



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL**

**OBESIDADE E ESTRESSE CRÔNICO EM FÊMEAS DE RATOS
WISTAR: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL, BIOQUÍMICA E
HEMATOLÓGICA**

Dieferson da Costa Estrela

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Goiás, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
mestre em Biodiversidade Animal.**

Goiânia – GO

Agosto, 2015

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Dieferson da Costa Estrela		
E-mail:	diefersonestrela@gmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	☒ Sim	☐ Não	
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior	Sigla:	CAPES
País:		UF:	
		CNPJ:	
Título:	Obesidade e estresse crônico em fêmeas de ratos Wistar: Avaliação comportamental, bioquímica e hematológica		
Palavras-chave:	Modelos experimentais; Sobrepeso; Alimentos palatáveis; Estresse; Neurocomportamento		
Título em outra língua:	Obesity and chronic stress in female rats Wistar: behavioral assessment, biochemical and hematological		
Palavras-chave em outra língua:	Experimental models; Overweight; Palatable food; Stress, Neurobehavioral.		
Área de concentração:	Biodiversidade Animal		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	17/08/2015		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal		
Orientador (a):	Dr. Guilherme Malafaia Pinto		
E-mail:	guilhermeifgoiano@gmail.com		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Assinatura do (a) autor (a)

Data: 21 / 08 / 2015



**OBESIDADE E ESTRESSE CRÔNICO EM FÊMEAS DE RATOS
WISTAR: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL, BIOQUÍMICA E
HEMATOLÓGICA**

Dieferson da Costa Estrela

Orientador: Dr. Guilherme Malafaia Pinto

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Goiás, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
mestre em Biodiversidade Animal.**

Goiânia – GO

Agosto, 2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Estrela, Dieferson da Costa

Obesidade e estresse crônico em fêmeas de ratos Wistar: avaliação comportamental, bioquímica e hematológica [manuscrito] / Dieferson da Costa Estrela. - 2015.

vi, 89 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB) , Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, mapas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Modelos experimentais. 2. Sobrepeso. 3. Alimentos palatáveis. 4. Estresse. 5. Neurocomportamento. I. Pinto, Guilherme Malafaia, orient. II. Título.

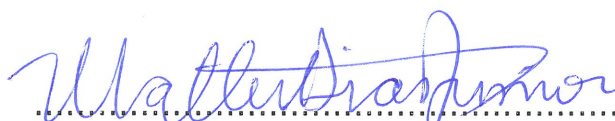
TÍTULO DO TRABALHO: "**Obesidade e estresse crônico em fêmeas de ratos wistar: avaliação comportamental, bioquímica e hematológica**"

AUTOR (A): **DIEFERSON DA COSTA ESTRELA**

DISSERTAÇÃO Nº 01 DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL, DEFENDIDA E APROVADA EM SESSÃO PÚBLICA, NA DATA DE 17 DE AGOSTO DE 2015, ÀS 14H, NO ANFITEATRO DO ICB II-ICB/UFG, CUJA BANCA EXAMINADORA ESTEVE CONSTITUÍDA DOS SEGUINTE PROFESSORES:



Profa. Dra. Renata Mazaro e Costa
ICB/UFG



Prof. Dr. Walter Dias Júnior
UEG/Ceres



Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto
Presidente da banca
IFGoiano/Urutaí

Dedico este trabalho aos meus avós,
Antônio de Oliveira, Lindomar Martins de Araújo,
Tereza Rodrigues de Melo Estrela e Dário da Costa Estrela (*in memoriam*),
que com seus exemplos sempre me inspiraram!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por sempre me guiar por bons caminhos e me presentear frequentemente com excelentes familiares, amigos e momentos felizes.

Ao meu pai, Olavo da Costa Estrela, e de modo muito especial à minha mãe, Rosângela Maria de Oliveira Estrela. Seus esforços em me ajudar nesta caminhada foram e são insubstituíveis! Agradeço, ainda, pela compreensão e apoio em relação às minhas decisões e esforços em função do sonho acadêmico.

Aos meus amigos, pelos estímulos, momentos felizes e compreensão pelos vários momentos de ausência.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto, por sempre acreditar em mim. Sua ajuda viabilizou a realização de mais um grande sonho. Seu exemplo é o meu referencial e caminho para um dia ser um colega profissional. Muito obrigado meu caro!

Aos amigos do Laboratório de Pesquisas Biológicas do Instituto Federal Goiano – Câmpus Urutaí, Abraão Guimarães, Wellington Silva e Bruna Mendes, por todos os ótimos momentos juntos. A ajuda de vocês foi muito importante para o desenvolvimento dos experimentos e reflexões sobre os dados.

Aos professores e amigos do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal da Universidade Federal de Goiás. Agradeço especialmente ao meu ex-orientador Prof. Dr. Fabiano Rodrigues de Melo e ao Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos, pelos vários ensinamentos e orientações na caminhada do Mestrado. Agradeço também aos amigos Samuel Nunes, Dornelles Assunção, Priscila Cabral, Thaís Assis e Muryllo Melo, pelos aprendizados e vários momentos agradáveis que passamos.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem participar deste importante momento de minha formação, pela atenção, colocações e contribuições que tanto enriqueceram este trabalho.

À Universidade Federal de Goiás e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, pelas oportunidades e pela formação de alta qualidade que pude ter acesso.

Por fim, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela concessão financeira para a execução deste estudo (processo nº 201210267001124) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo durante o curso.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
Lista de figuras	9
Lista de quadros e tabelas	11
Lista de abreviaturas e siglas	12
Capítulo I. REVISÃO DE LITERATURA E OBJETIVOS	14
1.1. Epidemiologia da obesidade e seus principais efeitos na homeostase do organismo	14
1.2. Estresse: aspectos gerais e efeitos sobre o organismo	30
1.3. Interações entre estresse e obesidade	32
1.4. Objetivos	38
1.4.1. Objetivo geral	38
1.4.2. Objetivos específicos	38
Capítulo II. MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1. Animais e grupos experimentais	39
2.2. Design experimental	39
2.2.1. Teste do campo aberto	46
2.2.2. Teste do labirinto em cruz elevado	47
2.2.3. Teste de natação forçada	49
2.3. Avaliações realizadas pós testes comportamentais	50
2.4. Análise de dados	51
CAPÍTULO III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1. Avaliações física e nutricional	52
3.2. Avaliações neurocomportamentais	60
3.3. Avaliações bioquímicas e hematológica	65
CAPÍTULO IV. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
CAPÍTULO V. PRODUTOS DO ESTUDO	72
CAPÍTULO VI. REFERÊNCIAS	74
ANEXO I	93
ANEXO II	94

RESUMO

A obesidade e estresse crônico têm sido considerados importantes problemas de saúde pública que afetam milhões de pessoas em todo o mundo. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito da obesidade associada ao estresse crônico sobre os parâmetros neurocomportamentais, hematológicos e bioquímicos em ratas, considerando que a associação dessas doenças pode potencializar seus efeitos negativos sobre a homeostase no organismo. Para isso, ratas Wistar foram distribuídas nos seguintes grupos experimentais: dieta padrão (DP), dieta padrão + estresse (DP + estresse), dieta de cafeteria (Cafe) e dieta de cafeteria + estresse (Cafe + estresse) grupos, com 12 animais por grupo. Os animais dos grupos DP e DP + estresse foram alimentados com ração padrão roedores. Aos animais dos grupos Cafe e Cafe + estresse, adicionalmente à ração padrão, foram oferecidos diferentes alimentos palatáveis (calóricos e *in natura*), água com sacarose (300 g/L) e refrigerante do tipo cola, *ad libitum*. A partir da oitava semana experimental, os grupos DP + estresse e Cafe + estresse foram submetidos ao modelo de estresse crônico por restrição, durante 50 dias. Após o protocolo de estresse os animais foram submetidos a testes neurocomportamentais preditivos de ansiedade (teste do campo aberto e labirinto em cruz elevado) e depressão (teste do nado forçado). Ao final do experimento, avaliou-se parâmetros hematológicos (eritograma, leucograma e plaquetograma) e bioquímicos (lipidograma, glicemia, proteínas totais e frações). Os resultados demonstram que a dieta de cafeteria foi capaz de induzir um quadro de obesidade nos animais, aumentando a massa corpórea, massa das gorduras retroperitoneal e visceral, índice de massa corpórea, taxa específica de ganho de peso, delta do peso, coeficiente de eficácia alimentar, coeficiente de ganho de peso por consumo calórico, comprimento naso-anal, circunferência abdominal e quilocalorias ingeridas. A proporção da locomoção nos quadrantes centrais/locomoção total, avaliado durante o teste de campo aberto não indicou comportamento ansiolítico ou ansiogênico nos animais. No entanto, o teste de labirinto em cruz elevado mostrou que os animais obesos e estressados apresentaram maior índice de ansiedade. Além disso, os animais estressados e obesos exibiram menor comportamento de escalada em relação aos demais grupos, o que pode ser considerado um comportamento preditivo de depressão. Não foram observados efeitos prejudiciais da interação obesidade e estresse sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos avaliados. Evidenciaram-se apenas efeitos individuais do fator “nutrição” (fator 1) sobre os parâmetros leucocitários e glicêmicos avaliados. Os animais obesos apresentaram-se hiperglicêmicos e com quadro de leucocitose por neutrofilia e linfocitose.

Palavras-chaves: modelos experimentais; sobrepeso; alimentos palatáveis; estresse, neurocomportamento.

ABSTRACT

Obesity and chronic stress have been considered major public health problems that affect millions of people worldwide. The objective of this study was to analyze the effect of obesity associated with chronic stress on neurobehavioral parameters, hematological and biochemical in rats, considering that the association of these diseases can enhance their negative effects on homeostasis of the organism. For this, female Wistar rats were distributed in the following groups: standard diet (SD), standard diet + stress (DP + stress), cafeteria diet (Cafe) and cafeteria diet + stress (Cafe + stress) groups (n=12 rats, per group). The animals of the DP and DP + stress groups were fed standard food. Groups Cafe and Cafe + stress, additionally to the standard feed, were offered palatable and calorie-rich processed food, water with sucrose (300 g/L) and cola-type soft drink *ad libitum*. From the eighth experimental week, groups Std + stress and Cafe + stress were subjected to restraint chronic stress model (50 days). After the restraint chronic stress the animals were subjected to predictive anxiety tests (open field and elevated plus maze tests) and depression (forced swimming test). At the end of the experiment was evaluated hematological parameters (erythrogram, leucogram and platelet parameters) and biochemical (lipid profile, blood glucose, total proteins and fractions). The results demonstrate that cafeteria diet was able to induce obesity in the above animals, increasing body mass, weight of retroperitoneal and visceral fat, body mass index, specific rate of weight gain, weight delta efficacy coefficient food, weight gain coefficient for calorie intake, naso-anal length, abdominal circumference and kilocalories ingested. The ratio locomotion in the central quadrants/total locomotion evaluated during the open field test was not indicative of anxiogenic or anxiolytic effect in the animal's behavior. However, the elevated plus maze test showed that obese and stressed animals were prone to higher anxiety levels. In addition, the obese and stressed animals display less climbing behavior than all the other groups, which can be considered an indicator of depression-like behavior. No damaging effects caused by the interaction of obesity and stress were observed on the biochemical and hematological parameters. Only individual effects of the factor obesity on leukocyte and glycemic parameters were observed. The obese animals presented hypoglycemia and leukocytosis by neutrophilia and lymphocytosis.

Keywords: experimental models; overweight; palatable food; stress, neurobehavioral.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Percentual de mulheres e homens com prevalência de sobrepeso e obesidade (A) e obesidade isoladamente (B), entre os anos de 1980 e 2013, em países desenvolvidos, em desenvolvimento e em âmbito global.....	16
Figura 1.2. Mapa mundial evidenciando a prevalência de obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) em homens (A) e mulheres (B), com idade padronizada acima de 20 anos.....	17
Figura 2.1. Desenho esquemático relacionado à oferta de dieta de cafeteria aos animais experimentais. As cores são meramente ilustrativas.....	40
Figura 2.2. Aparato utilizado na execução do protocolo de estresse por restrição em ratas Wistar dos grupos DP + estresse e Cafe + estresse.....	45
Figura 2.3. Cronograma do experimento realizado com ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição, com destaque para as avaliações neurocomportamentais, realizadas após 15 semanas experimentais.....	46
Figura 2.4. Imagem representativa da realização do teste do campo aberto envolvendo ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição.....	47
Figura 2.5. (A) Imagem representativa da realização do teste do labirinto em cruz elevado envolvendo ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição; (B) perfil do aparato utilizado no teste do labirinto em cruz elevado.....	48
Figura 2.6. Imagem representativa da realização do teste de natação forçada envolvendo-se ratas Wistar alimentadas com dieta padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição.....	49
Figura 2.7. Cronograma simplificado do experimento realizado com ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição, com destaque para as avaliações realizadas após a eutanásia dos animais.....	50
Figura 3.1. (A) Massa corpórea semanal, (B) massa corpórea final (C) e comprimento naso-anal (CNA) e circunferência abdominal (CAB) na 8ª semana experimental de ratas Wistar submetidos às dietas padrão ou de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição.....	53
Figura 3.2. Massas relativa das gorduras retroperitoneal (A) e visceral (B) de ratas	

Wistar submetidos às dietas padrão ou de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição. (C) Imagens representativas do aspecto visual da gordura visceral dos animais, ao final do experimento, alimentados com dieta padrão (DP) (com ou sem estresse) e alimentados com dieta cafeteria (Cafe) (com ou sem estresse).....	55
Figura 3.3. (A) A ingestão calórica (kcal) por dia de ratas Wistar alimentadas com dieta padrão e de cafeteria até 8 semanas experimentais (n = 24 por grupo) pelo teste t de <i>Student</i> a 5% de probabilidade. (B) Comparação entre os grupos de DP e Cafe (Fator 1) e DP + estresse vs. Cafe + estresse (Fator 2) por <i>two-way</i> ANOVA, a 5% de probabilidade (n = 12).....	56
Figura 3.4. Percentual (A, C e E) e quantidade em gramas (B, D e F) de proteínas, carboidratos e lipídeos consumidos diariamente, respectivamente, por ratas Wistar alimentados com dieta padrão e de cafeteria até 8 semanas experimentais (n=24 por grupo).....	57
Figura 3.5. Percentual (A e C) e a quantidade (em gramas) (B e D) de proteína e carboidratos; (E) quantidade (em gramas) dos lipídios consumidos diariamente por ratas Wistar alimentadas com dieta padrão e de cafeteria ao longo do período experimental.....	58
Figura 3.6. Massa relativa das glândulas suprarrenais (g) de ratas Wistar dos grupos não estressados e estressados (n=24 por grupo).....	60
Figura 3.8. Índice de ansiedade de ratas Wistar submetidas a dietas padrão e cafeteria, expostas ou não ao estresse crônico por restrição, avaliado no teste labirinto em cruz elevado.....	61
Figura 3.9. (A) Tempo de escalada registrado em ratas Wistar submetidas a dietas padrão e cafeteria, expostas ou não ao estresse crônico por contenção (n=12), durante o teste de natação forçada. (B) Comparação entre o tempo de flutuação dos grupos DP e Cafe (fator 1), pelo <i>two-way</i> ANOVA, a 5% de probabilidade (n=24).....	64
Figura 3.10. Concentrações séricas de leucócitos totais, neutrófilos segmentados, neutrófilos totais e linfócitos, por mm ³ , dos animais dos grupos dieta padrão ou cafeteria (submetidos ou não a estresse crônico).....	67
Figura 3.11. Concentrações glicêmicas dos animais dos grupos dieta padrão ou cafeteria (submetidos ou não a estresse crônico).....	69

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1.1. Síntese de estudos recentes que têm demonstrados prejuízos orgânicos da obesidade em seres humanos.....	19
Quadro 1.2. Síntese de alguns trabalhos recentes que demonstram a associação da obesidade com a depressão e/ou ansiedade em seres humanos.....	24
Quadro 1.3. Síntese de alguns trabalhos recentes que demonstram a associação da obesidade com a depressão e/ou ansiedade em modelos animais experimentais.....	27
Quadro 1.4. Síntese de trabalhos avaliaram os efeitos da associação obesidade e estresse em modelos experimentais.....	34
Tabela 2.1. Informações nutricionais referentes à dieta padrão para roedores ofertada aos animais dos grupos controles (Nuvilab – CR1®).....	41
Tabela 2.2. Relação dos alimentos palatáveis oferecidos aos animais dos grupos Cafe e Cafe + estresse ao longo do período experimental, incluindo informações nutricionais.....	42
Quadro 2.1. Parâmetros físicos e nutricionais avaliados nos animais submetidos à dieta de cafeteria e padrão durante e/ou ao final de 8 semanas experimentais.....	44
Tabela 3.1. Parâmetros nutricionais avaliados em ratas Wistar alimentados com dieta de cafeteria ou ração padrão, na 8ª semana experimental.....	54
Tabela 3.2. Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no eritrograma e lipidograma de ratas Wistar submetidos às dietas padrão ou de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição.....	66
Tabela 3.3. Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no leucograma de ratas Wistar submetidos às dietas padrão ou de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição.....	67
Tabela 3.4. Resumo da análise de variância para os parâmetros proteínas totais, albumina, globulina e glicemia de ratos Wistar submetidos às dietas padrão e de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

AP – Artrite psoriática

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro

CA1 – Campo 1 do *cornu ammonis* (subcampo do Hipocampo)

CAB – Circunferência abdominal

Cafe – Dieta de cafeteria

Cafe + estresse – Dieta de cafeteria + estresse

CEA – Coeficiente de eficácia alimentar

CGPCC – Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

CNA – Comprimento naso-anal

DP – Dieta padrão

DP + estresse – Dieta padrão + estresse

DMO – Densidade mineral óssea

DPC – Desnutrição proteico-calórica

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

GAD – Desordens de ansiedade geral

GD – Giro dentado (região do Hipocampo)

H – Hemácia

Hb – Hemoglobina

HDL – Lipoproteínas de alta densidade

HAS – Hipertensão arterial sistêmica

Hem – Hematócrito

HPA – Eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal

IF Goiano – Instituto Federal Goiano

IMC – Índice de massa corporal

IQVD – Índice de qualidade de vida dermatológico

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

Lp – Leptina

MDA – Atividade mínima da doença

MDD – Transtorno depressivo maior

MHO - Obeso metabolicamente saudável
MS – Ministério da Saúde
NON-OVX – Fêmeas não ovariectomizadas
OMS – Organização Mundial da Saúde
ONU – Organização das Nações Unidas
OVX – Fêmeas ovariectomizadas
PASI – Índice da área e severidade da psoríase
PI – peso corporal inicial
PF – peso corporal final
TNF- α – Fator de necrose tumoral
UFG – Universidade Federal de Goiás
VCM – Volume corpuscular médio
VEGF – Fator de crescimento endotelial
VLDL – Lipoproteínas de densidade muito baixa
VP – Variação de peso

CAPÍTULO I. REVISÃO DE LITERATURA E OBJETIVOS

1.1. Epidemiologia da obesidade e seus principais efeitos na homeostase do organismo

A obesidade tem sido definida como acúmulo em excesso de gordura corporal, em medida suficiente para resultar em outras complicações de saúde, como a redução da expectativa de vida (Lancet, 2006; Flegal et al., 2013; Bahreini et al., 2013; Flegal et al., 2015). Conforme discutido recentemente por Jauch-Chara & Oltmanns (2014), a definição clássica de obesidade traduz-se num fenótipo resultante de ingestão alimentar excessiva que, combinada com sedentarismo, favorece um balanço energético positivo e, consequentemente, o aumento ponderal. Este desequilíbrio entre a energia ingerida e despendida pode ser revertido por meio da restrição energética e exercício. No entanto, a efetividade em médio ou longo prazo das intervenções com objetivo de redução da massa corpórea baseadas neste pressuposto demonstraram que a obesidade é uma patologia determinada, e mantida, por mecanismos complexos. Existe evidência quanto ao envolvimento de circuitos neurais implicados na regulação do apetite e na etiopatologia da obesidade, sugerindo que esta doença deve ser considerada no espectro das patologias neuropsicológicas (Jauch-Chara & Oltmanns, 2014). Atualmente, a obesidade é considerada uma epidemia global e um dos principais problemas de saúde pública do mundo (Dulloo et al., 2010; Haththotuwa et al., 2013; WHO, 2014; Ng et al., 2014), acometendo indivíduos de diferentes sexos, idades e etnias.

Na prática clínica, a gordura corporal é estimada, utilizando uma fórmula que combina massa corpórea e altura (Kopelman, 2000). O pressuposto subjacente é de que a maior variação de massa corpórea para as pessoas da mesma altura é devido à massa gorda¹, e a fórmula mais frequentemente utilizada em estudos epidemiológicos refere-se ao Índice de Massa Corporal (IMC). A classificação graduada de valores de IMC utilizada fornece valiosas informações para avaliações relativas ao sobrepeso e à obesidade dos indivíduos. A referida classificação permite, ainda, comparações significativas de “estado de peso” dentro e entre as populações e a identificação de indivíduos e grupos em risco de morbidade e mortalidade. Em adição, os valores de IMC também permitem a identificação de prioridades para intervenção em nível individual ou comunitário, para avaliar a eficácia dessas intervenções médicas necessárias para o tratamento do sobrepeso ou da obesidade (Kopelman, 2000).

É importante considerar que, devido às diferenças de proporções do corpo, os valores do IMC pode não corresponder ao mesmo grau de gordura em diferentes populações (WHO,

¹A massa gorda exclui a massa de todos os órgãos vitais do organismo, tais como, ossos, músculos, ligamentos, tendões e os líquidos corporais. Logo, considera-se massa gorda a gordura acumulada no organismo.

1995), tampouco explicar a grande variação na natureza da obesidade entre os diferentes indivíduos. Assim, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs a classificação de sobrepeso e obesidade que se aplica a homens e mulheres e para todos os grupos etários adultos (>18 anos) [IMC (kg/m^2) = 25,0 – 29,9, sobrepeso; 30,0 – 39,9, obesidade; e IMC $\geq$ 40,0, obesidade mórbida (WHO, 1995)].

Recentemente, Ng et al. (2014) compilaram dados de prevalência de sobrepeso e obesidade de 183 países, em uma série temporal de 33 anos, e constataram que a média mundial de prevalência tanto de sobrepeso, quanto de obesidade, entre os anos de 1980 e 2013 foi de 27,5% para adultos e 47,1% para crianças. O número de indivíduos com sobrepeso ou obesos no mundo passou de 857 milhões em 1980 para 2,1 bilhões em 2013 (Ng et al., 2014), sendo observado crescimento gradual no decorrer dos anos avaliados, sobretudo em países desenvolvidos (Figura 1.1).

Ng et al. (2014) observaram incremento na proporção de homens com sobrepeso de 28,8% em 1980 para 36,9% em 2013. No mesmo período, a proporção de mulheres passou de 29,8% para 38,0%. Tais incrementos são maiores em países desenvolvidos do que em países em desenvolvimento, sendo observada correlação com o sexo; em que se observa maior incremento de sobrepeso e obesidade em homens. Já em países em desenvolvimento ocorre uma inversão entre os sexos, ou seja, as mulheres apresentam maior incremento de gordura, em comparação com os homens (Figuras 1.1 e 1.2).

Outro aspecto importante demonstrado por Ng et al. (2014), refere-se ao fato de que tem sido demonstrado que o sobrepeso e a obesidade tendem a se intensificar com o avançar da idade. No ano de 2013, em países desenvolvidos, mais de 60% dos indivíduos com idade entre 50 e 79 anos estavam com sobrepeso ou obesos. Nos homens houve prevalência de 60% de sobrepeso, quando em idades entre 35 e 79 anos (Ng et al., 2014). Por outro lado, nos países em desenvolvimento a prevalência de sobrepeso de homens com da mesma faixa etária tem sido menor (acometendo entre 29% e 39% dos homens). Já nas mulheres a prevalência é maior, ultrapassando 40% entre aquelas com idade que varia de 50 a 69 anos (Ng et al., 2014).

É possível observar na Figura 1.1 que países em desenvolvimento, como o Brasil, apresentam menores percentuais de indivíduos com sobrepeso ou obesos em relação à média mundial. Além disso, as curvas relativas aos indivíduos obesos apresentam certa estabilidade. A partir destas observações pode-se inferir que o cenário relativo à obesidade, nos países em desenvolvimento, é “melhor” ou menos pior que a maioria dos países desenvolvidos.

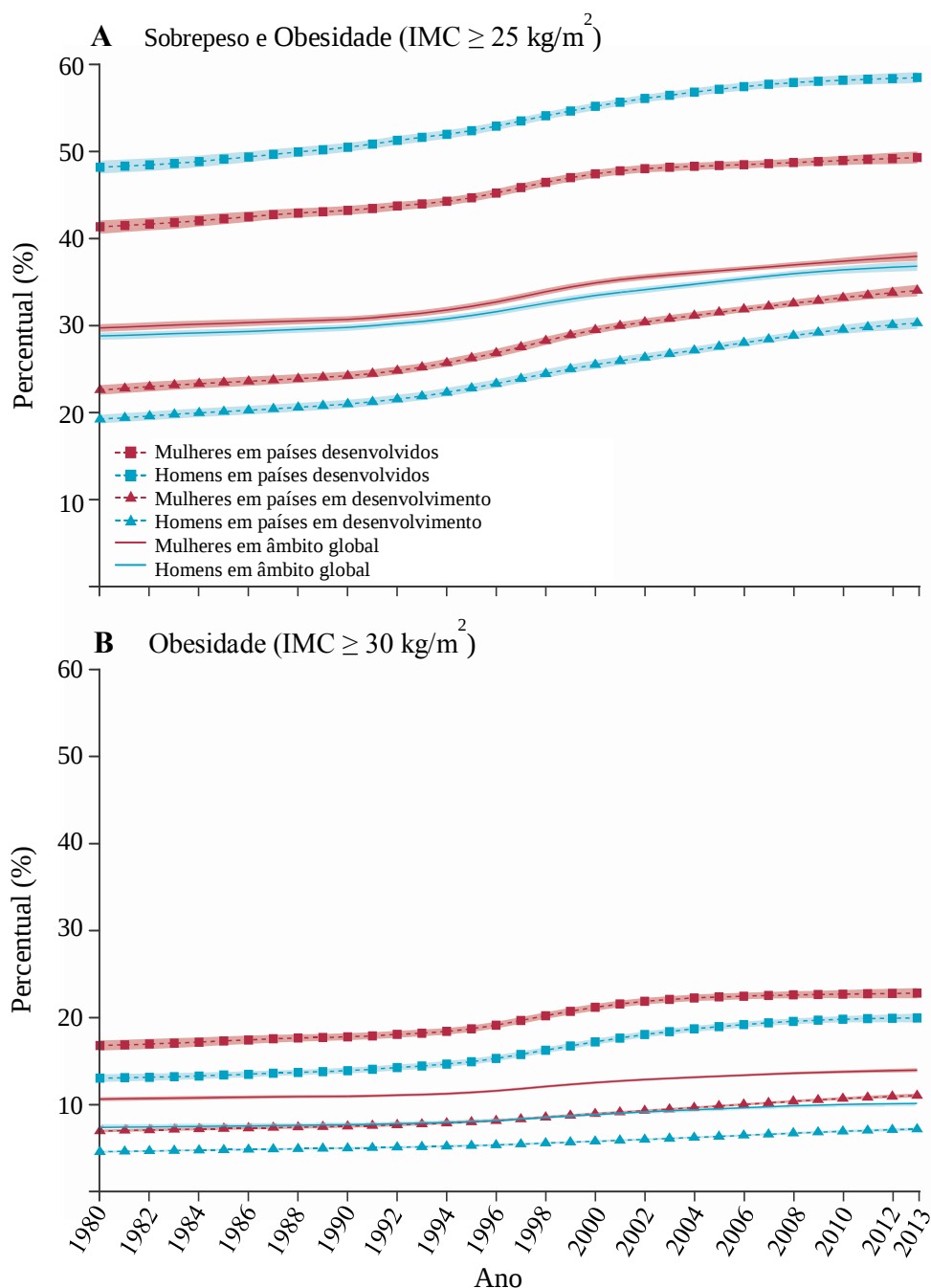
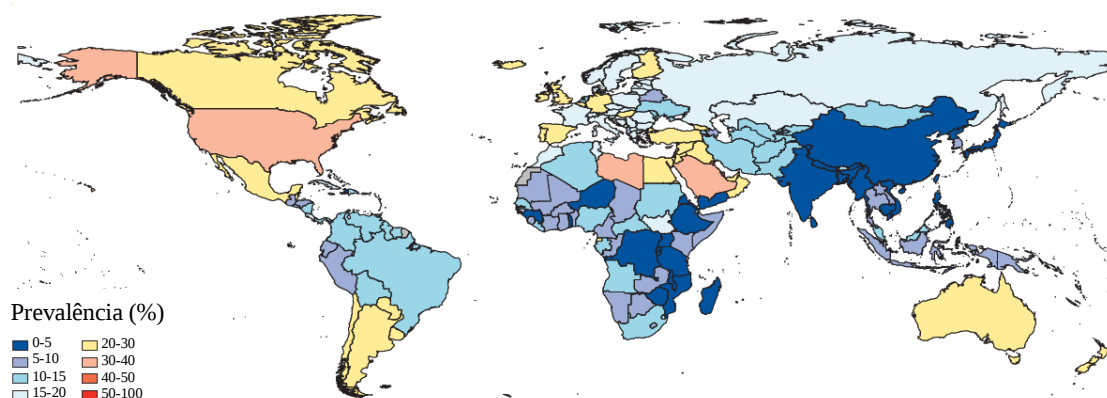


Figura 1.1. Percentual de mulheres e homens com prevalência de sobrepeso e obesidade (A) e obesidade isoladamente (B), entre os anos de 1980 e 2013, em países desenvolvidos, em desenvolvimento e em âmbito global. Fonte: Adaptada de Ng et al. (2014).

Entretanto, ainda é possível notar Figura 1.1 que os percentuais de indivíduos com sobrepeso continuam aumentando de forma acentuada, sendo estes acometidos por efeitos deletérios da adiposidade em excesso. Conforme discutido Lao et al. (2014), a estabilização dos percentuais de obesidade podem mascarar a expansão de complicações como o aumento da circunferência abdominal e a obesidade abdominal (acúmulo de gordura na região

abdominal), ambos preditivos de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular. Estes autores, em específico, avaliaram a prevalência da obesidade na China entre 2002 e 2010 e constataram a estabilização dos percentuais de obesos. Entretanto, os percentuais de indivíduos com elevada circunferência abdominal e obesidade abdominal continuam aumentando, elevando o número de pacientes com riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em função da adiposidade excessiva, mesmo diante da estabilização da prevalência da obesidade.

A Homens



B Mulheres

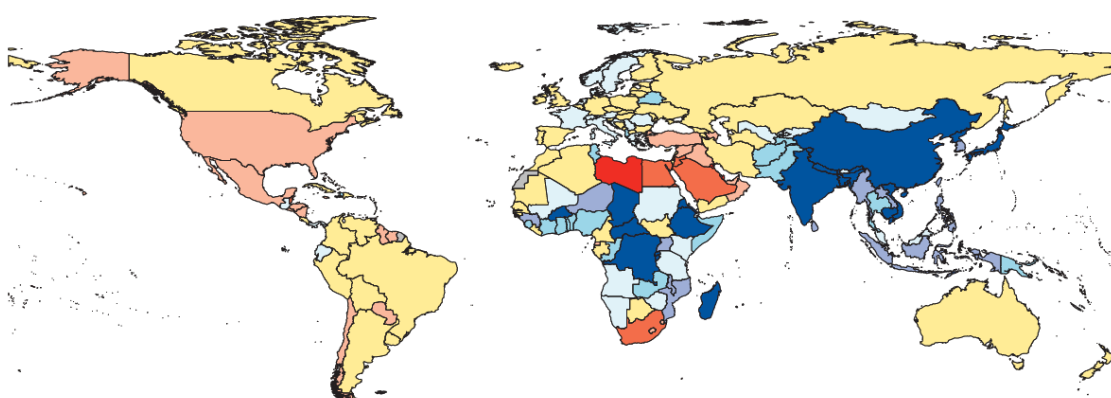


Figura 1.2. Mapa mundial evidenciando a prevalência de obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) em homens (A) e mulheres (B), com idade padronizada acima de 20 anos. Fonte: Adaptada de Ng et al. (2014).

O Brasil, em particular, tem vivido nas últimas décadas uma mudança no perfil nutricional em sua população, caracterizada pela queda da prevalência da desnutrição proteico-calórica (DPC) e pelo aumento das taxas de sobrepeso e obesidade em todas as idades, associada ao sedentarismo e às mudanças nos padrões alimentares da população, como também às mudanças sociais, econômicas e demográficas decorrentes do processo de desenvolvimento do país (Brasil, 1990; Escoda, 2002; Filho & Rissin, 2003; Ferreira et al.,

2013). Dados recentes do Ministério da Saúde (MS) (Brasil, 2012) e Malta et al. (2014) mostram que mais da metade da população encontra-se em uma condição de sobrepeso. Ainda de acordo com o MS, 42,7% da população brasileira estava acima do peso ideal, em 2006. Em 2011, esse percentual aumentou para 48,5% (Brasil, 2012) e chegou a 51% em 2012 (Malta et al., 2014). Em um estudo recente Malta et al. (2014) observaram incremento anual médio de 1,37% e 0,89% na prevalência de sobrepeso e obesidade, respectivamente. Segundo os autores, caso estas tendências sejam mantidas, em 2022 cerca de dois terços dos adultos nas capitais dos estados brasileiros estarão com sobrepeso, e cerca de um quarto serão obesos.

O país segue a tendência observada nos países em desenvolvimento (Figuras 1.1 e 1.2.), em que os homens apresentam menores índices e chances de desenvolvimento de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal (Pedroni et al., 2013; Malta et al., 2014; Ng et al., 2014). Corroborando esses dados, Pedroni et al. (2013), com o objetivo de estimar a prevalência de obesidade abdominal e excesso de gordura em escolares de 11 a 14 anos (meninos e meninas) de uma cidade serrana na região Sul do Brasil, observaram que meninos apresentaram 37,8% menos chances de desenvolver obesidade abdominal do que as meninas.

Em relação aos efeitos da obesidade nos seres humanos, estes estão relacionados à elevação da propensão ao desenvolvimento de várias morbidades como a aflição psicológica, depressão, ansiedade, osteoartrite, diabetes mellitus do tipo 2, hipertensão arterial, hiperlipidemia, esteatose hepática, doenças cardiovasculares, psoríase, asma, doença de pele generalizada e certos tipos de câncer, estando a redução de peso associada à melhora na resposta aos efeitos metabólicos da obesidade e às doenças associadas (Ziccardi et al., 2002; Haslam et al., 2005; Carrascosa et al., 2013; Jensen et al., 2013; Moreira et al., 2013; Switzer et al., 2013; Bhattacharya et al., 2014; Eder et al., 2014; Sybilski et al., 2014; Hinnouho et al., 2014; Doventas et al. 2015; Cawsey et al. 2015). Além disso, como mostrado por Olufadi et al. (2008), a obesidade está intimamente associada com a síndrome metabólica e com o aumento na expressão de marcadores pró-trombóticos e pró-inflamatórios. O Quadro 1.1 apresenta a síntese de alguns estudos importantes, os quais têm evidenciado os efeitos da obesidade sobre a homeostase do organismo humano e, conseqüentemente, prejuízos diversificados.

Quadro 1.1. Síntese de estudos recentes que têm demonstrados prejuízos orgânicos da obesidade em seres humanos.

Estudos	Principais objetivos	Público alvo do estudo	Principais conclusões
Ziccardi et al. (2002)	Avaliar a influência da obesidade em mulheres sobre as funções endoteliais e as concentrações circulantes de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão.	Mulheres italianas não-obesas e obesas saudáveis na pré-menopausa.	Nas mulheres obesas, a ativação endotelial está correlacionada com a gordura corporal visceral, possivelmente por meio de secreção inadequada de citocinas. A perda de massa corpórea representa um método seguro para regular negativamente o estado inflamatório e melhorar a disfunção endotelial em mulheres obesas.
Reilly & Kelly (2010)	Sintetizar evidências sobre o impacto, em longo prazo, da obesidade infanto-juvenil sob a mortalidade prematura e morbidade física na idade adulta.	Adultos que estavam com sobrepeso ou obesos quando crianças e adolescentes, provenientes dos Estados Unidos, Noruega, Suécia, Escócia, Austrália, Dinamarca, Reino Unido, China e Finlândia.	O sobrepeso e a obesidade na infância e adolescência têm consequências adversas sobre a mortalidade prematura e morbidade física na idade adulta.
Carrascosa et al. (2013)	Avaliar a prevalência de sobrepeso e obesidade em pacientes com psoríase moderada a grave em comparação com a população em geral e avaliar a relação entre o IMC e o risco de interrupção do tratamento.	Pacientes com psoríase moderada a grave em tratamento convencional ou biológico, residentes na Espanha.	Os pacientes com psoríase moderada a grave apresentaram maior prevalência de obesidade do que a população em geral. O aumento do IMC foi associado ao risco aumentado de interrupção do tratamento devido à falta de eficácia e um maior risco de efeitos adversos.

Continua...

Quadro 1.1. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Público alvo do estudo	Principais conclusões
Jensen et al. (2013)	Avaliar o efeito da redução do peso sobre a gravidade da psoríase em pacientes obesos.	Pacientes obesos com psoríase, provenientes da Dinamarca.	O tratamento com dieta de baixa caloria mostrou uma tendência a favor do Índice da Área e Severidade da Psoríase (PASI), melhorando clinicamente os pacientes e proporcionando uma redução significativa no Índice de Qualidade de Vida Dermatológico (IQVD) em doentes obesos com psoríase.
Moreira et al. (2013)	Identificar a prevalência e os fatores associados à hipertensão arterial sistêmica (HAS) em adolescentes de uma coorte.	Adolescentes de 10 a 16 anos, participantes de um estudo de coorte no Brasil.	Os resultados enfatizam a obesidade como principal fator associado à HAS em adolescentes.
Eder et al. (2014)	Avaliar se pacientes com sobrepeso e obesos com artrite psoriática (AP) são menos propensos a atingir o estado de atividade mínima da doença (MDA) sustentada em comparação com pacientes com peso normal.	Pacientes de um estudo de coorte realizado no Canadá.	Os pacientes com sobrepeso e obesos com AP são menos propensos a alcançar MDA sustentada em comparação com os pacientes com massa corpórea normal.

Continua...

Quadro 1.1. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Público alvo do estudo	Principais conclusões
Sybilski et al. (2014)	Analisar a relação entre a obesidade e sobrepeso e a prevalência de doenças alérgicas e sensibilização, bem como o impacto do sexo e local de residência.	Pacientes de diferentes cidades da Polônia.	O sobrepeso e a obesidade aumentaram a prevalência de asma sintomática em adultos, especialmente em mulheres. Em crianças com idade entre 13 e 14 anos, a obesidade aumentou a prevalência de asma e proporcionou uma tendência para adquirir doenças de caráter alérgico. O IMC maior foi negativamente correlacionado com a prevalência de rinite alérgica em homens com sobrepeso e obesos.
Hinnouho et al. (2014)	Examinar a associação do fenótipo obeso metabolicamente saudável (MHO) com incidente doença cardiovascular e diabetes do tipo 2.	Pacientes com fenótipos MHO e obesos metabolicamente insalubres, de ambos os sexos, residentes no Reino Unido.	Para o diabetes do tipo 2, o fenótipo MHO está associado ao menor risco do que o obeso insalubre metabolicamente, mas para doença cardiovascular o risco é elevado em ambos os fenótipos da obesidade.

Continua...

Quadro 1.1. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Público alvo do estudo	Principais conclusões
Doventas et al. (2015)	Investigar a relação entre obesidade e marcadores ósseos, leptina e resistência à insulina no tratamento da osteoporose pós-menopáusica.	Pacientes com ou sem obesidade e com ou sem osteoporose, provenientes da Turquia.	Osteoprotegerina, fosfatase ácida resistente a tartarato (TRAP; marcador osteoclástica), ativador do receptor ativador do fato nuclear KB (RANKL), fosfatase alcalina óssea e as concentrações de leptina podem ser utilizados como marcadores significativos no desenvolvimento de osteoporose e/ou obesidade em mulheres pós-menopáusicas.
Cawsey et al. (2015)	Avaliar se a densidade mineral óssea (DMO) está relacionada com maiores riscos de fratura em mulheres obesas.	Mulheres obesas com baixa ou alta densidade mineral óssea, residentes no Canadá.	As mulheres obesas com menores valores de DMO têm maior risco de fratura em comparação com aqueles com maior DMO.

O aumento constante da expectativa de vida devido ao tratamento médico avançado pode ser revertido por impactos negativos causados pela obesidade sobre a atual juventude em países ocidentalizados (Olshansky et al., 2005). Reilly & Kelly (2010) mostraram efeitos em longo prazo do sobrepeso e da obesidade. Os autores mostraram que a presença de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes tem sido associada significativamente ao incremento da mortalidade prematura e morbidade na idade adulta, ampliando as chances de desenvolver morbidades cardiometabólicas, diabetes, hipertensão, doença isquêmica do coração, acidente vascular cerebral, asma e síndrome dos ovários policísticos.

Atualmente, tem-se também associado a obesidade a diversas desordens ou distúrbios psiquiátricos. Conforme discutido por Dobrow et al. (2002), algumas pesquisas têm demonstrado que a obesidade é, em grande parte, o produto da vulnerabilidade genética mediada por um ambiente promotor da doença, o que sugere que os modelos biológicos podem ser mais úteis que os psicológicos para entender seu início e manutenção. No entanto, diferentes trabalhos têm demonstrado que em pacientes que procuram tratamento, a obesidade tem sido associada a transtornos psiquiátricos, especialmente à depressão e ansiedade, o que sugere que a comorbidade psiquiátrica deve ser considerada na avaliação e no manejo clínico. Os Quadros 1.2 e 1.3 trazem uma síntese de alguns trabalhos recentes que demonstram a associação da obesidade a essas desordens psiquiátricas, tanto em humanos, quanto em modelos animais experimentais, respectivamente.

Quadro 1.2. Síntese de alguns trabalhos recentes que demonstram a associação da obesidade com a depressão e/ou ansiedade em seres humanos.

Estudos	Principais objetivos	Público alvo do estudo	Principais conclusões
Tae et al. (2014)	Avaliar a sintomatologia psiquiátrica, o uso de substâncias, a qualidade de vida e o comportamento alimentar de pacientes obesos submetidos a cirurgia bariátrica antes e após o procedimento.	Mulheres brasileiras submetidas à cirurgia bariátrica.	Foi observada diminuição da sintomatologia psiquiátrica após a cirurgia bariátrica, bem como redução do uso de substâncias psicoativas. Além disso, houve melhora na qualidade de vida após o tratamento cirúrgico da obesidade.
Grundy et al. (2014)	Avaliar a relação entre obesidade e algumas doenças mentais, como depressão e ansiedade.	Mulheres obesas ou com massa corpórea normal, com idade entre 25-74 anos, residentes no Canadá.	Os resultados sugerem que a depressão e a ansiedade podem ser associadas com o ganho de peso e o uso de antidepressivos pode ser associado com a obesidade.
Assari (2014)	Comparar os efeitos aditivos de desordens de ansiedade geral (GAD) e transtorno depressivo maior (MDD) no IMC em subpopulações de afrodescendentes com base no cruzamento de etnia e gênero.	Homens e mulheres afrodescendentes com diferentes IMCs, provenientes dos Estados Unidos e do Caribe.	Etnia e gênero podem determinar como ansiedade e depressão estão associados com IMC nos afrodescendentes. Subpopulações (com base na etnia ou sexo) de afrodescendentes podem ter consequências mentais determinadas ou específicas da obesidade.

Continua...

Quadro 1.2. *Continuação*

Estudos	Principais objetivos	Público alvo do estudo	Principais conclusões
Lasserre et al. (2014)	Determinar se os subtipos de MDD são preditivos de adiposidade em termos de incidência de obesidade e alterações no IMC, circunferência abdominal e massa gorda.	Homens e mulheres com idade entre 35 e 66 anos, provenientes da Suíça.	O subtipo atípico de MDD é um forte preditor da obesidade, demandando maior atenção no diagnóstico e tratamento deste subtipo.
Butnorienė et al. (2014)	Investigar a associação de transtornos depressivos e ansiosos com a síndrome metabólica.	Homens e mulheres com em média 45 anos, oriundos da Lituânia.	Distúrbios e sintomas da depressão estão associados com maior taxa de prevalência de síndrome metabólica (condição associada à obesidade). Contudo, tal associação não ocorre na ansiedade.
Burgmer et al. (2014)	Avaliar a relação entre o curso da massa corpórea e variáveis psicológicas como depressão, ansiedade, qualidade de vida e autoestima até 4 anos após a cirurgia bariátrica.	Pacientes de ambos os sexos submetidos a cirurgia bariátrica, com idade média de $38,8 \pm 10,2$ anos. Os pacientes foram provenientes da Alemanha e Áustria.	Foi observada considerável perda de peso após a cirurgia bariátrica e melhoria significativa de aspectos importantes da saúde mental durante o período de acompanhamento de 4 anos.

Continua...

Quadro 1.2. *Continuação.*

Jari et al (2014)	Avaliar a relação de sobrepeso e obesidade com alguns distúrbios psicológicos em uma amostra nacionalmente representativa de adolescentes iranianos	Estudantes iranianos com idade entre 10 e 18 anos de ambos os sexos, com diferentes IMCs (normal, sobrepeso e obesidade) e condições mentais.	Em adolescentes iranianos, o sobrepeso não aumentou o risco de sofrimento psíquico. Este achado pode ser devido à atitude positiva da família e dos pares para gordura na adolescência.
Carey et al. (2014)	Explorar a prevalência de depressão entre os pacientes de clínica geral com baixo peso, peso normal, sobrepeso e obesos.	Pacientes australianos com idade maior ou igual a 18 anos, com baixa massa corpórea, massa corpórea normal e obesos.	Massa corpórea e depressão demonstraram correlação em forma de U, com maior prevalência de depressão observada entre os pacientes com baixa massa corpórea e obesos.
Marmorstein et al. (2014)	Examinar associações potenciais entre depressão e obesidade de início da adolescência até a idade adulta precoce.	Adolescentes de ambos os sexos com massa corpórea normal e sobrepeso, provenientes dos Estados Unidos.	No sexo feminino, ocorre correlação bidirecional; depressão precoce no início da adolescência é associada com risco elevado de desenvolver obesidade mais tarde, e a obesidade precoce prediz a depressão mais tarde.

Quadro 1.3. Síntese de alguns trabalhos recentes que demonstram a associação da obesidade com a depressão e/ou ansiedade em modelos animais experimentais.

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
Sharma & Fulton (2012)	Determinar o impacto de uma dieta rica em gordura palatável no comportamento depressivo, alterações bioquímicas e em circuitos de recompensa do cérebro.	Camundongos C57BL/6J machos adultos (8 semanas de vida), submetidos aos testes do labirinto em cruz elevada, campo aberto e nado forçado.	O consumo crônico de comida rica em gordura e obesidade induzem alterações relacionadas com plasticidade no circuito de recompensa que estão associados a um fenótipo do tipo depressivo.
Rodriguiz et al (2013)	Testar a hipótese de que as respostas de ansiedade não estão presentes em camundongos obesos jovens (60 dias), mas aparecem em animais obesos mais velhos (> 90 dias).	Camundongos BKS.HRS-Cpe ^{fat} /J de ambos os sexos, submetidos aos testes comportamentais do campo aberto, exploração claro escuro, nado forçado e suspensão da cauda.	Os camundongos apresentaram comportamento ansiogênico e depressivo antes de desenvolver obesidade, contudo não foi possível identificar a ordem de aparecimento dos comportamentos depressivos ou ansiogênicos.
Rossetti et al. (2013)	Testar se a oferta intermitente de ração padrão para roedores e alimentos palatáveis induzem compulsão alimentar.	Ratas Wistar com idade entre 45 e 60 dias (140-200 g), submetidos a diferentes testes neurocomportamentais	Ocorreu desenvolvimento de transtornos de ansiedade e déficits cognitivos que conduzem a uma perda de controle sobre a ingestão de alimentos palatáveis.

Continua...

Quadro 1.3. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
Kurhe et al. 2014	Investigar o papel do ondansetron na dieta rica em gordura em camundongos obesos induzidos a alterações comportamentais e bioquímicos, utilizando o modelo de depressão causada por estresse leve crônico imprevisível.	Camundongos Swiss machos (20 e 25 g). Os animais foram submetidos aos testes comportamentais do nado forçado, labirinto em cruz elevada e preferência por sacarose.	Ondansetron, por meio da modulação alostérica do sistema serotoninérgico, eleva o nível de serotonina e, assim, regula a secreção de insulina e, portanto, reverte o "nível de glicose alterado", podendo ser um possível mecanismo antidepressivo em situações de comorbidade com a obesidade.
André et al. (2014)	Avaliar o impacto da obesidade induzida por dieta no aparecimento de alterações neuropsiquiátricas e o aumento da susceptibilidade à doenças imunomediadas.	Camundongos C57Bl/6 machos submetidos aos testes comportamentais labirinto em cruz elevada, labirinto em Y, suspensão da cauda, atividade motora e nado forçado.	A obesidade e, possivelmente, a resposta inflamatória associada à obesidade, podem representar um estado de vulnerabilidade a sintomas depressivos imunomediados.
Sivanathan et al. (2015)	Avaliar os efeitos do consumo crônico de uma dieta rica em gordura em comparação com uma dieta de baixa gordura, por ratas adultas.	Ratas adultas da linhagem Long Evans, submetidas aos testes de transição claro-escuro e campo aberto	O consumo crônico de dieta hiperlipídica aumenta o comportamento de ansiedade nos animais, pelo menos, em parte por meio de alterações nos mecanismos de sinalização de glicocorticoides nas regiões límbicas do cérebro.

Continua...

Quadro 1.3. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
McNeilly et al. (2015)	Testar a hipótese de que a hipersecreção de glicocorticoide, evocada pela alimentação de ratos com uma dieta rica em gordura durante 12 semanas, também influencia as respostas comportamentais e neurais no teste do labirinto em cruz elevado.	Ratos Wistar adultos.	As propriedades ansiolíticas evocadas no teste do labirinto em cruz elevado pela alimentação rica em gorduras não são susceptíveis de serem relacionadas às alterações na função do eixo HPA visto em animais alimentados com esta dieta.

1.2. Estresse: aspectos gerais e efeitos sobre o organismo

Outro problema de saúde que tem afetado milhões de pessoas refere-se ao estresse, que está relacionado à dinâmica do mundo moderno (Monroe, 2008). Conforme discutido por Lazarus (1984) e Taylor & Stanton (2007), o estresse pode ser decorrente de uma determinada condição e/ou estilo de vida e resultar em um conjunto amplo de alterações comportamentais.

Para Rossetti et al. (2008), o estresse tem aparecido como um dos fatores predominantes em várias desordens psíquicas, as quais tem aumentado consideravelmente em todo o mundo (Collins et al, 2011; Murray et al., 2012). Considerado pela Organização das Nações Unidas (ONU), em 1992, como a doença do século XX, o estresse afeta mais de 90% da população mundial e vem sendo considerada uma epidemia global (Almeida, 2002; Evans et al., 2007). Em adição, conforme discutido por Tully (2004), o estresse tem sido responsabilizado pela elevação dos custos empresariais de 50 a 75 bilhões de dólares por ano, principalmente na área de recursos humanos e em planos de saúde, sem levar em conta o prejuízo humano direto decorrente dos desgastes físico, emocional e social.

Segundo Lipp (2000), os custos sociais, emocionais e psicológicos ligados ao estresse, são elevados, sendo o mesmo responsável pela queda da produtividade e da alta taxa de ausência ao trabalho. Estimativas da OMS preveem que 25% de toda a população mundial irão experimentar os sintomas ou sinais clínicos do estresse pelo menos uma vez na vida (WHO, 2001). Zakabi (2004) estima que no Brasil, o nível de estresse esteja 50% mais elevado que há 40 anos.

De acordo com Lipp & Guevara (1994), observa-se várias reações físicas e emocionais frente ao estresse. Segundo as autoras, os sinais e sintomas que ocorrem com maior frequência de nível físico são: aumento da sudorese, tensão muscular, taquicardia, hipertensão, aperto da mandíbula, ranger de dentes, hiperatividade, náuseas, mãos e pés frios. Em termos psicológicos, vários sintomas podem ocorrer como: ansiedade, tensão, angústia, insônia, alienação, dificuldades interpessoais, dúvidas quanto a si próprio, preocupação excessiva, incapacidade de concentrar-se em outros assuntos que não o relacionado ao estressor, dificuldade de relaxar, ira e hipersensibilidade emotiva (Lipp & Guevara, 1994).

Em face disso, o estresse, quando presente no indivíduo, pode desencadear uma série de doenças. Se nada for feito para aliviar a tensão, o indivíduo cada vez mais se sentirá exaurido, sem energia e depressivo (Lipp, 2001). Em termos físicos ou

fisiológicos, muitos tipos de doenças podem ocorrer, dependendo da herança genética do indivíduo. Alguns indivíduos adquirem úlceras (Melinder et al., 2015), outros desenvolvem hipertensão (Fonseca et al., 2009), outros apresentam herpes, dentre outras. A partir daí, sem tratamento especializado e de acordo com as características pessoais, existe o risco de ocorrerem problemas graves, como infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, dentre outros (Lipp, 2002). Não é o estresse que causa essas doenças, mas ele propicia o desencadeamento de doenças para as quais o indivíduo já tinha predisposição ou, ao reduzir a defesa imunológica, ele abre espaço para que doenças oportunistas apareçam (Lipp, 1996).

O estresse também pode afetar as funções cognitivas dos indivíduos, seja em curto prazo (por exemplo, quando os pensamentos de um indivíduo são ocupados com um argumento que aconteceu no início do dia, resultando em redução da capacidade de prestar atenção, acompanhar) ou em longo prazo (por exemplo, quando indivíduos são expostos a estresse crônico, em comparação com seus pares menos estressados com a mesma idade) (Stacey et al., 2015). Alguns estudos importantes têm apoiado esses padrões – em curto prazo, em que menores estressores diários podem produzir efeitos transitórios sobre a cognição, reduzindo a quantidade de recursos de atenção disponíveis para o processamento de informações (Sliwinski et al., 2006; Stawski et al., 2006).

O estresse diário também tem sido associado com aumento de processos inflamatórios e tanto a inflamação, quanto o humor negativo de indivíduos estressados, estão associados à fadiga e podem explicar o déficit de atenção comumente observado em situações de estresse agudo (Dantzer et al., 2008). Em longo prazo, o estresse crônico tem sido consistentemente associado com prejuízos nas funções cognitivas dos indivíduos (Andel et al., 2011; Korten et al., 2014), declínio cognitivo acelerado (Wilson et al., 2005; Aggarwal et al., 2014) e aumento da incidência de demência (Wilson et al., 2007). Uma explicação para esses efeitos em longo prazo é que os indivíduos que sofrem de estresse crônico estão sob maior risco de sofrer de “desgaste biológico” [ou seja, carga alostática² (McEwen, 1998; Chen et al., 2012)], que resulta em desregulação na função endócrina, quanto em efeitos pró-inflamatórios (Sapolsky et al., 1986; Black, 2002; Kiecolt-Glaser et al., 2003; Miller et al., 2011) que podem

²Em outras palavras, a carga alostática pode ser vista como um índice para aferir esforços adaptativos anteriores, sempre com caráter cumulativo, sendo um bom marcador para medir os esforços e sua relação com os fatores de estresse de qualquer intensidade (Seeman et al., 2002; Carvalho, 2007).

prejudicar a estrutura neural e, conseqüentemente, o desempenho cognitivo (Lupien et al., 1998; Seeman et al., 2001; Yaffe et al., 2003).

1.3. Interações entre estresse e obesidade

Dentre as diversas alterações que podem ocorrer em função do estresse, as mudanças no comportamento alimentar, o qual reflete uma interação entre o estado fisiológico do organismo e as condições ambientais (Vilela et al., 2004; Silva, 2011; Patrick et al., 2011), estreitam os laços da condição estressante com a obesidade. O estresse crônico, em especial, está associado a transtornos metabólicos e mudanças na homeostase energética (Bartolomucci et al., 2009), que podem induzir comportamentos prazerosos e compulsivos como a ingestão de alimentos doces e gordurosos, e com isso, levar o indivíduo à obesidade (Gluck et al., 2001; Bjorntorp, 2001; Coccorello et al., 2009).

Muennig (2008) destaca que o elevado grau de estresse psicológico vivido por indivíduos obesos, em função do estigma social relacionado à massa corpórea, pode intensificar os efeitos fisiopatológicos da obesidade, sendo que muitas das alterações bioquímicas adversas que estão comumente associadas com a adiposidade excessiva também podem ser causadas pelo estresse psicológico. Tais efeitos têm sido observados principalmente em populações adultas estigmatizadas, mas também podem ser esperados em crianças (Puhl & Latner 2007).

Nesse sentido, parece existir uma correlação bidirecional entre distúrbios psiquiátricos, sobrepeso e obesidade. Conforme demonstrado por Luppino et al. (2010), a obesidade é um preditor da depressão. Estes autores encontraram uma associação bidirecional entre depressão e obesidade, na qual indivíduos obesos tinham incremento de 55% de chances de desenvolver depressão, ao passo que indivíduos deprimidos tinham incremento de 58% de chances de se tornar obesos. Os autores revelaram, ainda, que a associação entre depressão e obesidade foi mais forte que a associação entre depressão e sobrepeso, o que reflete um gradiente de dose-resposta, no qual quanto mais intenso for o quadro de uma condição, maior é a chance de desenvolver a outra.

Dessa forma, fica clara a importância de se desenvolver estudos que visam elucidar ou caracterizar melhor os efeitos associados da obesidade a outras enfermidades (Eder et al., 2014). Em se tratando de investigações sobre a associação da obesidade ao estresse, diferentes estudos já foram conduzidos (Dallman et al., 2005; Dallman et al., 2006; Warne & Dallman, 2007; Dallman, 2010; Tomiyama et al., 2011;

Macedo et al., 2012; De-Oliveira et al., 2014; Macedo et al., 2014; Macedo et al., 2015). O Quadro 1.4 sumariza esses estudos, apresenta os seus principais achados e evidencia a importância desses estudos para a evolução do conhecimento sobre os efeitos da associação da obesidade e estresse em modelos experimentais. Entretanto, constata-se uma carência de estudos que avaliaram o efeito associado dessas enfermidades, sob parâmetros neurocomportamentais, alterações bioquímicas e hematológicas que podem refletir distúrbios patogênicos em modelos animais.

Além disso, alguns estudos têm apontado para resultados diferentes quando machos e fêmeas de modelos experimentais são avaliados em estudos envolvendo obesidade (Asarian & Geary, 2013) e estresse (Franceschelli et al., 2014; Balog et al., 2015; Lu et al., 2015; Keller et al., 2015). Especialmente sobre o estresse, vários agentes estressores e protocolos têm sido usados. De acordo com Franceschelli et al. (2014), o modelo de estresse leve crônico é um dos modelos animais mais extensivamente investigados de estresse crônico. No entanto, apenas um número limitado de estudos foi realizado em roedores do sexo feminino. Em relação à obesidade, embora alguns trabalhos foram realizados utilizando ratas (Pratchayasakula et al., 2015; Gurecká et al., 2015; Sivasinprasasn et al., 2015; Sivanathan et al., 2015; Colman et al., 2015), os aspectos neurocomportamentais que podem indicar distúrbios neuropsiquiátricos, como ansiedade e depressão não têm sido o foco desses estudos.

Assim, evidencia-se uma lacuna no conhecimento acerca dos fatores que possivelmente podem ser alterados em situações em que há sobreposição do estresse/obesidade. A obesidade é considerada um “extremo” ligado à nutrição, que pode ter seus efeitos reforçados quando em associação com o estresse crônico. A obesidade (reproduzida em modelos experimentais por meio da introdução de dietas de cafeteria) tem causado prejuízos em diversas funções orgânicas (Yang et al., 2005; Eguchi et al., 2008; Takashiba et al., 2011; Yang et al., 2013). Entretanto, ainda há a necessidade de investigações específicas sobre o fator estresse aliado à obesidade, uma vez que o estresse por si só é um fator impactante para o organismo. Até o presente momento não foi encontrado nenhum estudo envolvendo avaliações da associação entre estresse e obesidade sob parâmetros bioquímicos, hematológicos, bem como comportamentais preditivos de depressão e ansiedade em ratas Wistar.

Quadro 1.4. Síntese de trabalhos avaliaram os efeitos da associação obesidade e estresse em modelos experimentais.

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
Dallman et al. (2005)	Revisar os efeitos da interação entre estresse, glicocorticoides e metabolismo.	Ratos, macacos e humanos, de diferentes sexos e idades.	Estresse crônico induz o aumento do apetite por “alimentos confortantes”, como alimentos mais palatáveis e com altos índices calóricos.
Dallman et al. (2006)	Revisar evidências do papel dos glicocorticoides na ativação da rede de estresse-resposta central, e a mediação desta rede pelo fator de liberação de corticotropina.	Ratos, camundongos, macacos e humanos de diferentes sexos e idades.	Os corticosteroides estimulam o aumento da ingestão de alimentos palatáveis. Além disso, os efeitos da ausência de corticosteroides podem ser normalizados através da ingestão de sacarose.
Warne & Dallman (2007)	Revisar a associação entre estresse, dieta e obesidade.	Camundongos.	O estresse induz a comportamentos de maior alimentação de alimentos palatáveis, podendo resultar em obesidade.
Dallman (2010)	Revisar a influência do estresse e do sistema nervoso emocional sob a indução da obesidade.	Ratos e humanos de diferentes sexos e idades.	O estresse induz a secreção de glicocorticoides, o que aumenta a motivação para o alimento, e insulina, o que promove a ingestão de alimentos e obesidade.

Continua...

Quadro 1.4. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
Macedo et al. (2012)	Avaliar os efeitos de uma dieta hipercalórica associada ao estresse crônico por restrição sobre as concentrações séricas de leptina e lipídios e sobre a massa de tecidos adiposos específicos.	Ratos Wistar machos com 60 dias de idade (200-250 g).	A dieta hipercalórica induziu obesidade, aumentando o índice de Lee, massa corpórea e concentrações de leptina, triglicérides e colesterol. O estresse diminuiu o ganho de massa, mesmo em animais alimentados com dieta hipercalórica, mas não impediu aumento no índice de Lee. Foi observada interação entre os fatores dieta hipercalórica e estresse, ocasionando aumento das concentrações séricas de leptina nos animais.
Bruder-Nascimento et al. (2013)	Avaliar o papel do estresse crônico sobre o perfil metabólico e nutricional de ratos expostos a uma dieta rica em gordura.	Ratos Wistar machos com 30 dias de idade (70-100 g) no início e aproximadamente 135 dias no final.	O estresse impede o aparecimento da obesidade.

Continua...

Quadro 1.4. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
Aslani (2014)	Avaliar os efeitos da obesidade e estresse crônico moderado sob parâmetros bioquímicos e comportamentais.	Ratos Wistar machos com 90 dias de vida.	A obesidade ocasionou comportamentos do tipo depressivo e ansioso. O estresse ocasionou intolerância à glicose em animais não obesos, mas não afetou os obesos.
De-Oliveira et al. (2014)	Avaliar os efeitos da associação entre obesidade e estresse crônico sobre as concentrações séricas de marcadores adipogênicos e corticosterona.	Ratos Wistar <i>naive</i> machos com 60 dias de idade (200-250 g).	O estresse crônico e obesidade foram capazes de dessincronizar do padrão temporal da liberação de leptina e de triglicéridos, o que poderia contribuir para o desenvolvimento de doenças metabólicas, tais como a obesidade e síndrome metabólica.
Macedo et al. (2014)	Avaliar a hidrólise de nucleotídeos de adenina, em ratos submetidos à obesidade associada ou não ao estresse crônico por restrição.	Ratos Wistar machos submetidos ou não a dieta de cafeteria e estresse crônico por restrição.	A hidrólise nucleotídica alterada no soro pode ser utilizada como um marcador bioquímico para o risco cardiovascular induzido por obesidade e/ou estresse crônico.

Continua...

Quadro 1.4. *Continuação.*

Estudos	Principais objetivos	Modelo experimental utilizado	Principais conclusões
Macedo et al. (2015)	Avaliar o efeito da obesidade associada com o estresse crônico sobre as concentrações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) central de ratos.	Ratos Wistar machos com 60 dias de idade (200-250 g).	A exposição ao estresse crônico aumenta a massa das glândulas suprarrenais, diminui as concentrações de BDNF no hipocampo e está associada com uma diminuição na ingestão de calorias e sacarose, caracterizando anedonia. Por outro lado, os ratos que receberam dieta hipercalórica tiveram um aumento na ingestão de calorias e tornaram-se obesos, sendo associada com um decréscimo nas concentrações de BDNF hipotálamo.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da obesidade associada ao estresse crônico por restrição física sobre parâmetros neurocomportamentais, bioquímicos e hematológicos em ratas Wistar, partindo da hipótese de que a associação destas doenças pode aumentar seus efeitos negativos sobre a homeostase do organismo.

2.2. Objetivos específicos

Para atingir o objetivo geral, estabeleceu-se os seguintes objetivos específicos:

- Induzir nos animais experimentais a condição de obesidade, por meio da oferta de dieta de cafeteria e avaliar diferentes parâmetros relativos aos aspectos físicos e nutricionais nos animais;
- Submeter os animais à condição de estresse crônico, por restrição física, adotando-se um protocolo experimental que simula o estresse moderado e repetido, vivenciado pela população em geral, cotidianamente;
- Submeter os animais a diferentes testes neurocomportamentais, preditivos de distúrbios psíquicos comuns no dia a dia da população (ansiedade e depressão) e correlacionadas à condição de obesidade e/ou estresse;
- E por fim, avaliar o efeito da associação da obesidade e estresse crônico sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos nos animais experimentais.

CAPÍTULO II. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Animais e grupos experimentais

Neste estudo foi utilizado ratas Wistar, oriundas de matrizes do Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Câmpus Samambaia (Goiânia, GO, Brasil) e mantidas no Biotério do Laboratório de Pesquisas Biológicas do Instituto Federal Goiano (IF Goiano) – Câmpus Urutaí (Urutaí, GO, Brasil). Os animais foram submetidos a um ciclo normal claro/escuro, sendo os alimentos e líquidos oferecidos *ad libitum*. Foram utilizados animais com 45 dias de idade (idade correspondente à fase final da puberdade, de acordo com Andrade et al., 2002), distribuídos nos seguintes grupos experimentais: dieta padrão (DP); dieta padrão + estresse (DP + estresse); dieta de cafeteria (Cafe) e dieta de cafeteria + estresse (Cafe + estresse). Vale ressaltar que as dietas começaram a ser ofertadas aos animais quando estes estavam com 45 dias de idade e, em seguida, as manipulações subsequentes (especialmente aquelas relacionadas aos testes neurocomportamentais) foram realizadas quando os animais eram adultos jovens. Cada grupo experimental foi composto por seis animais, e foram realizados dois experimentos independentes, totalizando 12 animais por grupo. Os animais foram mantidos individualmente em gaiolas separadas. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IF Goiano, GO, Brasil (protocolo n. 003/2012), de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*), 8ª edição. Destaca-se, ainda, que o manejo dos animais e todos os experimentos foram realizados em conformidade com as orientações internacionais para a proteção animal.

2.2. Design experimental

Os animais dos grupos DP (com ou sem estresse) foram alimentados com dieta padrão para roedores, (Nuvilab - CR1[®]), cuja composição nutricional pode ser observada na Tabela 2.1. Os animais dos grupos Cafe (com ou sem estresse) foram alimentados com dieta de cafeteria, a qual foi composta de alimentos palatáveis com altas concentrações calóricas (Tabela 2.2). Para tanto, utilizou-se um total de 49 diferentes alimentos palatáveis, aproximando-se da variedade de alimentos ricos em calorias normalmente consumida por seres humanos.

Vale esclarecer que aos animais dos grupos Cafe e Cafe + estresse (em comedouros separados) foram oferecidos diariamente três variedades de alimentos palatáveis *ad libitum* (selecionados aleatoriamente a partir dos alimentos listados na Tabela 2.2. – todos os valores

nutricionais dos alimentos foram expressos pela quantidade (em gramas) informada na embalagem dos alimentos, além de dieta padrão para roedores. Portanto, a dieta de cafeteria sofria modificações diárias conforme ocorria a escolha dos alimentos ofertados aos animais. A Figura 2.1 ilustra de forma esquemática a dinâmica da oferta dos alimentos palatáveis e a composição da dieta de cafeteria oferecida aos animais. Os animais dos grupos Cafe e Cafe + estresse receberam a mesma variedade de alimentos palatáveis, além de dieta padrão. Os grupos DP e DP + estresse receberam apenas dieta padrão.

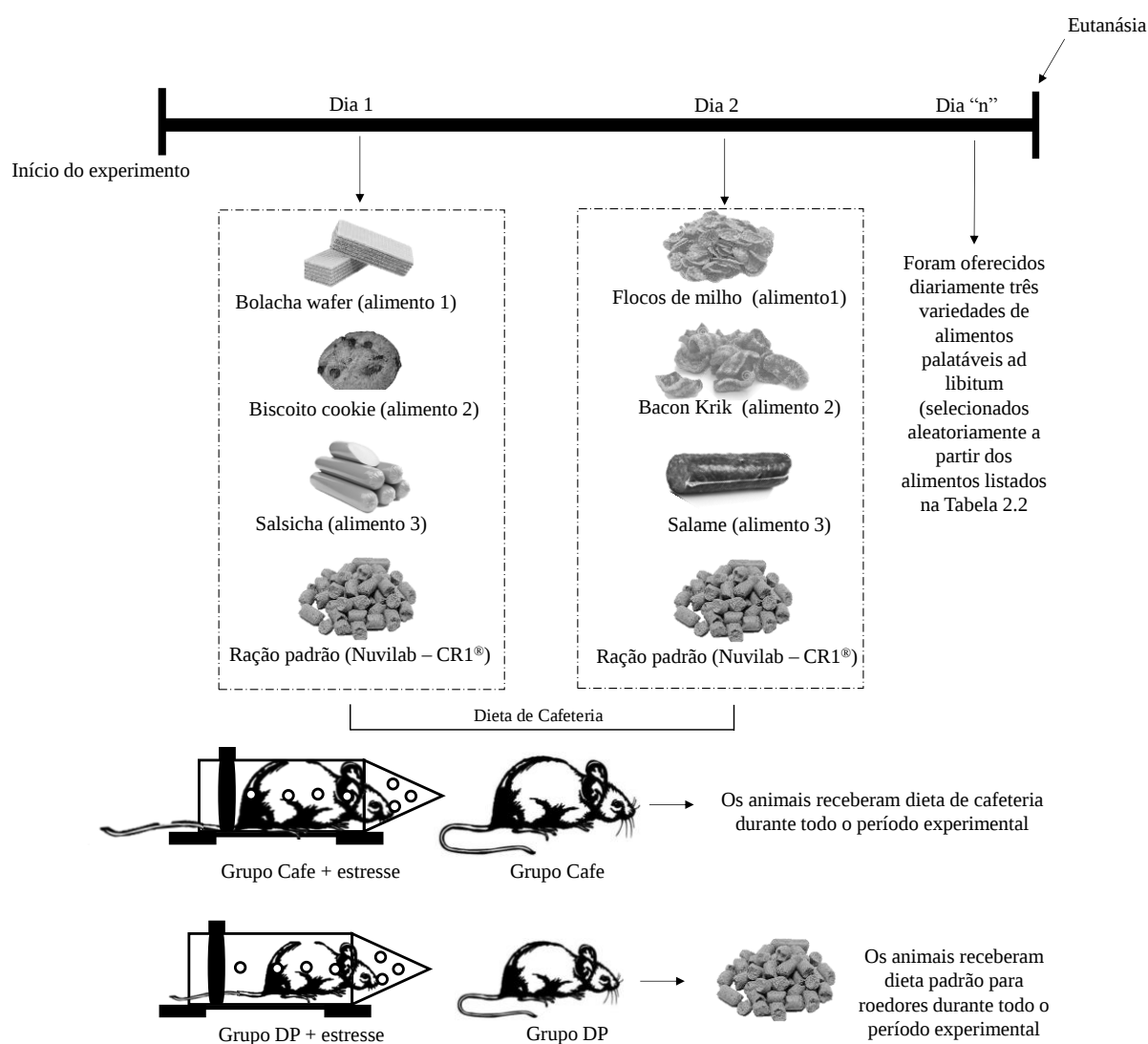


Figura 2.1. Desenho esquemático relacionado à oferta de dieta de cafeteria aos animais experimentais.

Todos os alimentos que compunham a dieta de cafeteria e a ração padrão foram pesados antes e após o consumo. Logo, o consumo diário foi calculado subtraindo-se as sobras da quantidade total de alimentos oferecidos por dia, com auxílio de balança digital

semi-analítica. Salienta-se que os alimentos palatáveis escolhidos para compor a dieta de cafeteria tinham forma e cor diferentes da dieta padrão para facilitar a diferenciação das sobras utilizadas e, conseqüentemente, o cálculo do consumo diário (em gramas). Os seguintes parâmetros foram calculados diariamente: consumo de ração total (em gramas), porcentagem e quantidade (em gramas) de proteínas, carboidratos e lipídeos totais consumidos. Além disso, os animais dos grupos Cafe e Cafe + estresse receberam água natural; água com sacarose (concentração de 300 g/L, adaptada de Malafaia et al., 2013³), e refrigerante do tipo cola *ad libitum*. A ingestão de líquidos não foi medida, desta forma, todos os cálculos de ingestão de nutrientes, energia, calorias dentre outros, foram obtidos com base apenas na dieta sólida. O cálculo da ingestão calórica diária (kcal) foi baseado na ingestão do alimento multiplicado pelo seu conteúdo calórico. Salienta-se que cada item foi calculado separadamente e os valores resultantes foram somados.

Tabela 2.1. Informações nutricionais referentes à dieta padrão para roedores ofertada aos animais dos grupos controles (Nuvilab – CR1[®]).

Ingredientes da dieta padrão ⁽¹⁾	
Milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, mistura de vitaminas, minerais e aminoácidos.	
Especificações ⁽¹⁾	Concentrações de garantia por Kg do produto (g/Kg) ⁽¹⁾
Umidade	125,0
Caseína ⁽²⁾	220,0
Extrato etéreo	40,0
Mistura de sais	90,0
Matéria fibrosa	70,0
Cálcio	10,2
Fósforo	8,0
Enriquecimento por Kg do produto ⁽³⁾	
Vitaminas: Vitamina A 13.000 UI; Vitamina D3 2.000 UI; Vitamina E 34 UI; Vitamina K3 3 mg; Vitamina B1 5 mg; Vitamina B2 6 mg; Vitamina B6 7 mg; Vitamina B12 22 µg; Niacina 60 mg; Pantotene de cálcio 20 mg; Ácido fólico 1 mg; Biotina 0,05 mg; Colina 1900 mg. Minerais: Zinco 60 mg; Cobre 10 mg; Iodo 2 mg; Selênio 0,05 mg; Cobalto 1,5 mg; Flúor 80 mg. Aminoácidos: Lisina 12 g; Metionina 4.000 mg. Aditivos: BHT 100 mg.	
⁽¹⁾ Informações obtidas a partir da embalagem do alimento (Nuvital, 2014) ⁽²⁾ O teor de proteína da caseína utilizada foi de aproximadamente 80%. ⁽³⁾ Adaptado de Reeves et al. (1993) (AIN-93-GX) and Reeves et al. (1993) (AIN-93G-MX)	

³A água com sacarose foi oferecida aos animais com o intuito de contribuir para a indução da obesidade nos animais experimentais, conforme realizado por Malafaia et al. (2013). Além disso, ela foi utilizada com vistas à simular a ingestão de bebidas com alto teor de sacarose (como por exemplo, sucos), comumente verificada na população humana.

Tabela 2.2. Relação dos alimentos palatáveis oferecidos aos animais dos grupos Cafe e Cafe + estresse ao longo do período experimental, incluindo informações nutricionais

Alimentos industrializados e porção (em gramas) com sua composição nutricional	Kcal por porção	Carboidratos		Proteínas		Gorduras totais	
		(g)	% DV	(g)	% DV	(g)	% DV
1. Bacon Krik (São João Sabor e Nutrição [®]) (30 g porção)	120	19,8	6,6	1,8	2,4	3,6	6,6
2. Bombom de chocolate branco (Nestlé [®] Brasil) (20g porção)	93	14	5	0,7	1	3,6	7
3. Pão de mel (Quero Quero) (30 g porção)	123	28	9	1,6	2	0,5	1
4. Salame (Friato [®]) (50 g porção)	112	2,5	1	6	8	8	15
5. Bolacha wafer Limão (Parmalat [®]) (30 g porção)	165	19	6	1,1	2	9,5	17
6. Flocos de milho (Skinny [®]) (25 g porção)	127	20	7	1,8	2	4,2	8
7. Amendoim confeitado (Dori [®]) (25 g porção)	109	20	7	1,8	2	2,4	4
8. Bolinho Baunilha (Bauducco [®]) (40 g porção)	164	20	7	2,2	3	8,4	15
9. Doce de leite caseiro (Parati [®]) (20 g porção)	70	17	4,4	1	1,6	12	1,3
10. Bisnaguito (Pullman [®]) (50 g porção)	154	28	9	3,9	5	2,8	5
11. Bolacha recheada brigadeiro (Mabel [®]) (30 g porção)	147	21	7	1,7	2	6,9	12
12. Pipoca Torrada (São João [®]) (40 g porção)	64,4	12,4	4	2,1	3	7,5	14
13. Biscoito cookie (Bauducco [®]) (30 g porção)	151	19	6	2,1	3	7,5	14
14. Bolacha maisena (Parmalat [®]) (30 g porção)	132	22	7	2,4	3	3,7	7
15. Biscoito de Polvilho (Peta Caseira) (25 g porção)	117	18	6	0,9	1	0,93	4
16. Squiny sabor pizza (Miliopã [®]) (30 g porção)	128	22	7	2,0	2	3,5	6
17. Bombom recheado caramelo (Nestlé [®]) (20 g porção)	92	15	5	0,6	1	3,3	6
18. Bolacha recheada Morango (Amanda [®]) (30 g porção)	125	16	5	1	2	4	3
19. Salgadinho sabor queijo (Miliopã [®]) (30 g porção)	130	22	7	2,2	2	3,8	7
20. Queijo Provolone (Vale Orizona [®]) (30 g porção)	103	0	0	8,7	12	76	14
21. Salsicha Hot Dog (Sadia [®]) (50 g porção)	121	2,0	1	6,8	9	9,5	17
22. Linguiça Paio (Sadia [®]) (50 g porção)	187	0	0	8,5	11	17	31
23. Salgadinho Sabor Bacon (Miliopã [®]) (25 g porção)	105	18	6	1,8	2	2,5	5
24. Bolinho Chocolate (Bauducco [®]) (40 g porção)	164	20	7	2,2	3	8.4	15

Legenda: (-): informação não disponibilizada na embalagem do alimento.

Continua...

Tabela 2.2. Continuação.

Alimentos industrializados e porção (em gramas) com sua composição nutricional	Kcal por porção	Carboidratos		Proteínas		Gorduras totais	
		(g)	% DV	(g)	% DV	(g)	% DV
25. Bombom Prestígio (Nestlé®) (18.4 g porção)	85	11	4	0	0	3,8	7
26. Mortadela (Friato®) (50 g porção)	112	2,5	1	6	8	8	15
27. Linguiça calabresa defumada (Sadia®) (50 g porção)	182	0,8	0	8,7	12	16	29
28. Bolacha Wafer limão (Amanda®) (30 g porção)	125	16	5	1	2	4	3
29. Amendoim doce (Dori®) (15 g porção)	73	8,9	3	1,8	2	3,4	6
30. Bolacha de Nata (Maranata®) (30 g porção)	190	20	7	2	3	5	9
31. Rosquinha de chocolate (Mabel®) (30 g porção)	125	22	7	1,8	2	3,5	6
32. Bolo de cenoura (Ana Maria®) (40 g porção)	159	23	7	2,0	3	5,6	10
33. Torresmo Pronto (Sabor D'Abadia®) (10 g porção)	68	0	0	2,6	3	6,2	11
34. Recheadinho Sabor brigadeiro (Bauducco®) (30 g porção)	133	18	6	1,7	2	6,0	11
35. Baconzitos (Elma Chips®) (25 g porção)	126	15	5	1,9	3	6,7	12
36. Castanha de Cajú (Dunorte®) (15 g porção)	88	3,4	1	3,0	4	6,9	12
37. Salsicha de Frango (Perdigão®) (50 g porção)	106	2,0	1	6,0	8	8,2	15
38. Mortadela (Sadilar®) (40 g porção)	121	3,4	1	4,0	6	10	18
39. Gometts (Dori®) (20 g porção)	72	18	6	0	0	-	-
40. Bolinho de Morango (Bauducco®) (40 g porção)	146	20	7	2,2	3	6,4	12
41. Salgadinho assado requeijão (Cheetos®) (20 g porção)	100	11	4	0,9	2	4,4	8
42. Batata da Ondulada (Crony®) (25 g porção)	153	1,4	5	1,7	2	10	18
43. Apresuntado (Sadia®) (30 g porção)	36	0,8	0	3,9	5	1,9	3
44. Floco de Milho Doce (Ki gostoso®) (25 g porção)	69	16	5	1,3	2	0	0
45. Amendoim (Paulista®) (15 g porção)	90	16	5	1,3	2	0	0
46. Chocolate Bis (Lacta®) (30 g porção)	149	19	6	1,8	2	7,1	13
47. Bolacha passa tempo recheio morango (Nestlé®) (30 g porção)	135	21	7	1,9	3	4,8	9
48. Fandangos (Elma Chips®) (22 g porção)	100	16	5	1,5	2	3,5	6
49. Teens Bauny – rolls (Marilam®) (30 g porção)	134	20	7	2,4	3	4,8	9

Legenda: (-): informação não disponibilizada na embalagem do alimento.

A massa corpórea dos animais foi tomada como parâmetro indicativo de obesidade, tendo sido aferida semanalmente por meio de uma balança digital semi-analítica. Na oitava semana experimental, foi realizada avaliação dos parâmetros apresentados no Quadro 2.1, a fim de avaliar os animais física e nutricionalmente antes do início do protocolo de estresse. Tal como proposto por Levin et al. (1986), os animais foram considerados obesos quando tiveram ganho de massa corpórea $\geq$ a 15% em relação à massa corpórea dos animais alimentados com a dieta padrão e quando apresentaram aumento significativo da circunferência abdominal e do comprimento naso-anal.

Quadro 2.1. Parâmetros físicos e nutricionais avaliados nos animais submetidos à dieta de cafeteria e padrão durante e/ou ao final de 8 semanas experimentais.

Parâmetro	Informações metodológicas
Massa corpórea*	Foi determinada semanalmente, por meio de balança digital semi-analítica
Comprimento naso-anal e circunferência abdominal dos animais	Foram determinados com o auxílio de uma fita métrica
Índice de massa corpórea (IMC)	Foi determinado a partir da razão entre peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm ²), conforme Novelli et al. (2007)
Coefficiente de eficácia alimentar (CEA)	Esse coeficiente determina quanto um grama do alimento ingerido é convertido em aumento de peso corporal. Esse coeficiente é determinado pela relação entre a variação de peso dos animais (VP) e o alimento consumido por estes no período experimental
Coefficiente de ganho de peso por consumo calórico (CGPCC)	Foi determinado pela seguinte razão: (PF-PI)/kcal ingeridas, em que PF representa o peso corporal (g) final do animal durante o período, PI representa o peso corporal do animal (g) no início do experimento e Kcal o valor calórico da dieta ingerida
Quilocalorias (Kcal) ingeridas	Foram determinadas por meio de informações obtidas nas embalagens dos alimentos palatáveis e da ração padrão ofertados aos animais
Taxa específica de ganho de peso (g/kg)	Foi determinada a partir da relação dM/Mdt, em que dM representa o ganho de peso corporal durante dt (t2-t1) e M é o peso corporal dos animais em t1 (data inicial do período)
Delta do peso	Foi determinado utilizando-se a seguinte fórmula: $\Delta = (\text{peso final} - \text{peso inicial})/\text{peso inicial}$

*Esse parâmetro foi avaliado ao longo de todo o período experimental

Após oito semanas experimentais, os grupos DP + estresse e Cafe + estresse foram submetidos ao protocolo de estresse crônico por restrição física, conforme proposto por Ely et al. (1997). A fim de limitar os movimentos do animal, um tubo de plástico (25 cm x 7 cm) foi

usado, com a parte frontal perfurada para permitir a respiração dos animais (Figura 2.2.). Os animais foram submetidos ao agente estressor durante 1 hora por dia (no período vespertino, 14h e 15h), durante 5 dias por semana, durante 50 dias. Ressalta-se que os animais foram imobilizados em um ambiente silencioso, com iluminação padrão (aproximadamente 110 lx) para evitar o estresse adicional ou interferências no ciclo circadiano. A seleção deste modelo foi baseada em vários estudos que demonstraram a eficiência do protocolo de estresse crônico em simular condições de estresse moderado e repetido (Ely et al., 1997; Gamaro et al., 1998; Gamaro et al., 1999; Silveira et al., 2000; Gameiro et al., 2005; Pettenuzzo et al., 2008; Macedo et al., 2012; De-Oliveira et al., 2014; Macedo et al., 2014; Macedo et al, 2015). A associação do protocolo de estresse utilizado com a dieta de cafeteria tenta simular o cotidiano de indivíduos obesos em geral, que passam por tensões de baixa intensidade, frequentemente associadas à má alimentação.



Figura 2.2. Aparato utilizado na execução do protocolo de estresse por restrição física em ratas Wistar dos grupos DP + estresse e Cafe + estresse.

A partir da 15^a semana, conforme esquema apresentado na Figura 2.3, os animais foram submetidos a diferentes testes neurocomportamentais para avaliação das seguintes desordens neuropsiquiátricas: ansiedade (teste do campo aberto e labirinto em cruz elevado) e depressão (teste do nado forçado).

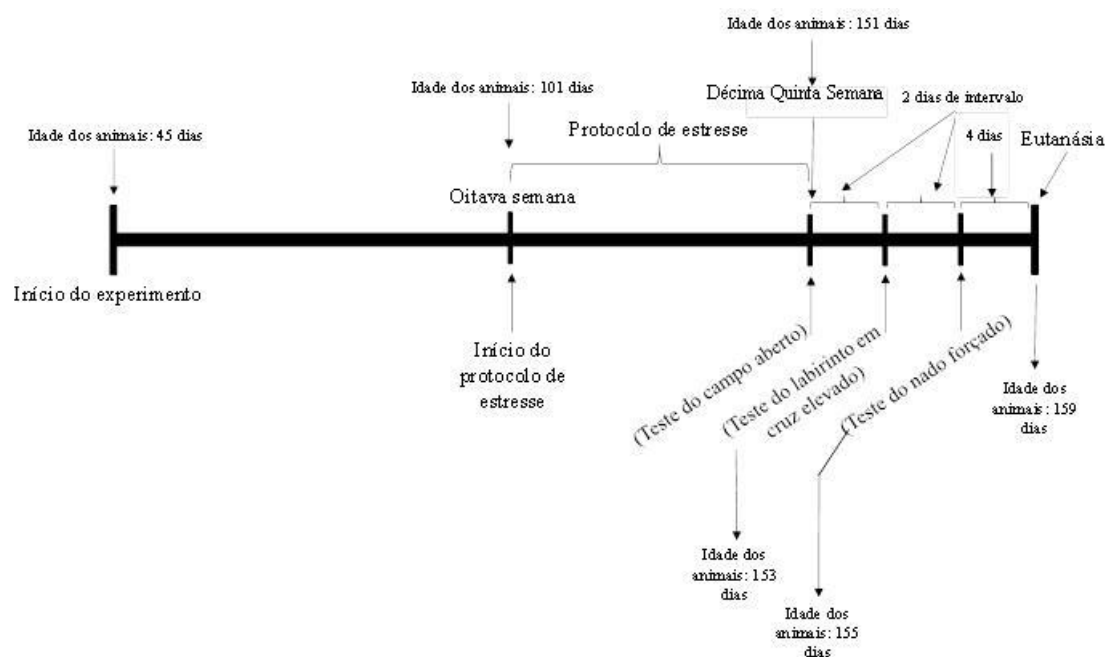


Figura 2.3. Cronograma do experimento realizado com ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição, com destaque para as avaliações neurocomportamentais, realizadas após 15 semanas experimentais.

2.2.1. Teste do campo aberto

O teste do campo aberto consistiu de uma arena circular iluminada (aproximadamente 110 lx), com 120 cm de diâmetro, rodeado por uma parede circular (de acrílico transparente) de 45 cm de altura, dividida em 12 quadrantes (Figura 2.4). Os animais foram colocados individualmente no centro da arena e filmados durante 5 min (com uma câmara acima do aparato). A proporção (em porcentagem) da locomoção nos quadrantes centrais/locomoção total foi calculada. De acordo com Prut & Belzung (2003), uma percentagem mais baixa de locomoção nos quadrantes centrais e, conseqüentemente, uma elevada percentagem de locomoção nos quadrantes laterais pode ser utilizada como um índice de ansiedade.

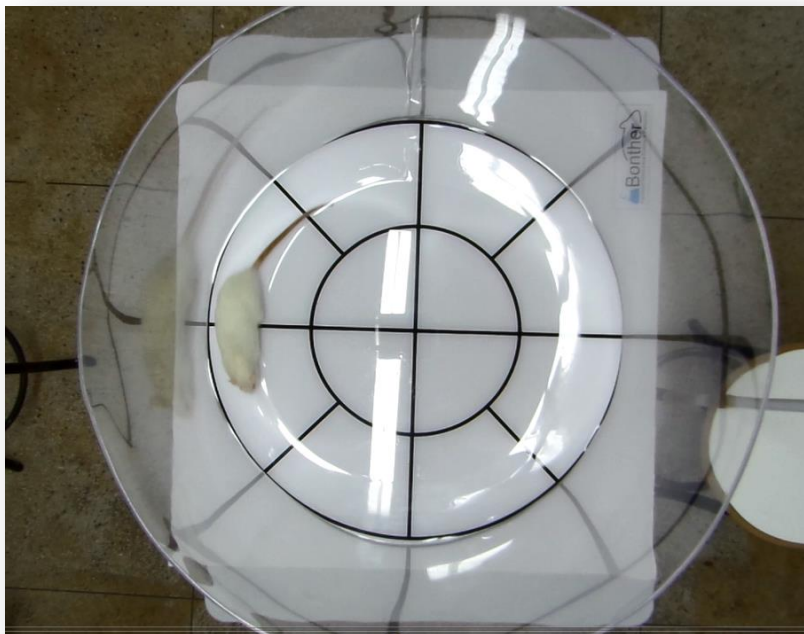


Figura 2.4. Imagem representativa da realização do teste do campo aberto envolvendo ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição.

2.2.2. Teste do labirinto em cruz elevado

O labirinto utilizado neste estudo era composto por dois braços abertos (50 x 10 cm) (com bordas de 1 cm nas extremidades) e dois braços fechados do mesmo tamanho com paredes de 30 cm de altura (Figura 2.5). Os braços do labirinto ficavam a altura de 50 cm do chão. Duas lâmpadas iluminavam o aparato indiretamente e a intensidade da luz foi de aproximadamente 110 lx nos braços abertos. Os ratos foram colocados individualmente na porção central do labirinto, de frente para um dos braços abertos, permanecendo livres para exploração durante 5 min. Todos os animais foram submetidos ao teste apenas uma vez. Antes de cada teste, o labirinto era higienizado com álcool (70%). O índice de ansiedade foi calculado de acordo com Cohen et al. (2013) e Contreras et al. (2014) da seguinte forma: Índice de Ansiedade = $1 - \frac{[(\text{tempo em que o animal permaneceu nos braços abertos, em segundos} / \text{tempo de duração do teste, em segundos (300 s)}) + (\text{frequência de entrada nos braços abertos} / \text{Número total de entradas})]}{2}$. Salienta-se que o número total de entradas foi definido como a soma da frequência com que o animal entrou nos braços abertos e fechados, sendo considerada entrada quando as quatro patas do animal ultrapassavam o limite inicial do braço.

A**B**

Figura 2.5. (A) Imagem representativa da realização do teste do labirinto em cruz elevado envolvendo ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição; (B) perfil do aparato utilizado no teste do labirinto em cruz elevado.

2.2.3. Teste de natação forçada

O aparato utilizado na realização do teste de natação forçada seguiu as especificações descritas por Porsolt et al. (1977). Um cilindro de acrílico (40 cm de altura e 35 cm de diâmetro) foi preenchido com água ($25 \pm 2^\circ \text{C}$) até 30 cm, de modo que o animal não pudesse repousar na parte inferior do cilindro (Figura 2.6). Os animais foram submetidos ao teste de natação forçada em dois dias consecutivos (sessão treino e sessão teste), respeitando o mesmo horário de execução (entre 13h e 17h). O primeiro dia consistiu de uma sessão de treinamento, em que cada animal foi mantido no cilindro durante 15 min, o que configura, para o animal, uma situação aversiva inescapável. No segundo dia (sessão de teste), o animal permaneceu no cilindro por 5 min. Para registrar o comportamento do animal durante a sessão de teste, ele foi filmado com uma câmera digital. No final do teste, o animal foi retirado do cilindro e seco com uma toalha. Entre as sessões, a água no cilindro era drenada e o cilindro higienizado com álcool (70%).



Figura 2.6. Imagem representativa da realização do teste de natação forçada envolvendo-se ratas Wistar alimentadas com dieta padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição.

O tempo gasto nos seguintes comportamentos foi mensurado: flutuação (completa imobilidade ou movimentos suaves, apenas o suficiente para manter o nariz/cabeça acima da

superfície da água); escalada (movimentos vigorosos com as patas dianteiras acima da superfície da água ou contra a parede do cilindro) e natação (o animal se movimenta dentro do cilindro com o corpo na horizontal, sem quebrar a superfície da água com as patas dianteiras. Também foi considerada natação quando o animal manteve o corpo abaixo da superfície da água, conforme especificado por Fernandes et al. (2012)).

2.3. Avaliações realizadas após os testes comportamentais

Após a realização dos testes comportamentais, os animais foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de 40 mg/kg de pentobarbital, seguido por coleta de sangue (para análise bioquímica e hematológica) e eutanásia por deslocamento cervical. Em adição, foram aferidas as massas relativas das gorduras visceral e retroperitoneal. Para isso, as massas das gorduras foram normalizadas à massa do corpo com a seguinte fórmula: massa das gorduras (g)/massa corporal (g). Como um parâmetro de indicativo de estresse, analisou-se a massa relativa das glândulas suprarrenais, conforme também realizado por Macedo et al. (2015). A Figura 2.7 ilustra esquematicamente as avaliações realizadas após a eutanásia dos animais.

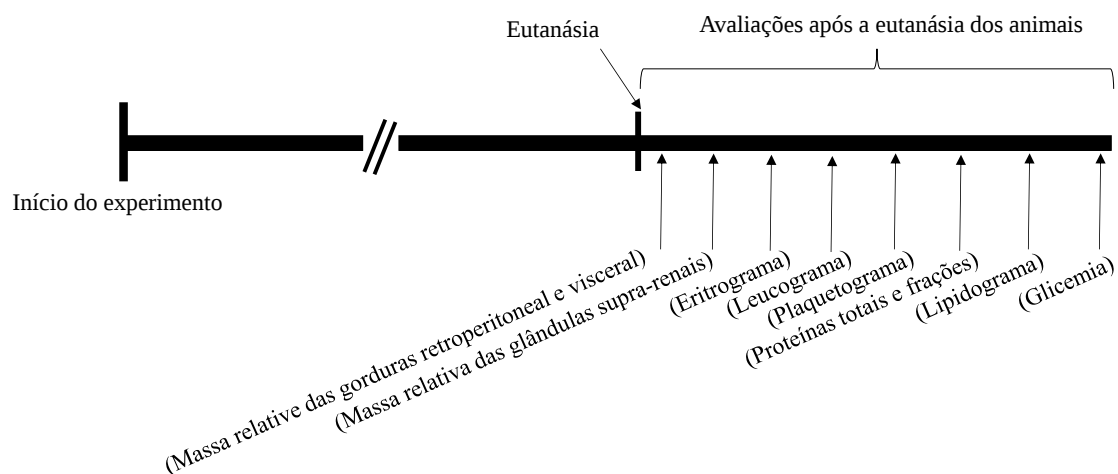


Figura 2.7. Cronograma simplificado do experimento realizado com ratas Wistar alimentadas com dietas padrão ou de cafeteria, submetidas ou não ao estresse crônico por restrição, com destaque para as avaliações realizadas após a eutanásia dos animais.

A avaliação dos parâmetros hematológicos foi conduzida por meio do exame hemograma, composto de eritrograma, leucograma e plaquetograma, por meio do método automatizado ABX – Micros 60, conforme utilizado por Estrela et al. (2014). Para as dosagens de proteínas totais e frações, bem como perfil lipídico utilizou-se o método automatizado A15 – Biosystems, conforme utilizado por Rodrigues et al. (2011). A glicemia

foi avaliada por meio de fitas reagentes (ACCU-CHECK Advantage II, Roche) acopladas a glicosímetro digital portátil.

Salienta-se que para a realização das avaliações hematológicas e bioquímicas, os animais ficaram em jejum por no mínimo 12 h, sendo coletadas 5 mL de sangue por meio do rompimento da artéria braquial na região do plexo braquial. O volume sanguíneo coletado em cada animal foi separado em tubos de ensaio, com e sem anticoagulante (EDTA).

2.4. Análise de dados

Para o tratamento dos dados obtidos de massa corpórea durante o período experimental, foi utilizada a análise de variância de medida repetida (ANOVA de medida repetida) (*software* STATISTICA, versão 7.0) seguida do pós-teste de Bonferron, ambos a 5% de probabilidade. Durante e ao final do experimento, as massas corporais também foram tratadas utilizando o teste t de Student e análise de variância de uma via (*two-way* ANOVA), com o pós-teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise dos dados relativos aos parâmetros de comprimento naso-anal, circunferência abdominal, índice de Lee, CEA, CGPCC, ingestão alimentar total, ingestão de quilocalorias (kcal), taxa de ganho de peso específico (g/kg) e delta do peso, utilizou-se o teste t de *Student*, a 5% de probabilidade.

Os dados relacionados ao consumo diário dos alimentos e aos parâmetros neurocomportamentais, bioquímicos e hematológicos foram tratados utilizando análise de variância de acordo com o modelo fatorial (*two-way* ANOVA), considerando os fatores "nutrição" (dieta padrão e cafeteria) e "Condição" (sem estresse e estresse), com 12 animais em cada grupo. Em casos de F significativo, o teste de Tukey foi aplicado a 5% de probabilidade. Após o cumprimento dos pressupostos de normalidade e homogeneidade, a ANOVA foi realizada utilizando o *software* ASSISTAT, versão 7.7 beta (versão distribuída gratuitamente).

CAPÍTULO III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliações física e nutricional

Os resultados da avaliação física dos animais revelaram que a partir da 5ª semana experimental, os animais alimentados com dieta de cafeteria apresentaram um aumento significativo na massa corpórea, em relação aos animais alimentados apenas com dieta padrão (Figura 3.1A), tendo permanecido essa diferença até o final do experimento (Figura 3.1B). Não foi observada qualquer diferença entre as massas corpóreas dos animais estressados e não estressados, indicando que o estresse não teve nenhum efeito sobre este parâmetro.

Na 8ª semana experimental, observou-se também que os animais alimentados com dieta de cafeteria apresentaram maior comprimento naso-anal ($F_{(1,40)} = 4,761$, $p = 0,043$) e maior circunferência abdominal ($F_{(1,40)} = 45,583$, $p < 0,001$) (Figura 3.1C), assim como maior IMC ($F_{(1,40)} = 6,449$, $p = 0,029$), taxa específica de ganho de peso ($F_{(1,40)} = 71,202$, $p < 0,001$), delta do peso ($F_{(1,40)} = 61,198$, $p < 0,001$), CEA ($F_{(1,40)} = 8,687$, $p < 0,021$), Kcal ingeridas ($F_{(1,40)} = 18,651$, $p = 0,001$) e CGPCC ($F_{(1,40)} = 54,012$, $p < 0,001$) (Tabela 3.1). Ao final do experimento, observou-se efeito apenas do fator “nutrição” sobre a massa relativa da gordura retroperitoneal ($F_{(1,40)} = 71,202$, $p < 0,001$) (Figura 3.2A) e visceral ($F_{(1,40)} = 32,887$, $p < 0,001$) (Figura 3.2B). A Figura 3.2C demonstra imagens representativas do aspecto visual da gordura visceral observada nos animais dos grupos DP e Cafe (com ou sem estresse). Portanto, estes dados indicam que a dieta de cafeteria ofertada foi eficiente em induzir a obesidade nos animais.

Os dados deste estudo corroboram outros trabalhos na literatura, os quais também utilizaram dieta de cafeteria para induzir obesidade em roedores, tendo sido o ganho de massa corpórea um importante preditor da obesidade (Mendes et al., 2013; Warneke et al., 2014; Macedo et al., 2015; Martire et al., 2015). Acredita-se que o aumento da massa corpórea dos animais que receberam dieta de cafeteria esteja relacionado ao aumento da ingestão de quilocalorias (Tabela 3.1) oriundas dos alimentos palatáveis ofertados aos animais, conforme também observado em Macedo et al. (2015).

No entanto, a hipótese de que o estresse crônico poderia levar os animais a um maior estado de obesidade não foi confirmada neste estudo. Estudos, como o de Bartolomucci et al. (2009), tem demonstrado que o estresse crônico pode elevar as concentrações de glicocorticoides, o que induz comportamentos prazerosos e compulsivos como a ingestão de alimentos doces e gordurosos e, com isso, pode aumentar os depósitos de gordura abdominal, levando o organismo à obesidade. Em seres humanos, estudos demonstram que indivíduos

estressados no trabalho, por exemplo, tendem a acumular uma maior quantidade de gordura abdominal (Kouvonen et al., 2005; Brunner et al., 2007).

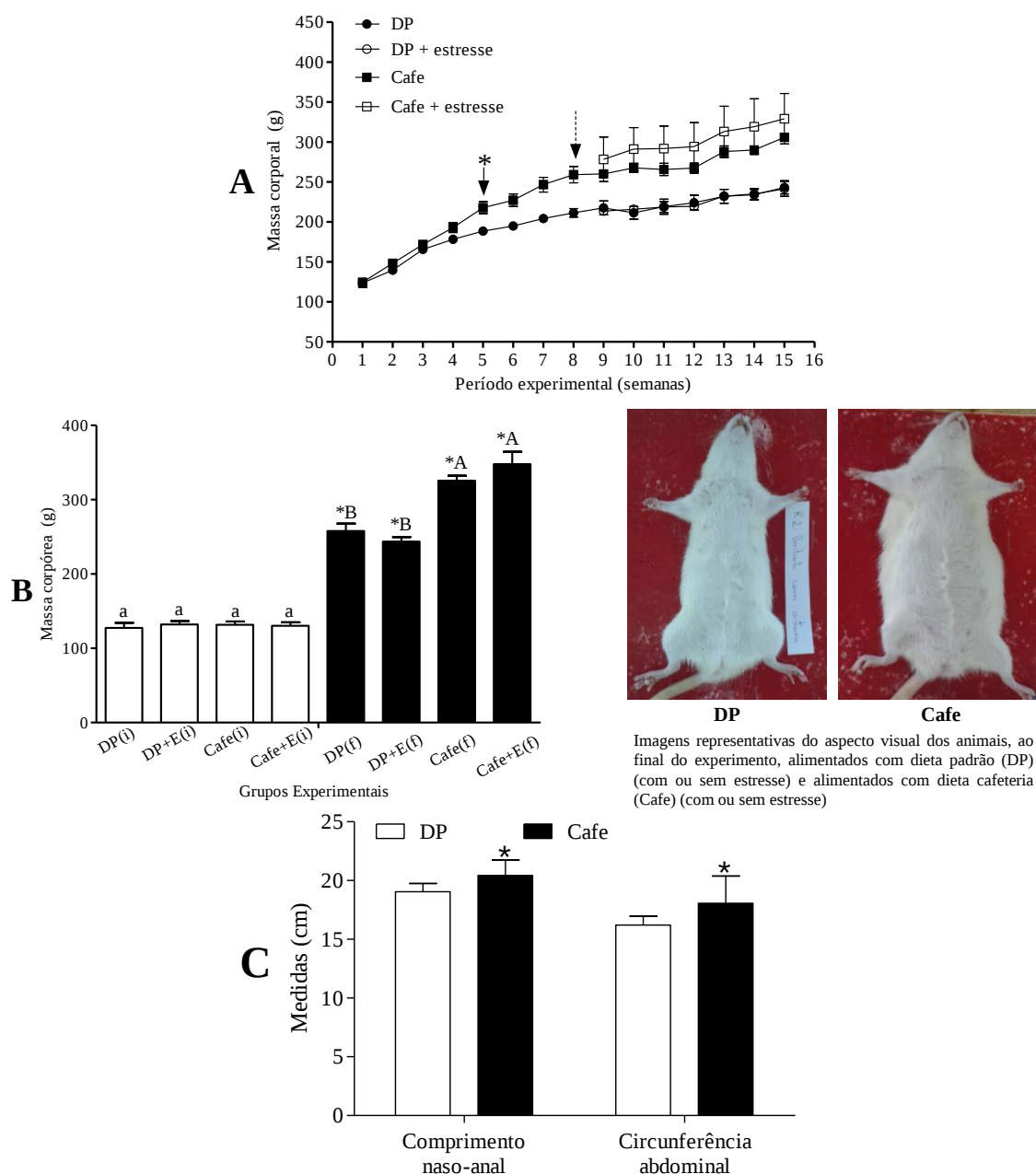


Figura 3.1. (A) Massa corpórea semanal, (B) massa corpórea final (C) e comprimento naso-anal (CNA) e circunferência abdominal (CAB) na 8ª semana experimental de ratas Wistar submetidas às dietas padrão ou de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão em (A) e em média + desvio padrão em (B) e (C). Os dados apresentados são de dois experimentos ($n=12$), realizados independentemente. Para análise comparativa das massas corpóreas semanais (em A) e inicial e final (em B) utilizou-se a análise de variância de medida repetida (ANOVA de medida repetida), com pós-teste de Bonferroni, a 5% de probabilidade. Já para análise das massas entre os grupos experimentais nos tempos inicial (i) e final (f), em (B), utilizou-se a análise de variância (*two-way* ANOVA), com pós-teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Em (A), a seta acompanhada de asterisco (*) indica a semana a partir da qual a massa corpórea dos animais alimentados com dieta de cafeteria mostrou-se superior significativamente à massa corpórea dos animais alimentados com dieta padrão. A seta tracejada indica a semana na qual foi iniciado o protocolo de estresse crônico por restrição. Em (B), os asteriscos (*) indicam diferenças estatísticas entre os tempos inicial (i) e final (f). Letras distintas indicam diferença estatística entre os grupos experimentais. Letras minúsculas comparam os grupos no início (i) e maiúsculas no final (f) do período experimental (0 e 15 semanas, respectivamente). Em (C) os asteriscos (*) indicam diferenças estatísticas entre

os grupos DP e Cafe pelo teste t de *Student* a 5% de probabilidade. Legenda dos grupos: dieta padrão (DP); dieta padrão + estresse (DP + estresse); dieta de cafeteria (Cafe) e dieta de cafeteria + estresse (Cafe + estresse)

Tabela 3.1. Parâmetros nutricionais avaliados em ratas Wistar alimentados com dieta de cafeteria ou ração padrão, na 8ª semana experimental.

Grupos	Parâmetros			
	IMC (g/cm ²)	Taxa específica de ganho de peso (g/kg)	Delta do peso (g)	Ingestão alimentar (g)
DP	5,65b	37,50b	91,96b	850,60a
Cafe	6,61a	56,83a	144,61a	868,30a
	CEA	Kcal total		CGPCC
DP	0,10b	2492,16b		0,03b
Cafe	0,16a	2946,68a		0,04 ^a

Expressa-se a média dos dados obtidos. Letras distintas na coluna, para cada parâmetro, indicam diferenças estatísticas pelo teste t de *Student* a 5% de probabilidade. IMC: índice de massa corpórea; CEA: coeficiente de eficácia alimentar; CGPCC: coeficiente de ganho de peso por consumo calórico. Legenda dos grupos: dieta padrão (DP) e dieta de cafeteria (Cafe).

Por outro lado, tem-se observado atenuação das respostas a estresse quando animais são submetidos a dietas hipercalóricas com alto teor de carboidratos (Pecoraro et al., 2004). Há fortes evidências de que o estresse crônico pode promover o armazenamento de energia no tecido adiposo abdominal (Dallman et al., 2004), porém essa constatação não foi observada no presente estudo.

Macedo (2010), avaliando parâmetros ponderais e bioquímicos em ratos Wistar machos alimentados com dieta de cafeteria e submetidos ao estresse crônico, também não observaram a influência conjunta do estresse e obesidade sobre o ganho de massa corpórea dos animais, sobre o delta do peso (variação entre o peso inicial e final), índice de Lee (relação entre o peso e o comprimento naso-anal dos animais) e sobre a massa do tecido adiposo por 100 g de massa corpórea.

Na avaliação da ingestão calórica diária (kcal), observou-se que, até a oitava semana experimental, os animais do grupo Cafe apresentaram ingestão mais elevada do que os animais do grupo DP ($p = 0,002$), de acordo com o teste t de *Student* a 5% de probabilidade (Figura 3.3A). No entanto, quando se iniciou o protocolo de estresse, observou-se efeito do fator 1 "nutrição" ($F_{(1,40)} = 14,578$, $p < 0,001$) e fator 2 "condição" ($F_{(1,40)} = 5,446$, $p = 0,021$) sobre o consumo diário calórico (Figura 3.3B), mas não se observou interação dos fatores ($F_{(1,40)} = 0,007$, $p = 0,930$).

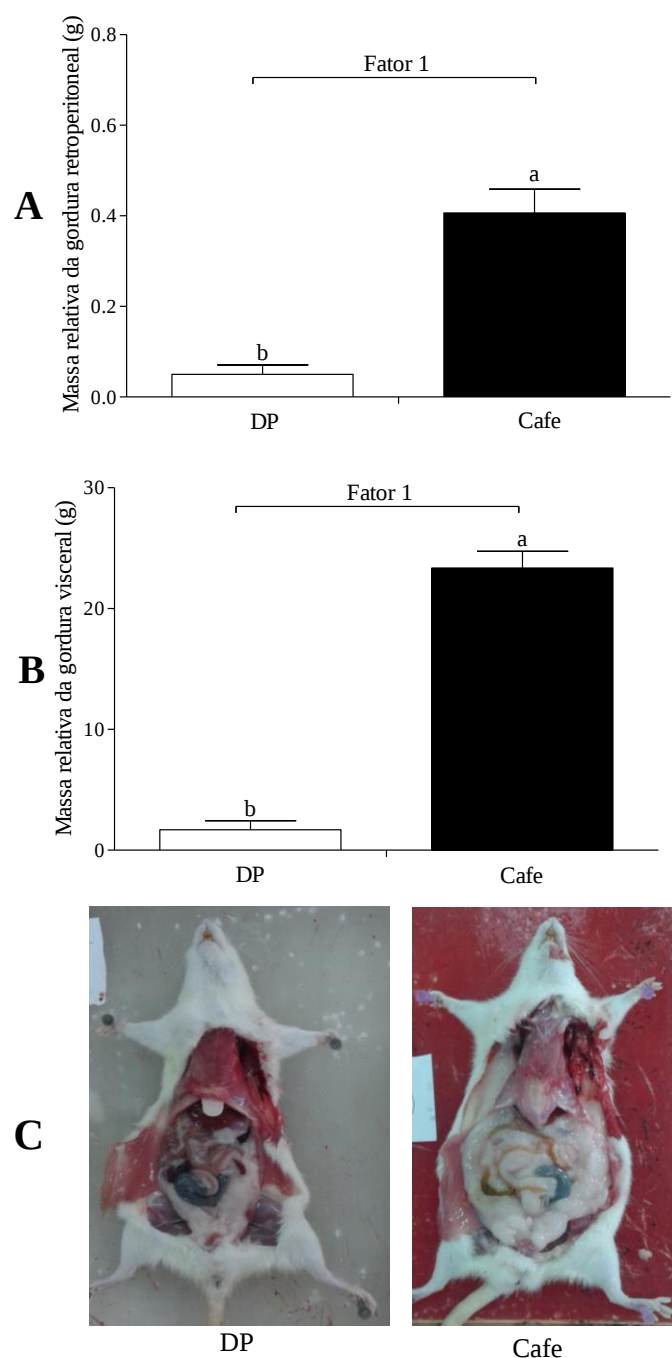


Figura 3.2. Massas relativa das gorduras retroperitoneal (A) e visceral (B) de ratas Wistar submetidos às dietas padrão ou de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição. (C) Imagens representativas do aspecto visual da gordura visceral dos animais, ao final do experimento, alimentados com dieta padrão (DP) (com ou sem estresse) e alimentados com dieta cafeteria (Cafe) (com ou sem estresse). Os dados em (A) e (B) são expressos em média + desvio padrão referentes a dois experimentos (n=12), realizados de forma independente. Letras distintas indicam diferenças estatísticas entre os grupos dieta padrão e de cafeteria, de acordo com a análise de variância (*two-way ANOVA*) a 5% de probabilidade, considerando os fatores "nutrição" (dieta padrão e cafeteria) e "condição" (sem estresse e estresse).

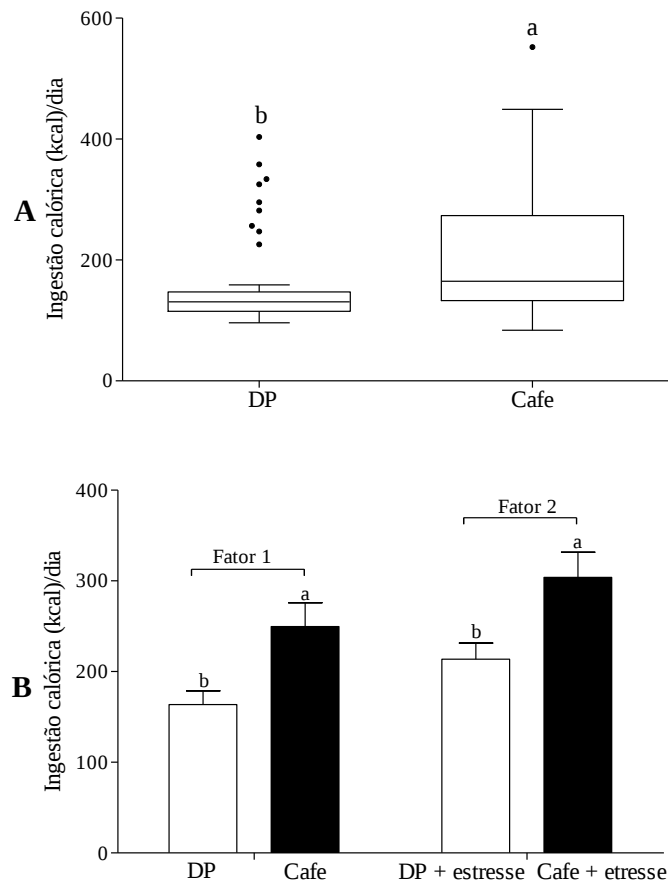


Figura 3.3. (A) A ingestão calórica (kcal) por dia de ratas Wistar alimentadas com dieta padrão e de cafeteria até 8 semanas experimentais ($n = 24$ por grupo) pelo teste t de *Student* a 5% de probabilidade. (B) Comparação entre os grupos de DP e Cafe (Fator 1) e DP + estresse vs. Cafe + estresse (Fator 2) por *two-way* ANOVA, a 5% de probabilidade ($n = 12$). Em (A), as barras horizontais indicam medianas, caixas indicam intervalos interquartis, barras verticais indicam os valores mínimo e máximo, e os círculos indicam os *outliers* (valores 1,5 vezes maiores ou menores do que o primeiro e terceiro quartis, respectivamente). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0.05$), de acordo com o teste t de *Student* em (A) e *two-way* ANOVA em (B). Legenda dos grupos: dieta padrão (DP); dieta padrão + estresse (DP + estresse); dieta de cafeteria (Cafe) e dieta de cafeteria + estresse (Cafe + estresse)

Por outro lado, não foi observada nenhuma diferença entre a ingestão total de alimentos diária (em gramas, até oito semanas experimentais) ($p = 0,533$, de acordo com o teste t de *Student* a 5% de probabilidade), ou efeito dos fatores (1, 2 ou interação) após o início do protocolo de estresse (Fator 1 ($F_{(1,40)} = 2,206$, $p = 0,139$); fator 2 ($F_{(1,40)} = 0,266$, $p = 0,606$) e de interação ($F_{(1,40)} = 0,034$, $p = 0,853$) (figuras não mostradas).

O consumo diário detalhado de proteínas, carboidratos e lipídeos totais foi avaliado durante as primeiras oito semanas experimentais e após o início do protocolo de estresse. Durante as primeiras oito semanas experimentais os animais alimentados com dieta de cafeteria apresentaram menor ingestão diária de proteína (% e quantidade, em gramas) ($p <$

0,001, para ambos); menor consumo de carboidratos (%) ($p < 0,05$) e um maior consumo de lipídeos (%) e a quantidade, em gramas) ($p < 0,001$, para ambos) (Figura 3.4A-F).

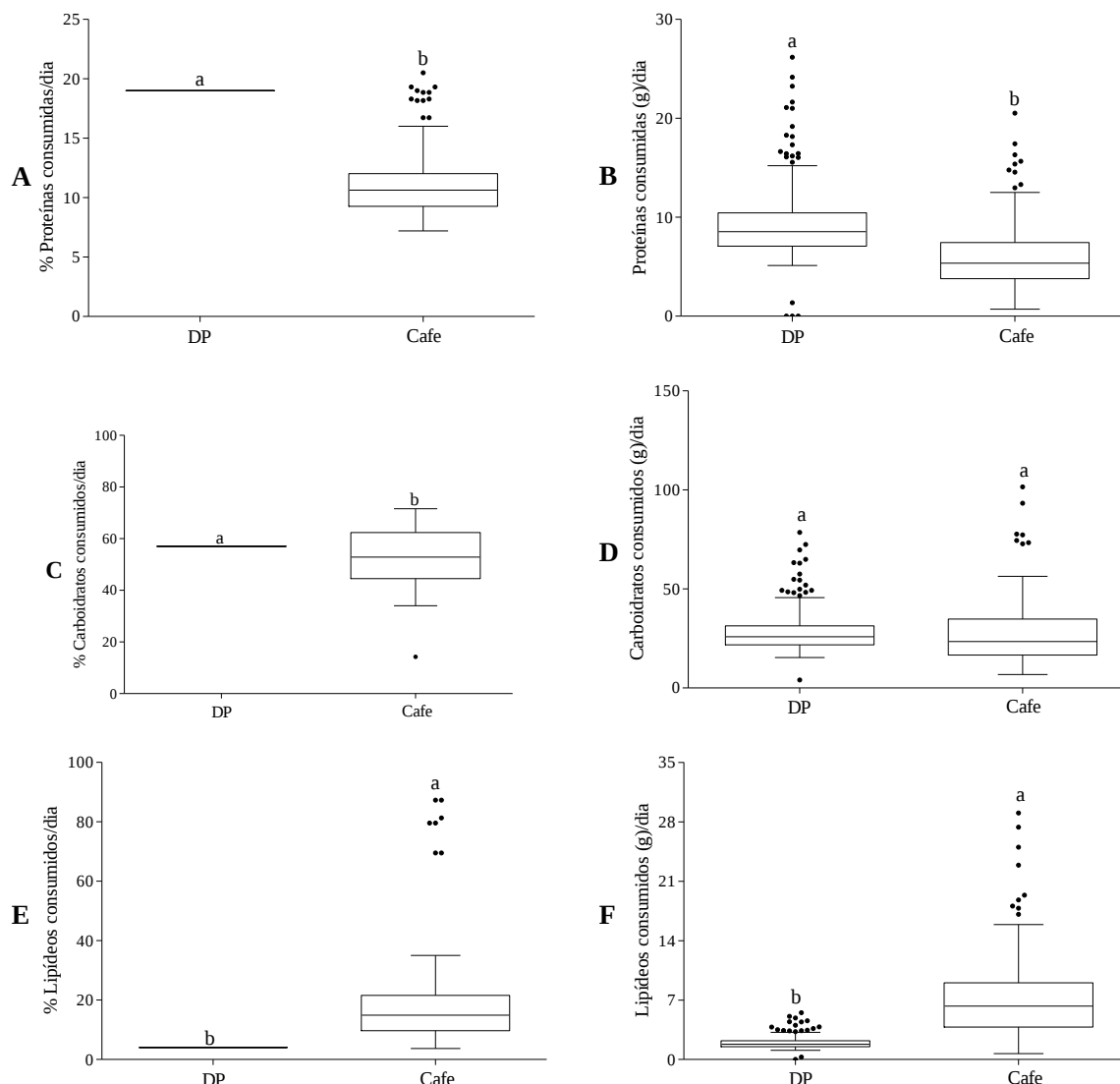


Figura 3.4. Percentual (A, C e E) e quantidade em gramas (B, D e F) de proteínas, carboidratos e lipídeos consumidos diariamente, respectivamente, por ratas Wistar alimentadas com dieta padrão e de cafeteria até 8 semanas experimentais ($n=24$ por grupo). Letras diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$), de acordo com ANOVA de medida repetida a 5% de probabilidade. Barras horizontais indicam medianas, caixas indicam intervalos interquartis, barras verticais indicam valores mínimos e máximos, e círculos indicam *outliers* (valores 1,5 vezes maiores ou menores do que o primeiro e terceiro quartis, respectivamente). Legenda dos grupos: dieta padrão (DP) e dieta de cafeteria (Cafe).

Após o início do protocolo de estresse, observou-se o efeito do fator 1 "nutrição" na ingestão diária de proteínas (%) e a quantidade, em gramas) ($F_{(1,40)} = 3581,881$, $p < 0,001$ e $F_{(1,40)} = 49,001$, $p < 0,001$, respectivamente) (Figura 3.5A-B), carboidratos (%) e quantidade, em gramas) ($F_{(1,40)} = 13,064$, $p < 0,001$ e $F_{(1,40)} = 8,170$, $p = 0,004$, respectivamente) (Figura

3.5C-D), e lipídeos (quantidade, em g) ($F_{(1,40)} = 34,254$, $p < 0,001$) (Figura 3.5E). Assim, observa-se que a condição de estresse não influenciou os parâmetros relacionados ao consumo, em relação ao detalhamento nutricional das dietas. Acredita-se que estes resultados estão diretamente relacionados com a composição nutricional dos alimentos oferecidos aos animais.

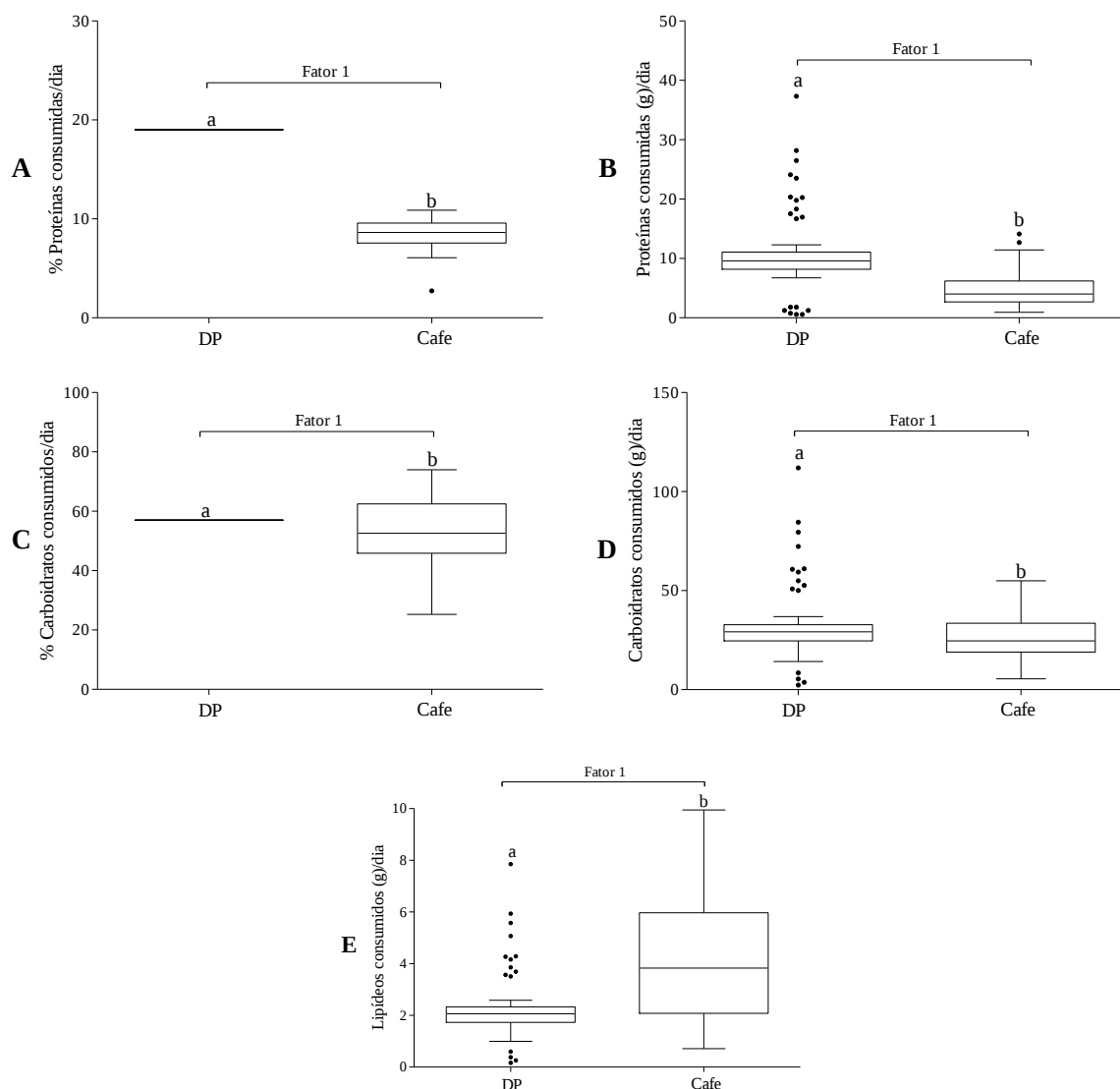


Figura 3.5. Percentual (A e C) e a quantidade (em gramas) (B e D) de proteína e carboidratos; (E) quantidade (em gramas) dos lipídios consumidos diariamente por ratas Wistar alimentadas com dieta padrão e de cafeteria ao longo do período experimental. As comparações entre os grupos DP e Cafe (Fator 1) foram realizadas por meio da *two-way* ANOVA, a 5% de probabilidade ($n = 12$). Barras horizontais indicam medianas, caixas indicam intervalos interquartis, barras verticais indicam valores mínimos e máximos, e círculos indicam *outliers* (valores 1,5 vezes maiores ou menores do que o primeiro e terceiro quartil, respectivamente). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas. Legenda dos grupos: dieta padrão (DP) e dieta de cafeteria (Cafe).

Poucos estudos avaliaram o efeito da obesidade associada ao estresse sobre o consumo detalhado de proteínas, carboidratos e lipídeos das dietas em ratas. O estudo mais semelhante ao presente é o de Wang (2002), que investigou os efeitos do estresse breve (20 min), agudo (2 h) e crônico por imobilização (2 horas/dia, durante cinco dias) em ratas Wistar com idade entre 6-12 meses. Nas avaliações dos grupos estresse breve e agudo, a ingestão de carboidratos puros, proteína e gordura foi medida 40 min após uma única exposição ao estresse. No modelo crônico, o consumo de nutrientes foi avaliado 40 min após a sessão final de estresse por contenção no quinto dia. Este autor mostrou que tanto a ingestão total, quanto a de proteínas não foram significativamente alteradas pela experiência de contenção em situações breves, agudas ou crônicas, enquanto o consumo de carboidratos foi suprimido pela restrição aguda e crônica, e a ingestão de gordura foi reprimida pela contenção breve, aguda e crônica. Portanto, mais estudos são necessários para entender melhor o efeito do estresse sobre a ingestão de alimentos, em termos de composição nutricional.

Segundo Macedo (2010), sob condições de estresse crônico há estimulação contínua das glândulas suprarrenais pelo hormônio adrenocorticotrófico, levando a hipertrofia destas glândulas. Assim, como não foram avaliadas as concentrações de glicocorticoides no presente estudo, utilizou-se a massa das glândulas suprarrenais como parâmetro indireto de estresse, mostrando que os animais foram estressados pelo protocolo utilizado. O efeito do fator 2 "condição" (exposição ao estresse) foi observado na massa relativa das glândulas suprarrenais ($F_{(1,40)} = 6,681$, $p = 0,032$), com aumento da massa dessas glândulas em animais estressados em comparação com os não estressados (Figura 3.6). Este resultado corrobora estudos prévios que utilizaram protocolos semelhantes ao deste estudo e que demonstraram que a exposição ao estresse por restrição diária pode causar hipertrofia das glândulas suprarrenais (Magariños & McEwen, 1995; Wellman, 2001; Bloss et al., 2010; Macedo et al., 2015).

De qualquer forma, é importante ressaltar que as concentrações de glicocorticoides medidas pode não indicar que os animais estejam estressados. É bem conhecido que a exposição repetida ao mesmo agente estressor pode levar à habituação do eixo HPA (Torres et al., 2001, Macedo et al., 2012). Por conseguinte, os animais submetidos a estresse crônico não apresentam o mesmo comportamento e não experimentam as mesmas consequências que animais expostos ao estresse agudo (Kennett et al., 1985; Lachuer et al., 1994). Torres et al. (2001), avaliando ratos Wistar machos adultos, mostraram que as concentrações de corticosterona foram aumentadas após exposição à contenção aguda. Contrariamente, Macedo et al. (2012) não mostraram alterações nas concentrações de corticosterona após estresse crônico repetido (por 6 semanas), sugerindo adaptação do eixo HPA. É importante ressaltar

que esses estudos utilizaram ratos Wistar machos, enquanto que o presente trabalho utilizou fêmeas. Corroborando os resultados deste estudo, Macedo et al. (2015) mostraram aumento na massa das glândulas suprarrenais em ratos Wistar machos submetidos a 12 semanas de estresse crônico por restrição.

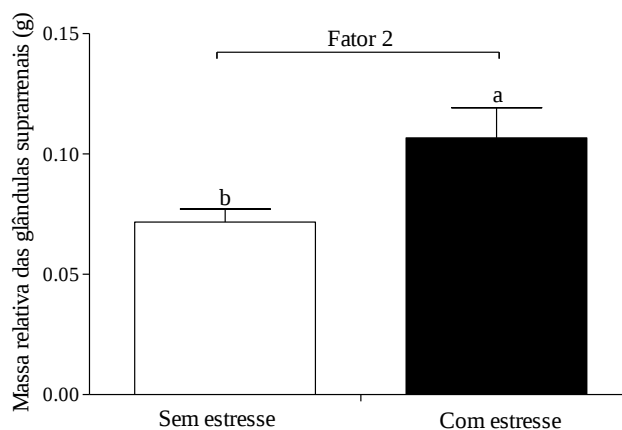


Figura 3.6. Massa relativa das glândulas suprarrenais (g) de ratas Wistar dos grupos não estressadas e estressadas (n=24 por grupo). Comparação entre não estressadas e estressadas (Fator 2) por *two-way* ANOVA, a 5% de probabilidade (n=24).

Recentemente, Balog et al. (2015) avaliaram marcadores bioquímicos relacionados com o risco cardiometabólico e receptores de hormônios leptina e sexuais nas glândulas suprarrenais de ratos machos, fêmeas não-ovariectomizadas (NON-OVX) e fêmeas ovariectomizadas (OVX) (ratos Sprague-Dawley), sob estresse crônico. Em resposta ao estresse, alterações precoces no padrão sexo específico foram detectadas nas glândulas suprarrenais. Alterações do estresse crônico nas glândulas suprarrenais foram relacionados à diminuição no receptor de testosterona em fêmeas e aumento no receptor de estrogênio em machos. De qualquer forma, mais estudos são necessários para entender melhor a dinâmica hormonal em ratas Wistar estressadas e alimentadas com dieta de cafeteria, e seus efeitos sobre as concentrações de glicocorticoides, estrutura e função das glândulas suprarrenais.

3.2. Avaliações neurocomportamentais

Em relação aos parâmetros neurocomportamentais, os resultados não indicaram efeitos do fator 1 "nutrição" ($F_{(1,40)} = 3,505$, $p = 0,075$), fator 2 "condição" ($F_{(1,40)} = 0,098$, $p = 0,756$) ou a interação entre os fatores ($F_{(1,40)} = 0,073$, $p = 0,789$) sobre o parâmetro locomoção nos quadrantes centrais/locomoção total. Logo, a proporção de locomoção nos quadrantes centrais/locomoção total, avaliada durante o teste do campo aberto não indicou efeito ansiolítico ou ansiogênico nos animais. De acordo com Prut & Belzung (2003), um percentual

mais baixo de locomoção nos quadrantes centrais (em relação à locomoção total), e, consequentemente, um elevado percentual de locomoção nos quadrantes laterais pode ser utilizado como um índice de ansiedade. O estudo de Bailey et al. (2007) demonstrou que os machos foram significativamente mais ativos do que as fêmeas em atividade horizontais e apresentaram maior distância total percorrida na arena do teste do campo aberto. Mais recentemente, Sivanathan et al. (2015) mostraram que a alimentação rica em gordura aumenta o comportamento de ansiedade crônica das ratas adultas nas tarefas do teste de transição claro/escuro e do campo aberto, em comparação com ratos alimentados com dieta contendo baixo teor de gordura. Assim, sugere-se o desenvolvimento de novos estudos, a fim de compreender melhor os efeitos da obesidade associada ao estresse sobre esses parâmetros, incluindo os estudos envolvendo machos e fêmeas.

Em relação ao teste de labirinto em cruz elevado, a análise estatística mostrou interação entre os fatores "nutrição" e "condição" para o índice de ansiedade ($F_{(1,40)} = 5,723$, $p = 0,021$), mostrando que animais obesos e estressados apresentaram maior índice de ansiedade (Figura 3.8).

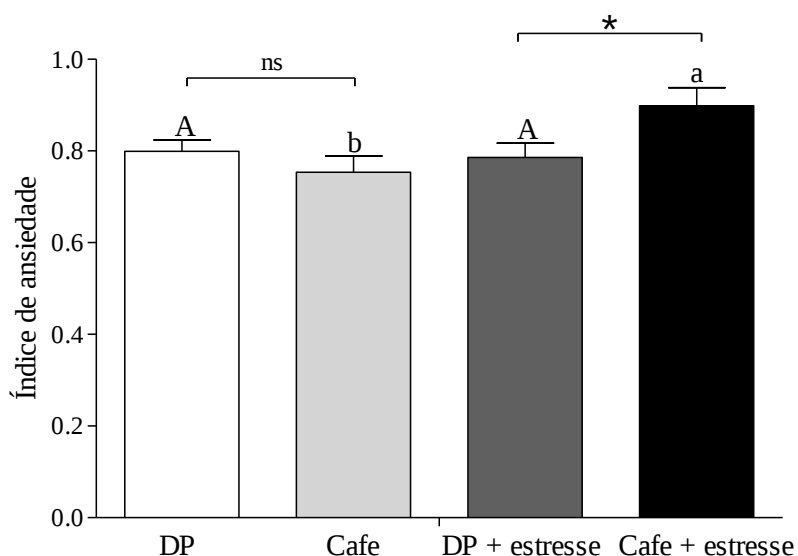


Figura 3.8. Índice de ansiedade de ratas Wistar submetidas a dietas padrão e cafeteria, expostas ou não ao estresse crônico por restrição, avaliado no teste labirinto em cruz elevado. Letras maiúsculas compararam os grupos DP vs. DP + estresse. Letras minúsculas compararam os grupos Cafe vs. Cafe + estresse. Letras distintas indicam diferenças significativas a 5 % de probabilidade. "ns" indica que não foi observada diferença entre os grupos de DP e Cafe. Asterisco (*) indica que houve diferenças estatísticas entre os grupos DP + estresse e Cafe + estresse, a 5% de probabilidade (*two-way* ANOVA), pelo teste de Tukey.

Estudos que usaram ratas para analisar parâmetros de ansiedade em roedores submetidos a estresse crônico e/ou a dieta de cafeteria são raros na literatura (Sivanathan et al., 2015), o que torna difícil a realização de comparações com os resultados do presente trabalho. Foram encontrados na literatura alguns estudos recentes envolvendo ratas que avaliaram os efeitos da obesidade (Pratchayasakul et al., 2015; Gurecká et al., 2015; Sivanathan et al., 2015; Colman et al., 2015) e estresse (Semenoff-Segundo et al., 2014; Balog et al., 2015) numa forma dissociada, ou em modelos mais jovens (Lalanza et al., 2014; Zaidan & Gaisler-Salomon, 2015; Dayi et al., 2015), o que difere do presente estudo.

No presente trabalho, pôde-se observar que o teste do labirinto em cruz elevado mostrou a sobreposição dos efeitos causados pela obesidade e estresse sobre o estado ansiogênico dos animais avaliados. No entanto, durante o teste de campo aberto, esta interação não foi observada, o que pode ser explicado pela natureza dos diferentes testes. Como discutido por Carola et al. (2002), o teste do campo aberto é mais apropriado para avaliar os índices de atividades motoras (componentes mecânicos) e menos sensíveis para avaliar os comportamentos psicomotores em roedores, quando comparado com o teste do labirinto em cruz elevado, embora ambos os testes podem ser utilizados para avaliar comportamentos preditivos de ansiedade.

Komada et al. (2008) apontam para o fato de que, em vez de conduzir a comportamentos relacionados à ansiedade, o teste do campo aberto mede a ansiedade de animais em espaços abertos (comportamento de ansiedade *open-space*), o que não é o caso do teste do labirinto em cruz elevado. O teste do labirinto em cruz elevado baseia-se no comportamento exploratório de roedores e a sua aversão natural a espaços abertos, que normalmente causa o medo e a ansiedade (Pellow et al., 1985; Walf & Frye, 2007). Este paradigma bem estabelecido tem uma longa história de sucesso na avaliação do comportamento de ansiedade, em camundongos ou ratos (Pellow et al., 1985; Rodgers & Dalvi, 1997; Rodgers et al., 1997; Bertoglio & Carobrez, 2002). O teste aproveita a tendência natural dos roedores para explorar novos ambientes. É dada ao roedor a opção de passar o tempo em braços abertos, braços desprotegidos do labirinto, ou nos fechados, braços protegidos, todos elevados a 50 cm do chão. Roedores tendem a evitar as áreas abertas, especialmente quando elas são iluminadas, preferindo espaços mais escuros e fechados. Esta abordagem de prevenção de conflito resulta em comportamentos que foram correlacionados com aumentos nos indicadores de estresse fisiológico (Holmes et al., 2003). Em contraste, a

administração de benzodiazepinos⁴ e outros tratamentos ansiolíticos resultam em aumento da exploração dos braços abertos, sem afetar a motivação ou locomoção geral (Rodgers et al., 1997).

Nos seres humanos, problemas emocionais são geralmente percebidos como consequência da obesidade, apesar de conflitos e problemas psicológicos de autoestima podem preceder o desenvolvimento dessa condição (Vasques et al., 2004). Neste caso, a ansiedade é um dos sintomas mais comuns em indivíduos obesos (Garipey et al., 2010). Além disso, foi relatado que pacientes obesos e emocionalmente instáveis caem em um estado ansiogênico quando submetidos a processos de reeducação nutricional, acompanhado de restrição alimentar de alto teor calórico (Vasques et al., 2004).

De qualquer forma, tem sido um consenso na literatura que os transtornos de ansiedade têm uma origem complexa, estando essa desordem psíquica associada com alterações em diversos sistemas de neurotransmissão (Brawman-Mintzer & Lydiard, 1996). Contudo, em modelos animais induzidos ao estresse crônico, já foi demonstrada uma diminuição nas ligações moleculares para receptores de benzodiazepina no córtex frontal, hipocampo e hipotálamo (Moojen, 2005), aspecto que pode, possivelmente, explicar os resultados obtidos neste estudo.

Em relação ao teste de natação forçada, o qual é preditivo e validado para a depressão em animais de laboratório (Porsolt et al., 1977), observou-se que houve interação entre os fatores "nutrição" e "condição" para o parâmetro escalada ($F_{(1,40)} = 6,093$, $p = 0,009$) e efeito do fator 1 "nutrição" para o parâmetro flutuação ($F_{(1,40)} = 7,039$, $p = 0,015$) (Figura 3.9). Nenhum efeito dos fatores foi observado no parâmetro natação [fator 1 ($F_{(1,40)} = 1,638$, $p = 0,215$), fator 2 ($F_{(1,40)} = 0,015$, $p = 0,901$) e interação ($F_{(1,40)} = 3,645$, $p = 0,070$)].

Os resultados do parâmetro flutuação, geralmente utilizado como um indicador de depressão em testes envolvendo modelos animais (Cryan & Lucki, 2000; Cryan et al. 2005), podem sugerir, no presente estudo, uma alteração da mobilidade causada pelo aumento de peso, e não devido a um estado depressivo nestes animais. O estudo de Calil et al. (2002) suporta esta hipótese e mostra que o significado da flutuação (impotência ou adaptação) depende do modelo experimental. Nishimura et al. (1988) também corroboram esta hipótese,

⁴Os benzodiazepinos são um grupo de substâncias muito utilizadas no tratamento de situações de ansiedade e insônia e são um dos medicamentos mais receitados no mundo. Apesar de se conhecerem mais de 2 mil variantes, apenas são utilizadas para fins terapêuticos cerca de 35, normalmente conhecidas pelos seus nomes comerciais (Artane, Bruprex, Librium, Mandrax, Rohipnol, Serenal, Temesta, Valium, Xanax, etc.). Os benzodiazepinos têm progressivamente substituído os barbitúricos, por apresentarem menos riscos e menores efeitos (informações disponíveis em: <http://www.atv.pt/ficheiros/documentos/benzodiazepinas.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2015).

tendo seus resultados interpretados como mais uma prova para a noção de que a flutuação de ratos no teste de natação forçada não implica necessariamente em "desespero comportamental", mas sim uma reação emocional a um estressor inevitável. No presente trabalho, a constatação de que os animais obesos e estressados exibem menos comportamento de escalada do que todos os outros grupos é muito interessante, considerando que os roedores, quando expostos a uma situação aversiva sem possibilidade de escapar, tendem a desistir de fugir e permanecer imóvel (Can et al., 2012), além do fato de que a escalada é um bom índice de luta para escapar.

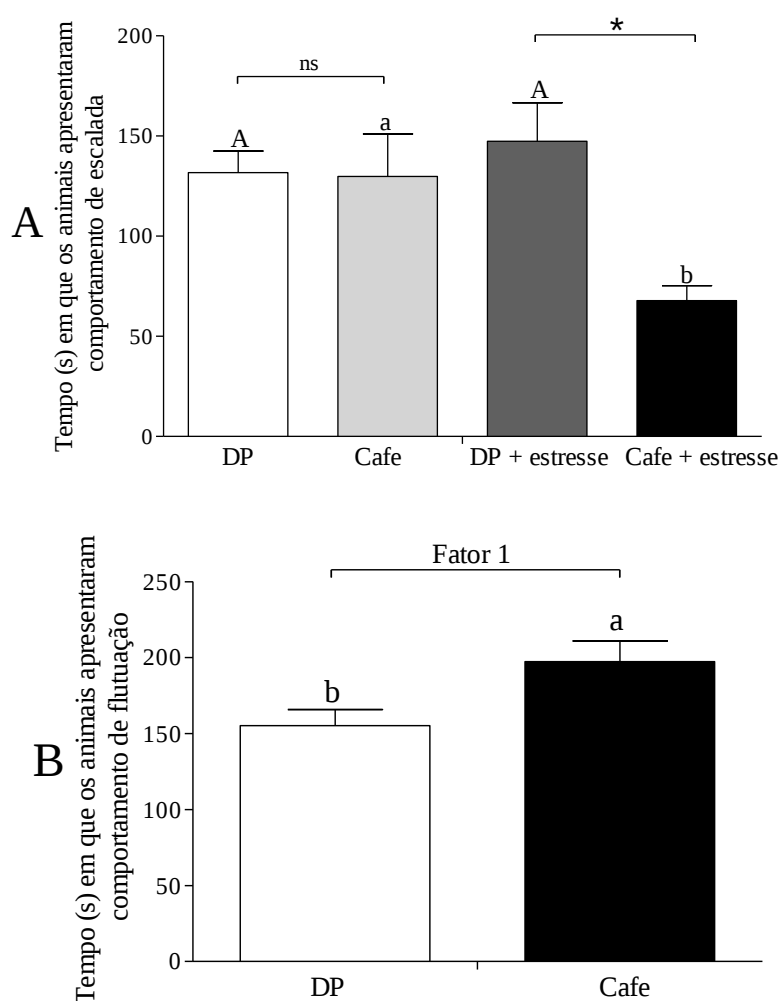


Figura 3.9. (A) Tempo de escalada registrado em ratos Wistar submetidas a dietas padrão e cafeteria, expostas ou não ao estresse crônico por contenção (n=12), durante o teste de natação forçada. (B) Comparação entre o tempo de flutuação dos grupos DP e Cafe (fator 1), pelo *two-way* ANOVA, a 5% de probabilidade (n=24). Em (A), letras maiúsculas comparam os grupos DP vs. DP + estresse. Letras minúsculas comparam os grupos Cafe vs. Cafe + estresse. "ns" indica que não foi observada nenhuma diferença entre os grupos de DP e Cafe. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística entre os grupos Std + estresse e Cafe + estresse, a 5% de probabilidade (*two-way* ANOVA), pelo teste de Tukey. Letras distintas indicam diferenças significativas.

Apesar de não terem sido avaliadas as concentrações de corticosterona, é bem estabelecido que os hormônios produzidos na medula adrenal (epinefrina) e no córtex adrenal (corticosterona nos ratos, o cortisol em humanos) são liberados durante e imediatamente após o estímulo estressante. O grau com que estes sistemas hormonais são ativados depende da gravidade bem como o tipo de estressor empregado (Korte, 2001). Já foi demonstrado, por exemplo, que a remoção de hormônios endógenos por adrenalectomia prejudica a consolidação da memória para experiências que despertam emoções (Oitzl & Kloet, 1992; Roozendaal et al., 1996; Pugh et al., 1997; Beylin & Shors, 2003). Tal evidência indica que os hormônios do estresse liberados pela experiência de treinamento podem atuar como moduladores endógenos de consolidação de aspectos cognitivos.

Finalmente, em relação às avaliações neurocomportamentais realizadas, deve-se ponderar que o presente estudo não é exaustivo e outras investigações devem ser conduzidas de forma a melhor compreender os aspectos psíquicos e fisiológicos da obesidade e estresse. Quanto ao estresse, Luine et al. (2007) relataram alterações comportamentais e neurais dependentes do sexo em ratos, da duração do estresse crônico e da idade. Além disso, a alteração das concentrações de estradiol entre os sexos ao longo da vida parecem contribuir para as diferenças na resposta ao estresse (Luine, 2014). Assim, as teorias de estresse dependente de modulações na função do sistema nervoso central - desenvolvidas exclusivamente em modelos masculinos, com foco em processos fisiológicos periféricos e testadas em adultos - podem necessitar de revisão, quando aplicadas a uma população mais diversa (idade, e sexo conhecido), pelo menos em relação às funções neurais da cognição e da ansiedade. Além disso, estes resultados sugerem que outros fatores estressantes e funções neurais devem ser investigados para determinar se idade, sexo e hormônios gonadais também têm efeitos.

3.3. Avaliações bioquímicas e hematológica

Os resultados do eritrograma acusaram que não houve interação entre os fatores “nutrição” e “condição” para nenhum dos parâmetros analisados (Tabela 3.2.). Além disso, os animais não apresentaram parâmetros condizentes com um quadro anêmico, definido pela análise dos valores de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito. O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) são parâmetros utilizados para avaliar morfologicamente os tipos de anemia (Lopes et al., 2007). Como os animais deste estudo não apresentaram-se anêmicos, não foram observadas alterações significativas para essas variáveis, como era esperado.

Em relação ao lipidograma, também não foram observadas interações entre os fatores “nutrição” e “condição” para os parâmetros avaliados, tampouco efeito individualizado dos fatores (Tabela 3.2.). Estes resultados já eram esperados, uma vez que, as dietas ofertadas aos animais (tanto de cafeteria, quanto padrão para roedores), não eram hiperlipídicas. Hoefel et al. (2011), por exemplo, estudando ratos Wistar, sugerem uma correlação positiva entre o consumo de dietas hiperlipídicas com alterações metabólicas. Os autores evidenciaram que a dieta hiperlipídica com gordura saturada quando ingerida *ad libitum* causa efeitos negativos tanto sobre o perfil lipídico plasmático, quanto hepático.

Tabela 3.2. Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no eritrograma e lipidograma de ratos Wistar submetidas às dietas padrão ou de cafeteria, expostas ou não ao estresse crônico por restrição.

	Fator 1 (“nutrição”)	Fator 2 (“condição”)	Interação F1 x F2
Eritrograma			
H (terá/L)	$F_{(1,40)} = 4,176, p = 0,054$	$F_{(1,40)} = 0,264, p = 0,612$	$F_{(1,40)} = 0,773, p = 0,389$
Hem (%)	$F_{(1,40)} = 2,951, p = 0,101$	$F_{(1,40)} = 0,270, p = 0,608$	$F_{(1,40)} = 0,258, p = 0,616$
Hb (g/dL)	$F_{(1,40)} = 1,192, p = 0,287$	$F_{(1,40)} = 0,838, p = 0,370$	$F_{(1,40)} = 0,358, p = 0,555$
VCM (fL)	$F_{(1,40)} = 0,721, p = 0,405$	$F_{(1,40)} = 0,090, p = 0,767$	$F_{(1,40)} = 1,701, p = 0,206$
CHCM (g/dL)	$F_{(1,40)} = 1,975, p = 0,175$	$F_{(1,40)} = 0,160, p = 0,693$	$F_{(1,40)} = 0,005, p = 0,943$
Lipidograma			
Colesterol (mg/dL)	$F_{(1,40)} = 1,546, p = 0,227$	$F_{(1,40)} = 0,608, p = 0,444$	$F_{(1,40)} = 0,999, p = 0,329$
Triglicérides (mg/dL)	$F_{(1,40)} = 1,116, p = 0,303$	$F_{(1,40)} = 0,701, p = 0,411$	$F_{(1,40)} = 0,217, p = 0,645$
HDL (mg/dL)	$F_{(1,40)} = 0,019, p = 0,890$	$F_{(1,40)} = 0,008, p = 0,977$	$F_{(1,40)} = 2,034, p = 0,169$
LDL (mg/dL)	$F_{(1,40)} = 2,971, p = 0,100$	$F_{(1,40)} = 1,516, p = 0,232$	$F_{(1,40)} = 0,379, p = 0,544$
VLDL (mg/dL)	$F_{(1,40)} = 1,116, p = 0,303$	$F_{(1,40)} = 0,701, p = 0,411$	$F_{(1,40)} = 0,217, p = 0,645$

Legenda: H: hemácia; Hem: hematócrito; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; HDL: lipoproteínas de alta densidade; LDL: lipoproteínas de baixa densidade; VLDL: lipoproteínas de densidade muito baixa.

Quanto ao leucograma, também não foram observadas interações entre os fatores “nutrição” e “condição” para os parâmetros avaliados (Tabela 3.3). Observou-se efeito apenas do fator “nutrição” (Figura 3.2), sendo que os animais do grupo Cafe (submetidos ou não ao estresse), apresentaram concentrações superiores de leucócitos totais, neutrófilos segmentados, neutrófilos totais e linfócitos (Figura 3.10). Em relação ao plaquetograma, não foram observados efeitos dos fatores ou interação dos mesmos sobre os resultados [fator 1 ($F_{(1,40)} = 2,801, p = 0,109$), fator 2 ($F_{(1,40)} = 0,533, p = 0,473$) e interação ($F_{(1,40)} = 0,107, p = 0,746$)].

Estes dados apontam para um quadro de leucocitose por neutrofilia e linfocitose nos animais obesos, evidenciando alterações nos processos imunológicos envolvidos na defesa dos animais. As concentrações aumentadas de linfócitos e neutrófilos, por exemplo, constituem evidências de alteração no sistema imune dos animais obesos, que podem estar relacionada à secreção de moléculas pelos adipócitos e que precisam ser melhor estudadas.

Tabela 3.3. Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no leucograma de ratas Wistar submetidas às dietas padrão ou de cafetaria, expostas ou não ao estresse crônico por restrição.

	Fator 1 (“nutrição”)	Fator 2 (“condição”)	Interação F1 x F2
Leucócitos totais (/mm ³)	$F_{(1,40)} = 5,554, p = 0,028^*$	$F_{(1,40)} = 1,191, p = 0,666$	$F_{(1,40)} = 0,539, p = 0,470$
Neutrófilos Segmentados (/mm ³)	$F_{(1,40)} = 4,539, p = 0,045^*$	$F_{(1,40)} = 0,181, p = 0,674$	$F_{(1,40)} = 0,248, p = 0,623$
Neutrófilos totais (/mm ³)	$F_{(1,40)} = 4,579, p = 0,049^*$	$F_{(1,40)} = 0,172, p = 0,682$	$F_{(1,40)} = 0,249, p = 0,622$
Linfócitos totais (/mm ³)	$F_{(1,40)} = 6,652, p = 0,017^*$	$F_{(1,40)} = 0,168, p = 0,685$	$F_{(1,40)} = 1,052, p = 0,317$

Asterisco indica efeito do fator 1 sobre os parâmetros analisados ao nível de 5% de probabilidade pela *two-way* ANOVA.

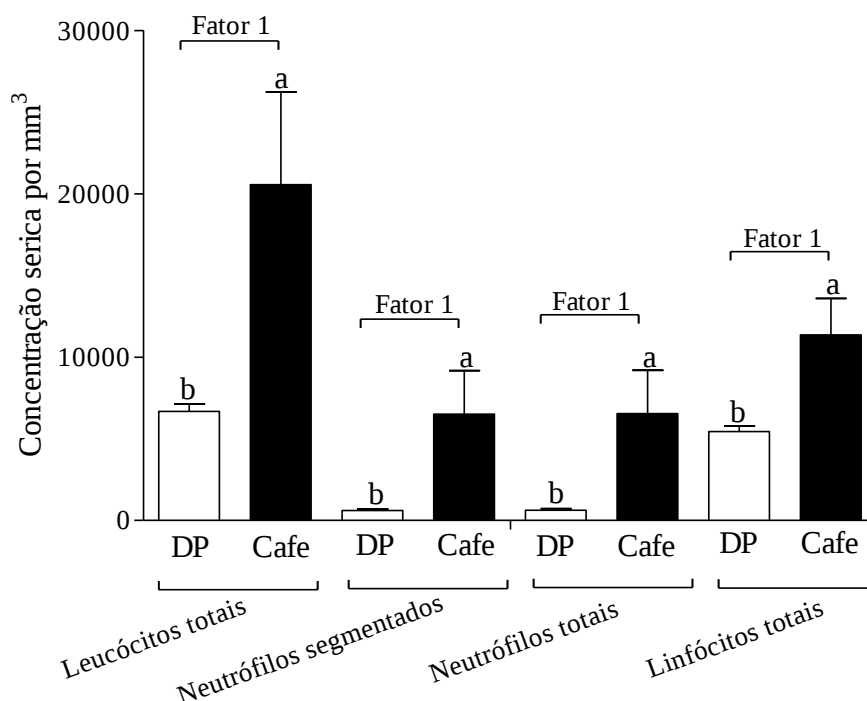


Figura 3.10. Concentrações séricas de leucócitos totais, neutrófilos segmentados, neutrófilos totais e linfócitos, por mm^3 , dos animais dos grupos dieta padrão ou cafeteria (submetidos ou não a estresse crônico). Dados expressos em média + desvio padrão referentes a dois experimentos ($n=12$), realizados de forma independente. Letras distintas indicam diferenças estatísticas entre os grupos dieta padrão e de cafeteria, de acordo com a análise de variância (*two-way ANOVA*), a 5% de probabilidade. Legenda dos grupos: dieta padrão (DP) e dieta de cafeteria (Cafe).

Segundo Fain et al. (2004) e Wajchenberg (2000), os adipócitos secretam leptina (Lp) em concentrações diretamente proporcionais à massa do tecido adiposo, bem como o estado nutricional do organismo. Considine et al. (1996) ainda destacam que a massa adiposa é considerada um dos fatores fortemente associado às concentrações de Lp no sangue. Assim, quanto maior a produção de Lp pelos adipócitos, maior a secreção de citocinas pró-inflamatórias por parte dos monócitos e, conseqüentemente, maior a proliferação de linfócitos T.

Evidências *in vitro* e em animais sugerem que a Lp está também envolvida na regulação da resposta inflamatória humoral por meio de efeitos diretos nos linfócitos T, monócitos, neutrófilos e células endoteliais (Hukshorn et al., 2004). Com isso, o aumento da massa corpórea acarretaria no incremento da Lp circulante e, conseqüentemente, aumentaria a concentração plasmática de marcadores inflamatórios associados com a obesidade (Ziccardi et al., 2002), o que caracterizaria um estado pró-inflamatório capaz de induzir uma leucocitose (Perfetto et al., 2002), conforme observado nos animais alimentados com dieta de cafeteria.

Outra hipótese que explicaria a leucocitose estaria relacionada com a ação da epinefrina liberada em situações de estresse crônico, conforme demonstrado por Mersmann (1989). Embora nossos dados não apontem para efeitos estatísticos do fator estresse sobre os resultados obtidos, essa constatação não implica em insignificância biológica dos achados, considerando a complexidade dos efeitos do estresse no organismo. Para Thrall (2014), o efeito da epinefrina no leucograma pode se manifestar como aumento do número total de leucócitos, notado particularmente nos neutrófilos e/ou linfócitos, conforme observado no presente estudo.

Os resultados da análise estatística dos parâmetros proteínas totais, albumina, globulina e glicemia revelaram ausência de interações entre os fatores “nutrição” e “condição” (Tabela 4.3.). Observou-se apenas efeito do fator “nutrição” sobre as concentrações glicêmicas observadas. Os animais alimentados com dieta de cafeteria (submetidos ou não ao estresse crônico) apresentaram maior concentração de glicose em relação aos animais alimentados com dieta padrão (Figura 3.11).

Tabela 3.4. Resumo da análise de variância para os parâmetros proteínas totais, albumina, globulina e glicemia de ratos Wistar submetidos às dietas padrão e de cafeteria, expostos ou não ao estresse crônico por restrição.

	Fator 1 (“nutrição”)	Fator 2 (“condição”)	Interação F1 x F2
Proteínas totais (g/dL)	$F_{(1,40)} = 0,221, p = 0,642$	$F_{(1,40)} = 0,252, p = 0,620$	$F_{(1,40)} = 0,084, p = 0,740$
Albumina (g/dL)	$F_{(1,40)} = 1,650, p = 0,213$	$F_{(1,40)} = 0,015, p = 0,901$	$F_{(1,40)} = 0,184, p = 0,671$
Globulina (g/dL)	$F_{(1,40)} = 2,391, p = 0,137$	$F_{(1,40)} = 0,248, p = 0,623$	$F_{(1,40)} = 0,187, p = 0,669$
Glicemia (g/dL)	$F_{(1,40)} = 7,265, p = 0,013^*$	$F_{(1,40)} = 0,327, p = 0,573$	$F_{(1,40)} = 0,019, p = 0,883$

Asterisco indica efeito do fator 1 sobre o parâmetro glicemia, analisado ao nível de 5% de probabilidade pela two-way ANOVA.

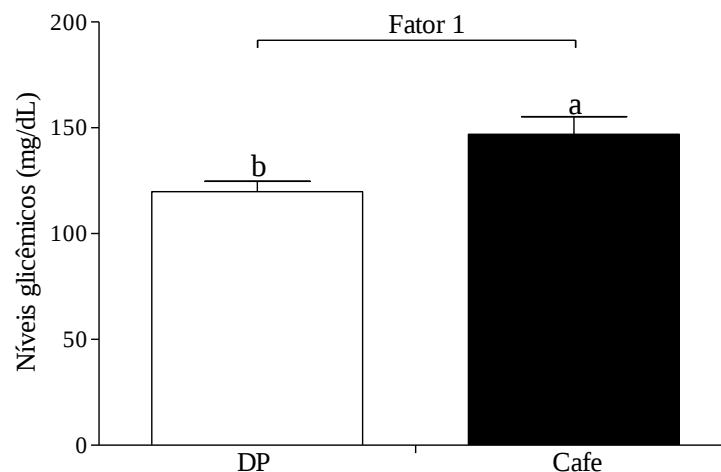


Figura 3.11. Concentrações glicêmicas dos animais dos grupos dieta padrão ou cafeteria (submetidos ou não a estresse crônico). Dados expressos em média + desvio padrão referentes a dois experimentos (n=12), realizados de forma independente. Letras distintas indicam diferenças estatísticas entre os grupos dieta padrão e de cafeteria, de acordo com a análise de variância (*two-way ANOVA*), a 5% de probabilidade. Legenda dos grupos: dieta padrão (DP) e dieta de cafeteria (Cafe).

Esses dados vão ao encontro de diferentes trabalhos envolvendo modelos animais de obesidade, os quais apontam relação direta entre a glicemia e o valor calórico da dieta ingerida (Duarte et al., 2006, Sampey et al., 2011). Rosmond (2004) ainda destaca que a obesidade é comumente associada a um conjunto de doenças metabólicas, que pode influenciar a secreção de diferentes substâncias pelos adipócitos. Essas substâncias agem de maneira complexa e ainda estão sendo estudadas. De acordo com Campos et al. (2006), essas substâncias podem causar alteração morfofuncional dos adipócitos, que, nos organismos obesos, secretam maiores concentrações de $\text{TNF-}\alpha$ e IL-6, por exemplo, as quais são antagonistas à ação da insulina. Nesse caso, essa ação antagônica poderia explicar a hiperglicemia observada nos animais obesos neste estudo, embora parâmetros ligados à insulina não tenham sido alvo de investigação.

CAPÍTULO IV. CONCLUSÕES E COSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados e de acordo com as condições experimentais, pode-se concluir que a dieta de cafeteria utilizada neste estudo, foi eficiente na indução da obesidade em ratas Wistar. Concluiu-se que ratas Wistar estressadas e obesas apresentam alto índice de ansiedade e comportamento preditivo de depressão. Entretanto, a hipótese de que a associação entre o estresse crônico e a obesidade levaria a maiores prejuízos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos avaliados não foi confirmada.

Nesse sentido, é importante considerar que existem vários aspectos ligados à complexidade não apenas dos efeitos da obesidade e do estresse sobre a homeostase do organismo, como também a sobreposição dos mesmos. O tipo de protocolo de estresse crônico utilizado, a idade dos animais, o sexo, por exemplo, podem ser fatores importantes que podem ter contribuído para a não observação dos efeitos sobrepostos das duas enfermidades, em alguns dos parâmetros avaliados neste estudo. Por outro lado, é importante ponderar e considerar a possibilidade da existência do processo adaptativo decorrente da exposição repetida ao estresse, observada nos animais, o que levaria a uma tolerância metabólica que impediria ou minimizaria os efeitos prejudiciais ao organismo. Sugere-se, portanto, que as investigações acerca dos mecanismos envolvidos com os efeitos no organismo da obesidade, associada ao estresse crônico, sejam continuamente investigadas.

CAPÍTULO V. PRODUTOS DO ESTUDO

O presente estudo resultou direta ou indiretamente em 2 manuscritos e em 7 resumos publicados em diferentes eventos acadêmico-científicos:

Manuscritos:

- 1) Estrela DC, Silva WAM, Guimarães ATB, Mendes BO, Castro ALS, Torres ILS, Malafaia G. Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria and stress. **Physiology & Behavior** 151: 252-263, 2015. Doi: 10.1016/j.physbeh.2015.07.016 (Anexo I).
- 2) *Obesity changes glycemia and WBC count in Wistar rats, but its association with stress does not enhance its effects*. Manuscrito submetido à revista Anais da Academia Brasileira de Ciências (ID: AABC-2015-0327) (Qualis CAPES A2 na área de Biodiversidade/2015) (Anexo II).

Resumos:

1. ESTRELA, D. C.; MENDES, B. O.; SILVA, W. A. M.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C.G.C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. INDUÇÃO DA OBESIDADE EM RATOS WISTAR POR MEIO DE DIETA DE CAFETERIA. In: II Workshop Luso-Brasileiro de Ciências do IF Goiano e I Seminário Institucional do PIBID do IF Goiano, 2014. Anais do II Workshop Luso-Brasileiro de Ciências do IF Goiano e I Seminário Institucional do PIBID do IF Goiano, 2014.
2. ESTRELA, D. C.; SILVA, W. A. M.; MENDES, B. O.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C.G.C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. EFEITOS DA OBESIDADE E ESTRESSE CRÔNICO EM RATOS WISTAR SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS. In: V Semana de Ciências Biológicas, 2014, Urutaí. Anais da V Semana de Ciências Biológicas, 2014.
3. ESTRELA, D. C.; SILVA, W. A. M.; MENDES, B. O.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C.G.C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. AVALIAÇÃO DE DEPRESSÃO EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À OBESIDADE E ESTRESSE CRÔNICO. In: V Semana de Ciências Biológicas, 2014, Urutaí. Anais da V Semana de Ciências Biológicas, 2014.

4. ESTRELA, D. C.; MENDES, B. O.; SILVA, W. A. M.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C.G.C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. INDUÇÃO DA OBESIDADE EM RATOS WISTAR POR MEIO DE DIETA DE CAFETERIA. In: V Semana de Ciências Biológicas, 2014, Urutaí. Anais da V Semana de Ciências Biológicas, 2014.
5. ESTRELA, D. C.; SILVA, W. A. M.; MENDES, B. O.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C. G. C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. EFEITOS DA OBESIDADE E ESTRESSE CRÔNICO EM RATOS WISTAR SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS. In: II Workshop Luso-Brasileiro de Ciências do IF Goiano e I Seminário Institucional do PIBID do IF Goiano, 2014. Anais do II Workshop Luso-Brasileiro de Ciências do IF Goiano e I Seminário Institucional do PIBID do IF Goiano, 2014.
6. ESTRELA, D. C.; MENDES, B. O.; SILVA, W. A. M.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C.G.C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. DIETA DE CAFETERIA, POR 8 SEMANAS, NÃO CAUSA TOLERÂNCIA À INSULINA EM RATOS WISTAR. In: V Semana de Ciências Biológicas, 2014, Urutaí. Anais da V Semana de Ciências Biológicas, 2014.
7. ESTRELA, D. C.; MENDES, B. O.; SILVA, W. A. M.; GUIMARAES, A. T. B.; LEMES, C. G. C.; CHAVES, C. F.; MALAFAIA, G. DIETA DE CAFETERIA, POR 8 SEMANAS, NÃO CAUSA TOLERÂNCIA À INSULINA EM RATOS WISTAR. In: II Workshop Luso-Brasileiro de Ciências do IF Goiano e I Seminário Institucional do PIBID do IF Goiano, 2014, Urutaí. Anais do II Workshop Luso-Brasileiro de Ciências do IF Goiano e I Seminário Institucional do PIBID do IF Goiano, 2014.

CAPÍTULO VI. REFERÊNCIAS

1. Aggarwal NT, Wilson RS, Beck TL, Rajan KB, de Leon CF M, Evans DA, Everson-Rose SA. Perceived stress and change in cognitive function among adults 65 years and older. **Psychosomatic Medicine** 76: 80-85, 2014.
2. Almeida LM. **Estresse em familiares de portadores de transtornos mentais desinstitucionalizados**: proposta de assistência de enfermagem [dissertação]. Paraíba: Universidade Federal da Paraíba, 2002.
3. Andel R, Crowe M, Kareholt I, Wastesson J, Parker MG. Indicators of job strain at midlife and cognitive functioning in advanced old age. **The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences** 66(B): 287-291, 2011.
4. Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS (Orgs.). **Animais de laboratório – criação e experimentação**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002. 388p.
5. André C, Dinel AL, Ferreira G, Layé S, Castanon N. Diet-induced obesity progressively alters cognition, anxiety-like behavior and lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior: Focus on brain indoleamine 2,3-dioxygenase activation. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2014.
6. Asarian L, Geary N. Sex differences in the physiology of eating. **American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology** 305(11): R1215-67, 2013.
7. Aslani S. **Dissecting the crosstalk between stress, depression and obesity**. Tese [Doutorado em Ciências da Saúde]. Braga, Universidade de Minho, 2014.
8. Assari S. Additive Effects of Anxiety and Depression on Body Mass Index among Blacks: Role of Ethnicity and Gender. **International Cardiovascular Research Journal** 8(2):44-51, 2014.
9. Bahreini N, Noor MI, Koon PB, Talib RA, Lubis SH, Dashti MG, Salehi-Abargouei A, Esmailzadeh A. Weight status among Iranian adolescents: Comparison of four different criteria. **Journal of Research in Medical Science** 18(8): 641-646, 2013.
10. Bailey KR, Pavlova MN, Rohde AD, Hohmann JG, Crawley JN. Galanin receptor subtype 2 (GalR2) null mutant mice display an anxiogenic-like phenotype specific to the elevated plus-maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior** 86(1): 8-20, 2007.
11. Balog M, Miljanović M, Blažetić S, Labak I, Ivić V, Viljetić B, Borbely A, Papp Z, Blažeković R, Vari SG, Fagyas M, Heffer M. Sex-specific chronic stress response at

- the level of adrenal gland modified sexual hormone and leptin receptors. **Croatian Medical Journal** 56(2): 104-112, 2015.
12. Bartolomucci A, Cabassi A, Govoni P, Ceresini G, Cero C, Berra D, Dadomo H, Franceschini P, Dell-Omo G, Parmigiani S, Palanza P. Metabolic consequences and vulnerability to diet-induced obesity in male mice under chronic social stress. **Plos ONE** 4(1):e4331, 2009.
 13. Bello ACD, Riul TR, Oliveira LM. Desnutrição e estresse na gestação: medidas comportamentais das mães e dos filhotes durante a lactação. **Temas Psicologia** 13(1): 34-44, 2005.
 14. Bertoglio LJ, Carobrez AP. Prior maze experience required to alter midazolam effects in rats submitted to the elevated plus-maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior** 72(1-2): 449-455, 2002.
 15. Beylin AV, Shors TJ. Glucocorticoids are necessary for enhancing the acquisition of associative memories after acute stressful experience. **Hormones and Behavior** 43:124, 2003.
 16. Bhattacharya R, Shen C, Sambamoorthi U. Excess risk of chronic physical conditions associated with depression and anxiety. **BMC Psychiatry** 14:10, 2014.
 17. Bjorntorp P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? **Obesity Reviews**, 2: 73-86, 2001.
 18. Black PH. Stress and the inflammatory response: A review of neurogenic inflammation. **Brain, Behavior, and Immunity** 16: 622-653, 2002.
 19. Bloss EB, Janssen WG, McEwen BS, Morrison JH. Interactive effects of stress and aging on structural plasticity in the prefrontal cortex. **The Journal of Neuroscience** 30(19): 6726-6731, 2010.
 20. Brasil. Instituto Brasileira de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição: resultados preliminares**. 2ª edição. Brasília: IBGE, 1990.
 21. Brasil. Vigitel Brasil 2011: **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde. 2012.
 22. Brawman-Mintzer O, Lydiard RB. Generalized anxiety disorder: Issues in epidemiology. **Journal of Clinical Psychiatry** 57:3-8, 1996.
 23. Bruder-Nascimento T, Campos DHS, Alves C, Thomaz S, Cicogna AC, Cordellini S. Effects of chronic stress and high-fat diet on metabolic and nutritional parameters in Wistar rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** 57(8): 642-649, 2013.

24. Brunner EJ, Chandola T, Marmot MG. Prospective effect of job strain on general and central obesity in the Whitehall II Study. **American Journal of Epidemiology** 165: 828-837, 2007.
25. Buchanan TW, Tranel D, Kirschbaum C. Hippocampal damage abolishes the cortisol response to psychosocial stress in humans. **Hormones and Behavior** 56(1): 44-50, 2009.
26. Burgmer R, Legenbauer T, Müller A, Zwaan M, Fischer C, Herpertz S. Psychological Outcome 4 Years after Restrictive Bariatric Surgery. **Obesity Surgery** 24(10): 1670-1678, 2014.
27. Butnorienė J, Bunevicius A, Norkus A, Bunevicius R. Depression but not anxiety is associated with metabolic syndrome in primary care based community sample. **Psychoneuroendocrinology** 40: 269-276, 2014.
28. Calil CM, Bianchi FJ, Tanno AP, Cunha TS, Marcondes FK. Analysis of the meaning of the immobility time in swimming experimental models. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** 38(4): 479-485, 2002.
29. Campos KE, Sinzato YK, Damasceno DC, Rudge MVC. Obesity and insulin resistance. **Femina** 34(9):592-595, 2006.
30. Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The mouse forced swim test. **Journal Visualized Experiments** 59: 3638, 2012.
31. Carey M, Small H, Yoong SL, Boyes A, Bisquera A, Sanson-Fisher R. Prevalence of comorbid depression and obesity in general practice: a cross-sectional survey. **British Journal of General Practice** e123, 2014.
32. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. **Behavioural Brain Research** 134:49-57. 2002.
33. Carrascosa JM, Vilavella M, Garcia-Doval I, Carretero G, Vanaclocha F, Daudén E, Gómez-García FJ, Herrera-Ceballos E, De-la-Cueva-Dobao P, Belinchón I, Sánchez-Carazo JL, Alsina M, López-Esteban JL, Ferrán M, Peral F, Torrado R, Rivera R, Jiménez-Puya R, Mendiola MV, Ferrándiz C. Body mass index in patients with moderate-to-severe psoriasis in Spain and its impact as an independent risk factor for therapy withdrawal: results of the Biobadaderm Registry. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology** 28(7): 907–914, 2013. Epub 15 Jul 2013.
34. Carvalho SR. A carga alostática: uma revisão. **Cadernos de Saúde Coletiva** 15(2): 257-274, 2007.

35. Cawsey S, Padwal R, Sharma AM, Wang X, Li S, Siminoski K. Women with severe obesity and relatively low bone mineral density have increased fracture risk. **Osteoporosis International** 26(1): 103-111, 2015.
36. Chen E, Miller GE, Lachman ME, Gruenewald TL, Seeman TE. Protective factors for adults from low-childhood socioeconomic circumstances: The benefits of shift-and-persist for allostatic load. **Psychosomatic Medicine** 74: 178-186, 2012.
37. Coccorello R, D'Amato FR, Moles A. Chronic social stress, hedonism and vulnerability to obesity: lessons of rodents. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** 33(4): 537-550, 2009.
38. Cohen H, Matar MA, Joseph Z. Animal models of posttraumatic stress disorder. **Current Protocols in Neuroscience** 64: 9.45.1-9.45.18, 2013.
39. Colman JB, Laureano DP, Reis TM, Krolow R, Dalmaz C, Benetti Cda S, Silveira PP. Variations in the neonatal environment modulate adult behavioral and brain responses to palatable food withdrawal in adult female rats. **International Journal of Developmental Neuroscience** 40: 70-75, 2015.
40. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **New England Journal of Medicine** 334(5): 292-5, 1996.
41. Contreras CM, Rodríguez-Landa JF, García-Ríos RI, Cueto-Escobedo J, Guillen-Ruiz G, Bernal-Morales B. Myristic Acid Produces Anxiolytic-Like Effects in Wistar Rats in the Elevated Plus Maze. **BioMed Research International** 492141: 1-8, 2014.
42. Costa R, Tamascia ML, Nogueira MD, Casarini DE, Marcondes FK. Handling of Adolescent Rats Improves Learning and Memory and Decreases Anxiety. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science** 51(5): 548-553, 2012.
43. Cryan JF, Lucki I. 5-HT₄ receptors do not mediate the antidepressant-like behavioral effects of fluoxetine in a modified forced swim test. **European Journal of Pharmacology** 409: 295-299, 2000.
44. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** 29:571-625, 2005.
45. Dallman MF, La Fleur SE, Pecoraro NC, Gomez F, Houshyar H, Akana SF. Glucocorticoids food intake, abdominal obesity and wealthy nations in 2004. **Endocrinology** 145: 2633-2638, 2004.

46. Dallman MF, Pecoraro NC, La Fleur SE, Warne JP, Ginsberg AB, Akana SF, Laugero KC, Houshyar H, Strack AM, Bhatnagar S, Bell ME. Glucocorticoids, chronic stress and obesity. **Progress in Brain Research** 153:75-105, 2006.
47. Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. **Brain, Behavior, and Immunity** 19(4): 275-280, 2005.
48. Dallman MF. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. **Trends in Endocrinology & Metabolism** 21(3):159-165, 2010.
49. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature Reviews Neuroscience** 9:46-56, 2008.
50. Dayi A, Cetin F, Sisman AR, Aksu I, Tas A, Gönenc S, Uysal N. The effects of oxytocin on cognitive defect caused by chronic restraint stress applied to adolescent rats and on hippocampal VEGF and BDNF levels. **Medical Science Monitor** 21: 69-75, 2015.
51. De-Oliveira C, Scarabelot VL, Souza A, Oliveira CM, Medeiros LF, Macedo IC, Marques-Filho PR, Cioato SG, Caumo W, Torres ILS. Obesity and chronic stress are able to desynchronize the temporal pattern of serum levels of leptin and triglycerides. **Peptides** 51: 46-53, 2014.
52. Dobrow I, Kamenetz C, Devlin MJ. Psychiatric aspects of obesity. **Revista Brasileira de Psiquiatria** 24(Supl III): 63-67, 2002.
53. Doventas A, Bolayirli IM, Incir S, Yavuzer H, Civelek S, Erdinçler DS, Konukoglu D, Beger T, Seven A. Interrelationships between obesity and bone markers in post-menopausal women with either obesity or osteoporosis. **European Geriatric Medicine** 6(1): 15–20, 2015.
54. Duarte ACGO, Fonseca DF, Manzoni MSJ, Soave CF, Sene-Fiorese M, Dâmaso AR, Cheik NC. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Revista de Nutrição** 19(3): 341-348, 2006.
55. Dulloo AG, Jacquet J, Solinas G, Montani JP, Schutz Y. Body composition prhenotypes in pathways to obesity and metabolic syndrome. **Obesity Reviews**, 13(S2): 1-5, 2010.
56. Eder L, Thavaneswaran A, Chandran V, Cook RJ, Gladman DD. Obesity is associated with a lower probability of achieving sustained minimal disease activity state among patients with psoriatic arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases** 0:1–5, 2014.

57. Eguchi R, Cheik NC, Oyama LM, Nascimento CMO, Mello MT, Tufik S, Dâmaso, A. Effects of the chronic exercise on the circulating concentration of leptin and ghrelin in rats With diet-induced obesity. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** 14(3):182-187, 2008.
58. Elizalde N, Gil-Bea FJ, Ramírez J, Aisa B, Lasheras B, Del Rio J, Tordera RM. Long-lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice: effect of antidepressant treatment. **Psychopharmacology** 199(1): 1-14, 2008.
59. Ely DR, Dapper V, Marasca J, Corrêa JB, Gamaro GD, Xavier MH, Michaloeski MB, Catelli D, Rosat R, Ferreira MBC, Dalmaz C. Effect of restraint stress on feeding behavior of rats. **Physiology & Behavior** 61(3): 395-398, 1997.
60. Ennaceur A, Aggleton JP. The effects of neurotoxic lesions of the perirhinal cortex combined to fornix transection on object recognition memory in the rat. **Behavioural Brain Research** 88: 181-193, 1997.
61. Escoda MSQ. Para a crítica da transição nutricional. **Ciência e Saúde Coletiva** 7(2): 219-226, 2002.
62. Estrela DC, Lemes CGC, Guimarães ATB, Malafaia G. Effects of short-term malnutrition in rats. **Scientia Plena** 10(7): 1-13, 2014.
63. Evans W, Brown, Timmins F, Nicholl H. An exploratory study identifying the programme related stressors amongst qualified nurses completing part-time degree courses. **Nurse Education Today** 27(7): 731-738, 2007.
64. Fain JN, Madan AK, Hiller ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology**. 145(5): 2273-82, 2004.
65. Fernandes EV, Ramos S, Estanislau. Efeitos comportamentais e imunológicos da fluoxetina em ratos submetidos ao nado forçado. **Psicologia: Teoria e Pesquisa** 28(4): 409-415, 2012.
66. Ferreira HS, Cesar JA, Assunção ML, Horta BL. Time trends (1992-2005) in undernutrition and obesity among children under five years of age in Alagoas State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública** 29(4): 793-800, 2013.
67. Filho MB, Rissin A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Ciência e Saúde Pública** 19(Sup.1): S181-S191, 2003.

68. Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: A systematic review and meta-analysis. **The Journal of the Medical Association** 309(1): 71-82, 2013.
69. Flegal KM, Panagiotou OA, Graubard BI. Estimating population attributable fractions to quantify the health burden of obesity. **Annals of Epidemiology** 25(3): 201-107, 2015. doi: 10.1016/j.annepidem.2014.11.010.
70. Fonseca FCA, Coelho RZ, Nicolato R, Malloy-Diniz LF, Filho HCS. A influência de fatores emocionais sobre a hipertensão arterial. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria** 58(2): 128-134, 2009.
71. Franceschelli A, Herchick S, Thelen C, Papadopoulou-Daifoti Z, Pitychoutis PM. Sex differences in the chronic mild stress model of depression. **Behavioural Pharmacology** 25(5): 372-383, 2014.
72. Gamaro GD, Michalowski MB, Catelli DH, Xavier MH, Dalmaz C. Effect of repeated restraint stress on memory in different tasks. **Brazilian Journal Of Medical and Biological Research** 32: 341-347, 1999.
73. Gamaro GD, Xavier MH, Denardin JÁ, Pilger JA, Ely DR, Ferreira MBC, Dalmaz C. The effect of acute and repeated restraint stress on the nociceptive response in rats. **Physiology & Behavior** 63(4): 693-697, 1998.
74. Gameiro GH, Andrade AS, Castro M, Pereira LF, Tambeli CH, Veiga MCFA. The effects of restraint stress on nociceptive responses induced by formalin injected in rat's TMJ. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior** 82: 338-344, 2005.
75. Garipey G, Nitka D, Schmitz N. The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Obesity** 34: 407-419, 2010.
76. Gluck M, Geliebter A, Satov T. Night eating syndrome is associated with depression, low self-esteem, reduced daytime hunger, and less weight loss in obese outpatients. **Obesity Research** 9: 264-7, 2001.
77. Grundy A, Cotterchio M, Kirsh VA, Kreiger N (2014) Associations between Anxiety, Depression, Antidepressant Medication, Obesity and Weight Gain among Canadian Women. **PLoS ONE** 9(6): e99780.
78. Gurecká R, Koborová I, Janšáková K, Tábi T, Szökő É, Somoza V, Šebeková K, Celec P. Prenatal dietary load of Maillard reaction products combined with postnatal Coca-

- Cola drinking affects metabolic status of female Wistar rats. **Croatian Medical Journal** 56(2): 94-103, 2015.
79. Haslam DW, James WPT. Obesity. **Lancet**, 366(9492): 1197-1209, 2005.
 80. Haththotuwa RH, Wijeyaratne CN, Senarath U. Worldwide Epidemic of Obesity. In: Mahmood T, Arulkumaran, S. **Obesity**. Elsevier. 2013.
 81. Hinnouho GM, Czernichow CB, Dugravot A, Nabi H, Brunner EJ, Kivimaki M, Singh-Manoux S. Metabolically healthy obesity and the risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes: the Whitehall II cohort study. **European Heart Journal** 36: 551-559, 2014.
 82. Hoefel AL, Hansen F, Rosa PD, Assis AM, Silveira SL, Denardin CC, Pettenuzzo L, Augusti PR, Somacal S, Emanuelli T, Perry ML, Wannmacher CM. The effects of hypercaloric diets on glucose homeostasis in the rat: influence of saturated and monounsaturated dietary lipids. **Cell Biochemistry and Function** 29(7): 569-576, 2011.
 83. Holmes A, Kinney JA, Wrenn CC, Li Q, Yang RJ, Ma L, Vishwanath J, Saavedra MC, Innerfield CE, Jacoby AS, Shine J, Iismaa TP, Crawley JN. Galanin GAL-R1 receptor null mutant mice display increased anxiety-like behavior specific to the elevated plus-maze. **Neuropsychopharmacology** 28(6): 1031-1044, 2003.
 84. Hukshorn CJ, Lindeman JH, Toet KH, Saris WH, Eilers PH, Westerterp-Plantenga MS, Kooistra T. Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 89(4):1773-1778, 2004.
 85. Jari M, Qorbani M, Motlagh ME, Heshmat R, Ardalan G, Kelishadi R. Association of Overweight and Obesity with Mental Distress in Iranian Adolescents: The CASPIAN-III Study. **International Journal of Preventive Medicine** 5(3): 256-261, 2014.
 86. Jauch-Chara K, Oltmanns KM. Obesity - a neuropsychological disease? Systematic review and neuropsychological model. **Progress in Neurobiology** 114: 84-101, 2014. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.12.001.
 87. Jensen P, Zachariae C, Christensen R, Geiker NRW, Schaadt BK, Stender S, Hansen PR, Astrup A, Skov L. Effect of weight loss on the severity of psoriasis: a randomized clinical study. **JAMA Dermatology** 149:795–801, 2013.
 88. Keller SM, Schreiber WB, Staib JM, Knox D. Sex differences in the single prolonged stress model. **Behavioural Brain Research** 286: 29-32, 2015.
 89. Kennett GA, Dickinson SL & Curzon G. Central serotonergic responses and behavioral adaptation to repeated immobilisation: the effect of the corticosterone

- synthesis inhibitor metyrapone. **European Journal of Pharmacology** 119: 143-152, 1885.
90. Kiecolt-Glaser JK, Preacher KJ, MacCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 100: 9090-9095, 2003.
 91. Komada M, Takao K, Miyakawa T. Elevated plus maze for mice. **Journal Visualized Experiments** (22): 1-3, 2008.
 92. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. **Nature** 406: 635-643, 2000.
 93. Korte SM. Corticosteroids in relation to fear anxiety and psychopathology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** 25:117-142, 2001.
 94. Korten NCM, Sliwinski MJ, Comijs HC, Smyth JM. Mediators of the relationship between life events and memory functioning in a community sample of adults: life events, memory functioning, and possible mediators. **Applied Cognitive Psychology** 28: 626-633, 2014. doi: 10.1002/acp.3043.
 95. Kouvonen A, Kivimäki M, Cox SJ, Cox T, Vahtera J. Relationship between work stress and body mass index among female and male employees. **Psychosomatic Medicine** 67: 577-583, 2005.
 96. Kurhe Y, Radhakrishnan M, Gupta D. Ondansetron attenuates depression co-morbid with obesity in obese mice subjected to chronic unpredictable mild stress; an approach using behavioral battery tests. **Metabolic Brain Disease** 29(3): doi: 701-710, 2014.
 97. Lachuer J, Delton I, Buda M, Tappaz M. The habituation of brainstem catecholaminergic groups to chronic daily restraint stress is stress specific like that of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. **Brain Research** 638: 196-202, 1994.
 98. Lanza JF, Caimari A, Bas JM, Torregrosa D, Cigarroa I, Pallàs M, Capdevila L, Arola L, Escorihuela RM. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. **Plos One** 9(1): e85049, 2014.
 99. Lancet T. Curbing the obesity epidemic. **The Lancet**, 367(9522): 1549, 2006.
 100. Lao XQ, Ma WJ, Sobko T, Zhang YH, Xu YJ, Xu XJ, Yu DM, Nie SP, Cai QM, Xia L, Thomas GN, Griffiths SM. Overall obesity is leveling-off while abdominal obesity continues to rise in a Chinese population experiencing rapid economic development: analysis of serial cross-sectional health survey data 2002–2010. **International Journal of Obesity**: 1–7, 2014.

101. Lasserre AM, Glaus J, Vandeleur CL, Marques-Vidal P, Vaucher J, Bastardot F, Waeber G, Vollenweider P, Preisig M. Depression With Atypical Features and Increase in Obesity, Body Mass Index, Waist Circumference, and Fat Mass A Prospective, Population-Based Study. **JAMA Psychiatry**, 2014.
102. Lazarus RS. Puzzles in the study of daily hassles. **Journal of Behavioral Medicine** 7: 375–389, 1984.
103. Levin BE, Triscari E, Sullivan AC. Metabolic features of diet-induced obesity without hyperphagia in young rats. **Regulatory, Integrative and Comparative Physiology** 251(3): 433-440, 1986.
104. Lipp MN, Guevara AJH. Validação empírica do Inventário de Sintomas de Stress (ISS). **Estudos de Psicologia**, 11(3): 43-49, 1994.
105. Lipp MN. **Manual do inventário de sintomas de stress para adultos de Lipp (ISSL)**. 2ª Ed. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2002.
106. Lipp MN. **O stress está dentro de você**. 2ª Ed. São Paulo: Contexto, 2000.
107. Lipp MN. **O stress está dentro de você**. 4ª Ed. São Paulo: Contexto, 2001.
108. Lipp MN. **Stress: conceitos básicos**. In: Lipp MEN, organizadora. Pesquisas sobre stress no Brasil: saúde, ocupações e grupos de risco. Campinas (SP): Papirus; 1996. p.17-31
109. Lopes STA, Biondo AW, Santos AP. 2007. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. 3 Ed. Santa Maria: UFSM, 2007, 204 p.
110. Lu J, Wu XY, Zhu QB, Li J, Shi LG, Wu JL, Zhang QJ, Huang ML, Bao AM. Sex differences in the stress response in SD rats. **Behavior Brain Research** 284: 231-237, 2015.
111. Luine VN, Beck KD, Bowman RE, Frankfurt M, Maclusky NJ. Chronic stress and neural function: accounting for sex and age. **Journal of Neuroendocrinology** 19(10): 743-751, 2007.
112. Luine VN. Estradiol and cognitive function: past, present and future. **Hormones and Behavior** 66(4): 602-618, 2014.
113. Lupien SJ, de Leon M, de Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NPV, Thakur M, McEwen BS, Hauger RL, Meaney MJ. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. **Nature Neuroscience** 1: 69-73, 1998.
114. Luppino FS, Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BWJH, Zitman FG. Overweight, Obesity, and Depression: A Systematic Review and Meta-analysis of Longitudinal Studies. **Archives of General Psychiatry** 67(3): 220-229, 2010.

115. Macedo IC, Medeiros LF, Rozisky JR, Laste G, Souza VS, Cioato SG, Caumo W, Torres ILS. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides** 38: 189-196, 2012.
116. Macedo IC, Rozisky JR, Battastini AM, Ribeiro MFM, Torres IS. Obesity and Chronic Stress Modulate Adenine Nucleotide Hydrolysis in Rat Blood Serum. **International Journal of Pharmaceutics Research** 3: 28-40, 2014.
117. Macedo IC, Rozisky JR, Oliveira C, Oliveira CM, Laste G, Nonose Y, Santos VS, Marques PR, Ribeiro MFM, Caumo W, Torres ILS. Chronic stress associated with hypercaloric diet changes the hippocampal BDNF levels in male Wistar rats. **Neuropeptides**, 2015.
118. Macedo IC. **Estresse crônico associado à dieta hipercalórica em ratos Wistar: parâmetros ponderais e bioquímicos**. [Dissertação]. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.
119. Magariños AM, McEwen BS. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: Involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. **Neuroscience** 69(1): 89-98, 1995.
120. Malafaia AB, Nassif PAN, Ribas CAPM, Ariede BL, Sue KN, Cruz MA. Indução de obesidade com sacarose em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva** 26(S1): 17-21, 2013.
121. Malta DC, Andrade SC, Claro RM, Bernal RTI, Monteiro CA. Trends in prevalence of overweight and obesity in adults in 26 Brazilian state capitals and the Federal District from 2006 to 2012. **Revista Brasileira de Epidemiologia** 17(1): 267-276, 2014.
122. Marmorstein NR, Iacono WG, Legrand L. Obesity and depression in adolescence and beyond: Reciprocal risks. **International Journal of Obesity** 38(7): 906-911, 2014.
123. Martire SI, Westbrook RF, Morris MJ. Effects of long-term cycling between palatable cafeteria diet and regular chow on intake, eating patterns, and response to saccharin and sucrose. **Physiology & Behavior** 139: 80-88, 2015.
124. McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity. **Annual Review of Neuroscience** 22: 105-122, 1999.
125. McEwen BS. Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. **Annals of the New York Academy of Sciences** 840: 33-44, 1998.

126. McNeilly AD, Stewart CA, Sutherland C, Balfour DJ. High fat feeding is associated with stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and reduced anxiety in the rat. **Psychoneuroendocrinology**, 52: 272-80, 2015.
127. Melinder C, Udumyan R, Hiyoshi A, Brummer RJ, Montgomery S. Decreased stress resilience in young men significantly increases the risk of subsequent peptic ulcer disease - a prospective study of 233 093 men in Sweden. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics** 41(10): 1005-1015, 2015.
128. Mendes FCV, Moreira BMT, Marsiglio GN, Carabelli B, Munhoz AC, Barella LF, Mareze-Costa CE, Gomes CRDG. Dieta de cafeteria remodela a estrutura da aorta de ratos obesos. **Sabios: Revista de Saúde e Biologia** 8(1): 85-91, 2013.
129. Mersmann HJ. Acute changes in blood flow in pigs infused with β -adrenergic agonists. **Journal of Animal Science** 67: 2913-2920, 1989.
130. Michopoulos V, Toufexis D, Wilson ME. Social stress interacts with diet history to promote emotional feeding in females. **Psychoneuroendocrinology** 37(9):1479-90, 2012.
131. Miller GE, Chen E, Parker KJ. Psychological stress in childhood and susceptibility to the chronic diseases of aging: Moving toward a model of behavioral and biological mechanisms. **Psychological Bulletin** 137:959-997, 2011.
132. Monroe SM. Modern Approaches to Conceptualizing and Measuring Human Life Stress, **Annual Review of Clinical Psychology** 4: 33-52, 2008.
133. Moojen VKM. **Avaliação dos efeitos do milnaciprano sobre a ansiedade e memória em ratos Wistar**. Dissertação de Mestrado. 83f. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
134. Moreira NF, Muraro AP, Brito FSB, Gonçalves-Silva RMV, Sichieri R, Ferreira MG. Obesity: main risk factor for systemic arterial hypertension in Brazilian adolescents from a cohort study. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** 57(7): 520-526, 2013.
135. Muennig P. The body politic: the relationship between stigma and obesity-associated disease. **BMC Public Health** 8:128-138, 2008. doi:10.1186/1471-2458-8-128
136. Ng M, Fleming TD, Biryukov S, et al.. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. **The Lancet** (14)60460-8, 2014.

137. Nishimura HI, Tsuda A, Ida Y, Tanaka M. The modified forced-swim test in rats: influence of rope- or straw-suspension on climbing behavior. **Physiology & Behavior** 43(5): 665-668, 1988.
138. Novelli ELB, Diniz YS, Gallardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani F, Fernandes AAH, Cicogna AC, Novelli-Filho JLV. Parâmetros antropométricos e marcadores de obesidade em ratos. **Animals Ltd. Laboratory Animals** 41(111-119), 2007.
139. Nuvital. **Segurança em Nutrição Animal**. Disponível em: <<http://www.nuvital.com.br/>>. Acesso em: 10 jul. 2014.
140. Oitzl MS, de Kloet ER. Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. **Behavior Neuroscience** 106(1): 62-71, 1992.
141. Okura Y, Tawara S, Kikusui T, Takenaka A. Dietary vitamin E deficiency increases anxiety-related behavior in rats under stress of social isolation. **Biofactors** 35(3):273-8, 2009.
142. Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, Hayflick L, Butler RN, Allison DB, Ludwig DS. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. **The New England Journal of Medicine** 352(11):1138-1145, 2005.
143. Olufadi R, Byrne CD. Clinical and laboratory diagnosis of the metabolic syndrome. **J Clin Pathol** 61(6): 697-706, 2008.
144. Patrick JH, Stahl ST, Sundaram M. Disordered eating and psychological distress among adults. **The International Journal of Aging and Human Development** 73(3):209-26, 2011.
145. Pecoraro N, Gomez F, Bhargava A, Dallman MF. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. **Endocrinology** 145: 3754-62, 2004.
146. Pedroni JL, Rech RR, Halpern R, Marin S, Roth LR, Sirtoli M, Cavalli A. Prevalence of abdominal obesity and excess fat in students of a city in the mountains of southern Brazil. **Ciência e Saúde Coletiva** 18(5): 1417-1425, 2013.
147. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods** 14: 149-167, 1985.
148. Perfetto F, Manuso F, Tarquini R. Leukocytosis and hyperleptinemia in obesity: is there a link? **Haematologica** 87(5):ELT25, 2002.

149. Pettenuzzo LF, Noschang C, Toigo EvP, Fachin A, Vendite D, Dalmaz C. Effects of chronic administration of caffeine and stress on feeding behavior of rats. **Physiology & Behavior** 95: 295-301, 2008.
150. Pietá-Dias C, Martins de Lima MN, Presti-Torres J, Dornelles A, Garcia VA, Siciliani Scalco F, Rewsaat Guimarães M, Constantino L, Budni P, Dal-Pizzol F, Schröder N. Memantine reduces oxidative damage and enhances long-term recognition memory in aged rats. **Neuroscience** 46(4): 1719-1725, 2007.
151. Porsolt RD, Lepichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature** 266(5604): 730- 32, 1977.
152. Pratchayasakul W, Sa-Nguanmoo P, Sivasinprasasn S, Pintana H, Tawinvisan R, Sripetchwandee J, Kumfu S, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Obesity accelerates cognitive decline by aggravating mitochondrial dysfunction, insulin resistance and synaptic dysfunction under estrogen-deprived conditions. **Hormones Behavior** 72: 68-77, 2015.
153. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology** 463(1-3): 3-33, 2003.
154. Pugh CR, Tremblay D, Fleshner M, Rudy JW. A selective role for corticosterone in contextual-fear conditioning. **Behavior Neuroscience** 111(3):503-511, 1997.
155. Puhl RM, Latner JD. Stigma, obesity, and the health of the nation's children. **Psychological Bulletin** 133: 557-580, 2007.
156. Rajagopal L, Massey BW, Huang M, Oyamada Y, Meltzer HY. The novel object recognition test in rodents in relation to cognitive impairment in schizophrenia. **Current Pharmaceutical Design** 20(31):5104-14, 2014.
157. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey-Junior GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition** 123(11): 1939-1951, 1993.
158. Reilly JJ, Kelly J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. **International Journal of Obesity** 1–8, 2010.
159. Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** 21(6): 801-810, 1997.

160. Rodgers RJ, Johnson NJ, Carr J, Hodgson TP. Resistance of experientially induced changes in murine plus-maze behaviour to altered retest conditions. **Behavioural Brain Research** 86(1): 71-77, 1997.
161. Rodrigues AL, De-Moura EG, Passos MC, Trevenzoli IH, Da-Conceição EP, Bonono IT, Neto JF, Lisboa PC. Postnatal early overfeeding induces hypothalamic higher SOCS3 expression and lower STAT3 activity in adult rats. **Journal of Nutritional Biochemistry** 22(2): 109-117, 2011.
162. Rodriguiz BM, Wilkins JJ, Creson TK, Biswas R, Berezniuk I, Fricker AD, Fricker LD, Wetsel WC. Emergence of anxiety-like behaviours in depressive-like Cpe^{fat/fat} mice. **International Journal of Neuropsychopharmacology** 16(7): 1623-1634, 2013.
163. Roozendaal B, Bohus B, McGaugh JL. Dose-dependent suppression of adrenocortical activity with metyrapone: effects on emotion learning. **Psychoneuroendocrinology** 21(8): 681-693, 1996.
164. Rosmond R. Aetiology of obesity: a striving after wind? **Obesity Reviews**, 5(4): 177-1814, 2004.
165. Rossetti C, Spena G, Halfon O, Boutrel B. Evidence for a compulsive-like behavior in rats exposed to alternate access to highly preferred palatable food. **Addiction Biology** 19(6):975-85, 2014.
166. Rossetti MO, Ehlers DM, Guntert IB, Leme IFAS, Rabelo ISA, Tosi SMVDT, et al. O inventário de sintomas de stress para adultos de Lipp (ISSL) em servidores da Polícia Federal de São Paulo. **Revista Brasileira de Terapias Cognitivas** 4(2): 108-120, 2008.
167. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. **Obesity (Silver Spring)** 19(6):1109-1117, 2011.
168. Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. The neuroendocrinology of stress and aging: The glucocorticoid cascade hypothesis. **Endocrine Reviews** 7: 284-301, 1986.
169. Scott SB, Graham-Engeland JE, Engeland CG, Smyth JM, Almeida DM, Katz MJ, Lipton RB, Mogle JA, Munoz E, Ram N, Sliwinski MJ. The Effects of Stress on Cognitive Aging, Physiology and Emotion (ESCAPE) Project. **BMC Psychiatry** 3(15): 146, 2015.

170. Seeman TE, McEwen BS, Rowe JW, Singer BH. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. **PNAS** 98: 4770-4775, 2001.
171. Seeman TE, Singer BH, Ryff CD, Dienberg-Love G, Levy-Storrs L. Social relationships, gender, and allostatic load across two age cohorts. **Psychosomatic Medicine** 64(3): 395-406, 2002.
172. Semenoff-Segundo A, Borges ÁH, Bandeca MC, Porto AN, Pedro FL, Santos RS, Tonetto MR, Semenoff TA. Effect of chronic stress on ligature-induced periodontitis in inbred and noninbred rats: a radiographic study. **The Journal of Contemporary Dental Practice** 15(5): 556-60, 2015.
173. Sharma S, Fulton S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. **International Journal of Obesity** 37: 382-389, 2012.
174. Silva JR. Restraint eating and sensitivity to stress: preliminary experimental evidence. **Rivista di Psichiatria** 46(5-6): 300-304, 2011.
175. Silveira PP, Xavier MH, Souza FH, Manoli LP, Rosat RM, Ferreira MBC, Dalmaz C. Interaction between repeated restraint stress and concomitant midazolam administration on sweet food ingestion in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 33: 1343-1350, 2000.
176. Sivanathan S, Thavartnam K, Arif S, Elegino T, McGowan PO. Chronic high fat feeding increases anxiety-like behaviour and reduces transcript abundance of glucocorticoid signalling genes in the hippocampus of female rats. **Behavior Brain Research** 286: 267-270, 2015.
177. Sivasinprasasn S, Sa-Nguanmoo P, Pratchayasakul W, Kumfu S, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Obese-insulin resistance accelerates and aggravates cardiometabolic disorders and cardiac mitochondrial dysfunction in estrogen-deprived female rats. **Age** 37(2): 28, 2015.
178. Sliwinski MJ, Smyth JM, Hofer SM, Stawski RS. Intraindividual coupling of daily stress and cognition. **Psychology and Aging** 21: 545-557, 2006. doi: 10.1037/0882-7974.21.3.545.
179. South T, Westbrook F, Morris MJ. Neurological and stress related effects of shifting obese rats from a palatable diet to chow and lean rats from chow to a palatable diet. **Physiology & Behavior** 105(4): 1052-1057, 2012.

180. Stawski RS, Sliwinski MJ, Smyth JM. Stress-related cognitive interference predicts cognitive function in old age. **Psychology and Aging** 21: 535-544, 2006.
181. Switzer NJ, Mangat HS, Karmali S. Current trends in obesity: body composition assessment, weight regulation, and emerging techniques in managing severe obesity. **Journal of Interventional Gastroenterology** 3(1): 34-36, 2013.
182. Sybilski AJ, Raciborski F, Lipiec A, Tomaszewska A, Lusawa A, Furmańczyk K, Krzych-Falta E, Komorowski J, Samoliński B. Obesity – a risk factor for asthma, but not for atopic dermatitis, allergic rhinitis and sensitization. **Public Health Nutrition** 18(03): 530-536, 2014.
183. Tae B, Pelaggi ER, Moreira JG, Waisberg J, Matos LL, D'Elia G. Impact of bariatric surgery on depression and anxiety symptoms, bulimic behaviors and quality of life. **Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgias** 41(3): 155-160, 2014.
184. Takashiba KS, Segatelli TM, Moraes SMF, Natali MRM. Morfologia testicular de ratos Wistar obesos sedentários e submetidos a treinamento físico. **Acta Scientiarum** 33(1): 25-33, 2011.
185. Taylor SE, Stanton AL. Coping resources, coping processes, and mental health. **Annual Review of Clinical Psychology** 3: 377-401, 2007.
186. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell. Hematologia e bioquímica – clínica veterinária. 2ª. Ed. São Paulo: Editora Roca, 2014.
187. Tomiyama AJ, Dallman MF, Epel ES. Comfort food is comforting to those most stressed: evidence of the chronic stress response network in high stress women. **Psychoneuroendocrinology**, 36(10): 1513-1519, 2011.
188. Torres ILS, Gamaro GD, Silveira-Cucco SN, Michalowski MB, Corrêa JB, Perry MLS, Dalmaz C. Effect of acute and repeated restraint stress on glucose oxidation to CO₂ in hippocampal and cerebral cortex slices. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 34: 111-116, 2001.
189. Tully A. Stress, sources of stress and ways of coping among psychiatric nursing students. **Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing** 11(1): 43-47, 2004.
190. Uysal N, Sisman AR, Dayi A, Ozbil S, Cetin F, Baykara B, Aksu I, Tas A, Cavus SA, Gonenc-Arda S, Buyuk E. Acute footshock-stress increases spatial learning-memory and correlates to increased hippocamp BDNF and VEGF and cell numbers in adolescent male and female rats. **Neuroscience Letters** 514: 141-146, 2012.
191. Vasques F, Martins FC, Azevedo AP. Psychiatric aspects in the treatment of obesity. **Archives of Clinical Psychiatry** 31(4): 195-198, 2004.

192. Vilela JEM, Lamounier JA, Filho MAD, Neto JRB, Horta GM. Eating disorders in school children. **Journal of Pediatrics** 80(1): 49-54, 2004.
193. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. **Endocr Rev** 21(6): 697-738, 2000.
194. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols** 2: 322-328, 2007.
195. Wang SWJ. Effects of restraint stress and serotonin on macronutrient selection: A rat model of stress-induced anorexia. **Eating and Weight Disorders – Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity** 7(1): 23-31, 2002.
196. Warne JP, Dallman MF. Stress, diet and abdominal obesity: Y? **Nature Medicine** 13(7): 781-783, 2007.
197. Warneke W, Klaus S, Fink H, Langley-Evans SC, Voigt JP. The impact of cafeteria diet feeding on physiology and anxiety-related behaviour in male and female Sprague–Dawley rats of different ages. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 116: 45-54, 2014.
198. Wellman CL. Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. **Journal of Neurobiology** 49(3): 245-253, 2001.
199. Wilson RS, Arnold SE, Schneider JA, Li Y, Bennett DA. Chronic distress, age-related neuropathology, and late-life dementia. **Psychosomatic Medicine** 69: 47-53, 2007.
200. Wilson RS, Bennett DA, de Leon CF M, Bienias JL, Morris MC, Evans DA. Distress proneness and cognitive decline in a population of older persons. **Psychoneuroendocrinology** 30: 11-17, 2005.
201. World Health Organization (WHO). **Obesity and overweight**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. Acesso em: 3 Jun. 2014.
202. World Health Organization Expert Committee. **Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry**, WHO Tech. Rep. Ser. no. 854 (World Health Organization, Geneva, 1995).
203. World Health Organization. **The World Health Report 2001: Mental Health: New Understanding, New Hope**. 178 p, 2001.
204. Yaffe K, Lindquist K, Penninx BW, Simonsick EM, Pahor M, Kritchevsky S, Launer L, Kuller L, Rubin S, Harris T. Inflammatory markers and cognition in well-functioning African-American and white elders. **Neurology** 61: 76-80, 2003.

205. Yang QY, Liang JF, Rogers CJ, Zhao JX, Zhu MJ, Du M. Maternal obesity induces epigenetic modifications to facilitate Zfp423 expression and enhance adipogenic differentiation in fetal mice. **Diabetes** 62(11):3727-35, 2013.
206. Yang, AJ, Cui H, Cui Y, Li Y. Effects on development of the testicle in diet induced obesity rats. **Wei Sheng Yan Jiu** 34(4): 477-479, 2005.
207. Yuen EY, Liu W, Karatsoreos IN, Feng J, McEwen BS, Yan Z. Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory. **Proceedings of the National Academy of the United States of America** 106(33): 14075-14079, 2009.
208. Zaidan H, Gaisler-Salomon I. Prereproductive stress in adolescent female rats affects behavior and corticosterone levels in second-generation offspring. **Psychoneuroendocrinology** 58: 120-129, 2015.
209. Zakabi R. Stress: ninguém está salvo desse mal moderno, mas é possível aprender a viver com ele. **Revista Veja** 37(6): 66-75, 2004.
210. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D'Andrea F, Molinari AM, Giugliano D: Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. **Circulation** 105(7): 804-809, 2002.



Contents lists available at ScienceDirect

Physiology & Behavior

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

Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress



Dieferson da Costa Estrela^a, Wellington Alves Mizael da Silva^b, Abraão Tiago Batista Guimarães^c, Bruna de Oliveira Mendes^d, André Luis da Silva Castro^e, Iraci Lucena da Silva Torres^f, Guilherme Malafaia^{a,g,*}

^a Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Brazil

^b Laboratório de Pesquisas Biológicas, Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, GO, Brazil

^c Laboratório de Pesquisas Biológicas, Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, GO, Brazil

^d Laboratório de Pesquisas Biológicas, Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, GO, Brazil

^e Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Zoologia, Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, GO, Brazil

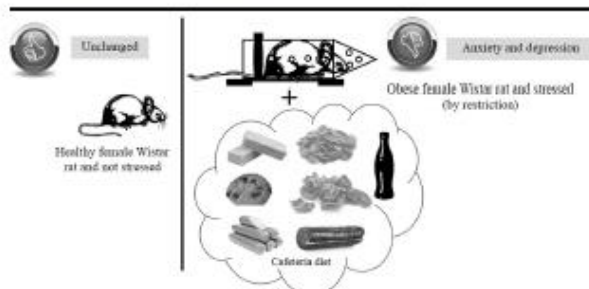
^f Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil

^g Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Pesquisas Biológicas, Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, GO, Brazil

HIGHLIGHTS

- Cafeteria diet used in this study is effective in inducing obesity in female Wistar rats.
- Chronic stress induced in the animals does not increase obesity in females of the chosen rodent lineage.
- Obese and stressed female rats presented a higher anxiety index and predictive behavior for depression.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 April 2015

Received in revised form 9 July 2015

Accepted 11 July 2015

Available online 1 August 2015

Keywords:

Obesity

Experimental models

Chronic stress

Neurobehavioral disorders

ABSTRACT

Obesity and chronic stress have been considered important public health problems that affect millions of people worldwide. Our aim was to analyze the effect of obesity associated with chronic stress on neurobehavioral parameters in female rats, considering that the association of these syndromes can enhance the negative effects on homeostasis. The animals were distributed into standard diet (Std), standard diet + stress (Std + stress), cafeteria diet (Caf), and cafeteria diet + stress (Caf + stress) groups. The animals of groups Std and Std + stress were fed with rodent standard feed. Groups Caf and Caf + stress, additionally to the standard feed, were offered palatable and calorie-rich processed food and cola-type soft drink *ad libitum*. From the eighth experimental week, groups Std + stress and Caf + stress were subjected to restraint chronic stress model (50 days). After the stress protocol, predictive anxiety (open-field and elevated plus-maze tests) and depression (forced swim) were applied. The cafeteria diet was effective in inducing obesity. The ratio locomotion in the central quadrants/total locomotion evaluated during the open field test was not indicative of anxiogenic or anxiolytic effect in the

* Corresponding author at: Rodovia Geraldo Silva Nascimento, 2,5 km, Zona Rural, Urutaí, GO CEP: 75790-000, Brazil.

E-mail addresses: diefersonestrela@gmail.com (D. da Costa Estrela), wellington_8000@hotmail.com (W.A.M. da Silva), abiao@igbio@gmail.com (A.T.B. Guimarães), brunaprofletts@outlook.com (B. de Oliveira Mendes), andreiscastro@gmail.com (A.L. da Silva Castro), iracitorres@gmail.com (I.L. da Silva Torres), guilhermefgoiano@gmail.com (G. Malafaia).

Anais da Academia Brasileira de Ciências



OBESITY CHANGES GLYCEMIA AND WBC COUNT IN WISTAR RATS, BUT ITS ASSOCIATION WITH STRESS DOES NOT ENHANCE ITS EFFECTS

Journal:	Anais da Academia Brasileira de Ciências
Manuscript ID:	AABC-2015-0327
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	12-May-2015
Complete List of Authors:	Estrela, Dieferson; Universidade Federal de Goiás, Guimarães, Abraão; Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutai, da Silva, Wellington; Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutai, Mendes, Bruna; Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutai, Júnior, José; Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutai, Malafaia, Guilherme; Instituto Federal Goiano, Ciências Biológicas
Keyword:	Cafeteria diet, Experimental models, Chronic stress, Hematology and Biochemistry
Classifications:	Ciências da Saúde (Health Sciences)

SCHOLARONE™
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo>