [54,55].

This exaggerated rate of discounting is typically observed in maladaptive behaviors including alcohol and drug abuse [56–58], in pathological gambling [59] and in certain psychiatric conditions such as attention deficit hyperactivity disorder [60]. Overweight and high body fat percentage also have been associated with increased delay discounting for both monetary and food rewards in adult women and men [61–63]. Here, our results allow us to propose that IUGR individuals are also prone to an excessive delay discounting in reward-related tasks, which may be behaviorally expressed as an increased impulsivity and thus contribute to the altered feeding behavior observed in these individuals.

Interestingly, a recent work from Silveira et al. [43] indicates that the increased impulsivity associated with IUGR exceeds the limits of eating behavior. From two independent birth cohorts, and using tasks that do not involve the choice for food rewards, the authors observed that IUGR-related impulsivity is not restricted to food-associated tasks, thereby influencing other forms of this behavior such as decision-making and inhibitory control.

In addition, we observed during the voltammetry protocol that FR animals took less time to start eating the Froot Loops pellets than the animals from Adlib group. This shorter latency to eat may be related to a greater reactivity to the palatable food and an increased motivation to eat [64,65], and may constitute a distinct facet of the increased impulsivity reported. However, even though the FR animals showed a shorter latency to start eating, we did not find differences between the groups in the amount of Froot Loops and chow consumed during the 30-min exposure. This finding is in agreement with a previous study from our group that evaluated sweet food intake in the home cage during an acute exposure [14].

Using an electrochemical approach, we investigated DA release in two prefrontal areas considered essential in the regulation of impulsivity: the medial prefrontal cortex (mPFC) and the orbitofrontal cortex (OFC). In the mPFC, we found that Froot Loops consumption caused a blunted increase of DA levels in FR animals when compared to the increase observed in the animals from Adlib group. Moreover, mPFC DA levels elicited by Froot Loops consumption were greater than the levels elicited by the consumption of chow in animals from the

Adlib group. The same cannot be stated for the food-restricted animals, in which the DA levels in response to Froot Loops and chow did not differ. Surprisingly, DA levels in the OFC were not altered by the consumption of palatable food and chow in any of the groups. On the other hand, intrauterine growth restriction seems to affect dopaminergic signaling in the OFC, since the animals from FR group showed a decrease in D1 receptor levels at this area.

Although several lesion and pharmacological studies have implicated the mPFC and the OFC in the regulation of impulsivity, the effects of altered levels of DA and its receptors in these areas seem to be complex and sometimes contradictory [66,67]. In both rodent and human studies, increases in DA signaling induced by d-amphetamine and methylphenidate are usually accompanied by a reduction in impulsive choice [68–71], although some conflicting results also have been found [72,73]. In turn, systemic administration of DA receptor antagonists (SCH-23390 = D1 antagonist; Raclopride = D2 antagonist) increase the choice for immediate, smaller rewards [74,75].

It is important to note that the decreased levels of D1 receptors in the OFC of food restricted animals were found both at 80 and 160 days of life, that is, before and after the period of life in which the behavioral tasks were applied. These findings suggest that IUGR can lead to a permanent (or at least long term) change in the OFC levels of these receptors. Also, it indicates that OFC D1 levels were altered during the performance of the tolerance to delay of reward task, presumably influencing its outcomes. Specifically within the mPFC, there seems to be a positive correlation between impulsive choice and gene expression of D1 receptors [76]. Additionally, the authors found that the micro-injection of D1 receptor antagonist at this area increased impulsive choice, highlighting the involvement of the mPFC D1 receptors in this type of impulsivity.

Similar results were found in relation to D2 DA receptors, in which altered levels of expression are associated with changes in impulsive choice [22]. Interestingly, D2 receptors levels were found to be increased in the mPFC of IUGR animals at 160 days of life. In light of our electrochemical results, we can suppose that these increased D2 levels may be a compensatory adaptation in response to a long-term impaired dopaminergic signaling in the mPFC of intrauterine growth restricted animals.

Regarding the OFC, lesions of this area have been shown to produce inconsistent results, with some studies reporting aversion to increasing delays [77,78] while others observed the opposite or conflicting effects [79,80]. Also, it is proposed that the effect of systemic administration of DA antagonists in the impulsive choice may be mediated by the blockade of both D1 and D2 receptors in the OFC [80]. In humans, reduced activity of this area is correlated with the tendency of alcoholic individuals to prefer immediate rewards over delayed ones [81]. Although the precise involvement of the OFC in delay discounting is still unclear, it has been hypothesized that DA transmission within this area influences how much value is attributed to a reward, and thus if it is worth waiting for [78,82].

In a previous study, we found that IUGR female rats demonstrate increased levels of tyrosine hydroxylase (TH) in the OFC after one hour of palatable food consumption [14]. Since TH is the rate-limiting enzyme in DA synthesis [83], we proposed that DA synthesis and release would be elevated in the OFC of IUGR animals in response to Froot Loops intake. However, in the present work we did not confirm this hypothesis, and one possible explanation may be the different temporal parameters between the two studies. Here, we evaluated DA levels during the consumption of a single unit of Froot Loops, whereas in the previous study, TH levels were measured after 1-h of *ad libitum* intake. It is quite possible that during longer periods of palatable food consumption, DA levels show a very slight and constant increment, allowing the detection of this increase only after several minutes. This issue should be addressed in subsequent studies, in which DA release during longer periods of consumption should be assessed.

The mechanism linking an abnormal impulsive phenotype with

altered functioning of prefrontal areas is believed to rely, at least in part, on its functional relationship with striatal areas, specially the Nucleus Accumbens (NAcc) [84,85]. This dopaminergic fronto-striatal loop has a well-known role in cognitive flexibility, reinforcement learning, incentive motivation and inhibitory control [86], in which malfunction is associated with overeating [87,88]. In this context, medial prefrontal cortex could modulate DA release in the NAcc during a rewarding task, which would affect the value attributed to that reward, the animals' motivation to obtain it and consequently influencing reward-based decision-making. In agreement with this view, recent findings have suggested that more impulsive individuals recruit less regulatory prefrontal activation, likely experiencing less striatal DA release (through ascending VTA projections) when facing rewarding stimuli [89]. Also, delays of future rewards would be able to decrease the neural representation of the future reward magnitude by decreasing the activation of regions such as the mPFC and the NAcc [90]. Thus, we hypothesized that the attenuated response to sweet food seen in the mPFC of IUGR animals, together with diminished OFC D1 levels, may be reflected in a decreased activation of striatal areas, leading to a lower valuation of the delayed rewards magnitude and, thus, favoring the choice for the immediate, although small, reward. In addition, some of the adverse outcomes commonly observed in IUGR individuals, such as obesity, type II diabetes and high fasting insulin, have been associated with differences in the functional connectivity between frontal and striatal areas [91–93]. This raises the possibility that the fronto-striatal pathway is impaired in intrauterine growth restricted individuals, contributing to the altered sensitivity to rewards and the emergence of behavioral consequences such as increased impulsivity.

Although we did not evaluate dopamine release during the impulsivity task - due to intrinsic limitations of the techniques - we believe that the electrochemical signals that we obtained during sweet food consumption give us strong indications about the prefrontal dynamics of DA release during reward-related decision-making in IUGR individuals. Moreover, the fact that IUGR animals have shown a decreased latency to start eating sweet food during the electrochemical recording is a strong indicative of the connection between the experiments. Tasks that objectively assess the motivation of the animals to obtain the reward and the incentive value of a certain reward (such as a Progressive Ratio Task) would provide important and clarifying data to help us explain the decreased latency to eat found in FR animals. In addition, motivation, reward value processing and impulsivity are interrelated constructs that share, at least in part, the same neurochemical substrates [94–96].

Other neurotransmitters such as norepinephrine (NE) and serotonin (5-HT) are believed to play an important role in the regulation of impulsivity [25,75]. Particularly with respect to 5-HT, its action in prefrontal regions appears to be essential to a variety of aspects of the impulsive behavior [31,55,97]. Some studies have also reported interesting interactions between the DA and 5-HT systems in the expression of different types of impulsivity [66,98,99]. Since some studies have shown that IUGR has significant effects on 5-HT metabolism [100,101], we cannot rule out that changes in the serotonergic system also account for the behavioral effects observed in this work.

In summary, our findings demonstrated that IUGR induces an increased impulsive behavior and is associated with changes in dopaminergic signaling in both the mPFC and OFC in female rats. These data bring relevant insights regarding the molecular mechanisms and the brain areas involved in the behavioral changes observed in IUGR individuals, and which in turn may contribute to their increased risk for developing obesity and chronic diseases later in life. A continued exploration of these issues may help the development of strategies and tools for preventing diseases in this population.

Lastly, some limitations of the present study may be noted. Although all the animals were tested in adulthood, there is some temporal mismatch between the behavioral tasks. Also, although the IUGR model we used in this work is well established, it is not free from

disadvantages. First, we can't state if the adverse outcomes we observed are due to a lack of nutrients in general, to the specific lack of proteins or to the stress (increased corticosterone levels) caused by the food restriction. An interaction between these factors cannot be ruled out. Moreover, similarly to what occurs in the human condition, it is difficult to disentangle if the effects seen at later stages are due to the food restriction itself or from the compensatory catch up growth that follows.

Acknowledgements

This work was funded by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Universal National Council of Technological and Scientific Development (CNPq) - Brazil and Event Incentive Fund FIPE/HCPA. Funding sources had no influence on the study design, collection, analysis, and interpretation of data, the writing of the report, nor on the decision to submit the paper for publication.

Declarations of interest

None.

References

- [1] P. Chatelain, Children born with intra-uterine growth retardation (IUGR) or small for gestational age (SGA): long term growth and metabolic consequences, *Endocr. Regul.* 34 (2000) 33–36 (doi:MIC 49 128 [pii]).
- [2] A. Romo, R.T.J. Carceller, Intrauterine growth retardation (IUGR): epidemiology and etiology, *Pediatr. Endocrinol. Rev.* 6 (2006) 332–336.
- [3] T. Saleem, N. Sajjad, S. Fatima, N. Habib, S.R. Ali, M. Qadir, Intrauterine growth retardation—small events, big consequences, *Ital. J. Pediatr.* 37 (2011) 41, <https://doi.org/10.1186/1824-7288-37-41>.
- [4] A.R. Albu, A.F. Anca, V.V. Horhoianu, I.A. Horhoianu, Predictive factors for intrauterine growth restriction, *J. Med. Life* 7 (2014) 165–171 <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4197512&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [5] D. Sharma, S. Shastri, P. Sharma, Intrauterine Growth Restriction : Antenatal and Postnatal Aspects, (2016), pp. 67–83, <https://doi.org/10.4137/CMPed.540070.TYPE>.
- [6] D.J.P. Barker, C.N. Hales, C.H.D. Fall, C. Osmond, K. Phipps, P.M.S. Clark, Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth, *Diabetologia.* 36 (1993) 62–67, <https://doi.org/10.1007/BF00399095>.
- [7] R. Manalich, L. Reyes, M. Herrera, C. Melendi, I. Fundora, Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study, *Kidney Int.* 58 (2000) 770–773, <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00225.x>.
- [8] M. Lahti, J.G. Eriksson, K. Heinonen, E. Kajantie, J. Lahti, K. Wahlbeck, S. Tuovinen, A.K. Pesonen, M. Mikkonen, C. Osmond, D.J.P. Barker, K. Räikkönen, Late preterm birth, post-term birth, and abnormal fetal growth as risk factors for severe mental disorders from early to late adulthood, *Psychol. Med.* 45 (2015) 985–999, <https://doi.org/10.1017/S0033291714001998>.
- [9] C. Ayres, M. Agranonik, A.K. Portella, F. Filion, C.C. Johnston, P.P. Silveira, Intrauterine growth restriction and the fetal programming of the hedonic response to sweet taste in newborn infants, *Int. J. Pediatr.* 2012 (2012) 657379, <https://doi.org/10.1155/2012/657379>.
- [10] K. Portella, S.A. Bettiol, M. Agranonik, M.A. Barbieri, N.I.O.A. Silva, M.Z. Goldani, C. Care, M.A.B. Pediatrics, Higher Spontaneous Carbohydrate Intake in Young Women, vol. 65, (2009), pp. 215–220.
- [11] M.M. Perälä, S. Männistö, N.E. Kaartinen, E. Kajantie, C. Osmond, D.J.P. Barker, L.M. Valsta, J.G. Eriksson, Body size at birth is associated with food and nutrient intake in adulthood, *PLoS One* 7 (2012), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046139>.
- [12] A.K. Portella, E. Kajantie, P. Hovi, M. Desai, M.G. Ross, M.Z. Goldani, T.J. Roseboom, P.P. Silveira, Effects of in utero conditions on adult feeding preferences, *J. Dev. Orig. Health Dis.* 3 (2012) 140–152, <https://doi.org/10.1017/S2040174412000062>.
- [13] R. Dalle Molle, A.R. Bischoff, A.K. Portella, P.P. Silveira, The fetal programming of food preferences: current clinical and experimental evidence, *J. Dev. Orig. Health Dis.* 7 (2016) 222–230, <https://doi.org/10.1017/S2040174415007187>.
- [14] M.B. Alves, R. Dalle Molle, M. Desai, M.G. Ross, P.P. Silveira, Increased palatable food intake and response to food cues in intrauterine growth-restricted rats are related to tyrosine hydroxylase content in the orbitofrontal cortex and nucleus accumbens, *Behav. Brain Res.* 287 (2015) 73–81, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.03.019>.
- [15] P.P. Silveira, M. Agranonik, H. Faras, A.K. Portella, M.J. Meaney, R.D. Levitan, Preliminary evidence for an impulsivity-based thrifty eating phenotype, *Pediatr. Res.* 71 (2012) 293–298, <https://doi.org/10.1038/pr.2011.39>.
- [16] L. Dearden, S.G. Bouret, S.E. Ozanne, Sex and gender differences in developmental programming of metabolism, *Mol. Metab.* 15 (2018) 8–19, <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.04.007>.
- [17] R.S. Reis, J.R. Bernardi, M. Steiner, M.J. Meaney, R.D. Levitan, P.P. Silveira, Poor infant inhibitory control predicts food fussiness in childhood—a possible protective role of n-3 PUFAs for vulnerable children, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 97 (2015) 21–25, <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2015.03.004>.
- [18] G. Gerlach, S. Herpertz, S. Loeber, Personality traits and obesity: a systematic review, *Obes. Rev.* 16 (2014) 32–63, <https://doi.org/10.1111/obr.12235>.
- [19] R.S. Reis, R. Dalle Molle, T.D. Machado, A.B. Mucellini, D.M. Rodrigues, A. Bortoluzzi, S.M. Bigonha, R. Toazza, G.A. Salum, L. Minuzzi, A. Buchweitz, A.R. Franco, M.C.G. Pelúzio, G.G. Manfro, P.P. Silveira, Impulsivity-based thrifty eating phenotype and the protective role of n-3 PUFAs intake in adolescents, *Transl. Psychiatry* 6 (2016) e755, <https://doi.org/10.1038/tp.2016.16>.
- [20] L.N. van der Laan, M.E.A. Barendse, M.A. Viergever, P.A.M. Smeets, Subtypes of trait impulsivity differentially correlate with neural responses to food choices, *Behav. Brain Res.* 296 (2016) 442–450, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.09.026>.
- [21] R. Guerrieri, C. Nederkoom, A. Jansen, The effects of an impulsive personality on overeating and obesity: current state of affairs, *Psychol. Top.* 17 (2008) 265–286 <http://hrcak.srce.hr/32442>.
- [22] N.W. Simon, B.S. Beas, K.S. Montgomery, R.P. Haberman, J.L. Bizon, B. Setlow, Prefrontal Cortical-Striatal Dopamine Receptor mRNA Expression Predicts Distinct Forms of Impulsivity, vol. 37, (2014), pp. 1779–1788, <https://doi.org/10.1111/ejn.12191>.
- [23] K.C. Sonntag, H.C. Brenhouse, N. Freund, B.S. Thompson, M. Puhl, S.L. Andersen, Viral over-expression of D1 dopamine receptors in the prefrontal cortex increase high-risk behaviors in adults: comparison with adolescents, *Psychopharmacology* 231 (2014) 1615–1626, <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3399-8>.
- [24] J.R. Yates, M. Darna, J.S. Beckmann, L.P. Dwoskin, M.T. Bardo, Individual differences in impulsive action and dopamine transporter function in rat orbitofrontal cortex, *Neuroscience.* 313 (2016) 122–129, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.033>.
- [25] M.C. Pardey, N.N. Kumar, A.K. Goodchild, J.L. Cornish, Catecholamine receptors differentially mediate impulsive choice in the medial prefrontal and orbitofrontal cortex, *J. Psychopharmacol.* 27 (2013) 203–212, <https://doi.org/10.1177/0269881112465497>.
- [26] R. Dalle Molle, D.P. Laureano, M.B. Alves, T.M. Reis, M. Desai, M.G. Ross, P.P. Silveira, Intrauterine growth restriction increases the preference for palatable foods and affects sensitivity to food rewards in male and female adult rats, *Brain Res.* 1618 (2015) 41–49, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.05.019>.
- [27] Z. Vucetic, K. Totoki, H. Schoch, K.W. Whitaker, T. Hill-Smith, I. Lucki, T.M. Reyes, Early life protein restriction alters dopamine circuitry, *Neuroscience* 168 (2011) 359–370, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.04.010>.
- [28] M. Desai, D. Gayle, J. Babu, M.G. Ross, Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition, *Am. J. Phys. Regul. Integr. Comp. Phys.* 288 (2005) R91–R96, <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00340.2004>.
- [29] J.-C. Bizot, N. Chenault, B. Houzé, A. Herpin, S. David, S. Pothion, F. Trovero, Methylphenidate reduces impulsive behaviour in juvenile Wistar rats, but not in adult Wistar, SHR and WKY rats, *Psychopharmacology* 193 (2007) 215–223, <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0781-4>.
- [30] T.Y. Zhang, Influence of naturally occurring variations in maternal care on pre-pulse inhibition of acoustic startle and the medial prefrontal cortical dopamine response to stress in adult rats, *J. Neurosci.* 25 (2005) 1493–1502 10.1523/JNEUROSCI.3293-04.2005.
- [31] C.A. Winstanley, D.E.H. Theobald, J.W. Dalley, R.N. Cardinal, T.W. Robbins, Double dissociation between serotonergic and dopaminergic modulation of medial prefrontal and orbitofrontal cortex during a test of impulsive choice, *Cereb. Cortex* 16 (2006) 106–114, <https://doi.org/10.1093/cercor/bhi088>.
- [32] C.W. Stevenson, R.M. Sullivan, A. Gratton, Effects of basolateral amygdala dopamine depletion on the nucleus accumbens and medial prefrontal cortical dopamine responses to stress, *Neuroscience.* 116 (2003) 285–293, [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00553-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00553-5).
- [33] D.K. Shahrokh, T.-Y. Zhang, J. Diorio, A. Gratton, M.J. Meaney, Oxytocin-dopamine interactions mediate variations in maternal behavior in the rat, *Endocrinology.* 151 (2010) 2276–2286, <https://doi.org/10.1210/en.2009-1271>.
- [34] N. Richardson, A. Gratton, Changes in medial prefrontal cortical dopamine levels associated with response-contingent food reward: an electrochemical study in rat, *J. Neurosci.* 18 (1998) 9130–9138 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9787015>.
- [35] A. Ledo, C.F. Lourenço, M. Caetano, R.M. Barbosa, J. Laranjinha, Age-associated changes of nitric oxide concentration dynamics in the central nervous system of fisher 344 rats, *Cell. Mol. Neurobiol.* 35 (2014) 33–44, <https://doi.org/10.1007/s10571-014-0115-0>.
- [36] G. Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6th edition, Elsevier, 2007.
- [37] M. Desai, D. Gayle, J. Babu, M.G. Ross, The timing of nutrient restriction during rat pregnancy/lactation alters metabolic syndrome phenotype Mina, *Biomed. Res.* 196 (2009) 1–13, <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.11.036>.
- [38] M.G. Ross, M. Desai, Developmental programming of offspring obesity, adipogenesis, and appetite, *Clin. Obstet. Gynecol.* 56 (2013) 529–536, <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e318299c39d>.
- [39] M. Desai, D. Gayle, G. Han, M.G. Ross, Programmed Hyperphagia due to Reduced Anorexigenic Mechanisms in Intrauterine Growth-Restricted Offspring, (2007), pp. 329–337.

- [40] F. Da Silva Cunha, R. Dalle Molle, A.K. Portella, C. Da Silva Benetti, C. Noschang, M.Z. Goldani, P.P. Silveira, 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* 10 (2015) 1–18, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118586>.
- [41] D.P. Laureano, R. Dalle Molle, M.B. Alves, C. Luft, M. Desai, M.G. Ross, P.P. Silveira, Intrauterine growth restriction modifies the hedonic response to sweet taste in newborn pups—role of the accumbal μ -opioid receptors, *Neuroscience*. 322 (2016) 500–508, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.02.033>.
- [42] D.P. Laureano, M.B. Alves, P.M. Miguel, T.D. Machado, A.R. Reis, A.B. Mucellini, F.S. Cunha, C. Lampert, Intrauterine growth restriction modifies the accumbal dopaminergic response to palatable food intake, *Neuroscience* 400 (2019) 184–195, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.12.036>.
- [43] P.P. Silveira, I. Pokhvisneva, H. Gaudreau, A. Rifkin-Grabo, B.F.P. Broekman, M. Steiner, R. Levitan, C. Parent, J. Diorio, M.J. Meaney, Birth weight and catch up growth are associated with childhood impulsivity in two independent cohorts, *Sci. Rep.* 8 (2018) 13705, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31816-5>.
- [44] L.M. Berends, D.S. Fernandez-twinning, M.S. Martin-gronert, R.L. Cripps, S.E. Ozanne, Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes in insulin-resistant phenotype in adipose tissue, *Int. J. Obes.* 37 (2012) 1051–1057, <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.196>.
- [45] I. Milovanovic, F. Njuieyon, S. Deghmoun, D. Chevenne, C. Levy-marchal, J. Beltrand, SGA Children with Moderate Catch-Up Growth Are Showing the Impaired Insulin Secretion at the Age of 4, *Vol. 9* (2014), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100337>.
- [46] P.D. Gluckman, M.A. Hanson, Living with the past: evolution, development, and patterns of disease, *Science* 305 (2004) 1733–1736, <https://doi.org/10.1126/science.1095292> (80-).
- [47] C.N. Hales, D.J. Barker, The thrifty phenotype hypothesis, *Br. Med. Bull.* 60 (2001) 5–20, <https://doi.org/10.1093/bmb/60.1.5>.
- [48] S.E. Tedford, A.L. Persons, T.C. Napier, Dopaminergic lesions of the dorsolateral striatum in rats increase delay discounting in an impulsive choice task, *PLoS One* 10 (2015) e0122063, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122063>.
- [49] J.D. Jentsch, J.R. Ashenhurst, M.C. Cervantes, S.M. Groman, A.S. James, Z.T. Pennington, Dissecting impulsivity and its relationships to drug addictions, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1327 (2014) 1–26, <https://doi.org/10.1111/nyas.12388>.
- [50] Y. Leitner, A. Fattal-valevski, R. Geva, R. Eshel, H. Toledano-alhadef, M. Rotstein, B. Radianu, O. Bitchonsky, A.J. Jaffa, S. Harel, Neurodevelopmental outcome of children a longitudinal, 10-year prospective study, *J. Child Neurol.* (2009), <https://doi.org/10.1177/0883073807302605>.
- [51] C. Gilchrist, A. Cumberland, D. Walker, M. Tolcos, Intrauterine growth restriction and development of the hippocampus: implications for learning and memory in children and adolescents, *Lancet Child Adolesc. Heal.* 2 (2018) 755–764, [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(18\)30245-1](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(18)30245-1).
- [52] M. Camprubí Camprubí, R. Balada Caballé, J.A. Ortega Cano, M. de los A. Ortega de la Torre, C. Duran Fernández-Feijoo, M. Girabent-Farrés, J. Figueras-Aloy, X. Krauel, S. Alcántara, Learning and memory disabilities in IUGR babies: functional and molecular analysis in a rat model, *Brain Behav.* 7 (2017) 1–11, <https://doi.org/10.1002/brb3.631>.
- [53] C.D. Fernandez-Feijoo, C.C. Carrasco, N.V. Francisco, J.C. Romero, J.R. Fernández Lorenzo, C. Jiménez, M.C. Camprubí, Influence of catch up growth on spatial learning and memory in a mouse model of intrauterine growth restriction, *PLoS One* 12 (2017) 1–15, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177468>.
- [54] F.T. Crews, C.A. Boettiger, Impulsivity, frontal lobes and risk for addiction, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 93 (2009) 237–247, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.04.018>.
- [55] M.R. Mitchell, M.N. Potenza, Recent insights into the neurobiology of impulsivity, *Curr. Addict. Rep.* 1 (2014) 309–319, <https://doi.org/10.1007/s40429-014-0037-4>.
- [56] H. de Wit, Impulsivity as a determinant and consequence of drug use, *Addict. Biol.* 14 (2008) 22–31, <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2008.00129.x>. Impulsivity.
- [57] J. MacKillop, C.W. Kahler, Delayed reward discounting predicts treatment response for heavy drinkers receiving smoking cessation treatment, *Drug Alcohol Depend.* 104 (2009) 197–203, <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2009.04.020>.
- [58] R. Yi, S.H. Mitchell, W.K. Bickel, Delay discounting and substance abuse-dependence, in: G.J. Madden, W.K. Bickel (Eds.), *Impulsivity: The Behavioral and Neurological Science of Discounting*, APA Books, Washington, 2010, pp. 191–211.
- [59] N.M. Petry, G.J. Madden, Discounting and pathological gambling, in: G.J. Madden, W.K. Bickel (Eds.), *Impulsivity: The Behavioral and Neurological Science of Discounting*, APA Books, Washington, 2010, pp. 273–294.
- [60] J.N.S. Jackson, J. MacKillop, Attention deficit hyperactivity disorder and monetary delay discounting: a meta-analysis of case-control studies, *Biol. Psychiatry* 1 (2016) 316–325, <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2016.01.007>. Attention-Deficit/Hyperactivity.
- [61] C. Davis, K. Patte, C. Curtis, C. Reid, Immediate pleasures and future consequences. A neuropsychological study of binge eating and obesity, *Appetite*. 54 (2010) 208–213, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.11.002>.
- [62] E.B. Rasmussen, S.R. Lawyer, W. Reilly, Percent body fat is related to delay and probability discounting for food in humans, *Behav. Process.* 83 (2010) 23–30, <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2009.09.001>.
- [63] R.E. Weller, E.W. Cook, K.B. Avsar, J.E. Cox, Obese women show greater delay discounting than healthy-weight women, *Appetite* 51 (2008) 563–569, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.04.010>.
- [64] K. van den Akker, P. Bongers, I. Hanssen, A. Jansen, Validation of prospective portion size and latency to eat as measures of reactivity to snack foods, *Appetite*. 116 (2017) 480–486, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.05.049>.
- [65] S.P. Vickers, S. Goddard, R.J. Brammer, P.H. Hutson, D.J. Heal, Investigation of impulsivity in binge-eating rats in a delay-discounting task and its prevention by the d-amphetamine prodrug, lisdexamfetamine, *J. Psychopharmacol.* 31 (2017) 784–797, <https://doi.org/10.1177/0269881117691672>.
- [66] J.W. Dalley, J.P. Roiser, Dopamine, serotonin and impulsivity, *Neuroscience*. 215 (2012) 42–58, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.065>.
- [67] S. Kim, D. Lee, Prefrontal cortex and impulsive decision making, *Biol. Psychiatry* 69 (2011) 1140–1146, <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.07.005>.
- [68] B. Setlow, I.A. Mendez, M.R. Mitchell, N.W. Simon, Effects of Chronic Administration of Drugs of Abuse on Impulsive Choice (Delay Discounting) in Animal Models, vol. 20, (2010), pp. 380–389, <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3283305eb4.Effects>.
- [69] S.B. Floresco, M.T.L. Tse, S. Ghods-Sharifi, Dopaminergic and glutamatergic regulation of effort- and delay-based decision making, *Neuropsychopharmacology*. 33 (2008) 1966–1979, <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301565>.
- [70] K. Shiels, L.W. Hawk, B. Reynolds, R.J. Mazzullo, J.D. Rhodes, W.E. Pelham, J.G. Waxmonsky, B.P. Gangloff, Effects of methylphenidate on discounting of delayed rewards in attention deficit/hyperactivity disorder, *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 17 (2009) 291–301, <https://doi.org/10.1037/a0017259>.
- [71] J.L. Perry, D.J. Stairs, M.T. Bardo, Impulsive Choice and Environmental Enrichment: Effects of d- Amphetamine and Methylphenidate, vol. 6, (2008), pp. 790–795, <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2014.02.014>. Lumbar.
- [72] J.J. Stanis, H.M. Avila, M.D. White, J.M. Gulley, Dissociation between long-lasting behavioral sensitization to amphetamine and impulsive choice in rats performing a delay- discounting task, *Psychopharmacology*. 199 (2009) 539–548, <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1182-z>. Dissociation.
- [73] T.E. Wooters, M.T. Bardo, Methylphenidate and Fluphenazine, but Not Amphetamine, Differentially Affect Impulsive Choice in Spontaneously Hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley Rats, vol. 6, (2015), pp. 790–795, <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2014.02.014>. Lumbar.
- [74] T.R. Wade, H. De Wit, J.B. Richards, Effects of dopaminergic drugs on delayed reward as a measure of impulsive behavior in rats, *Psychopharmacology* 150 (2000) 90–101, <https://doi.org/10.1007/s002130000402>.
- [75] M.M. van Gaalen, R. van Koten, A.N.M. Schoffelemeier, L.J.M.J. Vanderschuren, Critical involvement of dopaminergic neurotransmission in impulsive decision making, *Biol. Psychiatry* 60 (2006) 66–73, <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.06.005>.
- [76] M. Loos, T. Pattij, M.C.W. Janssen, D.S. Counotte, A.N.M. Schoffelemeier, A.B. Smit, S. Spijker, M.M. Van Gaalen, Dopamine receptor D1/D5 gene expression in the medial prefrontal cortex predicts impulsive choice in rats, *Cereb. Cortex* 20 (2010) 1064–1070, <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp167>.
- [77] S. Mobini, S. Body, M.Y. Ho, C. Bradshaw, E. Szabadi, J. Deakin, I. Anderson, Effects of lesions of the orbitofrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement, *Psychopharmacology* 160 (2002) 290–298, <https://doi.org/10.1007/s00213-001-0983-0>.
- [78] S. Kheramin, S. Body, M.Y. Ho, D.N. Velázquez-Martínez, C.M. Bradshaw, E. Szabadi, J.F.W. Deakin, I.M. Anderson, Effects of orbital prefrontal cortex dopamine depletion on inter-temporal choice: a quantitative analysis, *Psychopharmacology (Berl)* 175 (2004) 206–214, <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1813-y>.
- [79] C.A. Winstanley, Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice, *J. Neurosci.* 24 (2004) 4718–4722, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5606-03.2004>.
- [80] F.D. Zeeb, S.B. Floresco, C.A. Winstanley, Contributions of the orbitofrontal cortex to impulsive choice: interactions with basal levels of impulsivity, dopamine signalling, and reward-related cues, *Psychopharmacology* 211 (2010) 87–98, <https://doi.org/10.1007/s00213-010-1871-2>.
- [81] C.A. Boettiger, J.M. Mitchell, V.C. Tavares, M. Robertson, G. Joslyn, M. D’Esposito, H.L. Fields, Immediate reward bias in humans: fronto-parietal networks and a role for the catechol-O-methyltransferase 158Val/Val genotype, *J. Neurosci.* 27 (2007) 14383–14391, <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2551-07.2007>.
- [82] A.C. Burton, V. Kashtelyan, D.W. Bryden, M.R. Roesch, Increased firing to cues that predict low-value reward in the medial orbitofrontal cortex, *Cereb. Cortex* 24 (2014) 3310–3321, <https://doi.org/10.1093/cercor/bht189>.
- [83] P.R. Dunkley, L. Bobrovskaya, M.E. Graham, E.I. Nagy-Felsobuki, P.W. Dickson, Tyrosine hydroxylase phosphorylation: regulation and consequences, *J. Neurochem.* 91 (2004) 1025–1043.
- [84] K. Ballard, B. Knutson, Dissociable neural representations of future reward magnitude and delay during temporal discounting, *Neuroimage*. 45 (2010) 143–150, <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.11.004>. Dissociable.
- [85] J.M. Moscarelli, O. Ben-Shahar, A. Ettenberg, Dynamic interaction between medial prefrontal cortex and nucleus accumbens as a function of both motivational state and reinforcer magnitude: a c-Fos immunocytochemistry study, *Brain Res.* (2008) 69–76.
- [86] M.J. Frank, J.A. Fossella, Neurogenetics and pharmacology of learning, motivation, and cognition, *Neuropsychopharmacology*. 36 (2010) 133–152, <https://doi.org/10.1038/npp.2010.96>.
- [87] L. Maayan, C. Hoogendoorn, V. Sweat, A. Convit, Disinhibited Eating in Obese Adolescents Is Associated with Orbitofrontal Volume Reductions and Executive Dysfunction, vol. 19, (2012), pp. 1382–1387, <https://doi.org/10.1038/oby.2011.15>. Disinhibited.
- [88] J. Guo, W.K. Simmons, P. Herscovitch, A. Martin, K.D. Hall, Striatal Dopamine D2-like Receptor Correlation Patterns with Human Obesity and Opportunistic Eating

- Behavior, vol. 19, (2015), pp. 1078–1084, <https://doi.org/10.1038/mp.2014.102>.
- [89] B.J. Weiland, M.M. Heitzeg, D. Zald, C. Cummiford, T. Love, R.A. Zucker, J. Zubieta, Relationship between impulsivity, prefrontal anticipatory activation, and striatal dopamine release during rewarded task performance, *Psychiatry Res.* 223 (2015) 244–252, <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.05.015>.
- [90] J.W. Kable, P.W. Glimcher, The Neural Correlates of Subjective Value during Intertemporal Choice, vol. 10, (2007), pp. 1625–1633, <https://doi.org/10.1038/nn2007>.
- [91] P.A. Tatarani, J.-F. Gautier, K. Chen, A. Ueckern, D. Bandy, A.D. Salbe, R.E. Pratley, M. Lawson, E.M. Reiman, E. Avussin, Neuroanatomical Correlates of Hunger and Satiation in Humans Using Positron Emission Tomography, vol. 96, (1999), pp. 4569–4574.
- [92] A.D.E.L. Parigi, J. Gautier, K. Chen, A.D. Salbe, E. Ravussin, E. Reiman, P.A. Tataranni, Mapping the brain responses to hunger and satiation in humans using positron emission tomography, *Neuroimaging Obes. Mapp.* (2002) 389–397.
- [93] S. Kullmann, M. Heni, R. Veit, C. Ketterer, A. Fritsche, H. Preissl, F. Schick, H. Ha, The Obese Brain: Association of Body Mass Index and Insulin Sensitivity with Resting State Network Functional Connectivity, vol. 1061, (2012), pp. 1052–1061, <https://doi.org/10.1002/hbm.21268>.
- [94] L. Diergaarde, T. Pattij, I. Poortvliet, F. Hogenboom, W. De Vries, A.N.M. Schoffelmeer, T.J. De Vries, Impulsive Choice and Impulsive Action Predict Vulnerability to Distinct Stages of Nicotine Seeking in Rats, (2008), <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.07.011>.
- [95] D.J. Mechelmans, D. Strelchuk, N. Doñamayor, P. Banca, T.W. Robbins, K. Baek, V. Voon, Reward Sensitivity and Waiting Impulsivity: Shift towards Reward Valuation away from Action Control, vol. 20, (2017), pp. 971–978, <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx072>.
- [96] A.T. Marshall, Mechanisms of Impulsive Choice: III. The Role of Reward Processes, (2017), pp. 134–148, <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2015.10.013>.
- [97] M. Darna, J.J. Chow, J.R. Yates, R.J. Charnigo, J.S. Beckmann, M.T. Bardo, L.P. Dwoskin, Role of serotonin transporter function in rat orbitofrontal cortex in impulsive choice, *Behav. Brain Res.* 293 (2015) 134–142, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.07.025>.
- [98] C.A. Winstanley, D.E.H. Theobald, J.W. Dalley, T.W. Robbins, Interactions between serotonin and dopamine in the control of impulsive choice in rats: therapeutic implications for impulse control disorders, *Neuropsychopharmacology.* 30 (2005) 669–682, <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300610>.
- [99] D. Seo, C.J. Patrick, P.J. Kennealy, Role of serotonin and dopamine system interactions in the neurobiology of impulsive aggression and its comorbidity with other clinical disorders, *Rev. Neurol.* 36 (2003) 805–811, <https://doi.org/10.1016/j.avb.2008.06.003>.
- [100] A. Jensen, H.J. Klonne, A. Detmer, A.M. Carter, Catecholamine and serotonin concentrations in fetal guinea-pig brain: relation to regional cerebral blood flow and oxygen delivery in the growth-restricted fetus, *Reprod. Fertil. Dev.* 8 (1996) 355–364, <https://doi.org/10.1071/RD9960355>.
- [101] M. Sano, V. Ferchaud-Roucher, B. Kaeffer, G. Poupeau, B. Castellano, D. Darmaun, Maternal and fetal tryptophan metabolism in gestating rats: effects of intrauterine growth restriction, *Amino Acids* 48 (2016) 281–290, <https://doi.org/10.1007/s00726-015-2072-4>.

4.1. RESULTADOS COMPLEMENTARES

Níveis de tirosina hidroxilase fosforilada e de tirosina hidroxilase em recém-nascidos

As figuras a seguir mostram o conteúdo de pTH, TH e a razão pTH/TH no córtex pré-frontal de fêmeas recém nascidas. A análise dos níveis de pTH (Controle $0,783 \pm 0,09$; FR $1,211 \pm 0,17$; $n=6$ /grupo) e TH (Controle $0,874 \pm 0,11$; FR $0,820 \pm 0,12$; $n=6$ /grupo) não revelou diferenças significativas entre os grupos (teste-t de Student, $t(10)=2,174$, $p>0,05$ e $t(10)=0,314$, $p>0,05$ respectivamente). Contudo, a análise da razão entre os níveis de pTH/TH mostrou que as fêmeas do grupo FR apresentam razões mais elevadas (Controle $0,867 \pm 0,06$; FR $1,627 \pm 0,26$; $n=6$ /grupo) quando comparados aos animais do grupo Controle ($t(10)=2,748$, $p<0,05$).

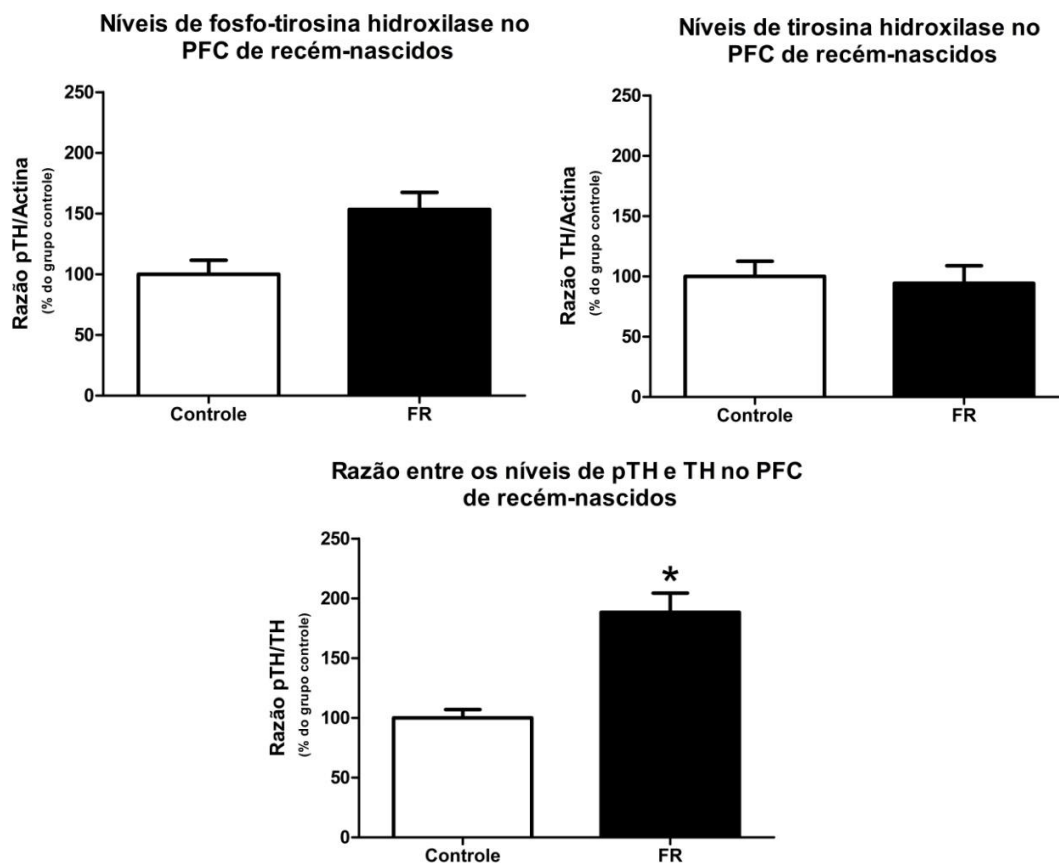


Figura 6: Níveis de fosfo-tirosina hidroxilase (pTH), tirosina hidroxilase (TH) e razão pTH/TH no córtex pré-frontal de recém-nascidos. Dados expressos em porcentagem do grupo controle + E.P.M. * diferença significativa comparado ao grupo Controle ($p < 0,05$). $n=6$ /grupo.

Níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT em recém-nascidos

Embora tenhamos avaliado os níveis de receptores D1, D2 e DAT em quatro diferentes idades (dia pós natal 1, 21, 80 e 160), apenas os resultados referentes às duas idades mais avançadas foram incluídas no artigo. Desta forma, os resultados referentes ao dia 1 e ao dia 21 de vida são apresentados neste capítulo como resultados complementares.

A análise do PFC em animais recém-nascidos não revelou alterações significativas nos níveis de receptores D1 (Controle $0,840 \pm 0,18$; FR $0,860 \pm 0,14$; $n=7$ /grupo) D2 (Controle $0,591 \pm 0,08$; FR $0,433 \pm 0,05$; $n=5$ /grupo) e DAT (Controle

0,498 ± 0,07; FR 0,610 ± 0,13; n=5/grupo), (teste-t de Student, t(12)=0,085, p>0,05; t(8)=1,593, p>0,05 e t(8)=0,764, p>0,05 respectivamente).

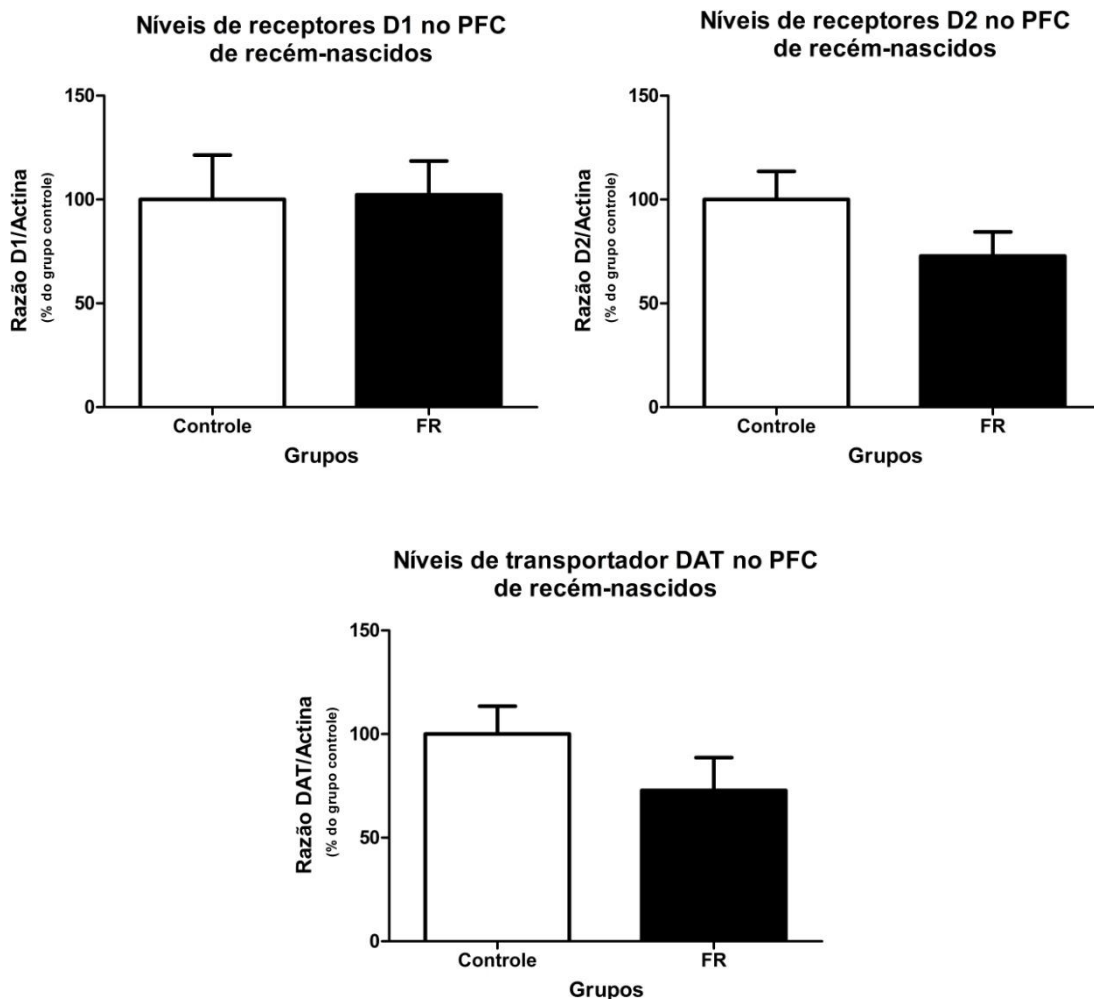


Figura 7: Níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT no córtex pré-frontal de recém-nascidos. Dados expressos em porcentagem do grupo controle + E.P.M.

Níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT aos 21 dias de vida

Para os animais em idade de desmame (21 dias de vida), as análises foram feitas separadamente para o córtex pré-frontal medial e para o córtex orbitofrontal. No córtex pré-frontal medial, a análise revelou não haver diferenças significativas entre os grupos nos níveis de D1 (Controle 0,570 ± 0,11; FR 0,794 ± 0,09; n=7

Adlib/6 FR), D2 (Controle $1,995 \pm 0,31$; FR $2,386 \pm 0,30$; $n=7$ Adlib/6 FR) e DAT (Controle $0,388 \pm 0,03$; FR $0,466 \pm 0,04$; $n=7$ Adlib/6 FR) (teste-t de Student, $t(11)=1,505$, $p>0,05$; $t(11)=0,880$, $p>0,05$ e $t(11)=1,353$, $p>0,05$ respectivamente).

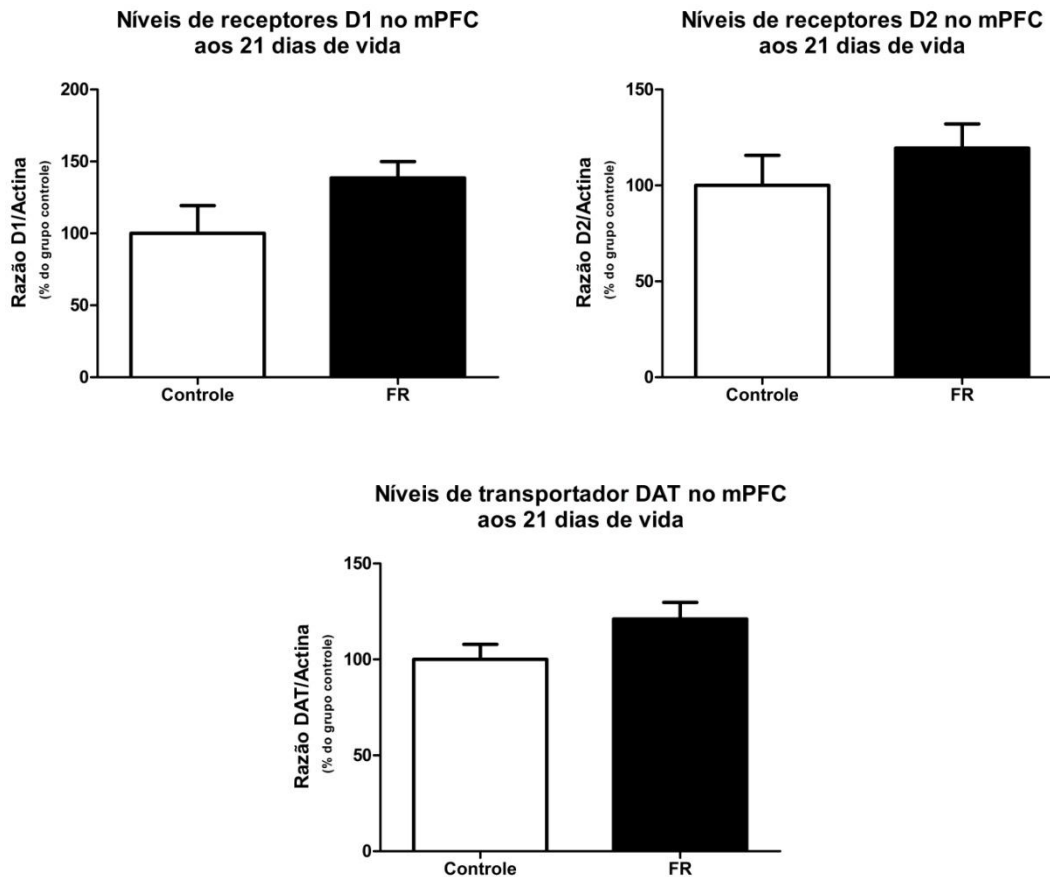


Figura 8: Níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT no córtex pré-frontal medial (mPFC) aos 21 dias de vida. Dados expressos em porcentagem do grupo controle + E.P.M.

Resultados semelhantes foram encontrados no córtex orbitofrontal destes animais, onde a análise estatística não mostrou diferenças significativas nos níveis de receptores D1 (Controle $0,334 \pm 0,03$; FR $0,314 \pm 0,05$; $n=7$ /grupo), D2 (Controle $1,607 \pm 0,14$; FR $1,897 \pm 0,44$; $n=7$ /grupo) e DAT (Controle $1,577 \pm 0,18$; FR $1,315 \pm 0,20$; $n=7$ /grupo) (teste-t de Student, $t(12)=0,277$, $p>0,05$; $t(12)=0,613$, $p>0,05$ e $t(12)=0,933$, $p>0,05$ respectivamente).

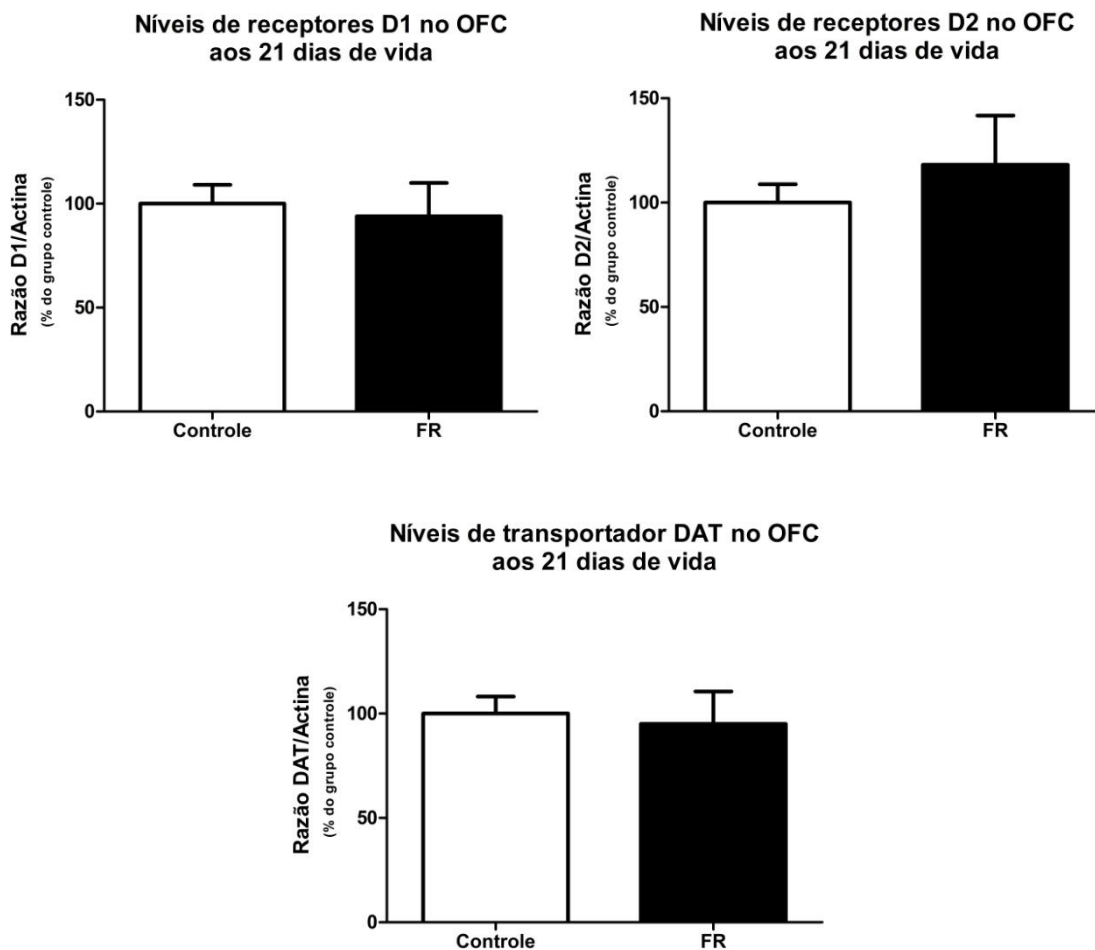


Figura 9: Níveis de receptores D1, D2 e transportador DAT no córtex orbitofrontal (OFC) aos 21 dias de vida. Dados expressos em porcentagem do grupo controle + E.P.M.

Uma vez que as proteínas avaliadas neste trabalho foram expressas em função de seus níveis de actina, realizamos uma comparação adicional entre os níveis desta proteína para cada grupo em cada uma das membranas utilizadas. Esta análise não demonstrou diferenças significativas nos níveis de actina entre os grupos Controle e FR, indicando que os resultados encontrados não são o produto de alterações nos próprios níveis de actina entre os grupos.

5. CAPÍTULO 2

Plasticidade sináptica e caracterização da dinâmica de liberação de dopamina no mPFC e no OFC num contexto de exposição a pistas alimentares e em resposta ao consumo de alimentos palatáveis

5.1. RESULTADOS

5.1.1. Níveis de sinaptofisina

Níveis de sinaptofisina (Syn) nos córtex pré-frontal medial e orbitofrontal de animais em idade pré-púbere

A análise dos níveis de sinaptofisina aos 21 dias de vida no mPFC não demonstrou alterações significativas entre os grupos (Controle $1,650 \pm 0,21$; FR $2,057 \pm 0,24$; $n= 6/\text{grupo}$; $t(10)=1,256$, $p>0,05$). Já no OFC, os animais do grupo FR apresentaram níveis diminuídos desta proteína (Controle $1,229 \pm 0,10$; FR $0,929 \pm 0,07$; $n= 6/\text{grupo}$) em comparação aos animais do grupo controle (teste-t de *Student*, $t(10)=2,300$, $p<0,05$).

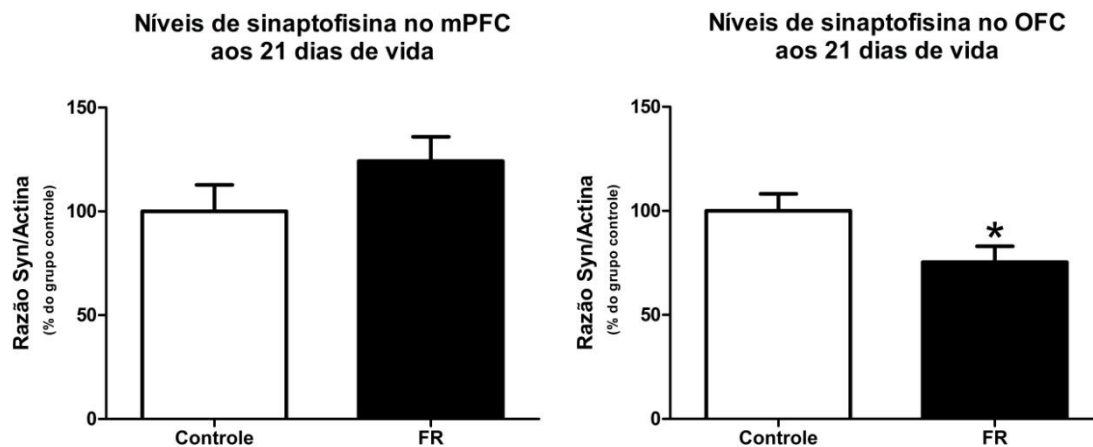


Figura 10: Níveis de sinaptofisina (Syn) no córtex pré-frontal medial e no córtex orbitofrontal no dia pós-natal 21. Dados expressos em porcentagem do grupo controle + E.P.M. * diferença significativa comparado ao grupo Controle ($p<0,05$).

Níveis de sinaptofisina (Syn) nos córtex pré-frontal medial e orbitofrontal de animais em idade adulta

Aos 80 dias de vida, mais uma vez não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nos níveis de sinaptofisina no mPFC (Controle $2,033 \pm 0,15$; FR $2,250 \pm 0,21$; $n = 7$ Controle/6 FR; $t(11)=0,841$, $p>0,05$). Contudo, e de maneira oposta ao que foi observado nos animais em idade pré-púbere, os animais do grupo FR apresentaram níveis elevados de sinaptofisina no OFC quando comparados aos níveis encontrados nos animais controle (Controle $1,064 \pm 0,12$; FR $1,379 \pm 0,05$; $n = 7$ Controle/6 FR; $t(11)=2,467$, $p<0,05$).

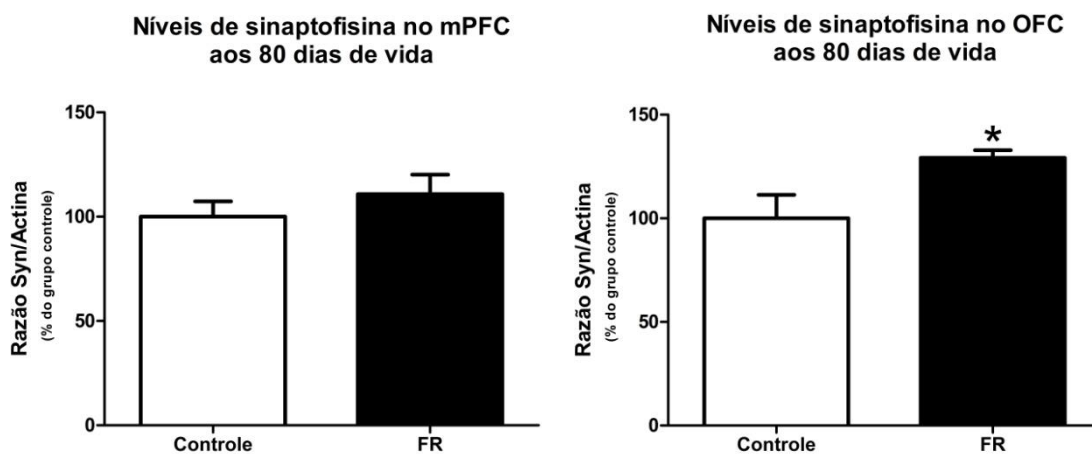


Figura 11: Níveis de sinaptofisina (Syn) no córtex pré-frontal medial e no córtex orbitofrontal no dia pós-natal 80. Dados expressos em porcentagem do grupo controle + E.P.M. *diferença significativa comparado ao grupo Controle ($p<0,05$).

5.1.2. Registro eletroquímico da liberação de dopamina - dia 1 de registro

Liberação média de dopamina no mPFC e no OFC durante o consumo do primeiro e do último Froot Loops

Comparamos a liberação média de dopamina durante a ingestão do primeiro e do último Froot Loops consumidos durante o dia 1 de registro eletroquímico. No córtex pré-frontal medial, a ANOVA de duas vias utilizando Grupo e Froot Loops (primeiro ou último) como fatores e o número total de FL consumidos como covariável revelou um efeito significativo da variável Froot Loops ($F(1,19)=7,00$; $p<0,05$). O teste *Post Hoc* mostrou que, nos animais do grupo Controle, os níveis de dopamina durante o consumo da última unidade de Froot Loops foram significativamente menores que os níveis medidos durante o consumo do primeiro FL (Bonferroni $p=0,025$). Para os animais do grupo FR não houve diferença nos níveis de dopamina entre o primeiro e o último Froot Loops (Bonferroni $p>0,05$). A análise não demonstrou efeito isolado do grupo ($F(1,19)=3,26$; $p>0,05$) ou interação entre as variáveis ($F(1,19)=0,62$; $p>0,05$). Não houve efeito da covariável número de FL consumidos.

Níveis médios de dopamina no mPFC durante o consumo do primeiro X último Froot Loops

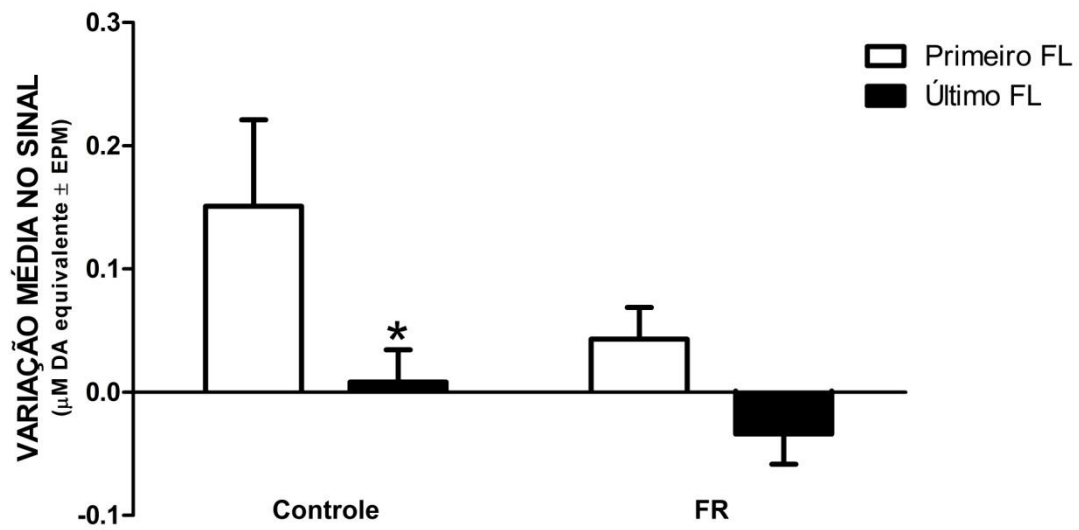


Figura 12: Níveis médios de dopamina registrados durante o consumo da primeira e da última unidade de Froot Loops (FL) no mPFC. Barras brancas = primeiro FL e barras pretas = último FL. *indica diferença significativa entre o primeiro e o último FL para o mesmo grupo. Dados expressos em média \pm E.P.M. Two-way ANOVA seguida de teste *post hoc* de Bonferroni, $p < 0.05$. n amostral=6/grupo.

No córtex orbitofrontal, a análise não demonstrou efeito isolado do grupo ($F(1,19)=0,008$; $p>0,05$), do Froot Loops ($F(1,19)=2,48$; $p>0,05$) ou interação entre as variáveis ($F(1,20)=0,65$; $p>0,05$), demonstrando que não há diferença nos níveis médios de dopamina liberados durante o consumo do primeiro e do último Froot Loops entre os grupos.

Níveis médios de dopamina no OFC durante o consumo do primeiro X último Froot Loops

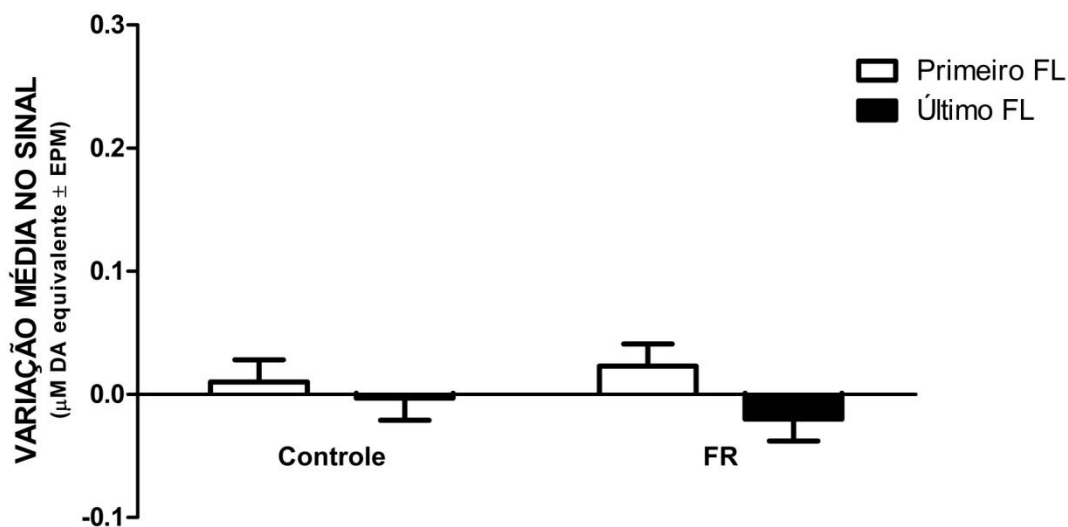


Figura 13: Níveis médios de dopamina registrados durante o consumo da primeira e da última unidade de Froot Loops (FL) no OFC. Barras brancas = primeiro FL e barras pretas = último FL. Dados expressos em média \pm E.P.M. Two-way ANOVA, $p < 0.05$. n amostral=6/grupo.

Níveis médios de dopamina no mPFC ao longo do teste

Nas figuras abaixo podemos visualizar a dinâmica de liberação de dopamina durante o período de 60 minutos a partir do momento em que os animais receberam os *pellets* de Froot Loops. Os dados foram representados em um intervalo de 60 segundos, ou seja, os pontos no gráfico representam os níveis médios de dopamina a cada 60 segundos do teste. A área cinza do gráfico representa o período de 30 minutos no qual os animais tiveram acesso ao alimento doce.

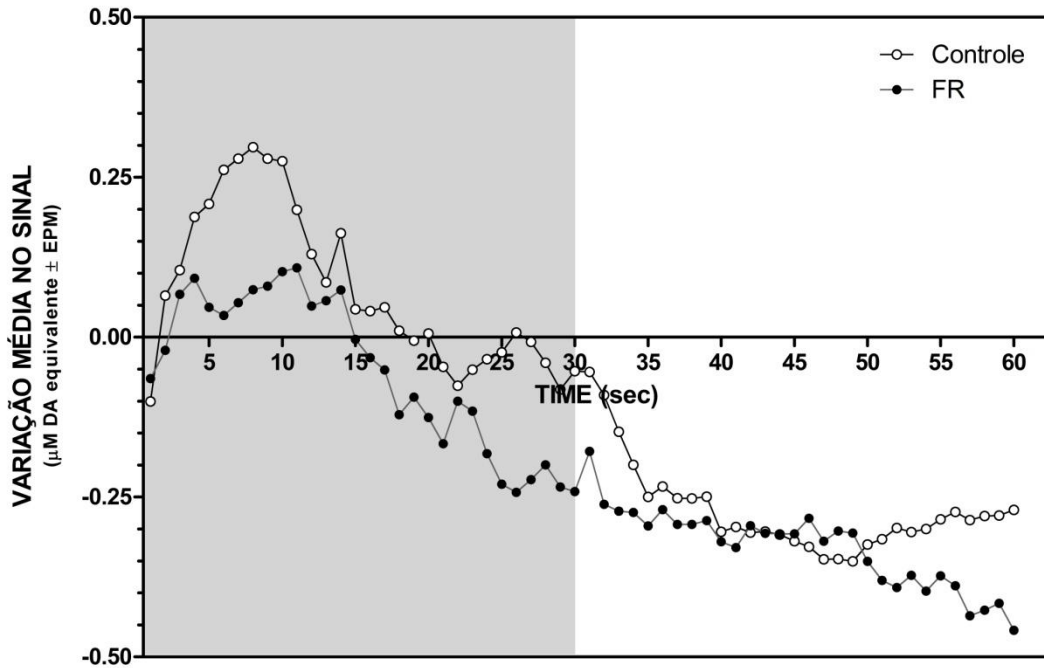
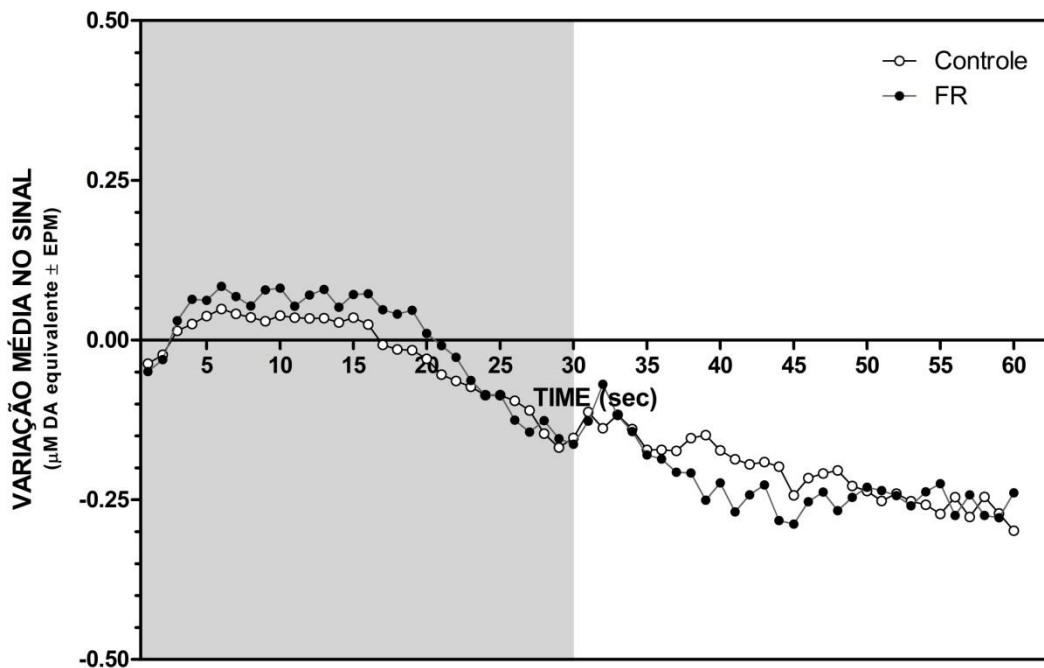
A**Níveis médios de dopamina no mPFC durante 60 minutos após o início da exposição ao Froot Loops****B****Níveis médios de dopamina no OFC durante 60 minutos após o início da exposição ao Froot Loops**

Figura 14: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC (A) e no OFC (B) ao longo de 60 minutos após o início da exposição ao Froot Loops. Círculos brancos = grupo controle (n = 6 mPFC; n = 6 OFC); círculos pretos = grupo FR (n = 5 mPFC; n = 5 OFC). Área em cinza do gráfico representa os 30 minutos de exposição ao FL.

Avaliamos objetivamente três parâmetros específicos da dinâmica de liberação de dopamina ao longo do teste: a amplitude máxima do sinal (*Amp*), o tempo para o sinal atingir sua máxima amplitude (*T_{rise}*) e o tempo decorrido entre a amplitude máxima do sinal e o retorno aos níveis basais (*Decay*) (Figura 15). Para avaliar estes parâmetros utilizamos ANOVA de uma via com grupo como fator e ajustado para o número de Froot Loops consumidos durante o teste.

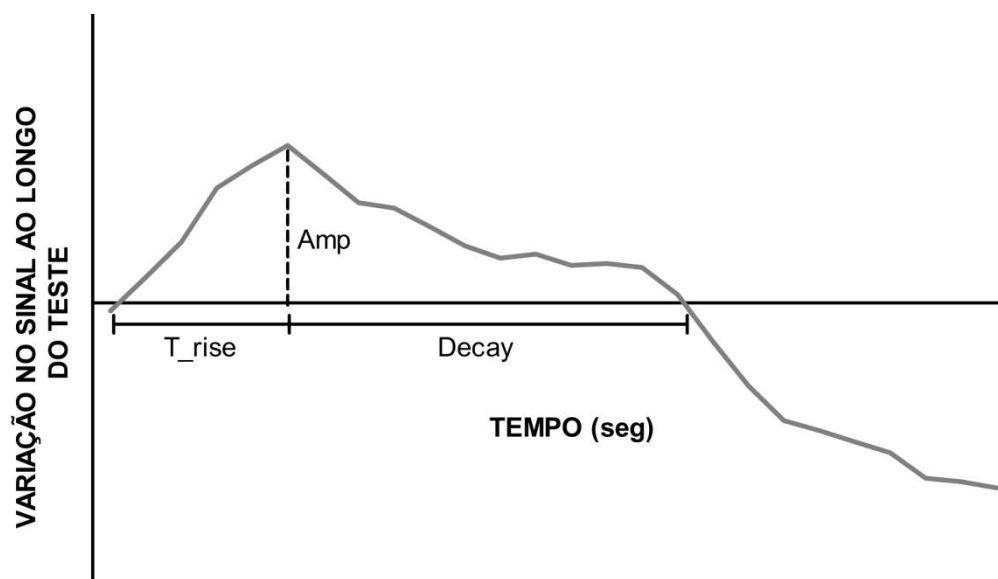


Figura 15: Representação gráfica dos três parâmetros avaliados: amplitude (*Amp*), tempo para atingir o pico (*T_{rise}*) e tempo para voltar aos níveis basais (*Decay*).

No córtex pré-frontal medial, observamos que os animais do grupo FR apresentaram uma diminuição significativa na amplitude dos níveis de dopamina ($F(1,7)=6,81$; $p<0,05$) sem alterar o tempo para atingir o pico ($F(1,7)=0,69$; $p>0,05$), tampouco o tempo necessário para voltar aos níveis basais ($F(1,7)=0,73$; $p>0,05$). Estes resultados demonstram que, embora o padrão de liberação de DA em resposta ao alimento doce seja semelhante para os dois grupos, os animais expostos à restrição de crescimento intrauterino apresentam uma liberação

atenuada ao longo do tempo, fazendo com que a diferença entre os níveis basais e o pico máximo do sinal seja menos acentuada.

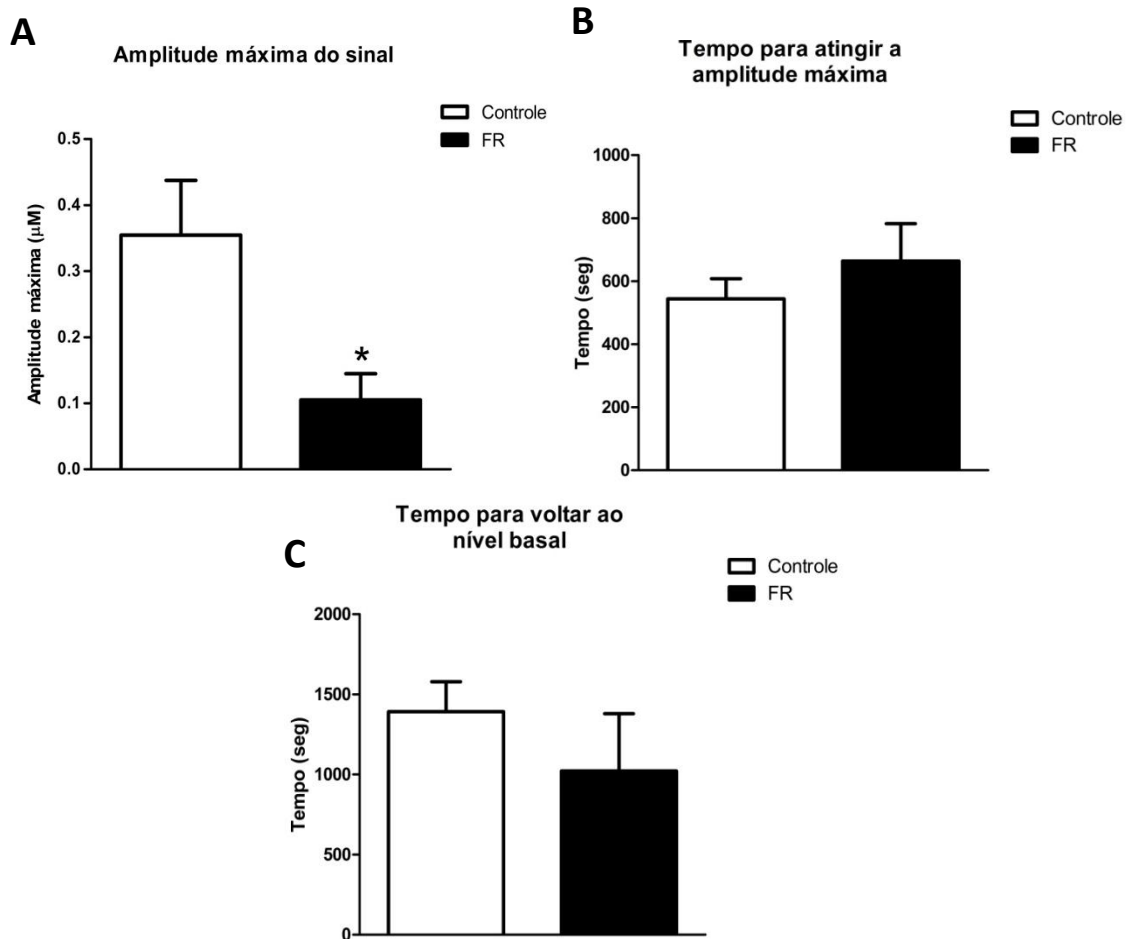


Figura 16: amplitude máxima dos níveis de dopamina (A) e tempo (em segundos) para os níveis de dopamina atingirem o pico (B) e para voltarem aos níveis basais (C) no mPFC. Dados expressos em média \pm E.P.M. $n=5$ para ambos os grupos. * Indica diferença significativa entre os grupos.

No córtex orbitofrontal, onde o aumento nos níveis de dopamina acontece em uma escala menos pronunciada, não encontramos alterações na amplitude do sinal ($F(1,7)=2,57$; $p>0,05$), no tempo para atingir o pico ($F(1,7)=0,35$; $p>0,05$), ou no tempo necessário para voltar ao níveis basais ($F(1,7)=1,42$; $p>0,05$).

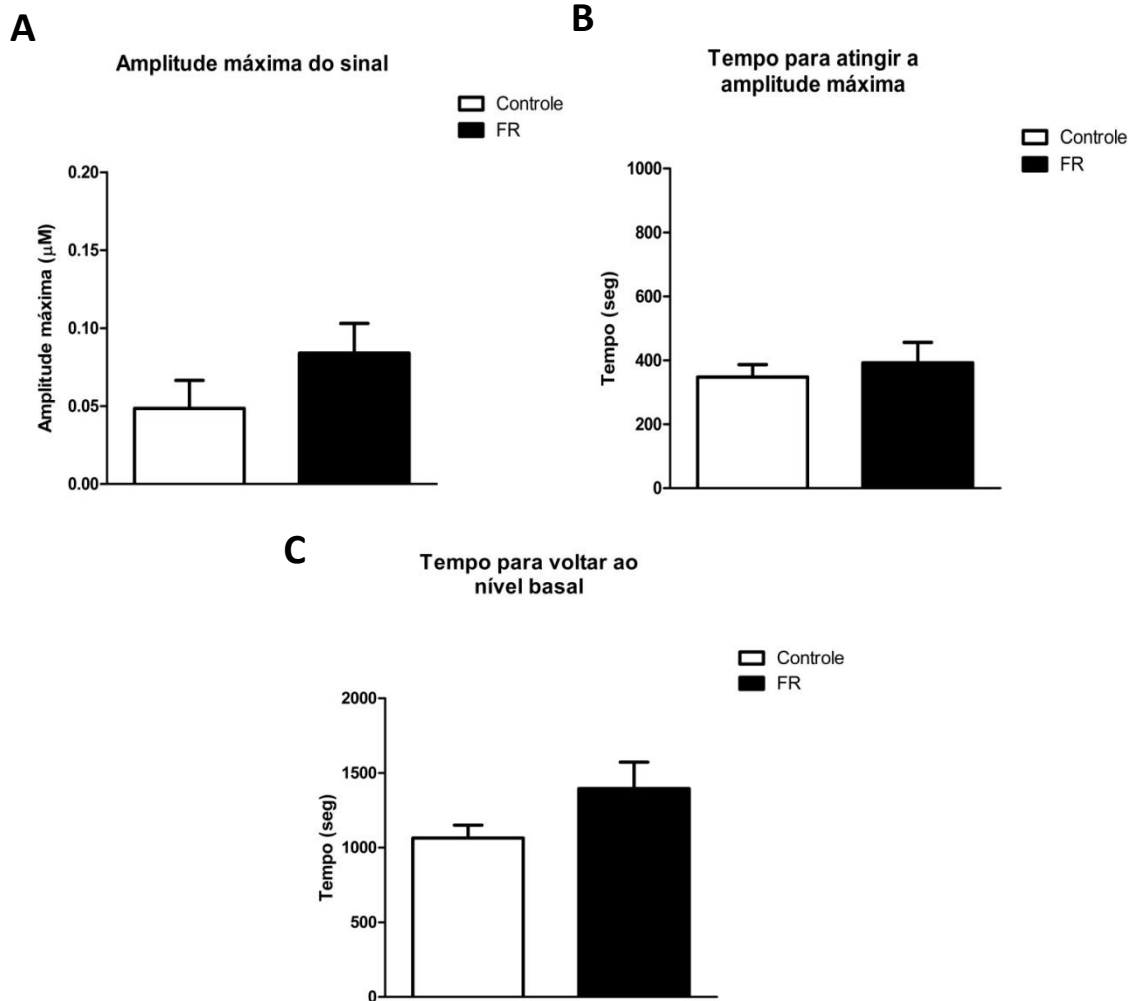


Figura 17: amplitude máxima dos níveis de dopamina (A) e tempo (em segundos) para os níveis de dopamina atingirem o pico (B) e para voltarem aos níveis basais (C) no OFC. Dados expressos em média \pm E.P.M. n=5 para ambos os grupos.

5.1.3. Registro eletroquímico da liberação de dopamina - dia 2 de registro

Erros na previsão da recompensa

No presente experimento, avaliamos a ocorrência de alterações na transmissão dopaminérgica normalmente referidas como "erros na previsão da recompensa (EPRs)". Para avaliarmos a ocorrência de EPRs positivos, comparamos os níveis de dopamina em resposta à última recompensa pequena e

em resposta à primeira recompensa grande (recompensa maior que a prevista) recebida pelos animais do grupo controle. Para avaliarmos a ocorrência de EPRs negativos, comparamos a liberação de dopamina em resposta ao recebimento da última recompensa grande e a resposta ao não recebimento das recompensas após o término do sinal.

Níveis de dopamina no córtex pré-frontal medial durante a ocorrência de erros positivos e negativos na previsão da recompensa

No mPFC dos animais do grupo controle, a análise dos níveis médios de dopamina durante o recebimento da primeira recompensa grande mostrou alterações sutis em comparação aos níveis observados durante o recebimento da última recompensa pequena (Figura 18). Podemos observar que, ao receber uma recompensa maior do que a prevista, os níveis de DA apresentaram um perceptível aumento nos primeiros segundos após o término do sinal. Em contraste, os níveis de dopamina neste mesmo período, e em resposta à recompensa prevista (pequena), apresentaram certo grau de declínio (área destacada em vermelho no gráfico). Ao que parece, o recebimento inesperado de uma recompensa maior que a habitual levou a uma elevação momentânea nos níveis de DA no mPFC, aumentando a transmissão dopaminérgica e possivelmente sinalizando a ocorrência de um erro positivo na previsão da recompensa.

Níveis de dopamina no mPFC durante o recebimento da última recompensa pequena e da primeira recompensa grande

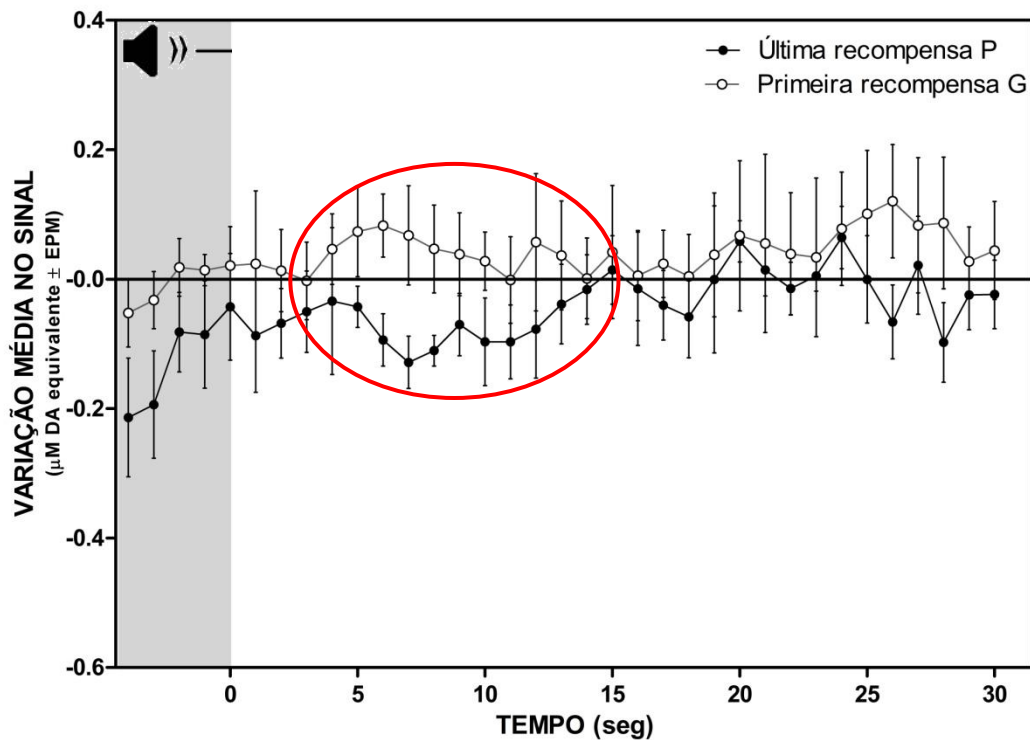


Figura 18: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes. Círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa pequena; círculos brancos = níveis de dopamina no primeiro *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande. $n=6$ para cada magnitude de recompensa. A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

Uma vez que estes resultados sugeriram que a liberação de dopamina poderia sinalizar a ocorrência de erros positivos na previsão da recompensa no mPFC, investigamos se esta sinalização estaria alterada nos animais expostos à restrição de crescimento intrauterino. Ao compararmos os níveis de dopamina em resposta ao recebimento da primeira recompensa grande, não observamos diferenças significativas entre os animais dos grupos Controle e FR (Figura 19). Embora os animais do grupo FR tenham apresentado uma sinalização mais estável, com uma menor elevação após o sinal, ainda assim o padrão observado foi distante do padrão de redução nos níveis de DA observado após o recebimento da recompensa pequena nos animais controle (Figura anterior, 18)

sugerindo que esta sinalização de erro na previsão da recompensa também ocorra nos animais FR e que não seja diferente da sinalização observada nos animais controle.

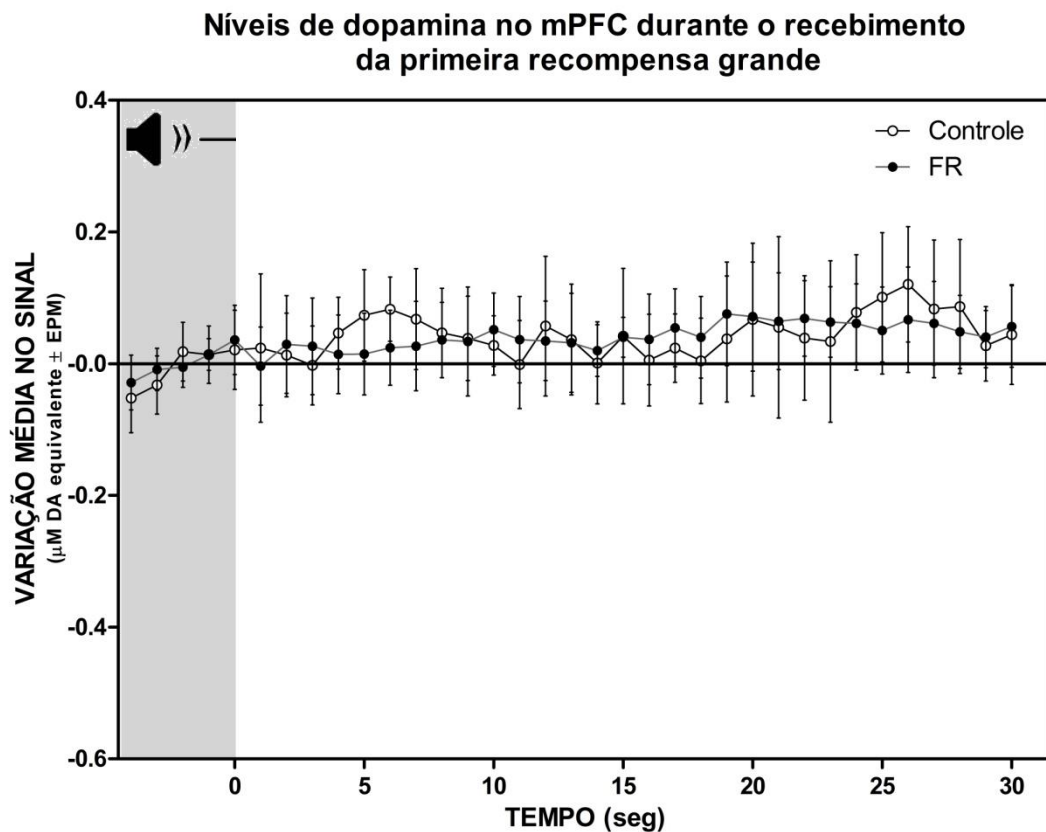


Figura 19: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes no trial em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande. Círculos brancos = animais controle (n=6); círculos pretos = animais do grupo FR (n=5). A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

No cenário oposto, a comparação entre os níveis médios de dopamina em resposta ao recebimento da recompensa grande e ao não recebimento da recompensa esperada, mais uma vez mostrou apenas alterações discretas sobre a sinalização dopaminérgica. No quinto e último trial onde os animais receberam a recompensa grande, ou seja, quando o recebimento desta recompensa maior não era mais novidade, continuamos a perceber um aumento nos níveis de dopamina, especialmente nos primeiros segundos após o sinal. Após estes segundos iniciais

de progressivo aumento, os níveis de DA sustentaram-se elevados em relação aos níveis observados no momento imediatamente anterior ao recebimento das recompensas.

Por sua vez, o não recebimento da recompensa no momento esperado levou a um menor aumento nos níveis de dopamina. Neste caso, uma análise mais detalhada mostra um ligeiro aumento seguido de queda nos níveis de DA nos seis primeiros segundos após o sinal. Após esta rápida oscilação, o sinal da dopamina passou a apresentar um aumento sustentado em seus níveis, mas ainda assim permanecendo abaixo dos níveis observados em resposta ao recebimento da recompensa grande. Visto que o não recebimento da recompensa no momento habitual levou a um padrão atenuado de liberação de dopamina, pode-se propor que os níveis de DA no mPFC também possam sinalizar a ocorrência de erros negativos na previsão da recompensa.

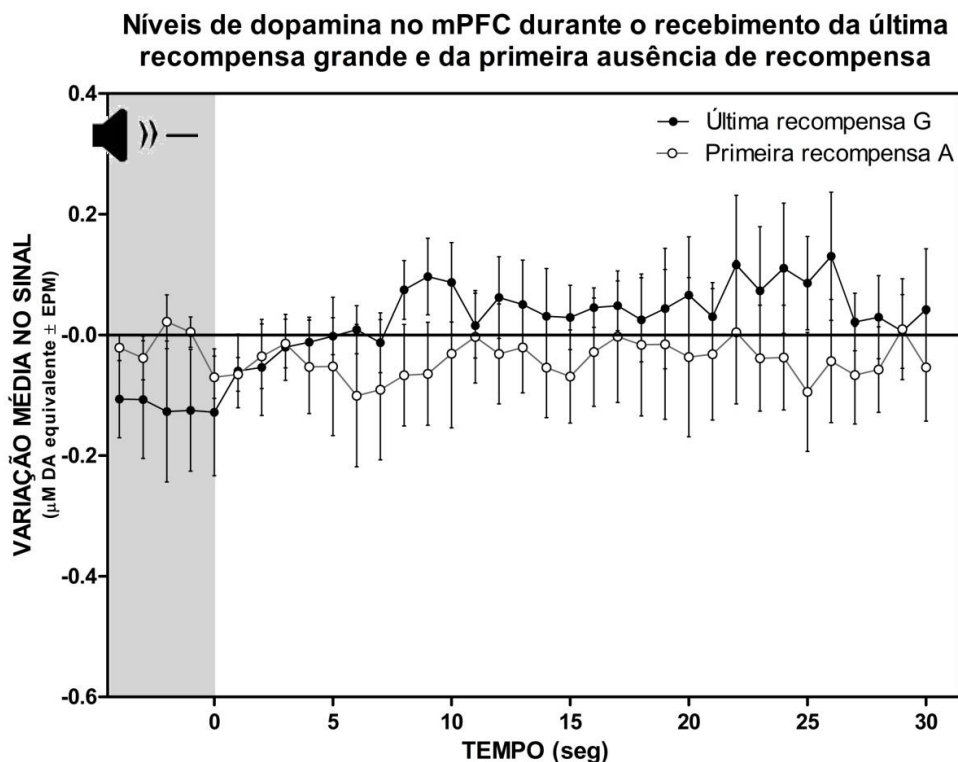


Figura 20: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes. Círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande; círculos brancos = níveis de dopamina no primeiro *trial* em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa. $n=6$ para cada magnitude de recompensa. A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

A comparação entre os dois grupos não mostrou diferenças expressivas no padrão de liberação de dopamina em resposta ao inesperado não recebimento da recompensa após o sinal (Figura 21). Estes dados sugerem que a sinalização de erros negativos na previsão da recompensa no mPFC não seja significativamente afetada pela restrição de crescimento intrauterino.

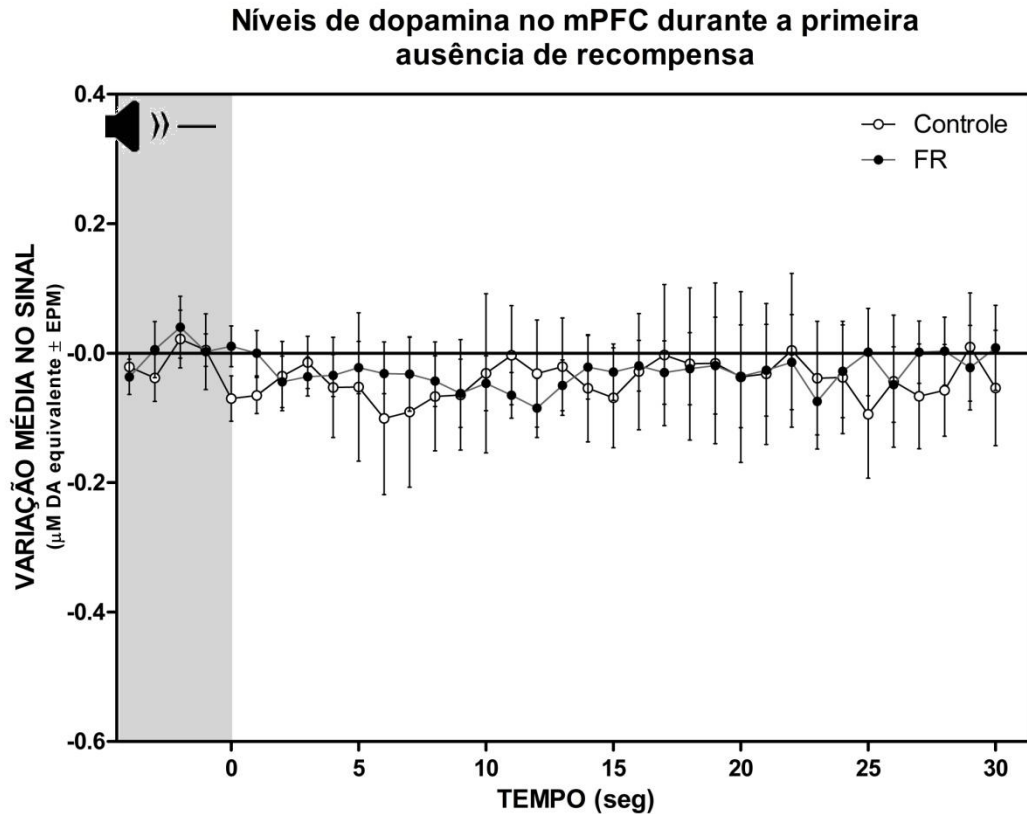


Figura 21: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes no primeiro trial em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa. Círculos brancos = animais controle (n=6); círculos pretos = animais do grupo FR (n=5). A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

Níveis de dopamina no córtex orbitofrontal durante a ocorrência de erros positivos e negativos na previsão da recompensa

A análise dos níveis de dopamina no córtex orbitofrontal em resposta ao recebimento inesperado de uma recompensa maior do que a habitual e em resposta ao não recebimento da recompensa no momento esperado mostrou um padrão de liberação de dopamina bastante estável ao longo do tempo (Figuras 22 e 23). Esta ausência de flutuações expressivas em resposta ao recebimento de uma recompensa diferentes da esperada indica não haver uma sinalização específica associada a ocorrência de erros na previsão da recompensa no OFC.

Níveis de dopamina no OFC durante o recebimento da última recompensa pequena e da primeira recompensa grande

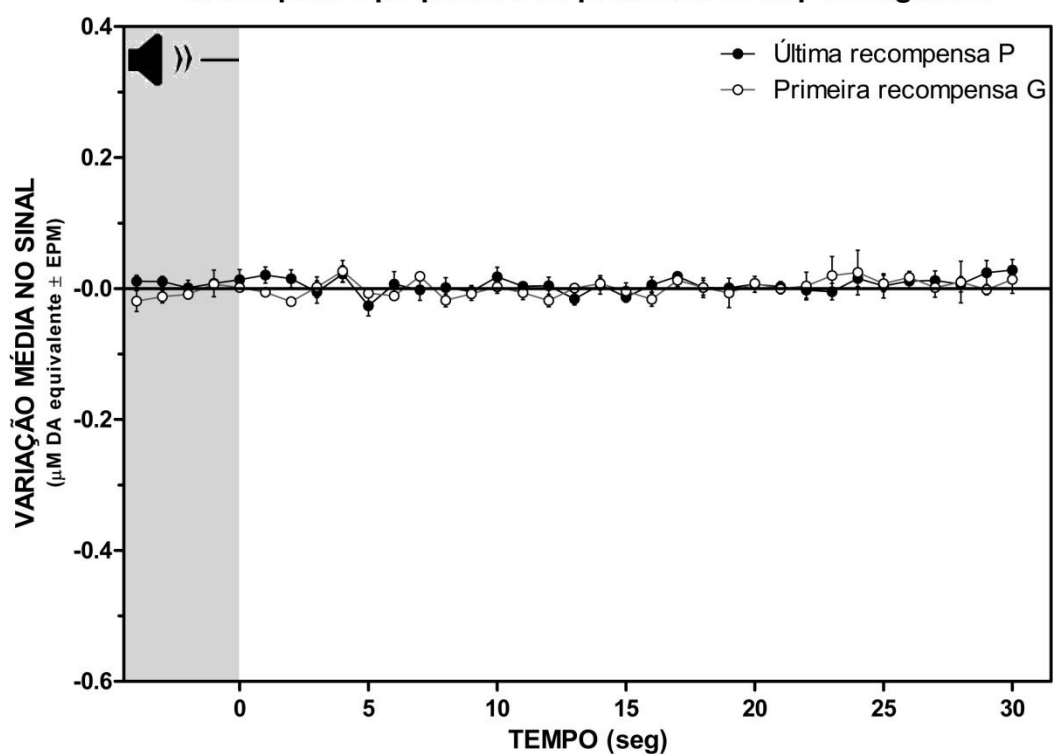


Figura 22: Níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes. Círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa pequena; círculos brancos = níveis de dopamina no primeiro *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande. $n=5$ para cada magnitude de recompensa. A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

Níveis de dopamina no OFC durante o recebimento da última recompensa grande e da primeira ausência de recompensa

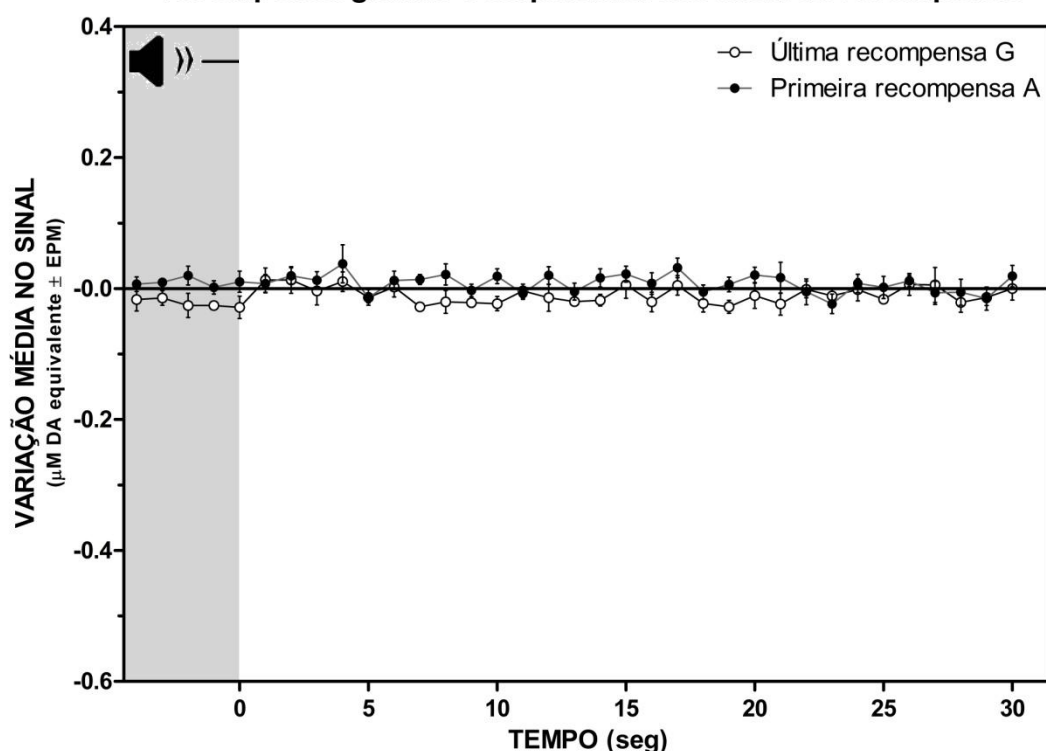


Figura 23: Níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais controle durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes. Círculos brancos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande; círculos pretos = níveis de dopamina no primeiro *trial* em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa. $n=5$ para cada magnitude de recompensa. A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

Como esperado, em decorrência da marcada estabilidade dos níveis de dopamina no OFC, não encontramos diferenças expressivas entre os grupos em resposta à divergência entre as recompensas esperadas e as de fato recebidas, mais uma vez indicando uma baixa responsividade dopaminérgica a estímulos relacionados a recompensas e a ausência de uma sinalização característica de erros na previsão da recompensa nesta região (Figura 24).

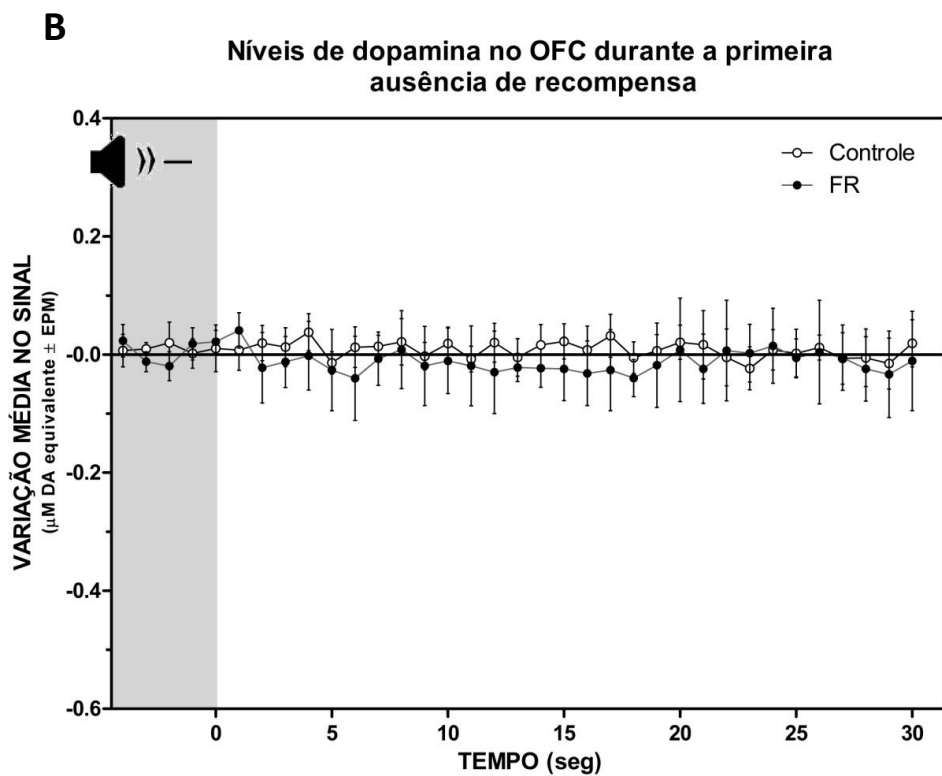
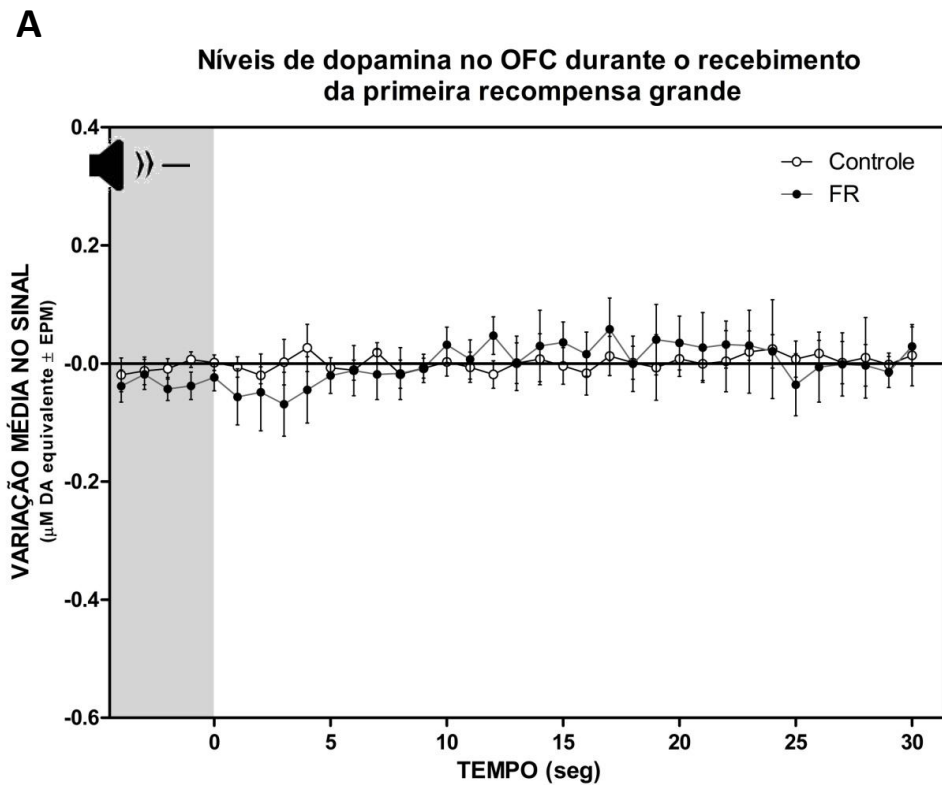


Figura 24: Níveis médios de dopamina registrados no OFC: durante os últimos 5 segundos do sinal sonoro e os 30 segundos seguintes no primeiro trial em que (A) o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa grande e (B) em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa. Círculos brancos = animais controle (n=5); círculos pretos = animais do grupo FR (n=5). A área em cinza do gráfico representa os últimos 5 segundos do sinal sonoro.

Resposta dopaminérgica a pistas que preveem o recebimento de diferentes magnitudes de recompensas alimentares

Adicionalmente, testamos a hipótese de que a restrição de crescimento intrauterino programaria a liberação de DA no PFC durante a apresentação de pistas que preveem o recebimento de recompensas alimentares (resposta antecipatória). Para isto, avaliamos os níveis de dopamina no mPFC e no OFC durante os 30 segundos do estímulo sonoro que antecedia o recebimento das recompensas. Diferentemente do teste anterior, onde desejávamos avaliar a liberação de DA em resposta ao recebimento inesperado de uma recompensa diferente da habitual, aqui o objetivo foi avaliar os níveis de DA na situação em que os animais presumivelmente sabiam qual a magnitude da recompensa que o sinal sonoro estava prevendo. Assim, consideramos os níveis de dopamina durante o último dos trials no qual o sinal foi seguido pela recompensa pequena, durante o último dos trials no qual o sinal foi seguido pela recompensa grande e durante o último dos trials no qual nenhuma recompensa foi fornecida após o término do sinal (respectivamente os trials 15^o, 20^o e 25^o do teste).

Resposta antecipatória no córtex pré-frontal medial

No córtex pré-frontal medial dos animais do grupo controle, observamos um padrão semelhante de flutuação nos níveis de DA no período compreendido entre o início do estímulo sonoro e os 30 segundos subsequentes ao seu término. De forma geral, houve um contínuo declínio nos níveis de dopamina do instante em que o sinal foi iniciado até o seu terço final. A partir deste momento, os níveis de DA passaram a apresentar uma constante elevação, retornando a níveis próximos aos observados no ponto 0 (início do sinal sonoro). De forma bastante perceptível, os níveis de DA associados ao recebimento da grande recompensa

foram os que se mantiveram em níveis mais elevados, enquanto aqueles associados à supressão da recompensa foram os que apresentaram a redução mais acentuada, levando mais tempo para retornar aos níveis basais (Figura 25).

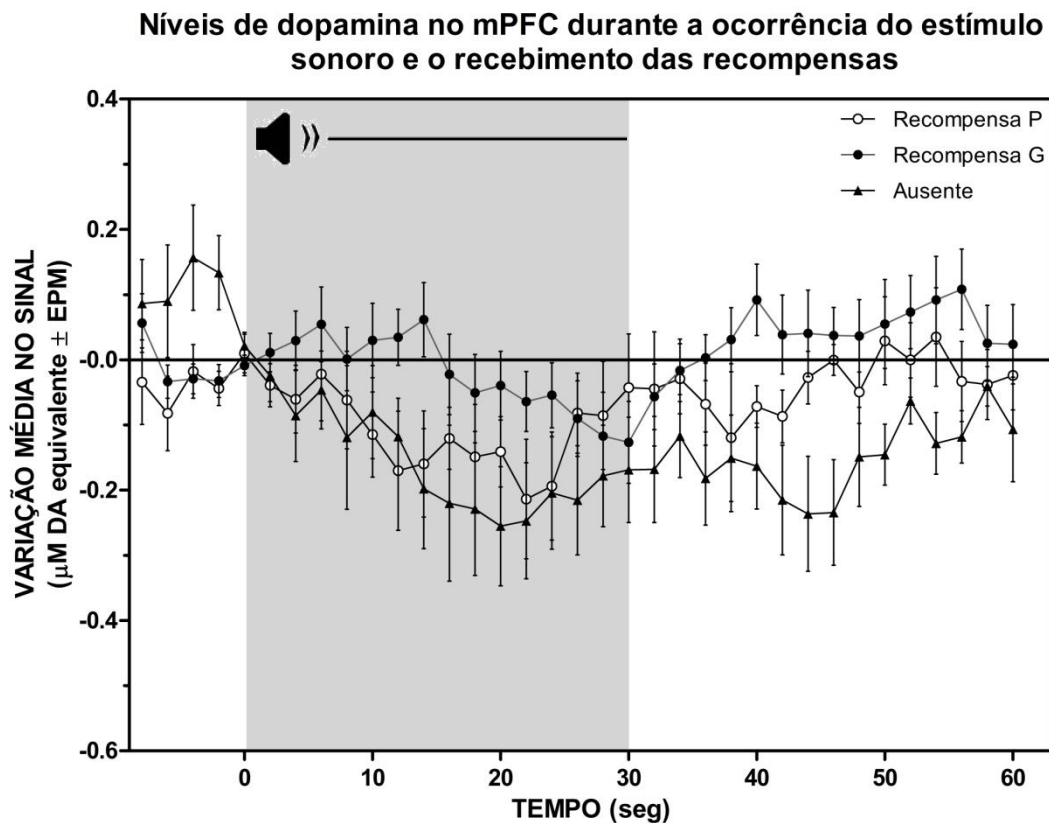


Figura 25: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais controle durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas (área cinza do gráfico) e os 30 segundos seguintes. Círculos brancos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa pequena; círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal foi seguido de uma recompensa grande; triângulo preto = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal deixou de ser seguido de uma recompensa. n=6 para cada magnitude de recompensa.

Estes resultados demonstram que a sinalização dopaminérgica no mPFC é alterada por pistas que preveem o recebimento de recompensas alimentares e que esta sinalização parece ser modulada pelo tamanho da recompensa prevista. Além disso, os dados sugerem que os níveis de DA no mPFC sejam mais afetados pela expectativa de receber uma recompensa do que pelo próprio recebimento e consumo desta recompensa.

Por outro lado, os animais expostos à restrição de crescimento intrauterino apresentaram um padrão alterado de flutuação nos níveis de dopamina. Durante os estímulos sonoros associados ao recebimento das recompensas pequena e grande, observamos que os níveis de dopamina permaneceram praticamente estáveis, não demonstrando o comportamento esperado de queda seguido de recuperação em seus níveis. Assim como para os animais controle, houve apenas uma discreta diferença entre os níveis de dopamina associados às recompensas grande e pequena nos animais restritos. Surpreendentemente, o esperado padrão de flutuação bifásica nos níveis de DA pôde ser observado apenas na condição em que a recompensa deixou de ser fornecida após o sinal (Figura 26). Neste último caso, os animais FR apresentaram uma flutuação bastante acentuada nos níveis de dopamina.

Níveis de dopamina no mPFC durante a ocorrência do estímulo sonoro e o recebimento das recompensas

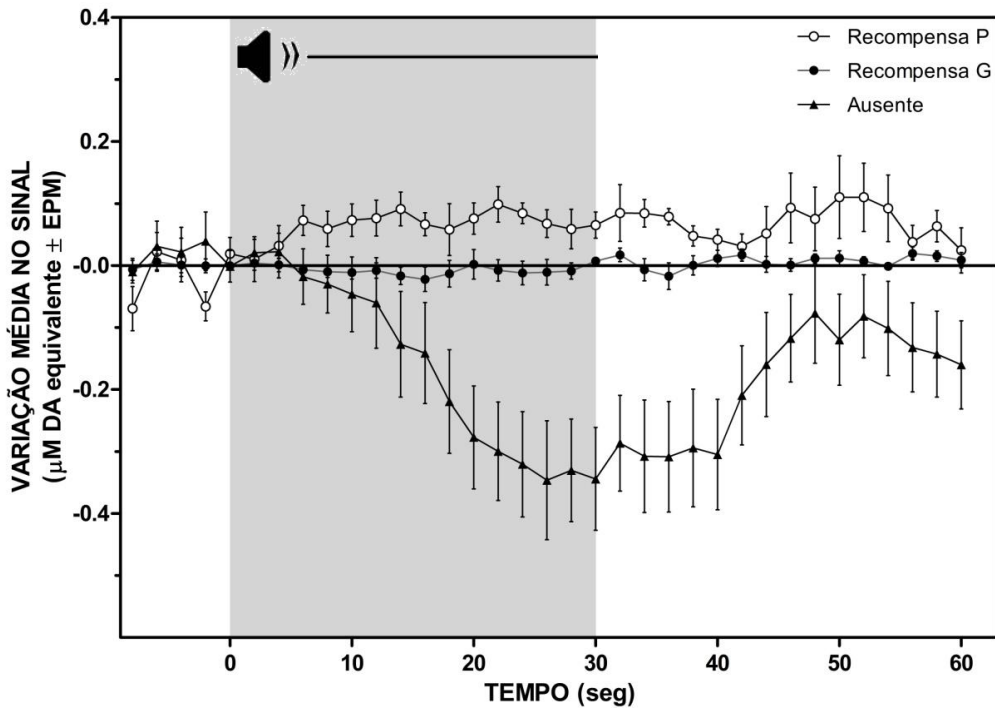


Figura 26: Níveis médios de dopamina registrados no mPFC dos animais do grupo FR durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas (área cinza do gráfico) e os 30 segundos seguintes. Círculos brancos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa pequena; círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal foi seguido de uma recompensa grande; triângulo preto = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal deixou de ser seguido de uma recompensa. $n=6$ para cada magnitude de recompensa.

Para determinar estatisticamente os efeitos da disponibilidade de recompensa, do tempo e do grupo sobre os níveis de dopamina durante a ocorrência do sinal, realizamos uma análise por regressão linear utilizando disponibilidade de recompensa, tempo e grupo como fatores. Embora os gráficos mostrem a liberação de dopamina por um período significativamente maior (30 seg do sinal + 30 seg posteriores), a análise levou em consideração somente os valores medidos durante os 30 segundos de ocorrência do sinal sonoro. Decidiu-se pela maior amplitude do gráfico para permitir uma melhor visualização da

dinâmica de liberação de dopamina neste contexto de exposição a pistas alimentares.

No mPFC, observamos uma significativa interação entre os três fatores (disponibilidade de recompensa*tempo*grupo) sobre os níveis de dopamina ($F=35,7$, df (168, 2), $p<0,001$), indicando que a interação entre tamanho da recompensa e tempo sobre os níveis de dopamina se dá de forma diferente entre os grupos.

Ao analisarmos os grupos separadamente, verificamos não haver efeitos significativos da interação entre disponibilidade da recompensa e tempo sobre os níveis de dopamina nos animais do grupo Controle ($F=2,99$, df (84, 2), $p=0,056$), mostrando que, estatisticamente, a taxa de alteração nos níveis de DA ao longo do tempo não é diferente entre as três recompensas.

Nos animais do grupo FR, observamos uma interação significativa entre a disponibilidade de recompensa e tempo ($F=278$, df (84, 2), $p<0,001$), onde houve efeito do tempo na redução dos níveis de dopamina durante o sinal quando este deixou de ser seguido pelo recebimento de uma recompensa ($b=-0,0155$, $p<0,01$), mas não nas outras duas condições (recompensa pequena: $p=0,92$; recompensa grande: $p=0,77$).

Níveis de dopamina no mPFC no instante de recebimento da recompensa

Através de uma ANOVA de duas vias utilizando grupo e disponibilidade da recompensa como fatores, comparamos os níveis de dopamina no momento imediatamente após o término do estímulo sonoro, ou seja, no instante em que os animais recebiam as recompensas ou, no caso da recompensa ausente, no

instante em que estavam habituados a receber. A análise destes dados mostrou um efeito significativo da disponibilidade de recompensa [$F(2,30)=7,96$; $p<0,01$], onde nos animais do grupo FR, a ausência de recompensa levou a uma significativa redução nos níveis de dopamina quando comparado aos níveis observados em resposta ao recebimento da recompensa pequena (Bonferroni, $p<0,01$) e da recompensa grande (Bonferroni, $p<0,05$). Não foi encontrado efeito isolado do grupo [$F(1,30)=0,27$; $p>0,05$] ou interação entre os fatores [$F(2,30)=1,90$; $p>0,05$] (Figura 27).

Níveis de dopamina no mPFC após o término do sinal

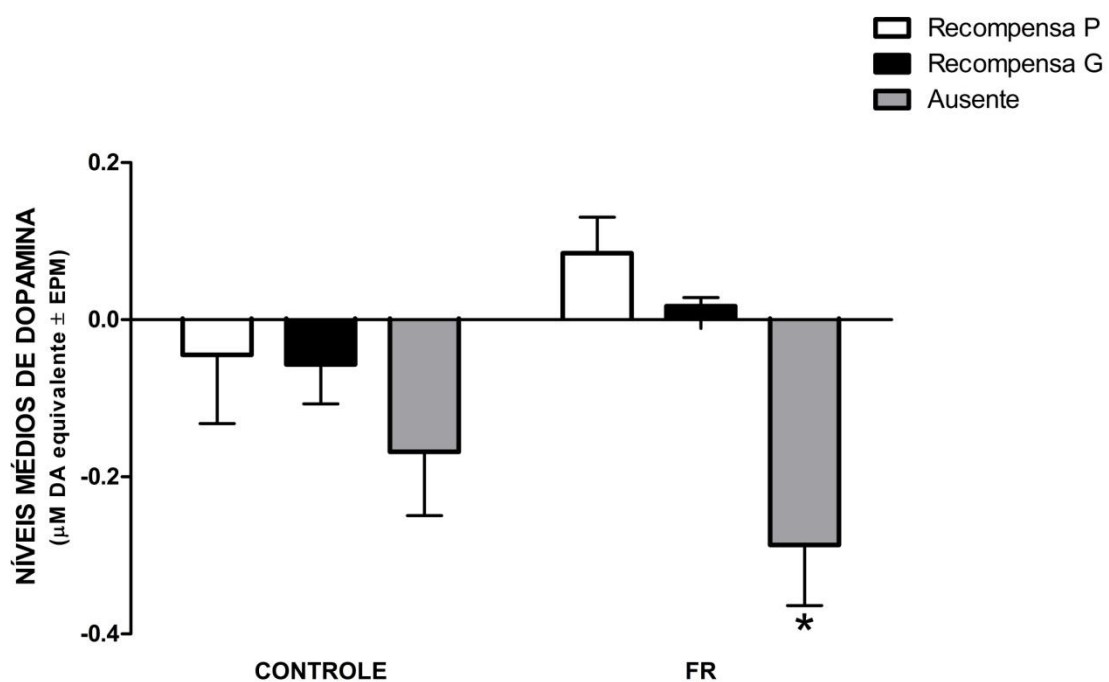


Figura 27: Níveis médios de dopamina no mPFC no segundo após o término do sinal sonoro. Barra branca= recebimento de uma recompensa pequena; barra preta = recebimento de uma recompensa grande; barra cinza = sem recebimento de recompensa após o sinal sonoro. n= 6 (controle) e 5 (FR). ANOVA de duas vias. * representa diferença significativa em relação às outras duas magnitudes de recompensa para o mesmo grupo.

Resposta antecipatória no córtex orbitofrontal

A análise da resposta antecipatória revelou mais uma vez alterações bastante discretas nos níveis de dopamina no córtex orbitofrontal. Nos animais do grupo controle, observamos que os níveis de dopamina permaneceram absolutamente estáveis durante as três condições (recompensa pequena, grande ou ausente), não apresentando desvios significativos em relação aos níveis basais.

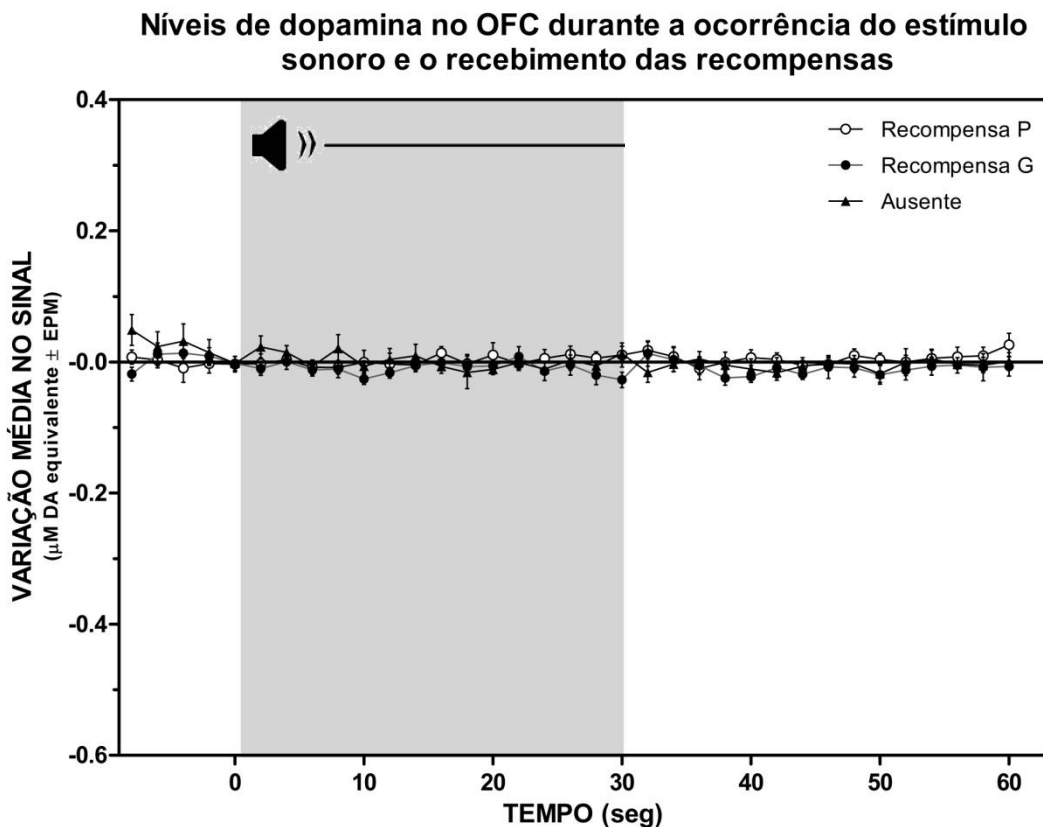


Figura 28 Níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais controle durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas (área cinza do gráfico) e os 30 segundos seguintes. Círculos brancos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa pequena; círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal foi seguido de uma recompensa grande; triângulo preto = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal deixou de ser seguido de uma recompensa. $n=5$ para cada magnitude de recompensa.

De forma geral, os níveis de dopamina se mantiveram bastante estáveis durante as três condições nos animais do grupo FR (Figura 29). Como particularidade, pudemos observar que o não recebimento da recompensa no momento habitual foi a única situação capaz de alterar substancialmente os níveis de dopamina, levando a uma progressiva diminuição em seus níveis a partir dos segundos finais do estímulo sonoro. Chama a atenção o fato desta redução ter sido duradoura, não tendo retornado aos níveis basais até o término do período avaliado (30 segundos após o término do sinal).

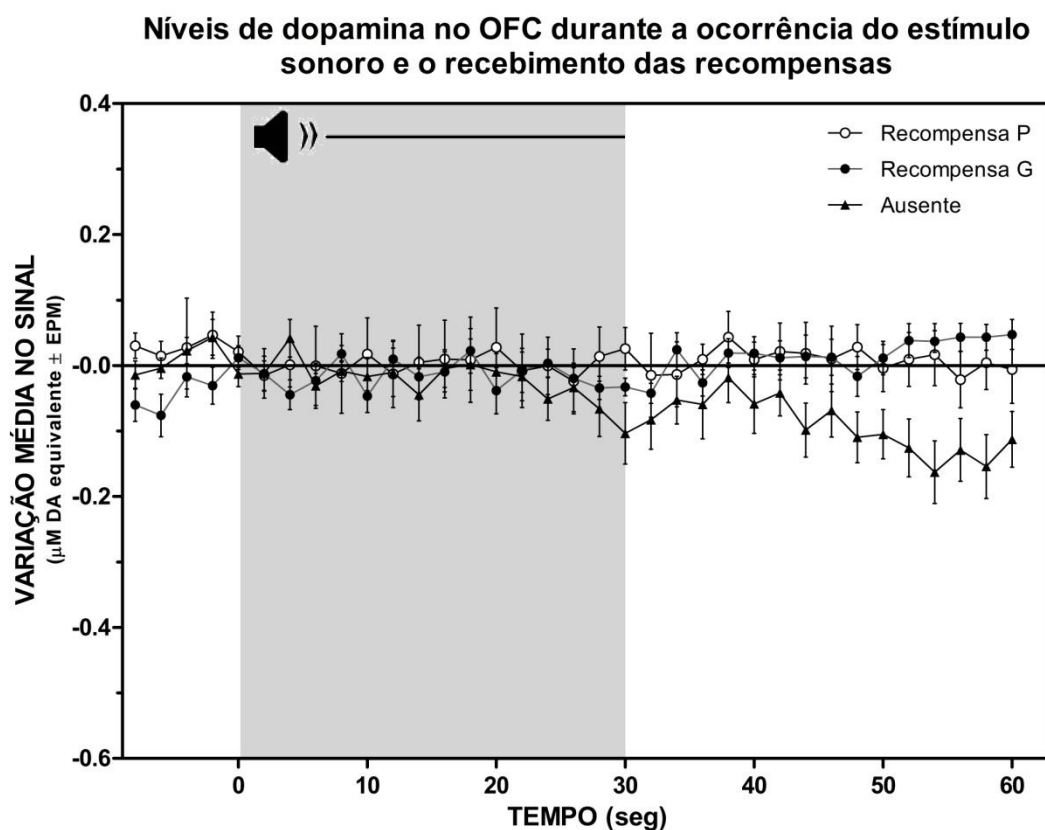


Figura 29: Níveis médios de dopamina registrados no OFC dos animais do grupo FR durante os 30 segundos do sinal sonoro que previa o recebimento das recompensas (área cinza do gráfico) e os 30 segundos seguintes. Círculos brancos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal sonoro foi seguido de uma recompensa pequena; círculos pretos = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal foi seguido de uma recompensa grande; triângulo preto = níveis de dopamina no último *trial* em que o sinal deixou de ser seguido de uma recompensa. n=5 para cada magnitude de recompensa.

Níveis de dopamina no instante de recebimento da recompensa

A comparação dos níveis de dopamina no OFC no momento em que os animais estavam habituados a receber as recompensas não demonstrou efeito significativo do grupo [$F(1,30)=3,51$; $p>0,05$], da disponibilidade de recompensa [$F(2,30)=1,19$; $p>0,05$] ou interação entre os dois fatores [$F(2,30)=0,13$; $p>0,05$] (Figura 30), mostrando que os níveis de dopamina neste instante não diferem de acordo com o grupo ou com a magnitude da recompensa.

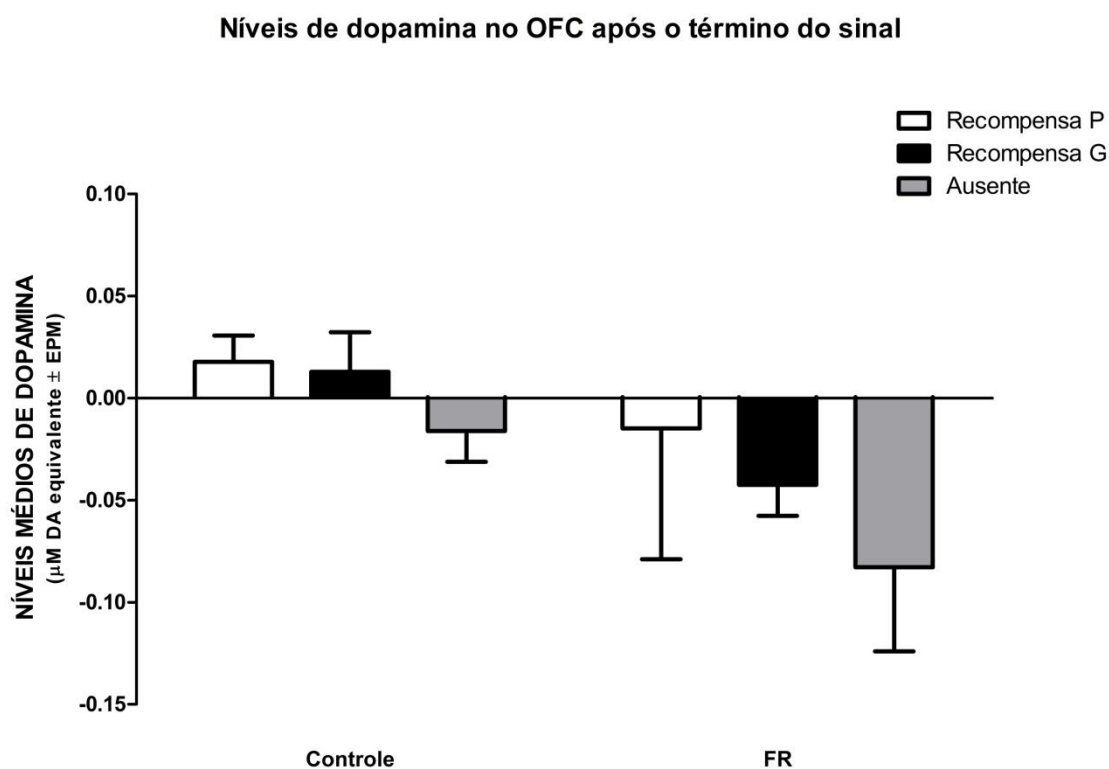


Figura 30: Níveis médios de dopamina no OFC no segundo após o término do sinal sonoro. Barra branca= recebimento de uma recompensa pequena; barra preta = recebimento de uma recompensa grande; barra cinza = sem recebimento de recompensa após o sinal sonoro. ANOVA de duas vias. $n= 5$ (controle) e 5 (FR).

6. DISCUSSÃO

Dentre os principais achados deste trabalho, observamos que fêmeas expostas à restrição de crescimento intrauterino apresentam um aumento no comportamento impulsivo em uma tarefa que avalia a tolerância dos animais ao atraso no recebimento de uma recompensa alimentar. Já no primeiro dia de vida, estes animais apresentam um aumento na razão entre os níveis de pTH e TH no córtex pré-frontal, enquanto na vida adulta, apresentam uma diminuição nos níveis de receptores D1 no OFC e um aumento nos níveis de receptores D2 no mPFC. Além disso, encontramos uma dinâmica alterada nos níveis de sinaptofisina no OFC durante o desenvolvimento, uma liberação atenuada de dopamina no mPFC em resposta ao consumo de alimentos palatáveis e alterações no padrão de flutuação da dopamina, também no mPFC, durante a ocorrência de pistas que preveem o recebimento destas recompensas. Surpreendentemente, os níveis de dopamina no córtex orbitofrontal mostraram-se pouco influenciados pelos estímulos relacionados aos alimentos palatáveis.

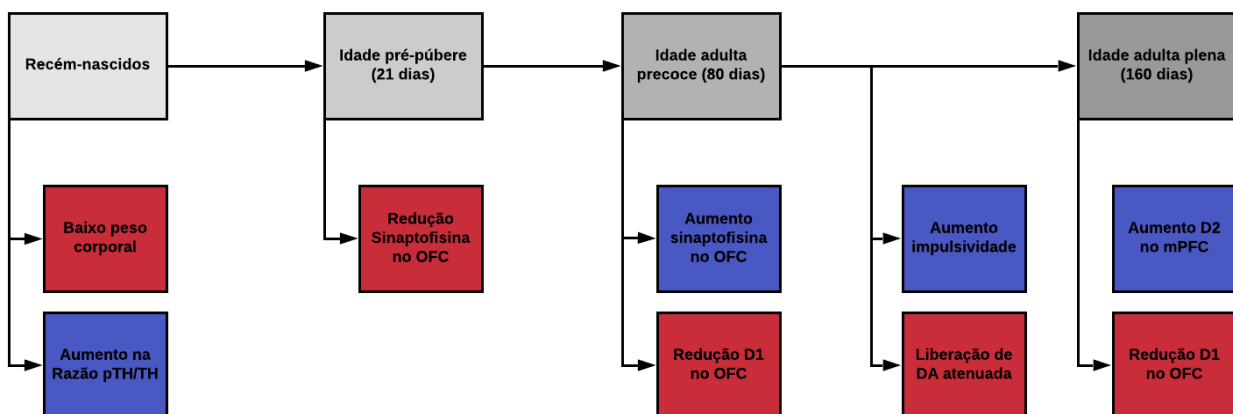


Figura 31: síntese dos principais achados deste trabalho.

Adicionalmente, observamos uma já esperada redução no peso ao nascer dos animais expostos ao protocolo de restrição de crescimento intrauterino. Todavia, esta redução no peso corporal deixou de ser observada na idade adulta. Estes resultados corroboram com estudos anteriores que observaram um ganho de peso compensatório ao longo da vida em humanos e em roedores expostos à RCIU (DESAI et al., 2005b; LAUREANO et al., 2019; PORTELLA et al., 2012; SILVEIRA et al., 2018). Este ganho de peso compensatório (*catch-up growth*) tem sido considerado um fator determinante para o desenvolvimento dos desfechos adversos tipicamente observados nos indivíduos RCIU (BERENDS et al., 2012; MILOVANOVIC et al., 2014).

De forma bastante clara, observamos um aumento na escolha impulsiva dos animais restritos em diferentes fases do teste de tolerância ao atraso da recompensa. É bastante reconhecido que o valor atribuído a uma recompensa diminui proporcionalmente ao atraso estabelecido para o seu recebimento (CREWS; BOETTIGER, 2009; JENTSCH et al., 2014). Quanto maior o tempo de espera, mais o valor atribuído à recompensa é descontado. Desta forma, é esperado que os animais naturalmente apresentem uma redução no número de escolhas da grande recompensa à medida que o atraso para obtê-las também aumenta. Contudo, esta taxa de desconto (*discounting rate*) no valor da recompensa parece acontecer de forma exagerada para alguns grupos de indivíduos (CREWS; BOETTIGER, 2009; MITCHELL; POTENZA, 2014).

Este desconto exagerado no valor de recompensas é tipicamente observado no abuso de drogas e em condições psiquiátricas como no transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (DE WIT, 2008; JACKSON; MACKILLON, 2016; MACKILLOP; KAHLER, 2009). Mais recentemente, diversos estudos têm

mostrado que a obesidade também está associada a um aumento na *discounting rate* para recompensas alimentares e monetárias (DAVIS et al., 2010; RASMUSSEN; LAWYER; REILLY, 2010; WELLER et al., 2008). Desta forma, nossos resultados sugerem que os indivíduos RCIU também estejam propensos a apresentar uma desvalorização exagerada de recompensas entregues após certo período de atraso, o que pode ser expresso como uma maior impulsividade e, desta forma colaborar, para o padrão alterado no comportamento alimentar observado nestes indivíduos. De forma importante, não encontramos diferenças entre os grupos nas fases anteriores do teste, indicando que os animais RCIU não apresentaram déficits de aprendizado ou de memória na execução da tarefa.

Diversos estudos indicam que o mPFC e o OFC estejam envolvidos na regulação do comportamento impulsivo (DALLEY; ROISER, 2012; FLORESCO; TSE; GHODS-SHARIFI, 2008; KIM; LEE, 2011; SHIELS et al., 2009). Contudo, o efeito de manipulações dopaminérgicas nestas áreas parece ser bastante complexo e por vezes contraditório (STANIS et al., 2009; WOOTERS; BARDO, 2015). Neste trabalho, observamos uma significativa redução nos níveis de receptores D1 no OFC aos 80 e aos 160 dias de vida, sugerindo que a RCIU possa alterar de forma duradoura os níveis destes receptores no OFC e, desta forma, influenciar a expressão da impulsividade nestes animais. Embora o papel do OFC sobre o *delay discounting* não seja totalmente claro até o momento, acredita-se que a transmissão dopaminérgica nesta região influencie quanto valor será atribuído a uma recompensa e se a espera por ela compensa (BURTON et al., 2014; KHERAMIN et al., 2004). Já no mPFC, observamos que os animais do grupo FR apresentam um aumento nos níveis de receptores D2 aos 160 dias de

vida. De forma interessante, níveis alterados deste tipo de receptor dopaminérgico tem sido associado a alterações na escolha impulsiva (SIMON et al., 2014).

Ao avaliarmos os níveis de tirosina hidroxilase no PFC de recém nascidos, encontramos que os animais do grupo FR apresentaram níveis aumentados da enzima tirosina hidroxilase na forma fosforilada (pTH). Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo anterior de nosso grupo que avaliou os níveis de pTH e TH no PFC de animais em idade adulta (ALVES et al., 2015). Uma vez que a tirosina hidroxilase é a enzima limitante na biossíntese de dopamina, e que a sua fosforilação no sítio Ser40 está associada a uma maior atividade enzimática (DUNKLEY, 2004; LINDGREN et al., 2000), este resultado é um indicativo de que a síntese, e possivelmente a liberação de dopamina estejam alteradas nos animais RCIU desde os primeiros dias de vida.

Na vida adulta, utilizamos uma técnica eletroquímica para monitorar o padrão de liberação de dopamina no mPFC e no OFC e identificar alterações na resposta a estímulos relacionados à exposição e ao consumo de alimentos palatáveis. Estes resultados serão abordados nos parágrafos posteriores desta discussão.

Em relação à sinaptofisina, os animais RCIU apresentaram níveis reduzidos desta proteína no OFC em idade pré-púbere, ao passo que na idade adulta precoce, estes níveis foram encontrados aumentados.

A sinaptofisina constitui-se de uma glicoproteína transmembrana presente de forma abundante na superfície das vesículas pré-sinápticas excitatórias e inibitórias (ROMANO; CARTER; FOLPE, 2015; SHAPIRO et al., 2017). Nestas estruturas, acredita-se que a sinaptofisina seja importante em diferentes aspectos

da transmissão sináptica, como na cinética de reciclagem de vesículas, na formação e no fortalecimento de sinapses e para a própria exocitose dos neurotransmissores contidos no interior destas vesículas (EVANS; COUSIN, 2007; HENRIKSSON et al., 2012; ROMANO; CARTER; FOLPE, 2015).

Em paralelo as suas funções na estrutura e no funcionamento pré-sináptico, os níveis de sinaptofisina têm sido considerados um confiável marcador de densidade e plasticidade sináptica (ANDERSEN; TEICHER, 2004; DAVISON; BIRCH, 2008; DRZEWIECKI; WILLING; JURASKA, 2017; GLANTZ et al., 2008). Uma vez que está presente em virtualmente todas as sinapses, quanto maiores os níveis de sinaptofisina, maior seria também a quantidade de estruturas sinápticas.

Após o nascimento, o sistema nervoso passa por uma marcada superprodução de axônios, dendritos e sinapses, o que é seguido por um consistente processo de eliminação sináptica (sinaptic pruning) entre a puberdade e a vida adulta (ANDERSEN; TEICHER, 2004; GLANTZ et al., 2008). Não coincidentemente, os níveis de sinaptofisina apresentam um comportamento bastante semelhante ao longo do desenvolvimento, com seus níveis aumentando lentamente após o nascimento, atingindo o pico durante a infância e após decaindo, ao longo da puberdade, até atingir os níveis de adulto (DRZEWIECKI; WILLING; JURASKA, 2017; GLANTZ et al., 2008; SHAPIRO et al., 2017). Desta forma, a flutuação nos níveis de sinaptofisina refletiria o padrão de desenvolvimento sináptico experimentado pelo animal até alcançar a idade adulta.

Com base nestes conhecimentos, os resultados que obtivemos sugerem que indivíduos com restrição de crescimento intrauterino apresentem alterações

no padrão temporal de superprodução e eliminação de sinapses no OFC, desta forma, alterando o curso do desenvolvimento e o período de susceptibilidade aos estímulos externos experimentado por estes animais.

De forma interessante, os animais do grupo FR não apresentaram alterações nos níveis de sinaptofisina no mPFC. Embora essas estruturas apresentem trajetórias de desenvolvimento ligeiramente distintas em ratos (por exemplo, o volume máximo do mPFC é observado por volta do PND 24, enquanto no OFC ocorre no PND 30 (SHAPIRO et al., 2017; VAN EDEN; UYLINGS, 1985), nossos resultados sugerem que o curso do desenvolvimento sináptico no mPFC seja menos sensível aos efeitos da restrição de crescimento intrauterino.

De fato, diversos estudos têm demonstrado que as diferentes áreas do córtex cerebral apresentam particularidades no padrão temporal de desenvolvimento sináptico (revisado em ANDERSEN; TEICHER, 2008), e mais do que isto, estes estudos têm demonstrado que eventos adversos durante o período perinatal podem afetar diferencialmente a dinâmica de desenvolvimento em cada uma dessas áreas. Andersen & Teicher (2004) monitoraram os níveis de sinaptofisina no hipocampo, no PFC e na amígdala de animais expostos à separação materna nos primeiros dias de vida, e puderam observar uma diminuição nos níveis de sinaptofisina no hipocampo destes animais entre os dias 60 e 100 de vida. Já no PFC, foi encontrado um aumento tardio (100 dias de vida) nos níveis de sinaptofisina, enquanto na amígdala não foram encontradas alterações nos níveis dessa proteína. Os autores sugerem que a separação materna tenha exercido efeitos duradouros na estrutura cerebral, alterando o grau e o curso temporal da superprodução e eliminação de sinapses.

Alterações nos níveis de sinaptofisina (e conseqüentemente na plasticidade sináptica) também têm sido encontradas em diferentes modelos animais de estresse gestacional. Gemmel e colaboradores (2015) observaram que o estresse por contenção durante a segunda metade da gestação levou a um aumento nos níveis de sinaptofisina no PFC da prole aos 21 dias de vida. No hipocampo destes animais, os níveis de sinaptofisina não foram afetados. Mais uma vez aos 21 dias de vida, e em dois interessantes estudos, os autores observaram que protocolos distintos de estresse pré-natal promoveram alterações significativas em parâmetros como a densidade de espinhos dendríticos, o número de neurônios e de sinapses excitatórias no mPFC, no OFC e no hipocampo (MYCHASIUK; GIBB; KOLB, 2011, 2012). Embora não tenha sido encontrado um padrão claro nas alterações neuroanatômicas observadas, os autores sugerem que tenham sido promovidas alterações na comunicação sináptica e na conectividade destas áreas.

Até o momento, poucos estudos se dedicaram em avaliar os efeitos da restrição de crescimento intrauterino sobre os níveis de sinaptofisina ou em outros aspectos da plasticidade sináptica. Utilizando-se de um modelo de RCIU induzido por insuficiência placentária, os autores encontraram uma diminuição significativa nos níveis de sinaptofisina e no número de neurônios no hipocampo de ratos aos 35 dias de vida (CAMPRUBÍ CAMPRUBÍ et al., 2017). Contudo, tais alterações na plasticidade do hipocampo não foram observadas aos 21 dias (SCHOBER et al., 2009). Em camundongos, a RCIU induzida por restrição alimentar durante a segunda metade da gestação mais uma vez não resultou em alterações nos níveis de sinaptofisina no hipocampo, mas levou a uma significativa redução nos

níveis de PSD95, outra proteína bastante estudada pelo seu envolvimento na função sináptica (FERNANDEZ-FEIJOO et al., 2017).

Como podemos perceber, os estudos realizados até o momento esforçaram-se em investigar os efeitos da restrição de crescimento intrauterino sobre a plasticidade sináptica no hipocampo, de forma que este trabalho é o primeiro que temos conhecimento a avaliar esta relação no córtex pré-frontal. O possível atraso no desenvolvimento sináptico sugerido pelos níveis alterados de sinaptofisina indica que a RCIU poderia levar a uma eliminação tardia de sinapses durante a adolescência, alterando a neurotransmissão e o padrão de conectividade do OFC, e desta forma representando um possível mecanismo para a ocorrência de alterações comportamentais nestes animais. Além disso, uma vez que a sinaptofisina é considerada um marcador pré-sináptico, pode ser proposto que a eficiência da conexão do OFC com as vias aferentes originadas na área tegmentar ventral e no núcleo accumbens esteja comprometida. Alternativamente, pode ter havido alterações na interconexão entre os próprios neurônios do OFC.

Além disso, uma liberação de dopamina alterada desde os primeiros dias de vida (como sugerido pelos níveis alterados de pTH e TH em recém-nascidos), associada a mudanças na plasticidade sináptica em períodos sensíveis do desenvolvimento, indicam que as alterações encontradas nos níveis de receptores dopaminérgicos nas diferentes áreas do PFC possam ter ocorrido de forma compensatória.

Chama a atenção o fato de não termos encontrado alterações nos níveis de sinaptofisina no mPFC, justamente a região que observamos as maiores alterações na liberação de neurotransmissores nos animais restritos. Contudo, a

RCIU pode ter afetado os níveis de outras proteínas importantes para a plasticidade sináptica e que não foram avaliadas neste trabalho, como é o caso do BDNF e da PSD95.

Diversos estudos sustentam que o efeito do estresse precoce sobre os níveis de sinaptofisina e a plasticidade sináptica se dá por um efeito direto da corticosterona (GOURLEY; SWANSON; KOLESKE, 2013; LI et al., 2017; LISTON; GAN, 2011). De forma bastante interessante, injeções de corticosterona durante a segunda metade do período gestacional mimetizam os efeitos do estresse por contenção, reduzindo os níveis de sinaptofisina no hipocampo da prole nos primeiros dias de vida (AFADLAL et al., 2010). Uma vez que a desnutrição materna durante a gestação apresenta efeitos a curto e a longo-prazo sobre o funcionamento do eixo HPA da prole (LESAGE et al., 2002, 2001; VIEAU et al., 2007), podemos supor que este seja um dos mecanismos associados às alterações no desenvolvimento sináptico encontradas nos animais restritos.

Além disso, o *timing* do processo de superprodução e eliminação de sinapses no mPFC das fêmeas parece ser significativamente influenciado pelos níveis de seus hormônios gonadais (DRZEWIECKI; WILLING; JURASKA, 2017; KOSS et al., 2015; WILLING; JURASKA, 2015). Visto que há um atraso no desenvolvimento dos folículos e no início da puberdade em fêmeas expostas à RCIU (GERELTSETSEG et al., 2012; WEISSENBRUCH et al., 2005), pode-se propor alternativamente que a alteração no padrão de secreção hormonal destas fêmeas tenha afetado o padrão de desenvolvimento sináptico do córtex orbitofrontal.

Em relação aos níveis de dopamina durante o consumo do alimento palatável, observamos que as fêmeas expostas à RCIU apresentam um aumento

menos expressivo destes níveis no mPFC. Estes resultados puderam ser observados tanto numa escala micro (consumo de uma unidade de FL) quanto numa escala macrotemporal (30 minutos de exposição ao FL). Além disso, ao compararmos os níveis de dopamina em resposta ao consumo do primeiro e do último Froot Loops, encontramos resultados bastante diferentes entre os grupos.

Durante o consumo da primeira unidade de Froot Loops, os animais do grupo controle apresentaram um expressivo aumento nos níveis de dopamina no mPFC. Já no consumo do último FL, estes níveis mantiveram-se praticamente estáveis, desviando-se minimamente dos níveis basais. Estes resultados sugerem que o consumo inicial de um alimento palatável induza a uma significativa ativação do sistema dopaminérgico no mPFC, mas que o consumo e a exposição contínua a esses alimentos levem a uma habituação no funcionamento deste sistema.

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos que avaliaram a atividade celular na VTA e a liberação de dopamina no Nacc durante o consumo de alimentos palatáveis. Nestas regiões, a exposição inicial a uma recompensa alimentar está associada uma marcada atividade dopaminérgica que, com as sucessivas exposições, apresenta uma redução gradual num claro processo de habituação (BASSAREO; MUSIO; DI CHIARA, 2011; BROWN et al., 2011; SCHULTZ, 2007a). Contudo, isso parece não acontecer no mPFC dos animais expostos à RCIU. Nestes animais, nem mesmo o consumo inicial do alimento palatável foi capaz de elevar significativamente os níveis de dopamina no mPFC, os quais mantiveram-se praticamente estáveis ao longo do tempo/consumo. Assim, não encontramos diferenças na comparação entre os níveis de dopamina durante o consumo do primeiro e do último Froot Loops nos animais restritos.

Estes achados corroboram com o relativamente bem estabelecido conceito de hipofunção dopaminérgica associada ao ganho de peso e à obesidade. Segundo este conceito, déficits na função dopaminérgica levariam a uma resposta atenuada à recompensa, o que promoveria um consumo alimentar compensatório a fim de estimular a ativação deste circuito "deficiente" (BLUM; THANOS; GOLD, 2014; DANG et al., 2017).

Tipicamente, a hipofunção dopaminérgica é representada por níveis diminuídos de receptores D2 e por uma menor liberação de dopamina no núcleo accumbens em resposta a estímulos recompensadores (BLUM et al., 1996; STICE et al., 2008). Além disso, diversos estudos em humanos e em modelos animais têm observado uma importante relação entre a hipofuncionalidade dopaminérgica e a ocorrência de obesidade (GEIGER et al., 2009; JOHNSON; KENNY, 2010; VOLKOW et al., 2008; WANG et al., 2001). Em um dos primeiros estudos a avaliar esta associação, Wang e colaboradores (2001) observaram uma menor disponibilidade de receptores do tipo D2 no estriado de indivíduos obesos em comparação a indivíduos saudáveis, e que os níveis destes receptores estavam negativamente relacionados ao IMC.

Baseado nestes achados, tem sido proposto que déficits no processamento de recompensas poderiam representar um importante fator de risco para o desenvolvimento de obesidade, e que indivíduos obesos poderiam consumir alimentos palatáveis em excesso para compensar esta baixa sensibilidade a recompensas (BLUM; THANOS; GOLD, 2014; DANG et al., 2017; JOHNSON; KENNY, 2010; REINHOLZ et al., 2008).

Neste sentido, tornam-se de grande importância os achados de dois trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa. Neles, os autores observaram que a restrição de crescimento intrauterino levou a uma redução nos níveis de receptores D2 no núcleo accumbens (DALLE MOLLE et al., 2015) e a um atraso na liberação de dopamina nesta região em resposta ao consumo de alimentos palatáveis (LAUREANO et al., 2019), achados bastante similares aos encontrados em indivíduos obesos e que indicam a ocorrência de uma hipofunção no sistema dopaminérgico também em indivíduos RCIU.

Os resultados do presente trabalho ampliam esse conhecimento, indicando que a hipofunção dopaminérgica resultante da RCIU também afeta estruturas pré-frontais. Uma vez que estas regiões estão envolvidas com o controle inibitório, e que sua disfunção resulta em comportamentos impulsivos, pode ser proposto que este seja um dos mecanismos pelo qual a restrição de crescimento intrauterino induza a desfechos comportamentais desfavoráveis que favoreçam o ganho de peso ao longo da vida.

De forma interessante, esta associação entre níveis reduzidos de receptores D2 no estriado e uma menor atividade metabólica no córtex pré-frontal tem sido encontrada em outros estudos que se dedicaram a investigar a transmissão dopaminérgica em humanos obesos (TOMASI; VOLKOW, 2013; VOLKOW et al., 1993, 2008).

Em conjunto, estes resultados permitem propor o retrato de um dos mecanismos pelos quais a RCIU poderia afetar o consumo alimentar e o risco de desenvolver obesidade e outros distúrbios metabólicos ao longo da vida. Neste modelo, a hipoatividade dopaminérgica no mPFC levaria a um enfraquecimento

dos processos inibitórios, o que favoreceria o consumo excessivo de alimentos palatáveis. Este consumo alimentar em excesso levaria a um aumento compensatório dos níveis de dopamina no núcleo accumbens, de forma a compensar a hipoatividade observada também nesta região. A consequência disto: um ganho de peso excessivo que poderia impactar negativamente a saúde dos indivíduos.

De forma importante, alguns autores têm questionado se a hipofuncionalidade dopaminérgica em obesos seria relacionada a fatores (epi)genéticos e, desta forma, precederia o desenvolvimento da obesidade, ou se consistiria de uma resposta neuroadaptativa ao consumo excessivo de alimentos palatáveis (JOHNSON; KENNY, 2010). Em relação aos experimentos conduzidos pelo nosso grupo, cabe destacar que os animais foram expostos de forma bastante moderada ao alimento palatável, com o consumo deste tipo de alimento ficando restrito a pequenas quantidades e somente para fins de habituação nos dias anteriores aos testes. Desta forma, pode-se propor que a hipofunção dopaminérgica observada no mPFC e no Nacc de animais RCIU represente um dos mecanismos causais do comportamento alimentar alterado e do ganho de peso excessivo normalmente encontrado na restrição de crescimento intrauterino.

De forma surpreendente, os níveis de dopamina no córtex orbitofrontal mantiveram-se absolutamente estáveis durante a maior parte dos registros eletroquímicos. Como exceção, podemos observar flutuações significativas em seus níveis apenas quando considerados os 30 minutos de exposição ao alimento palatável, e mesmo assim, essas flutuações ocorreram em uma amplitude consideravelmente menor em comparação ao que encontramos no mPFC.

Um número bastante grande de estudos apontam para um papel importante do OFC na impulsividade e na inibição comportamental (MAAYAN et al., 2012; PARDEY et al., 2013a; WINSTANLEY, 2004; ZEEB; FLORESCO; WINSTANLEY, 2010), no processamento do valor de recompensas (BURTON et al., 2014; CETIN et al., 2004; TAKAHASHI et al., 2011), no aprendizado associativo (CHENG; LI, 2013; GARSKE et al., 2013) e na tomada de decisões (SCHOENBAUM; ROESCH; STALNAKER, 2006). Dessa forma, a alta estabilidade observada nos níveis de dopamina evidencia que outros neurotransmissores, além da dopamina, estejam envolvidos na modulação destes comportamentos pelo OFC.

Em relação à impulsividade, diferentes experimentos farmacológicos têm sugerido que a ação da serotonina no mPFC e no OFC também esteja envolvida com a regulação deste comportamento (DALLEY; ROISER, 2012; WINSTANLEY et al., 2010). Mais do que isto, estudos têm indicado que haja uma interação entre os sistemas dopaminérgico e serotoninérgico nesta regulação (OADES, 2007; WINSTANLEY et al., 2005). Além disso, o desempenho em tarefas que avaliam a impulsividade parece ser influenciado por manipulações no sistema noradrenérgico e pelos níveis de GABA no PFC (BOY et al., 2011; CHAMBERLAIN; SAHAKIAN, 2007).

De forma interessante, estudos utilizando-se de lesões em roedores têm indicado uma clara distinção funcional entre as diferentes sub-regiões do OFC (FUCHS et al., 2004). Em um destes estudos, Mar e colaboradores (2011) observaram que lesões na porção medial do OFC levaram a um aumento no comportamento impulsivo dos animais, ao passo que lesões em sua porção lateral produziram uma redução deste comportamento. Deste modo, não

podemos afastar a hipótese de que a marcada estabilidade nos níveis de dopamina observada no OFC decorra da localização relativamente restrita em que os eletrodos foram inseridos. Adicionalmente, não podemos descartar que as alterações na sinalização dopaminérgica no OFC estejam abaixo do limiar de concentração e do limiar temporal do método eletroquímico que utilizamos neste trabalho, o que faria com que alterações sutis nessa sinalização não fossem captadas apropriadamente.

É importante salientar que, embora não tenhamos observado flutuações significativas na liberação de dopamina no OFC, os níveis de receptores D1 nesta área foram encontrados reduzidos nos animais restritos, indicando que, de alguma forma, a sinalização dopaminérgica no OFC também é afetada pela RCIU. Uma vez que os receptores do tipo D1 são considerados de baixa afinidade, ou seja, requerem uma grande elevação nos níveis de DA para serem ativados (BAIK, 2013; KOOB; VOLKOW, 2016), pode ser proposto que a função destes receptores no OFC esteja relacionada a eventos que causem uma elevação súbita e de grande magnitude na concentração de dopamina. Tal tipo de elevação já foi observada, por exemplo, em estudos que avaliaram a liberação de dopamina no PFC de roedores em situações estressantes (LAPLANTE et al., 2004; SEAMANS; YANG, 2004; VAESSEN et al., 2015). Estes resultados sugerem que os receptores do tipo D1 localizados no OFC estejam associados à sinalização dopaminérgica relacionada ao estresse, com pouco ou nenhum efeito sobre a sinalização relacionada ao consumo de alimentos palatáveis.

Em relação aos níveis de dopamina observados durante a ocorrência de erros na previsão da recompensa (EPRs), nossos resultados permitem propor que

a sinalização típica destes erros seja refletida em alterações na sinalização dopaminérgica também no córtex pré-frontal medial.

Se por um lado diversos trabalhos convergem em afirmar que os EPRs são gerados na VTA e são representados por flutuações correspondentes nos níveis de dopamina no estriado, o mesmo não pode ser dito em relação ao PFC. Até o momento, parece não haver consenso a respeito da extensão e da maneira pela qual os EPRs positivos e negativos são representados nas diferentes estruturas pré-frontais, embora alguns autores chamem a atenção para o fato de que a representação apropriada destes sinais no PFC seria crucial para guiar a tomada de decisões e a flexibilidade comportamental (ASAAD; ESKANDAR, 2011; KEHAGIA; MURRAY; ROBBINS, 2010; PARK et al., 2010; SUL et al., 2010).

Dessa forma, nossa primeira intenção foi avaliar, por meio de registros eletroquímicos, a ocorrência de EPRs no córtex pré-frontal de roedores, e embora não possamos ser categóricos ao fazer tal afirmação, o resultado do nosso experimento é mais um a sugerir a ocorrência desta sinalização no mPFC. Adicionalmente, investigamos a sinalização de EPRs nos animais expostos à restrição de crescimento intrauterino, e ao compararmos com os níveis de dopamina encontrados nos animais controle, não encontramos diferenças significativas.

Alterações na sinalização de EPRs têm sido frequentemente encontradas na dependência de drogas, em transtornos alimentares como a anorexia nervosa, na impulsividade e em alterações na flexibilidade cognitiva (DEGUZMAN et al., 2017; DESERNO et al., 2015; HAUSER et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2007; TANABE et al., 2013), onde acredita-se que estas disfunções poderiam prejudicar

a adaptação comportamental em resposta a alterações ambientais e afetar negativamente a tomada de decisões.

De forma interessante, observamos em um trabalho anterior de nosso grupo que fêmeas expostas ao protocolo de RCIU apresentam uma melhor performance (em comparação aos animais controle) em uma tarefa que avalia a flexibilidade cognitiva em roedores (ALVES et al., 2015). Nestas tarefas, os animais precisam constantemente mudar de estratégia, desfazer associações que se mostrem desajustadas e aprender novas associações a fim de obter recompensas alimentares (BIRRELL; BROWN, 2000), em um processo que acredita-se ser em parte movido pela sinalização de erros na previsão da recompensa (HAUSER et al., 2015; KLANKER; FEENSTRA; DENYS, 2013).

Assim, poderia ser proposto que os animais expostos à RCIU apresentassem uma sinalização mais eficiente dos EPRs negativos (que lhes permitiria se desfazer com mais facilidade de associações desajustadas) e dos EPRs positivos (o que facilitaria o aprendizado de novas associações e levaria a uma tomada de decisões mais eficiente). Contudo, os resultados que obtivemos neste trabalho não dão completo suporte a esta hipótese, indicando que outros processos relacionados ao aprendizado dependente de recompensas devem estar subjacente a maior flexibilidade cognitiva observada nos animais RCIU.

Mais uma vez, é surpreendente que não tenhamos encontrado sinalizações típicas de EPRs no córtex orbitofrontal dos animais, ainda mais levando-se em conta o reconhecido papel dessa estrutura na adaptação comportamental e na determinação e atualização do valor atribuído a ações (e seus desfechos) (SUL et al., 2010; TAKAHASHI et al., 2009). Uma explicação para isto pode envolver as

limitações temporais e espaciais do método eletroquímico já abordadas nos parágrafos anteriores desta tese.

No experimento seguinte, onde avaliarmos a liberação de dopamina durante uma pista sonora que antecedia o recebimento das recompensas, encontramos interessantes distinções entre os grupos. No mPFC dos animais controle, observamos uma acentuada flutuação bidirecional nos níveis de dopamina em resposta às três diferentes magnitudes de recompensas previstas pelo sinal sonoro. Já nos animais expostos à RCIU, observamos este padrão de flutuação de forma bastante acentuada somente na condição em que o sinal sonoro deixou de ser seguido pelo recebimento de recompensas.

Como pontuado na introdução desta tese, parece haver uma importante relação entre a reatividade a pistas alimentares e o desenvolvimento de obesidade, onde uma reatividade aumentada poderia induzir a um maior consumo alimentar mesmo na ausência de fome (AKKER et al., 2014; BOSWELL; KOBER, 2016). Do mesmo modo, estudos têm sugerido que indivíduos obesos mantenham-se mais motivados e mais atentos a pistas que prevejam o recebimento de recompensas (CASTELLANOS et al., 2009; HOU et al., 2011). Uma vez que maior reatividade e maior atenção a pistas alimentares podem estar na origem do maior ganho de peso e da obesidade, pode-se propor que os maiores níveis de DA encontrados nos animais RCIU durante as pistas que previam o recebimento das recompensas pequena e grande reflitam uma maior atenção dirigida a estas pistas. Adicionalmente, essa maior atenção a pista alimentares poderia ser a explicação, pelo menos em parte, da maior flexibilidade cognitiva encontrada nos animais expostos à RCIU (ALVES et al., 2015).

De forma alternativa, poderia ser proposto que a ausência de flutuações expressivas em resposta ao sinal sonoro associado ao recebimento da pequena e da grande recompensa refletisse a já discutida hipofunção dopaminérgica no mPFC dos animais restritos. Contudo, estes animais demonstraram uma marcada redução nos níveis de dopamina quando o sinal sonoro deixou de prever o recebimento das recompensas, numa flutuação que poderia estar associada a certa sinalização de frustração. Além disso, estes resultados sugerem que a hipofunção em resposta ao consumo de alimentos palatáveis (resposta consumatória) não necessariamente reflita em uma hipofuncionalidade em resposta a pistas que prevejam o recebimento destes alimentos (resposta antecipatória). Possivelmente, a resposta dopaminérgica a estes diferentes tipos de estímulos envolva mecanismos parcialmente distintos.

Esta discrepância (resposta atenuada ao consumo alimentar X resposta aumentada a pistas que preveem recompensas) pode estar no centro de um padrão comportamental onde pistas ambientais estimulem um consumo cada vez maior de alimentos palatáveis, contribuindo de forma bastante significativa para uma alimentação inadequada e para o ganho de peso em excesso. Além disso, estes achados indicam que alterações na reatividade a pistas alimentares possam representar um fator de risco importante e ainda pouco explorado nos mecanismos associados ao desenvolvimento de obesidade nos indivíduos RCIU.

Vale ressaltar que a reatividade a pistas alimentares abrange diferentes reações fisiológicas e psicológicas em resposta a estímulos que antecedem o recebimento de recompensas, e que neste estudo, avaliamos esta reatividade somente num contexto de transmissão dopaminérgica no córtex pré-frontal.

Estudos adicionais devem investigar outros aspectos desta reatividade em roedores e em humanos RCIU.

7. CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível verificar que a restrição de crescimento intrauterino levou a uma maior impulsividade em uma tarefa de tolerância ao atraso da recompensa. No córtex pré-frontal medial, a RCIU esteve associada a um aumento nos níveis de receptores do tipo D2, a uma redução na liberação de dopamina em resposta ao consumo de alimentos palatáveis e a alterações no padrão de liberação de dopamina em resposta a pistas que previam o recebimento destas recompensas. Já no córtex orbitofrontal, as fêmeas RCIU apresentaram níveis reduzidos de receptores D1 e alterações no padrão temporal de flutuação dos níveis de sinaptofisina, indicando a ocorrência de alterações na plasticidade sináptica nesta área. Surpreendentemente, os níveis de dopamina no OFC mantiveram-se estáveis durante a quase totalidade dos registros eletroquímicos.

Os resultados deste trabalho corroboram com estudos anteriores que sugeriram uma maior impulsividade e que observaram alterações na sinalização dopaminérgica associadas à RCIU. Todavia, este trabalho difere dos demais por ter analisado de forma separada as diferentes regiões pré-frontais e por ter utilizado uma técnica cronoamperométrica para o registro eletroquímico dos níveis de dopamina durante a realização de diferentes tarefas comportamentais pelos animais.

De forma bastante relevante, mostramos que o mPFC e o OFC são afetados de forma distinta pela RCIU. Este achado, em conjunto com a já conhecida diferenciação funcional entre estas regiões, enfatiza a importância de considerarmos e estudarmos estas áreas de forma independente, e sempre que

possível, integrada. Além disso, mostramos que o conceito de hipofunção dopaminérgica associada à RCIU pode ser ampliado para o mPFC.

Com este trabalho, avançamos na investigação dos mecanismos bioquímicos e comportamentais que conectam a RCIU ao risco aumentado de apresentar doenças metabólicas e obesidade ao longo da vida. O melhor conhecimento destes mecanismos permitirá a identificação de alvos farmacológicos importantes e facilitará o desenvolvimento de estratégias preventivas e novos tratamentos específicos para esta população tão vulnerável. Estratégias que incluam o aumento na sinalização dopaminérgica no córtex pré-frontal, a diminuição no comportamento impulsivo, e que modulem a exposição e a resposta a pistas alimentares parecem apresentar um elevado potencial terapêutico.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABI-DARGHAM, Anissa; MOORE, Holly. Prefrontal DA transmission at D1receptors and the pathology of schizophrenia. **Neuroscientist**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 404–416, 2003.

AFADLAL, Szeifoul et al. Prenatal stress alters presynaptic marker proteins in the hippocampus of rat pups. **Neuroscience Letters**, [s. l.], v. 470, p. 24–27, 2010.

AHN, Woo-Young et al. Temporal Discounting of Rewards in Patients with Bipolar Disorder and Schizophrenia. **Journal of Abnormal Psychology**, [s. l.], v. 120, n. 4, p. 911–921, 2011.

AKKER, Karolien Van Den et al. Food Cue Reactivity , Obesity , and Impulsivity : Are They Associated ? [s. l.], p. 301–308, 2014.

ALVES, Márcio Bonesso et al. Increased palatable food intake and response to food cues in intrauterine growth-restricted rats are related to tyrosine hydroxylase content in the orbitofrontal cortex and nucleus accumbens. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 287, p. 73–81, 2015.

AMICO, Francesco et al. Performance- and task-dependent effects of the dopamine D1/D5 receptor agonist SKF 38393 on learning and memory in the rat. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 577, n. 1–3, p. 71–77, 2007.

ANDERSEN, Susan L.; TEICHER, Martin H. Delayed Effects of Early Stress on Hippocampal Development. [s. l.], p. 1988–1993, 2004.

ANDERSEN, Susan L.; TEICHER, Martin H. Stress , sensitive periods and maturational events in adolescent depression. [s. l.], n. March, p. 183–191, 2008.

APPELHANS, Bradley M. et al. Inhibiting food reward: delay discounting, food reward sensitivity and palatable food intake. **Obesity (Silver Spring)**, [s. l.], v. 19, n. 11, p. 2175–2182, 2012. a.

APPELHANS, Bradley M. et al. Delay discounting and intake of ready-to-eat and away-from-home foods in overweight and obese women. **Appetite**, [s. l.], v. 59, n. 2, p. 576–584, 2012. b.

ASAAD, W. F.; ESKANDAR, E. N. Encoding of Both Positive and Negative Reward Prediction Errors by Neurons of the Primate Lateral Prefrontal Cortex and Caudate Nucleus. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 31, n. 49, p. 17772–17787, 2011.

AYRES, Caroline et al. Intrauterine growth restriction and the fetal programming of the hedonic response to sweet taste in newborn infants. **International journal of pediatrics**, [s. l.], v. 2012, p. 657379, 2012.

BAIK, Ja-Hyun. Dopamine signaling in reward-related behaviors. **Frontiers in neural circuits**, [s. l.], v. 7, n. October, p. 152, 2013.

BANSIL, Pooja; KUKLINA, Elena V. Risk Factors for Adverse Outcomes in Developed Countries : Role of Intrauterine Growth Restriction. [s. l.], p. 159–175, 2012.

BARBIERI, Marco A. et al. Severe intrauterine growth restriction is associated with higher spontaneous carbohydrate intake in young women. **Pediatric Research**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 215–220, 2009.

BARKER, D. J. P. et al. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. **Diabetologia**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 62–67, 1993.

BARKLEY, Russell A. et al. Executive Functioning, Temporal Discounting, and Sense of Time in Adolescents With Attention. **Journal of Abnormal Child Psychology**, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 541–556, 2001.

BASSAREO, Valentina; MUSIO, Paolo; DI CHIARA, Gaetano. Reciprocal responsiveness of nucleus accumbens shell and core dopamine to food- and drug-conditioned stimuli. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 214, n. 3, p. 687–697, 2011.

BEAULIEU, Jean-Martin; ESPINOZA, Stefano; GAINETDINOV, Raul R. Dopamine receptors. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 172, n. 1, p. 1–23, 2015.

BEAULIEU, Jean-Martin; GAINETDINOV, Raul R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacological reviews**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 182–217, 2011.

BEDNARSKI, Sarah R. et al. Neural Processes of an Indirect Analog of Risk Taking in Young Nondependent Adult Alcohol Drinkers-An fMRI Study of the Stop Signal Task. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, [s. l.], v. 36, n. 5, p. 768–779, 2012.

BERENDS, L. M. et al. Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes an insulin-resistant phenotype in adipose tissue. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 37, n. 8, p. 1051–1057, 2012.

BIRRELL, J. M.; BROWN, V. J. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 4320–4, 2000.

BIZOT, Jean-Charles et al. Methylphenidate reduces impulsive behaviour in juvenile Wistar rats, but not in adult Wistar, SHR and WKY rats. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 193, n. 2, p. 215–23, 2007.

BLACK, Robert E. et al. Maternal and Child Nutrition 1 Maternal and child

undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. [s. l.], 2011.

BLUM, K. et al. The D 2 Dopamine Receptor Gene as a Determinant of Reward Deficiency Syndrome. **Journal of the Royal Society of Medicine**, [s. l.], v. 89, n. 7, p. 396–400, 1996.

BLUM, Kenneth; THANOS, Panayotis K.; GOLD, Mark S. Dopamine and glucose , obesity , and reward deficiency syndrome. [s. l.], v. 5, n. September, p. 1–11, 2014.

BOGGIANO, M. M. et al. The Pavlovian power of palatable food: lessons for weight-loss adherence from a new rodent model of cue-induced overeating. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 33, n. 6, p. 693–701, 2009.

BONCI, Antonello; HOPF, F. Woodward. The Dopamine D2 Receptor: New Surprises from an Old Friend. [s. l.], v. 47, p. 335–338, 2005.

BOSWELL, Rebecca G.; KOBER, Hedy. Food cue reactivity and craving predict eating and weight gain: a meta-analytic review. **Obesity Reviews**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 159–177, 2016.

BOY, Frederic et al. Dorsolateral Prefrontal γ -Aminobutyric Acid in Men Predicts Individual Differences in Rash Impulsivity. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 70, n. 9, p. 866–872, 2011.

BROWN, Holden D. et al. Primary food reward and reward-predictive stimuli evoke different patterns of phasic dopamine signaling throughout the striatum. **European Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 34, n. 12, p. 1997–2006, 2011.

BURTON, Amanda C. et al. Increased firing to cues that predict low-value reward in the medial orbitofrontal cortex. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 3310–3321, 2014.

CADET, Jean Lud et al. Dopamine D1 Receptors, Regulation of Gene Expression in the Brain, and Neurodegeneration. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 526–538, 2010.

CAMPRUBÍ CAMPRUBÍ, Marta et al. Learning and memory disabilities in IUGR babies: Functional and molecular analysis in a rat model. **Brain and Behavior**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 1–11, 2017.

CAMPRUBÍ, Marta et al. Learning and memory disabilities in IUGR babies: Functional and molecular analysis in a rat model. **Brain and Behavior**, [s. l.], n. July 2016, p. 1–11, 2017.

CARDINAL, R. N. et al. Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. **Science**, [s. l.], v. 292, n. 5526, p. 2499–2501, 2001.

CASTELLANOS, E. H. et al. Obese adults have visual attention bias for food cue images: Evidence for altered reward system function. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 33, n. 9, p. 1063–1073, 2009.

CAVALCANTE, Nádía Carenina Nunes et al. Maternal socioeconomic factors and adverse perinatal outcomes in two birth cohorts , 1997 / 98 and 2010 , in São Luís , Brazil. [s. l.], v. 20, n. 4, p. 676–687, 2017.

CETIN, Irene; MANDO, Chiara; CALABRESE, Stefania. Maternal predictors of intrauterine growth restriction. [s. l.], v. 16, n. 3, p. 310–319, 2013.

CETIN, Timur et al. Dopamine in the orbitofrontal cortex regulates operant responding under a progressive ratio of reinforcement in rats. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 370, n. 2–3, p. 114–7, 2004.

CHAMBERLAIN, Samuel R.; SAHAKIAN, Barbara J. The neuropsychiatry of impulsivity. **Current Opinion in Psychiatry**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 255–261, 2007.

CHENG, Jen-Tang; LI, Jay-Shake. Intra-orbitofrontal cortex injection of haloperidol removes the beneficial effect of methylphenidate on reversal learning of spontaneously hypertensive rats in an attentional set-shifting task. **Behavioural brain research**, [s. l.], v. 239, p. 148–54, 2013.

COHEN, Jeremiah Y. et al. Neuron-type-specific signals for reward and punishment in the ventral tegmental area. **Nature**, [s. l.], v. 482, n. 7383, p. 85–88, 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nature10754>>

COOLS, R. et al. Working Memory Capacity Predicts Dopamine Synthesis Capacity in the Human Striatum. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 28, n. 5, p. 1208–1212, 2008.

CREWS, Fulton Timm; BOETTIGER, Charlotte Ann. Impulsivity, frontal lobes and risk for addiction. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 237–47, 2009.

CRUME, Tessa L. et al. The Long-term impact of intrauterine growth restriction in a diverse US cohort of children: The EPOCH study. **Obesity**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 608–615, 2014.

DALLE MOLLE, Roberta. Mecanismos envolvidos na programação fetal do comportamento alimentar pela restrição de crescimento intrauterino em roedores e humanos. **Tese - Doutorado - Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, UFRGS**, [s. l.], 2014.

DALLE MOLLE, Roberta et al. Intrauterine growth restriction increases the preference for palatable foods and affects sensitivity to food rewards in male and female adult rats. **Brain Research**, [s. l.], v. 1618, p. 41–49, 2015.

DALLEY, J. W.; ROISER, J. P. Dopamine, serotonin and impulsivity. **Neuroscience**, [s. l.], v. 215, p. 42–58, 2012.

DALLEY, Jeffrey W.; EVERITT, Barry J.; ROBBINS, Trevor W. Impulsivity, Compulsivity, and Top-Down Cognitive Control. **Neuron**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 680–694, 2011.

DANG, Linh C. et al. Associations between Dopamine D2 Receptor Availability and BMI Depend on Age. [s. l.], p. 176–183, 2017.

DAVIS, Caroline et al. Immediate pleasures and future consequences. A neuropsychological study of binge eating and obesity. **Appetite**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 208–213, 2010.

DAVIS, Caroline; STRACHAN, Shaelyn; BERKSON, Marni. Sensitivity to reward: Implications for overeating and overweight. **Appetite**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 131–138, 2004.

DAVISON, Kirsten Krahnstoever; BIRCH, Leann L. NIH Public Access. [s. l.], v. 64, n. 12, p. 2391–2404, 2008.

DAY, Jeremy J. et al. Associative learning mediates dynamic shifts in dopamine signaling in the nucleus accumbens. **Nature neuroscience**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 1020–1028, 2007.

DE WIT, Harriet. Impulsivity As a Determinant and Consequence of Drug Use. **Addiction Biology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 22–31, 2008.

DEGUZMAN, Marisa et al. Association of elevated reward prediction error response with weight gain in adolescent anorexia nervosa. **American Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 174, n. 6, p. 557–565, 2017.

DESAI, M.; JELLYMAN, J. K.; ROSS, M. G. Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 633–641, 2015.

DESAI, Mina et al. Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, [s. l.], v. 288, n. 1, p. R91-6, 2005. a.

DESAI, Mina et al. Programmed obesity in intrauterine growth-restricted newborns: modulation by newborn nutrition. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, [s. l.], v. 288, n. 1, p. R91-6, 2005. b.

DESAI, Mina et al. The timing of nutrient restriction during rat pregnancy/lactation alters metabolic syndrome phenotype. **American Journal of Obstetrics and**

Gynecology, [s. l.], v. 196, n. 6, p. 555.e1-555.e7, 2007.

DESERNO, L. et al. Lateral prefrontal model-based signatures are reduced in healthy individuals with high trait impulsivity. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 5, n. 10, p. e659-9, 2015.

DEVASKAR, Sherin U.; CHU, Alison. REVIEWS Intrauterine Growth Restriction : Hungry for an Answer. [s. l.], p. 131–146, 2019.

DIERGAARDE, Leontien et al. Impulsive Choice and Impulsive Action Predict Vulnerability to Distinct Stages of Nicotine Seeking in Rats. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 301–308, 2008.

DRZEWIECKI, Carly M.; WILLING, Jari; JURASKA, Janice M. Synaptic number changes in the medial prefrontal cortex across adolescence in male and female rats: A role for pubertal onset. [s. l.], v. 70, n. 9, p. 361–368, 2017.

DUNKLEY, P. R. Tyrosine hydroxylase phosphorylation: regulation and consequences. [s. l.], v. 0, p. 1025–1043, 2004.

ELLWOOD, Ian T. et al. Tonic or Phasic Stimulation of Dopaminergic Projections to Prefrontal Cortex Causes Mice to Maintain or Deviate from Previously Learned Behavioral Strategies. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 37, n. 35, p. 8315–8329, 2017.

EVANS, G. J. O.; COUSIN, M. A. Tyrosine phosphorylation of synaptophysin in synaptic vesicle recycling. [s. l.], v. 33, n. Pt 6, p. 1350–1353, 2007.

EVENDEN, John L. Varieties of impulsivity. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 146, n. 4, p. 348–361, 1999.

FARACI, Marianna et al. Fetal growth restriction: current perspectives. **Journal of prenatal medicine**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 31–3, 2011.

FERNANDEZ-FEIJOO, Cristina Duran et al. Influence of catch up growth on spatial learning and memory in a mouse model of intrauterine growth restriction. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 1–15, 2017.

FERRIDAY, D.; BRUNSTROM, J. M. I just can't help myself: Effects of food-cue exposure in overweight and lean individuals. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 142–149, 2011.

FIELDS, S. a.; SABET, M.; REYNOLDS, B. Dimensions of impulsive behavior in obese, overweight, and healthy-weight adolescents. **Appetite**, [s. l.], v. 70, p. 60–66, 2013.

FLORESCO, S. B. et al. Modulation of hippocampal and amygdalar-evoked activity of nucleus accumbens neurons by dopamine: cellular mechanisms of input selection. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for**

Neuroscience, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 2851–60, 2001.

FLORESCO, Stan B. et al. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. **Nature neuroscience**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 968–73, 2003.

FLORESCO, Stan B. et al. Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 297–309, 2006.

FLORESCO, Stan B.; MAGYAR, Orsolya. Mesocortical dopamine modulation of executive functions: Beyond working memory. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 188, n. 4, p. 567–585, 2006.

FLORESCO, Stan B.; TSE, Maric T. L.; GHODS-SHARIFI, Sarvin. Dopaminergic and glutamatergic regulation of effort- and delay-based decision making. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 33, n. 8, p. 1966–1979, 2008.

FUCHS, R. A. et al. Differential Involvement of Orbitofrontal Cortex Subregions in Conditioned Cue-Induced and Cocaine-Primed Reinstatement of Cocaine Seeking in Rats. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 24, n. 29, p. 6600–6610, 2004.

GARSKE, Anna K. et al. Adolescent Changes in Dopamine D1 Receptor Expression in Orbitofrontal Cortex and Piriform Cortex Accompany an Associative Learning Deficit. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 2, 2013.

GEIGER, Brenda M. et al. Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. **Neuroscience**, [s. l.], v. 159, n. 4, p. 1193–1199, 2009.

GEMMEL, Mary et al. Developmental Fluoxetine and Prenatal Stress Effects on Serotonin, Dopamine, and Synaptophysin Density in the PFC and Hippocampus of Offspring at Weaning. **Developmental Psychobiology**, [s. l.], p. 315–317, 2015.

GERELTSETSEG, Ganbat et al. Delay in the onset of puberty of intrauterine growth retarded female rats cannot be rescued with hypernutrition after birth. [s. l.], v. 59, n. 11, p. 963–972, 2012.

GEVA, Ronny. *Handbook of Growth and Growth Monitoring in Health and Disease*. New York, NY, 2012.

GIOVANELLI, Alison et al. Impulsive responses to positive mood and reward are related to mania risk. **Cognition & Emotion**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 1091–1104, 2013.

GLANTZ, Leisa A. et al. Synaptophysin and PSD-95 in the human prefrontal cortex from mid-gestation into early adulthood. [s. l.], v. 149, n. May 2005, p. 582–

591, 2008.

GLIMCHER, P. W. Understanding dopamine and reinforcement learning: The dopamine reward prediction error hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 108, n. Supplement_3, p. 15647–15654, 2011.

GOTO, Yukiori; OTANI, Satoru; GRACE, Anthony a. The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective. **Neuropharmacology**, [s. l.], v. 53, n. 5, p. 583–587, 2007.

GOURLEY, Shannon L.; SWANSON, Andrew M.; KOLESKE, Anthony J. Corticosteroid-induced neural remodeling predicts behavioral vulnerability and resilience. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 33, n. 7, p. 3107–3112, 2013.

GRACE, AA; BUNNEY, BS. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 4, n. 11, p. 2877–2890, 1984.

GRACE, Anthony a. et al. Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 220–227, 2007.

GRACE, Anthony a. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 524–532, 2016.

GUERRIERI, Ramona et al. The influence of trait and induced state impulsivity on food intake in normal-weight healthy women. **Appetite**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 66–73, 2007.

GUERRIERI, Ramona et al. Inducing impulsivity leads high and low restrained eaters into overeating, whereas current dieters stick to their diet. **Appetite**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 93–100, 2009.

GUERRIERI, Ramona; NEDERKOORN, Chantal; JANSEN, Anita. The Effect of an Impulsive Personality on Overeating and Obesity: Current State of Affairs. **Psychological Topics**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 265–286, 2008.

HALES, C.; BARKER, D. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **International Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 42, n. 5, p. 1215–1222, 2013.

HALES, C. Nicholas; BARKER, David J. P. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical bulletin**, [s. l.], v. 60, p. 5–20, 2001.

HAUBER, W. Dopamine Release in the Prefrontal Cortex and Striatum: Temporal and Behavioural Aspects. **Pharmacopsychiatry**, [s. l.], v. 43, n. S 01, p. S32–S41, 2010.

HAUSER, Tobias U. et al. Cognitive flexibility in adolescence: Neural and behavioral mechanisms of reward prediction error processing in adaptive decision making during development. **NeuroImage**, [s. l.], v. 104, p. 347–354, 2015.

HEEREY, Erin A. et al. Delay discounting in schizophrenia. **Cognitive Neuropsychiatry**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 213–221, 2007.

HEIDBREder, Christian a.; GROENEWEGEN, Henk J. The medial prefrontal cortex in the rat: Evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 555–579, 2003.

HENRIKSSON, Richard et al. Elevated Synaptophysin I in the Prefrontal Cortex of Human Chronic Alcoholics. [s. l.], v. 62, n. 11, p. 829–833, 2012.

HOLLERMAN, J. R.; SCHULTZ, W. Dopamine neurons report an error in the temporal prediction of reward during learning. **Nature neuroscience**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 304–309, 1998.

HOOVER, Walter B.; VERTES, Robert P. Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, [s. l.], v. 519, n. 18, p. 3766–3801, 2011.

HOU, Ruihua et al. External eating, impulsivity and attentional bias to food cues. **Appetite**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 424–427, 2011.

HU, Sien et al. Conflict anticipation in alcohol dependence - A model-based fMRI study of stop signal task. **NeuroImage: Clinical**, [s. l.], v. 8, p. 39–50, 2015.

HUNTER, Damien S. et al. Programming the brain: Common outcomes and gaps in knowledge from animal studies of IUGR. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 164, p. 233–248, 2016.

IMHOFF, Sarah et al. Delay discounting by depressed and non-depressed adolescent smokers and non-smokers. **Drug and Alcohol Dependence**, [s. l.], v. 135, n. 1, p. 152–155, 2014.

JACKSON, Jacob N. S.; MACKILLON, James. Attention deficit hyperactivity disorder and monetary delay discounting: a meta-analysis of case-control studies. **Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 316–25, 2016.

JANSEN, Anita. A learning model of binge eating: Cue reactivity and cue exposure. **Behaviour Research and Therapy**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 257–272, 1998.

JANSEN, Anita et al. Overweight children overeat after exposure to food cues. **Eating Behaviors**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 197–209, 2003.

JANSEN, Anita et al. Decreased Salivation to Food Cues in Formerly Obese Successful Dieters. **Psychotherapy and Psychosomatics**, [s. l.], v. 79, n. 4, p. 257–258, 2010.

JENNI, Nicole L.; LARKIN, Joshua D.; FLORESCO, Stan B. Prefrontal Dopamine D 1 and D 2 Receptors Regulate Dissociable Aspects of Decision Making via Distinct Ventral Striatal and Amygdalar Circuits. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 37, n. 26, p. 6200–6213, 2017.

JENTSCH, J. David et al. Dissecting impulsivity and its relationships to drug addictions. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 1327, n. 1, p. 1–26, 2014.

JOHNSON, Paul M.; KENNY, Paul J. Addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats : Role for dopamine D2 receptors. [s. l.], v. 13, n. 5, p. 635–641, 2010.

KAMPMANN, F. B. et al. Being born small-for-gestational-age is associated with an unfavourable dietary intake in Danish adolescent girls: findings from the Danish National Birth Cohort. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, [s. l.], p. 1–9, 2018.

KASEVA, Nina et al. Diet and nutrient intake in young adults born preterm at very low birth weight. **Journal of Pediatrics**, [s. l.], v. 163, n. 1, p. 43–48, 2013.

KEHAGIA, Angie a; MURRAY, Graham K.; ROBBINS, Trevor W. Learning and cognitive flexibility: frontostriatal function and monoaminergic modulation. **Current opinion in neurobiology**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 199–204, 2010.

KHERAMIN, S. et al. Effects of orbital prefrontal cortex dopamine depletion on inter-temporal choice: A quantitative analysis. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 175, n. 2, p. 206–214, 2004.

KIM, Soyoun; LEE, Daeyeol. Prefrontal cortex and impulsive decision making. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 69, n. 12, p. 1140–1146, 2011.

KISHINEVSKY, Felix I. et al. fMRI reactivity on a delay discounting task predicts weight gain in obese women. **Appetite**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 582–592, 2012.

KLANKER, Marianne; FEENSTRA, Matthijs; DENYS, Damiaan. Dopaminergic control of cognitive flexibility in humans and animals. **Frontiers in neuroscience**, [s. l.], v. 7, n. November, p. 201, 2013.

KOOB, George F.; VOLKOW, Nora D. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. **The Lancet Psychiatry**, [s. l.], v. 3, n. 8, p. 760–773, 2016.

KOSS, Wendy A. et al. Gonadectomy before puberty Increases the number of neurons and glia in the medial prefrontal cortex of female, but not male, rats.

Developmental psychobiology, [s. l.], v. 57, n. 3, p. 305–312, 2015.

LAND, Benjamin B. et al. Medial prefrontal D1 dopamine neurons control food intake. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 248–253, 2014.

LAPLANTE, François et al. Effects of neonatal ventral hippocampal lesion in rats on stress-induced acetylcholine release in the prefrontal cortex. **Journal of Neurochemistry**, [s. l.], v. 91, n. 6, p. 1473–1482, 2004.

LAUREANO, D. P. et al. Intrauterine growth restriction modifies the hedonic response to sweet taste in newborn pups - Role of the accumbal μ -opioid receptors. **Neuroscience**, [s. l.], v. 322, p. 500–508, 2016.

LAUREANO, D. P. et al. Intrauterine Growth Restriction Modifies the Accumbal Dopaminergic Response to Palatable Food Intake. **Neuroscience**, [s. l.], v. 400, p. 184–195, 2019.

LAW, C. M. et al. Fetal, Infant, and Childhood Growth and Adult Blood Pressure A Longitudinal Study From Birth to 22 Years of Age. **Circulation**, [s. l.], p. 1088–1092, 2002.

LESAGE, J. et al. Maternal undernutrition during late gestation-induced intrauterine growth restriction in the rat is associated with impaired placental GLUT3 expression , but does not correlate with endogenous corticosterone levels. **Journal of Endocrinology**, [s. l.], p. 37–43, 2002.

LESAGE, Jean et al. Maternal Undernutrition during Late Gestation Induces Fetal Overexposure to Glucocorticoids and Intrauterine Growth Retardation , and Disturbs the Hypothalamo- Pituitary Adrenal Axis in the Newborn Rat. **Endocrine regulations**, [s. l.], v. 142, n. 5, p. 1692–1702, 2001.

LI, Jitao et al. Differential Behavioral and Neurobiological Effects of Chronic Corticosterone Treatment in Adolescent and Adult Rats. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, [s. l.], v. 10, n. February, p. 1–16, 2017.

LIGGINS, John T. P. The Roles of Dopamine D1 and D2 Receptors in Working Memory Function. **msurj**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 9–15, 2009.

LISS, Birgit; ROEPER, Jochen. Individual dopamine midbrain neurons: Functional diversity and flexibility in health and disease. **Brain Research Reviews**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 314–321, 2008.

LISTON, Conor; GAN, Wen-biao. Glucocorticoids are critical regulators of dendritic spine development and plasticity in vivo. [s. l.], 2011.

LODGE, Daniel J. The medial prefrontal and orbitofrontal cortices differentially regulate dopamine system function. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1227–1236, 2011.

LONGO, Stefania et al. Short-term and long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 222–225, 2013.

LUO, Xi et al. Error processing and gender-shared and -specific neural predictors of relapse in cocaine dependence. **Brain**, [s. l.], v. 136, n. 4, p. 1231–1244, 2013.

LUSSANA, Federico et al. Prenatal exposure to the Dutch famine is associated with a preference for fatty foods and a more atherogenic lipid profile. **American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 88, n. 6, p. 1648–1652, 2008.

MAAYAN, L. et al. Disinhibited eating in obese adolescents is associated with orbitofrontal volume reductions and executive dysfunction. [s. l.], v. 19, n. 7, p. 1382–1387, 2012.

MACKILLOP, James; KAHLER, Christopher W. Delayed reward discounting predicts treatment response for heavy drinkers receiving smoking cessation treatment. **Drug and Alcohol Dependence**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 197–203, 2009.

MANALICH, R. et al. Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: A histomorphometric study. **Kidney International**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 770–773, 2000.

MAR, A. C. et al. Dissociable Effects of Lesions to Orbitofrontal Cortex Subregions on Impulsive Choice in the Rat. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 31, n. 17, p. 6398–6404, 2011.

MARTIN-SOELCH, C.; LINTHICUM, J.; ERNST, M. Appetitive conditioning: neural bases and implications for psychopathology. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 426–40, 2007.

MATTES, Richard D. Physiologic Responses to Sensory Stimulation by Food. **Journal of the American Dietetic Association**, [s. l.], v. 97, n. 4, p. 406–413, 1997.

MAYER, C.; JOSEPH, K. S. Fetal growth : a review of terms , concepts and issues relevant to obstetrics. **Ultrasound Obstet Gynecol**, [s. l.], v. 41, p. 136–145, 2013.

MCALONAN, Kerry; BROWN, Verity J. Orbital prefrontal cortex mediates reversal learning and not attentional set shifting in the rat. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 146, n. 1–2, p. 97–103, 2003.

MILOVANOVIC, Ivana et al. SGA Children with Moderate Catch-Up Growth Are Showing the Impaired Insulin Secretion at the Age of 4. [s. l.], v. 9, n. 6, 2014.

MISSALE, C. et al. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological reviews**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 189–225, 1998.

MITCHELL, Marci R.; POTENZA, Marc N. Recent Insights into the Neurobiology of Impulsivity. **Current Addiction Reports**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 309–319, 2014.

MOELLER, F. G. et al. Psychiatric aspects of impulsivity. **American Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 158, n. 11, p. 1783, 2001.

MORALES, Marisela; PICKEL, Virginia M. Insights to drug addiction derived from ultrastructural views of the mesocorticolimbic system. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 1248, n. 1, p. 71–88, 2012.

MORRIS, Margaret J. et al. Why is obesity such a problem in the 21st century? The intersection of palatable food, cues and reward pathways, stress, and cognition. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 58, p. 36–45, 2015.

MYCHASIUK, Richelle; GIBB, Robbin; KOLB, Bryan. Prenatal bystander stress induces neuroanatomical changes in the prefrontal cortex and hippocampus of developing rat offspring. **Brain Research**, [s. l.], v. 1412, p. 55–62, 2011.

MYCHASIUK, Richelle; GIBB, Robbin; KOLB, Bryan. Prenatal Stress Alters Dendritic Morphology and Synaptic Connectivity in the Prefrontal Cortex and Hippocampus of Developing Offspring. [s. l.], v. 314, n. November 2011, p. 308–314, 2012.

NAEF, L. et al. Reduced anticipatory dopamine responses to food in rats exposed to high fat during early development. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 885–888, 2013.

NEDERKOORN, Chantal et al. Exposure to binge food in bulimia nervosa: Finger pulse amplitude as a potential measure of urge to eat and predictor of food intake. **Appetite**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 125–130, 2004.

NEDERKOORN, Chantal et al. Why obese children cannot resist food: The role of impulsivity. **Eating Behaviors**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 315–322, 2006. a.

NEDERKOORN, Chantal et al. Impulsivity in obese women. **Appetite**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 253–256, 2006. b.

NETO, Rocha Moreira et al. Etiologia da restrição de crescimento intrauterino (RCIU). **Medicina**, [s. l.], p. 21–30, 2011.

OADES, Robert D. Role of the serotonin system in ADHD: Treatment implications. **Expert Review of Neurotherapeutics**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 1357–1374, 2007.

ONG, K. K. Size at Birth , Postnatal Growth and Risk of Obesity. **Hormone research**, [s. l.], v. 65, n. suppl 3, p. 65–69, 2006.

ONGE, Jennifer R. St; ABHARI, Hamed; FLORESCO, Stan B. Dissociable Contributions by Prefrontal D 1 and D 2 Receptors to Risk-Based Decision

Making. [s. l.], v. 31, n. 23, p. 8625–8633, 2011.

ONGUR, D.; PRICE, J. L. The Organization of Networks within the Orbital and Medial Prefrontal Cortex of Rats, Monkeys and Humans. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 206–219, 2000.

PALOYELIS, Yannis et al. DAT1 and COMT effects on delay discounting and trait impulsivity in male adolescents with attention deficit/hyperactivity disorder and healthy controls. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 35, n. 12, p. 2414–2426, 2010.

PARDEY, Margery C. et al. Catecholamine receptors differentially mediate impulsive choice in the medial prefrontal and orbitofrontal cortex. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 203–12, 2013. a.

PARDEY, Margery C. et al. Catecholamine receptors differentially mediate impulsive choice in the medial prefrontal and orbitofrontal cortex. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 203–12, 2013. b.

PARK, S. Q. et al. Prefrontal Cortex Fails to Learn from Reward Prediction Errors in Alcohol Dependence. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 30, n. 22, p. 7749–7753, 2010.

PATTIJ, Tommy; VANDERSCHUREN, L. J. M. J. The neuropharmacology of impulsive behaviour. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 192–199, 2008.

PERÄLÄ, Mia Maria et al. Body Size at Birth Is Associated with Food and Nutrient Intake in Adulthood. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 9, 2012.

PERRY, Jennifer L.; STAIRS, Dustin J.; BARDO, Michael T. Impulsive choice and environmental enrichment: Effects of d- amphetamine and methylphenidate. [s. l.], v. 6, n. 9, p. 790–795, 2015.

PETTITT, David J.; JOVANOVIĆ, Lois. Birth Weight As a Predictor of Type 2 Diabetes Mellitus: The U-Shaped Curve. **Current Diabetes Reports**, [s. l.], v. 1, p. 78–81, 2001.

PHILLIPS, Anthony G.; AHN, Soyon; FLORESCO, Stan B. Magnitude of Dopamine Release in Medial Prefrontal Cortex Predicts Accuracy of Memory on a Delayed Response Task. **The Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 547–553, 2004.

PICKERING, Alan D.; GRAY, Jeffrey A. Dopamine , appetitive reinforcement , and the neuropsychology of human learning: An individual differences approach Personality and Neuropsychology Possible Personality-Sensitive Processes Affecting Learning. **Advances in Research on Temperament**, [s. l.], p. 113–149, 2001.

PILGAARD, Kasper et al. Differential Nongenetic Impact of Birth Weight Versus Third-Trimester Growth Velocity on Glucose Metabolism and Magnetic Resonance Imaging Abdominal Obesity in Young Healthy Twins. **Endocrine Research**, [s. l.], v. 96, n. September, p. 2835–2843, 2011.

POLIVY, Janet; HERMAN, C. Peter; COELHO, Jennifer S. Caloric restriction in the presence of attractive food cues: External cues, eating, and weight. **Physiology and Behavior**, [s. l.], v. 94, n. 5, p. 729–733, 2008.

PORTELLA, A. K. et al. Effects of in utero conditions on adult feeding preferences. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, [s. l.], v. 3, n. 03, p. 140–152, 2012.

PORTELLA, André Krümel; SILVEIRA, Patrícia Pelufo. Neurobehavioral determinants of nutritional security in fetal growth-restricted individuals. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 1331, n. 1, p. 15–33, 2014.

POWER, Michael L.; SCHULKIN, Jay. Anticipatory physiological regulation in feeding biology: Cephalic phase responses. **Appetite**, [s. l.], v. 50, n. 2–3, p. 194–206, 2008.

PURSEY, Kirrilly M. et al. Neural Responses to Visual Food Cues According to Weight Status: A Systematic Review of Functional Magnetic Resonance Imaging Studies. **Frontiers in Nutrition**, [s. l.], v. 1, n. July, p. 1–11, 2014.

RANGEL-BARAJAS, Claudia; CORONEL, Israel; FLORÁN, Benjamín. Dopamine Receptors and Neurodegeneration. **Aging and Disease**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 349, 2015.

RASMUSSEN, Erin B.; LAWYER, Steven R.; REILLY, William. Percent body fat is related to delay and probability discounting for food in humans. **Behavioural Processes**, [s. l.], v. 83, n. 1, p. 23–30, 2010.

REDGRAVE, Peter; PRESCOTT, Tony J.; GURNEY, Kevin. Is the short-latency dopamine response too short to signal reward error? **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 146–151, 1999.

REINHOLZ, Julia et al. Compensatory weight gain due to dopaminergic hypofunction: New evidence and own incidental observations. **Nutrition and Metabolism**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 1–4, 2008.

REIS, Roberta Sena et al. Poor infant inhibitory control predicts food fussiness in childhood - A possible protective role of n-3 PUFAs for vulnerable children. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, [s. l.], v. 97, p. 21–25, 2015.

ROESCH, Matthew R.; CALU, Donna J.; SCHOENBAUM, Geoffrey. Dopamine neurons encode the better option in rats deciding between differently delayed or

sized rewards. **Nature neuroscience**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. 1615–24, 2007.

ROLLINS, Brandi Y.; DEARING, Kelly K.; EPSTEIN, Leonard H. Delay discounting moderates the effect of food reinforcement on energy intake among non-obese women. **Appetite**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 420–425, 2010.

ROMANO, Ryan C.; CARTER, Jodi M.; FOLPE, Andrew L. Aberrant intermediate filament and synaptophysin expression is a frequent event in malignant melanoma : an immunohistochemical study of 73 cases. [s. l.], v. 28, n. 8, p. 1033–1042, 2015.

RONDOU, Pieter; HAEGEMAN, Guy; VAN CRAENENBROECK, Kathleen. The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, [s. l.], v. 67, n. 12, p. 1971–1986, 2010.

RYDÉN, A. et al. Severe obesity and personality: A comparative controlled study of personality traits. **International Journal of Obesity**, [s. l.], v. 27, n. 12, p. 1534–1540, 2003.

SADOVSKY, Ana D. I. et al. LBW and IUGR temporal trend in 4 population-based birth cohorts: the role of economic inequality. **BMC Pediatrics**, [s. l.], p. 1–8, 2016.

SALAM, Rehana A.; DAS, Jai K.; BHUTTA, Zulfiqar A. Impact of intrauterine growth restriction on long-term health. [s. l.], p. 249–254, 2014.

SALEEM, Taimur et al. Intrauterine growth retardation--small events, big consequences. **Italian journal of pediatrics**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 41, 2011.

SCHLAM, Tanya R. et al. Preschoolers' Delay of Gratification Predicts Their Body Mass 30 Years Later \$watermark-text \$watermark-text \$watermark-text. **J Pediatr**, [s. l.], v. 162, n. 1, p. 90–93, 2013.

SCHOBER, Michelle E. et al. Intrauterine growth restriction due to uteroplacental insufficiency decreased white matter and altered NMDAR subunit composition in juvenile rat hippocampi. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, [s. l.], v. 84158, p. 681–692, 2009.

SCHOENBAUM, Geoffrey; ROESCH, Matthew R.; STALNAKER, Thomas a. Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 116–124, 2006.

SCHULTZ, W. Multiple dopamine functions at different time courses. **Annu Rev Neurosci**, [s. l.], v. 30, n. February, p. 259–288, 2007. a.

SCHULTZ, W.; APICELLA, P.; LJUNGBERG, T. Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. **The Journal of neuroscience : the official journal of the**

Society for Neuroscience, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 900–13, 1993.

SCHULTZ, W.; DAYAN, P.; MONTAGUE, P. R. A neural substrate of prediction and reward. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 275, n. June 1994, p. 1593–1599, 1997.

SCHULTZ, Wolfram. Behavioral dopamine signals. **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 203–210, 2007. b.

SEAMANS, Jeremy K.; YANG, Charles R. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. **Progress in Neurobiology**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 1–57, 2004.

SEEMAN, Philip. Targeting the dopamine D 2 receptor in schizophrenia . **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 515–531, 2006.

SHAPIRO, Lauren P. et al. Differential expression of cytoskeletal regulatory factors in the adolescent prefrontal cortex: Implications for cortical development. **Journal of Neuroscience Research**, [s. l.], v. 95, n. 5, p. 1123–1143, 2017.

SHARMA, Deepak et al. Intrauterine growth restriction – part 1. [s. l.], v. 7058, n. October, 2016.

SHARMA, Deepak; SHASTRI, Sweta; SHARMA, Pradeep. Intrauterine Growth Restriction : Antenatal and Postnatal Aspects. [s. l.], p. 67–83, 2016.

SHIELS, Keri et al. Effects of Methylphenidate on Discounting of Delayed Rewards in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 291–301, 2009.

SILVEIRA, Patrícia P. et al. Preliminary evidence for an impulsivity-based thrifty eating phenotype. **Pediatric research**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 293–8, 2012.

SILVEIRA, Patrícia P. et al. Birth weight and catch up growth are associated with childhood impulsivity in two independent cohorts. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 13705, 2018.

SIMON, Nicholas W. et al. Prefrontal cortical–striatal dopamine receptor mRNA expression predicts distinct forms of impulsivity. [s. l.], v. 37, n. 11, p. 1779–1788, 2014.

SMITH, E. et al. A review of the association between obesity and cognitive function across the lifespan: Implications for novel approaches to prevention and treatment. **Obesity Reviews**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 740–755, 2011.

STANIS, Jessica J. et al. Dissociation between long-lasting behavioral sensitization to amphetamine and impulsive choice in rats performing a delay-discounting task. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 199, n. 4, p. 539–548, 2009.

STEINBERG, E. E. et al. A causal link between prediction errors, dopamine neurons and learning. **Nat Neurosci**, [s. l.], v. 16, n. May, p. 966–973, 2013.

STICE, E. et al. Relation between obesity and blunted striatal response to food is moderated by Taq1A A1 allele. **Science**, [s. l.], v. 322, n. 5900, p. 449–452, 2008.

STICE, Eric et al. Reward circuitry responsivity to food predicts future increases in body mass: Moderating effects of DRD2 and DRD4. **NeuroImage**, [s. l.], v. 50, n. 4, p. 1618–1625, 2010.

SUL, Jung Hoon et al. Distinct Roles of Rodent Orbitofrontal and Medial Prefrontal Cortex in Decision Making. **Neuron**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 449–460, 2010.

TAKAHASHI, Hidehiko; YAMADA, Makiko; SUHARA, Tetsuya. Functional significance of central D1 receptors in cognition : beyond working memory. [s. l.], v. 32, n. 7, p. 1248–1258, 2012.

TAKAHASHI, Yuji K. et al. Cocaine exposure shifts the balance of associative encoding from ventral to dorsolateral striatum. [s. l.], v. 1, n. 11, 2007.

TAKAHASHI, Yuji K. et al. The Orbitofrontal Cortex and Ventral Tegmental Area Are Necessary for Learning from Unexpected Outcomes. **Neuron**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 269–280, 2009.

TAKAHASHI, Yuji K. et al. Expectancy-related changes in firing of dopamine neurons depend on orbitofrontal cortex. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 1590–1597, 2011.

TANABE, Jody et al. Reduced neural tracking of prediction error in substance-dependent individuals. **The American journal of psychiatry**, [s. l.], v. 170, n. 11, p. 1356–63, 2013.

TEDFORD, Stephanie E.; PERSONS, Amanda L.; NAPIER, T. Celeste. Dopaminergic Lesions of the Dorsolateral Striatum in Rats Increase Delay Discounting in an Impulsive Choice Task. **Plos One**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. e0122063, 2015.

TETLEY, Amanda; BRUNSTROM, Jeffrey; GRIFFITHS, Paula. Individual differences in food-cue reactivity. The role of BMI and everyday portion-size selections. **Appetite**, [s. l.], v. 52, n. 3, p. 614–620, 2009.

TETLEY, Amanda C.; BRUNSTROM, Jeffrey M.; GRIFFITHS, Paula L. The role of sensitivity to reward and impulsivity in food-cue reactivity. **Eating Behaviors**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 138–143, 2010. a.

TETLEY, Amanda C.; BRUNSTROM, Jeffrey M.; GRIFFITHS, Paula L. The role of sensitivity to reward and impulsivity in food-cue reactivity. **Eating Behaviors**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 138–143, 2010. b.

TOMASI, Dardo; VOLKOW, Nora D. Striatocortical pathway dysfunction in addiction and obesity: differences and similarities. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 1–19, 2013.

VAESSEN, Thomas et al. The dopaminergic response to acute stress in health and psychopathology: A systematic review. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 56, p. 241–251, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.07.008>>

VALLONE, Daniela; PICETTI, Roberto; BORRELLI, Emiliana. Structure and function of dopamine receptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 125–132, 2000.

VAN DEN AKKER, Karolien et al. Impulsivity makes more susceptible to overeating after contextual appetitive conditioning. **Appetite**, [s. l.], v. 70, p. 73–80, 2013.

VAN DER LAAN, Laura N. et al. Subtypes of trait impulsivity differentially correlate with neural responses to food choices. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 296, p. 442–450, 2016.

VAN EDEN, C. G.; UYLINGS, H. B. M. Postnatal Volumetric Development of the Prefrontal Cortex in the Rat. **The Journal of Comparative Neurology**, [s. l.], n. 241, p. 268–274, 1985.

VIEAU, Didier et al. HPA axis programming by maternal undernutrition in the male rat offspring. **Psychoneuroendocrinology**, [s. l.], n. 32, p. 16–20, 2007.

VIJAYRAGHAVAN, Susheel et al. Inverted-U dopamine D1 receptor actions on prefrontal neurons engaged in working memory. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 376–384, 2007.

VOLKOW, Nora D. et al. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. **Synapse**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 169–177, 1993.

VOLKOW, Nora D. et al. Cocaine Cues and Dopamine in Dorsal Striatum: Mechanism of Craving in Cocaine Addiction. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 26, n. 24, p. 6583–6588, 2006.

VOLKOW, Nora D. et al. Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: Possible contributing factors. **NeuroImage**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 1537–1543, 2008.

VOLKOW, Nora D. et al. Unbalanced neuronal circuits in addiction. **Current Opinion in Neurobiology**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 639–648, 2013.

WALKER, Q. David et al. Dopamine uptake inhibitors but not dopamine releasers

induce greater increases in motor behavior and extracellular dopamine in adolescent rats than in adult male rats. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, [s. l.], v. 335, n. 1, p. 124–132, 2010.

WANG, Gene-jack et al. Brain dopamine and obesity. **The Lancet**, [s. l.], v. 357, n. 9253, p. 354–357, 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673600036436>>

WANG, Qiang et al. Dissociated neural substrates underlying impulsive choice and impulsive action. **NeuroImage**, [s. l.], v. 134, p. 540–549, 2016.

WAXMAN, Samantha E. A systematic review of impulsivity in eating disorders. **European Eating Disorders Review**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. 408–425, 2009.

WEISSENBRUCH, M. M. Van et al. Fetal Nutrition and Timing of Puberty. [s. l.], v. 8, p. 15–33, 2005.

WELLER, Rosalyn E. et al. Obese women show greater delay discounting than healthy-weight women. **Appetite**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 563–569, 2008.

WILLING, Jari; JURASKA, Janice M. The Timing of Neuronal Loss Across Adolescence in the Medial Prefrontal Cortex of Male and Female Rats. **Neuroscience**, [s. l.], v. 301, p. 268–275, 2015.

WINSTANLEY, C. A. Contrasting Roles of Basolateral Amygdala and Orbitofrontal Cortex in Impulsive Choice. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 24, n. 20, p. 4718–4722, 2004.

WINSTANLEY, Catharine A. et al. Interactions between serotonin and dopamine in the control of impulsive choice in rats: Therapeutic implications for impulse control disorders. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 669–682, 2005.

WINSTANLEY, Catharine A. et al. Double dissociation between serotonergic and dopaminergic modulation of medial prefrontal and orbitofrontal cortex during a test of impulsive choice. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 106–114, 2006.

WINSTANLEY, Catharine a et al. Insight Into the Relationship Between Impulsivity and Substance Abuse From Studies Using Animal Models. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, [s. l.], v. 34, n. 8, p. no-no, 2010.

WOOTERS, Thomas E.; BARDO, Michael T. Methylphenidate and fluphenazine, but not amphetamine, differentially affect impulsive choice in Spontaneously Hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rats. [s. l.], v. 6, n. 9, p. 790–795, 2015.

YATES, J. R. et al. Individual differences in impulsive action and dopamine transporter function in rat orbitofrontal cortex. **Neuroscience**, [s. l.], v. 313, p.

122–129, 2016.

YATES, Justin R. et al. Role of medial prefrontal and orbitofrontal monoamine transporters and receptors in performance in an adjusting delay discounting procedure. **Brain Research**, [s. l.], 2014.

YOKUM, Sonja; JANET, Ng; STICE, Eric. Attentional bias to food images associated with elevated weight and future weight gain: An fMRI study. **Obesity**, [s. l.], v. 19, n. 9, p. 1775–1783, 2011.

ZEEB, Fiona D.; FLORESCO, Stan B.; WINSTANLEY, Catharine A. Contributions of the orbitofrontal cortex to impulsive choice: Interactions with basal levels of impulsivity, dopamine signalling, and reward-related cues. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 211, n. 1, p. 87–98, 2010.

ZHANG, Jun et al. Defining Normal and Abnormal Fetal Growth: Promises and Challenges. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [s. l.], v. 202, n. 6, p. 522–528, 2011.

ZHANG, T. Y. Influence of Naturally Occurring Variations in Maternal Care on Prepulse Inhibition of Acoustic Startle and the Medial Prefrontal Cortical Dopamine Response to Stress in Adult Rats. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 1493–1502, 2005.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001