

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
ÁREA DE FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

GABRIELLE MEDEIROS BERTOLO

**INFLUÊNCIA DA OBESIDADE SOBRE O COMPORTAMENTO E PERFIL
LIPÍDICO DE RATAS E DE SEUS FILHOTES MACHOS**

PONTA GROSSA
2020

GABRIELLE MEDEIROS BERTOLO

**INFLUÊNCIA DA OBESIDADE SOBRE O COMPORTAMENTO E PERFIL
LIPÍDICO DE RATAS E DE SEUS FILHOTES MACHOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biomédicas na Universidade
Estadual de Ponta Grossa. Área de concentração:
Fisiologia e Fisiopatologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro.

PONTA GROSSA

2020

B546 Bertolo, Gabrielle Medeiros
Influência da obesidade sobre o comportamento e perfil lipídico de ratas e de seus filhotes machos / Gabrielle Medeiros Bertolo. Ponta Grossa, 2020.
68 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas - Área de Concentração: Fisiologia e Fisiopatologia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro.

1. Obesidade. 2. Dieta de cafeteria. 3. Programação intrauterina. 4. Depressão. 5. Comportamento. I. Ferro, Marcelo Machado. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fisiologia e Fisiopatologia. III.T.

CDD: 613.25



Universidade Estadual
de Ponta Grossa



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA, NÚMERO DA ATA 01/2020, DA MESTRANDA Gabrielle Medeiros Bertolo REALIZADO NO DIA 21 DE FEVEREIRO DE 2020, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Aos vinte e um dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte às 9h00min, no Auditório da Pós-graduação de Odontologia, bloco M, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em seção pública, sob a presidência do(a) Professor Dr **Marcelo Machado Ferro** reuniu-se a Banca Examinadora de defesa da Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas do(a) mestrando(a) **Gabrielle Medeiros Bertolo** na linha de pesquisa: Fisiologia e Fisiopatologia, constituída pelos demais Doutores (membros titulares): Professor(a) Dr(a) **Janaina Menezes Zanoveli** (UFPR/PR) e Professor(a) Dr(a) **Romaiana Picada Pereira** (UEPG/PR). Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem a defesa da dissertação de Mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição. O título da dissertação avaliada foi: **“Resposta comportamental ao tratamento com fluoxetina em filhotes de mãe com síndrome metabólica”** Encerrada a defesa, e após reunião, a banca comunicou o resultado final da avaliação da dissertação como **APROVADA**. Considerado requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas, a aluna deverá entregar uma cópia da versão final, no prazo estipulado no item 8 da IN 01/2015, referente a defesa de dissertação com as modificações sugeridas pelos membros da banca examinadora. Para a obtenção do título de mestre, o aluno terá até 6 meses, após a data da defesa da sua dissertação, para apresentar ao Colegiado a carta de submissão do seu artigo em revista indexada no estrato mínimo B3 dentre os periódicos indicados pela área de Ciências Biológicas II vigente. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Alteração de título: SIM

Sugestão: INFLUÊNCIA DA OBESIDADE SOBRE O COMPORTAMENTO E PERFIL LIPÍDICO DE RATAS E DE SEUS FILHOTES MACHOS

Prof Dr Marcelo Machado Ferro (UEPG/PR) – Presidente

Profa Dra Janaina Menezes Zanoveli (UFPR/PR) – Titular

Profa Dra Romaiana Picada Pereira (UEPG/PR) – Titular

Ponta Grossa, 21 de fevereiro de 2020.

Dedico este trabalho a minha mãe, Roseli Bernardo Medeiros, quem sempre me proporcionou, incentivou, cobrou, apoiou e confiou nos meus estudos, e acima de tudo ajudou nessa fase no cuidado com a minha filha Caroline Medeiros.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi minha maior força nos momentos difíceis. Sem Ele, nada disso seria possível.

Agradeço especialmente a minha mãe Roseli Bernardo Medeiros e minha filha Caroline Medeiros. Com toda a certeza esse trabalho também é de vocês.

À minha família, que sempre me incentivou, apoiou e torceu por mim.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro, pela oportunidade, paciência, disponibilidade e por todos os conhecimentos compartilhados comigo.

À todos os professores que contribuíram para o meu enriquecimento de conhecimentos em especial os professores Marcelo, Edmar e Dionízia.

Aos professores membros da banca de qualificação, Edmar Miyoshi e Dionízia Scomparin, pelas importantes contribuições que enriqueceram a versão final deste trabalho.

Aos professores membros da banca de defesa, pelo aceite e disponibilidade, contribuindo para o aprimoramento científico deste trabalho.

À mestrande Karine Weiber e demais alunos da iniciação científica, Fernanda, Clara, Gabriel, Larissa, Gabriela, pelo auxílio nos experimentos.

À todos os amigos que estiveram comigo, torcendo em todos os momentos e me dando conselhos.

Aos meus colegas de trabalho do Hospital da Criança, Karileise pela indicação do meu orientador, Camila, Vanessa, Bruna, Kattia que auxiliaram nos atendimentos na minha ausência para realização do mestrado.

À Prefeitura Municipal de Ponta Grossa, que me liberou para a realização do projeto e aulas.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade em realizar meus estudos.

Às funcionárias do biotério pela atenção e cuidado prestado aos animais utilizados nessa pesquisa.

À todos aqueles que me fortaleceram e aperfeiçoaram profissional e humanamente nesta caminhada, ainda que de forma involuntária, o meu sincero agradecimento.

RESUMO

BERTOLO, Gabrielle Medeiros. **Influência da obesidade sobre o comportamento e perfil lipídico de ratas e de seus filhotes machos**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

Apesar do aumento da população apresentando obesidade, da maior elucidação de sua fisiopatologia, e do conhecimento atual sobre programação metabólica e uterina, poucas pesquisas relacionam a obesidade das mães com possíveis transtornos comportamentais nos seus filhos. Considerando o desenvolvimento e crescimento dos sistemas nervoso e endócrino nas fases intrauterina e de lactação, a justificativa deste trabalho foi poder demonstrar que as complicações da obesidade não se restringem ao paciente que a porta, mas também podem acometer os descendentes. Com base nessas informações, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento e perfil lipídico de ratos filhotes de mães obesas. O método utilizado para provocar obesidade nas ratas mães foi a dieta de cafeteria (DCaf), que consiste no oferecimento de alimentos ricos em calorias, composta por excesso de carboidratos e/ou lipídeos. Foram utilizadas 23 fêmeas divididas em dois grupos, sendo um tratado com ração e outro com DCaf. Após o desmame de seus filhotes, as mães passaram por testes de comportamento tipo-depressivo, tipo ansioso e de avaliação de memória, sendo então sacrificadas. Foi separado um filhote macho de cada fêmea, os quais, com aproximadamente 111 dias de vida, passaram pelos mesmos testes comportamentais que as mães com posterior sacrifício. Todos os animais foram pesados semanalmente e tiveram sangue e gordura separados, após sacrifício, para posterior análise. Os testes comportamentais realizados foram: Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado, Reconhecimento de Objetos, Nado Forçado e *Splash Test*, este último realizado apenas com os filhotes. Foi observado que as mães apresentaram obesidade, aumento no tempo de imobilidade e diminuição no tempo de natação no Nado Forçado, não houve alterações nos exames bioquímicos de sangue e demais testes comportamentais. Os filhotes das mães obesas apresentaram maior acúmulo de gorduras em relação ao peso corporal, além de um maior tempo de imobilidade no Nado Forçado e um maior tempo de latência para o início do grooming no *Splash Test*. No entanto, os filhotes não apresentaram diferença no comportamento tipo ansioso no teste do labirinto em cruz elevado, nem alteração de memória no teste do reconhecimento de objetos. Conclui-se que a obesidade materna pode provocar alteração comportamental do tipo depressivo em filhotes. A obesidade nas mães pode provocar uma resposta inflamatória aumentada, cujos mediadores causam a redução da disponibilidade de serotonina, de fator neurotrófico derivado do cérebro, ou ainda a modulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. Tais mediadores, ou outros hormônios relacionados a obesidade, como a leptina, podem atravessar a placenta e provocar alterações na formação do sistema nervoso central dos filhotes, interferindo no seu comportamento quando adultos.

Palavras-chave: Obesidade, dieta de cafeteria, programação intrauterina, depressão, comportamento.

ABSTRACT

BERTOLO, Gabrielle Medeiros. **Influence of obesity on the behavior and lipid profile of rats and their male offspring.** 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

Despite the increase in the population presenting obesity, the deeper elucidation of its pathophysiology, and the current knowledge about metabolic and uterine programming, few researches has linked the obesity of mothers with possible behavioral disorders in their children. Considering the development and growth of the nervous and endocrine systems in the intrauterine and lactation phases, the purpose of this work was to be able to demonstrate that the complications of obesity are not restricted to the patient who presents it, but can also affect their descendants. Based on this information, this work aimed to describe and evaluate the behavior and lipid profile of rats born from obese mothers. The method used to cause obesity in the female rats was the cafeteria diet (DCaf), which consists of offering foods rich in calories, composed of an excess of carbohydrates and / or lipids. Twenty-three females were used, divided into two groups, one treated with chow and the other with DCaf. After their pups were weaned, the dams underwent depressive, anxious and memory assessment tests, and were then sacrificed. One male pup was separated from each female and, with approximately 111 days old, they went through the same behavioral tests from the dams, with subsequent sacrifice. All animals were weighed weekly and had blood and fat separated after sacrifice for further analysis. The behavioral tests performed were: Open Field, Elevated Cross Maze, Object Recognition, Forced Swimming and Splash Test, the last one performed only with the pups. It was observed that mothers showed obesity, increased immobility time and decreased swimming time in Forced Swimming Test, there were no changes in blood biochemical tests and other behavioral tests. The pups of obese mothers showed greater accumulation of fats per body weight, in addition to a longer immobility time and shorter swimming time at the Forced Swimming Test, apart from a longer latency time to start grooming in the Splash Test. However, the male pups showed no anxiety-like behavior in the elevated plus-maze test, neither memory change in the object recognition test. It is concluded that maternal obesity can cause behavioral changes of depressive nature in the offspring. Obesity in mothers can cause an increased inflammatory state, which mediators can cause a reduction in the availability of serotonin and neurotrophic factor derived from the brain production, or activate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Such mediators, or other hormones related to obesity, such as leptin, can cross the placenta and cause changes in the formation of the chicks central nervous system, interfering in their behavior as adults

Keywords: Obesity, cafeteria diet, intrauterine programming, depression, behavior.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	-	DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	26
FIGURA 2	-	FASE 1	27
FIGURA 3	-	FASE 2	29
FIGURA 4	-	CRONOGRAMA EXPERIMENTAL	31
FIGURA 5	-	TESTE DE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	32
FIGURA 6	-	TESTE DE CAMPO ABERTO	33
FIGURA 7	-	TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS	34
FIGURA 8	-	TESTE DE NADO FORÇADO	35
FIGURA 9	-	<i>GROOMING</i>	36
FIGURA 10	-	CURVA DE CONSUMO MÃES	37
FIGURA 11	-	CURVA DE PESO CORPORAL MÃES	38
FIGURA 12	-	PESO FINAL MÃES	38
FIGURA 13	-	ÍNDICE DE LEE MÃES	39
FIGURA 14	-	PESO DOS ESTOQUES DE GORDURAS MÃES	39
FIGURA 15	-	ÍNDICE DE ADIPOSIDADE MÃES	40
FIGURA 16	-	EXAMES BIOQUÍMICOS MÃES	40
FIGURA 17	-	AMBULAÇÃO MÃES	41
FIGURA 18	-	TESTE DO NADO FORÇADO MÃES	41
FIGURA 19	-	TESTE DE LABIRINTO CRUZ ELEVADO MÃES	42
FIGURA 20	-	TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS MÃES.....	43
FIGURA 21	-	PESO FINAL FILHOTES	43
FIGURA 22	-	PESO DOS ESTOQUES DE GORDURAS FILHOTES	44
FIGURA 23	-	ÍNDICE DE ADIPOSIDADE FILHOTES	44
FIGURA 24	-	AMBULAÇÃO FILHOTES	45

FIGURA 25 -	TESTE NADO FORÇADO FILHOTES	45
FIGURA 26 -	<i>SPLASH TEST</i> FILHOTES	46
FIGURA 27 -	TESTE LABIRINTO CRUZ ELEVADO FILHOTES	47
FIGURA 28	TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS FILHOTES	48

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 -	COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA SEGUNDO O NCEP-ATP III	18
QUADRO 2 -	INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS DOS ALIMENTOS DA DIETA DE CAFETERIA	28

LISTA DE SIGLAS

5 – HT	Serotonina
11 β - HSD2	11- β -hidroxisteroide dehydrogenase-tipo 2
Adipo R1	Receptor de adiponectina 1
Adipo R2	Receptor de adiponectina 2
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CA	Campo aberto
DDM	Distúrbio depressivo maior
DCaf	Dieta de cafeteria
DRN	Núcleo dorsal da rafe
Ft Caf	Filhotes cafeteria
Ft Ração	Filhotes ração
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GC	Glicocorticoide
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
ID	Índice de discriminação
IL	Interleucina
LCE	Labirinto em cruz elevado
LPL	Lipoproteína lipase
NCEP-ATP III	<i>National Cholesterol Education Program – Adult treatment Panel</i>
NF	Nado Forçado
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização Mundial da Saúde
SM	Síndrome metabólica
SNC	Sistema nervoso central

TNF	Fator de necrose tumoral
TRO	Teste de reconhecimento de objetos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	OBESIDADE	15
2.2	DIETA DE CAFETERIA	18
2.3	PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA	19
2.4	DEPRESSÃO	20
2.5	ANSIEDADE	22
2.6	MEMÓRIA	24
3	OBJETIVOS	25
3.1	OBJETIVO GERAL	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1	ANIMAIS	26
4.2	DESENHO EXPERIMENTAL	26
4.2.1	Fase 1	26
4.2.1.1	<i>Dieta de Cafeteria</i>	28
4.2.2	Fase 2	29
4.3	DADOS BIOMÉTRICOS	30
4.4	EXAMES BIOQUÍMICOS	30
4.5	TESTES COMPORTAMENTAIS	31
4.5.1	Teste de Labirinto em Cruz Elevado	31
4.5.2	Teste de Campo Aberto	33
4.5.3	Teste de Reconhecimento de Objetos	33
4.5.4	Teste de Nado forçado	35
4.5.5	<i>Splash Test</i>	35
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5	RESULTADOS	37
5.1	MÃES	37
5.1.1	Dados biométricos	37
5.1.2	Exames bioquímicos	40
5.1.3	Testes comportamentais	41
5.1.3.1	<i>Teste Campo Aberto</i>	41
5.1.3.2	<i>Teste Nado Forçado</i>	41
5.1.3.3	<i>Teste Labirinto Cruz Elevado</i>	42
5.1.3.4	<i>Teste Reconhecimento de Objetos</i>	42
5.2	FILHOTES	43
5.2.1	Dados biométricos	43
5.2.2	Testes comportamentais	45
5.2.2.1	<i>Teste Campo Aberto</i>	45
5.2.2.2	<i>Teste Nado Forçado</i>	45
5.2.2.3	<i>Splash Test</i>	46
5.2.2.4	<i>Teste Labirinto Cruz Elevado</i>	47
5.2.2.5	<i>Teste Reconhecimento de Objetos</i>	48
6	DISCUSSÃO	49

6.1	MÃES	49
6.2	FILHOTES	55
7	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60
	ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO CEUA 1	65
	ANEXO B - CARTA DE APROVAÇÃO CEUA 2	67

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Estima-se que em 2025 cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso e cerca de 700 milhões estejam obesos, o número de crianças com sobrepeso e obesidade poderá chegar a 75 milhões (MAPA DA OBESIDADE, ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica).

A obesidade está fortemente associada a um risco maior de problemas cardiovasculares, câncer e/ou aumento da mortalidade, bem como também é responsável por incapacidade funcional, redução da qualidade de vida e da expectativa de vida (MELO, 2011; STOLARCZYK, 2017).

Atualmente, vem sendo observado um aumento no número de mulheres obesas em idade reprodutiva, juntamente com um aumento do ganho de peso durante a gestação. A gestação é um dos fatores desencadeantes da obesidade, e seu início nessa fase ou manutenção aumentam os riscos maternos e fetais (MELO, 2011).

O desenvolvimento e crescimento dos sistemas nervoso e endócrino na fase intrauterina e início de vida são complexos, e fatores ligados à obesidade materna podem afetar esse desenvolvimento. No caso do sistema nervoso central (SNC), isso é devido as principais estruturas cerebrais sofrerem diferenciação nessa fase.

Analisando até onde a nutrição materna influencia na saúde e comportamento de seus descendentes, consideramos demonstrar que as complicações da obesidade não se restringem ao paciente que a porta, mas também podem acometer os descendentes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 OBESIDADE

Obesidade significa depósito de quantidade excessiva de gordura no corpo, e é causada por um balanço energético positivo (DIEBERGER *et al.*, 2018).

O tecido adiposo é o principal órgão de armazenamento de energia do corpo humano. A energia consumida em excesso, através dos alimentos, é convertida em moléculas de triacilgliceróis através da insulina. Quando em restrição energética, os estoques de energia são mobilizados através das catecolaminas e outros hormônios lipolíticos. O tecido adiposo é constituído por adipócitos maduros, pré-adipócitos, fibroblastos e macrófagos, sua capacidade metabólica varia em função da sua localização, subcutânea ou visceral (GUIMARÃES *et al.*, 2007).

Além de sua função clássica, o tecido adiposo também é reconhecido como um órgão endócrino e imunológico (STOLARCZYK, 2017).

O tecido adiposo produz e secreta inúmeros peptídeos e proteínas bioativas, denominadas adipocitocinas. Entre as adipocitocinas encontram-se substâncias como a adiponectina, leptina, interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF- α), resistina entre outras (GUIMARÃES *et al.*, 2007; STOLARCZYK, 2017).

A IL-6 é uma citocina secretada pelo tecido adiposo e apresenta propriedades pró e anti-inflamatórias, aumenta a resistência à insulina, inibindo lipoproteína lipase (LPL). Como o LPL é responsável pela hidrólise dos triglicerídeos em ácidos graxos livres, uma redução na atividade de LPL leva a um maior tamanho das células de gordura à medida que o armazenamento de triglicerídeos é aumentado (STOLARCZYK, 2017).

Outra citocina importante é o TNF- α . Os valores de TNF- α são aumentados em pacientes obesos e, como a IL-6, o TNF- α participa do desenvolvimento da resistência à insulina inibindo o LPL e a captação de glicose pelos adipócitos. Além disso, o TNF- α inibe a conversão de pré-adipócitos para adipócitos maduros durante a expansão da massa de tecido adiposo (STOLARCZYK, 2017).

Por sua vez a adiponectina é um hormônio que regula processos metabólicos, aumentando a sensibilidade à insulina, a oxidação de ácidos graxos e reduzindo a produção de glicose no fígado (STOLARCZYK, 2017).

Em contraste à maioria das proteínas secretadas pelos adipócitos, a adiponectina diminui à medida que o tecido adiposo aumenta, demonstrando estar inversamente relacionada a presença e gravidade da disfunção metabólica, estando sua concentração no soro reduzida em indivíduos e roedores obesos ou resistentes à insulina (BLOEMER *et al.*, 2018; GUIMARÃES *et al.*, 2007; STOLARCZYK, 2017).

A leptina é um hormônio peptídico e está relacionada com a sinalização do armazenamento energético (STOLARCZYK, 2017). Atua principalmente no hipotálamo, hipocampo e tronco cerebral, regulando a ingestão de alimentos, termogênese, gasto energético e homeostase do metabolismo da glicose e lipídio (CRUJEIRAS *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2018).

A leptina interage com diferentes sistemas neuroendócrinos centrais, como por exemplo, inibindo a síntese do neuropeptídeo Y (NPY), que é um potente estimulador da ingestão de alimentos, sintetizado no núcleo arqueado do hipotálamo. Tanto deficiência como resistência à leptina causam a superexpressão de NPY hipotalâmico, podendo levar a hiperfagia encontrada na obesidade. Outro sistema regulador da homeostase energética envolve a insulina hipotalâmica. A leptina, em concentrações fisiológicas, inibe a secreção de insulina em ratos, cujo efeito parece ser mediado indiretamente via ação do SNC. Tanto deficiência quanto resistência à leptina, estão acompanhadas de severa resistência à insulina em roedores obesos (GUIMARÃES *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2016).

A resistência à insulina é definida por uma sensibilidade reduzida ou uma falha em resposta ao cérebro à leptina (LIU *et al.*, 2018). Pode estar relacionada a um defeito no transporte da leptina ao SNC, ou também a um defeito pós-receptor, levando a uma falha na ativação dos mediadores neuroendócrinos reguladores do peso corporal (CRUJEIRAS *et al.*, 2015).

A obesidade é considerada uma doença inflamatória crônica de baixo grau (BLOEMER *et al.*, 2018) e seu aumento na população pode ser explicado pelo estilo de vida atual (DIEBERGER *et al.*, 2018). Estima-se que as alterações de comportamento alimentar e os hábitos de vida sedentários interagindo sobre genes de susceptibilidade sejam o determinante principal do crescimento da obesidade no mundo (COUTINHO, 2004).

O comportamento de comer, desde a seleção, preferência, tempo e quantidade de alimento, é regulado pelo SNC e seu desenvolvimento é determinado

tanto por fatores genéticos como ambientais (DIEBERGER *et al.*, 2018; ERLANSON-ALBERTSSON, 2005). Acredita-se que os fatores genéticos possam responder por 24% a 40% da variância no IMC, devido atuarem na taxa de metabolismo basal, resposta à superalimentação e outros (COUTINHO, 2004).

Teorias tentam explicar essa ascensão de ganho de peso global através da evolução e a teoria da susceptibilidade comportamental da obesidade (DIEBERGER *et al.*, 2018). Com a quantidade de alimentos escassa, o cérebro criou um circuito adaptativo de recompensa, que faz o indivíduo comer uma quantidade maior de alimentos com alta densidade nutricional. Hoje em dia, os ambientes podem ser chamados, na sua maioria, de obesogênicos, com uma grande oferta de alimentos calóricos, industrializados como os *fast food*. Essa teoria explica que o mecanismo de recompensa acaba por anular os mecanismos fisiológicos inibitórios, os quais são destinados a limitar a quantidade de alimentos ingeridos levando ao aumento de peso (LUZ; OLIVEIRA, 2013).

A obesidade pode levar a diversas complicações como a síndrome metabólica (SM). Esta é um problema de saúde pública e é caracterizada por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares e hormonais, como a resistência à insulina (BRANDÃO *et al.*, 2006). De acordo com a *International Diabetes Federation* (2019), estima-se que cerca de 20% a 25% da população mundial desenvolveu SM, e esta por sua vez apresenta duas vezes mais chances de mortalidade e três vezes mais chances de um ataque cardíaco ou acidente vascular cerebral em comparação com população sem a síndrome (ALBERTI *et al.*, 2006). Na população brasileira e em outros países com perfil socioeconômico similar, vem sendo observado uma prevalência do excesso de peso e obesidade na população, em especial na infância (BRANDÃO *et al.*, 2006; DIEBERGER *et al.*, 2018). Estudos demonstram uma ascensão de 0,7% para 5,6% em meninas e de 0,9% para 7,8% em meninos entre 1975 e 2016 (DIEBERGER *et al.*, 2018).

Existem diversas definições para SM sendo que a I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da SM utiliza a definição do *National Cholesterol Education Program – Adult treatment Panel* (NCEP-ATP III) (BRANDÃO *et al.*, 2006) representada no quadro 1, onde para se enquadrar como SM é necessário apresentar três das seguintes condições.

QUADRO 1 - COMPONENTES DA SÍNDROME METABÓLICA SEGUNDO O NCEP-ATP III

Componentes	Níveis
Obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal	Homens > 102cm
	Mulheres > 88cm
Triglicerídeos	≥ 150mg/dL
HDL Colesterol	Homens < 40mg/dL
	Mulheres < 50mg/Dl
Pressão Arterial	≥ 130mmHg ou ≥ 85mmHg
Glicemia de jejum	≥ 110mg/dL

Fonte: BRANDÃO *et al.*, 2006.

Para a NCEP-ATP III a resistência à insulina não é um requisito obrigatório para o diagnóstico, contudo ela encontra-se presente na maioria dos indivíduos com a síndrome, principalmente quando associado a obesidade abdominal (BRANDÃO *et al.*, 2006).

2.2 DIETA DE CAFETERIA

Conhecida por dieta de *fast-food* ou dieta de cafeteria (DCaf), esta consiste em alimentos hiperpalatáveis com grande aporte calórico, rico em sódio e gordura saturada e pobre em fibras (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005).

O consumo de DCaf estimula no SNC regiões límbicas associadas a sensação de recompensa, euforia e prazer, envolvendo ação de neurotransmissores e opioides. A própria alimentação é quem modula este mecanismo, e com o passar do tempo esse comportamento alimentar pode ser comparado a um padrão de adição, devido ao feedback positivo gerado no sistema de recompensa conhecido como *come back for more* (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005).

A exposição prolongada de roedores a este tipo de dieta é utilizada como um modelo adequado a obesidade porque promove um rápido ganho de peso, aumento da massa de tecido adiposo, estimulação da produção anormal de glicose, hiperinsulinemia, resistência à insulina e pode levar a um prejuízo no metabolismo da glicose (ESTADELLA *et al.*, 2004).

Foi Lee, em 1928, quem determinou a obesidade em ratos através do índice de LEE (MALAFAIA *et al.*, 2013). O índice Lee é um biomarcador biométrico para a classificação da obesidade utilizado em estudos experimentais (SOARES *et al.*, 2017) que apresenta uma correlação com a massa gorda do animal, porém, é necessária a associação de um índice com outros dados biométricos, como a circunferência abdominal, comprimento nasoanal e dados metabólicos (MALAFAIA *et al.*, 2013)

2.3 PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA

O conceito de programação fetal, ou programação intrauterina, foi proposto pela primeira vez por Barker e Hales em 1998, e mais tarde tornou-se a teoria das origens do desenvolvimento da saúde e da doença, a qual propõe que, o ambiente intrauterino adverso induz doenças metabólicas da prole nos adultos (ZHU *et al.* 2019)

A programação intrauterina é um período crítico do desenvolvimento humano e abrange principalmente a gestação e a lactação (MOLTENI *et al.*, 2002). Condições maternas como o perfil lipídico (colesterol, triglicérides e ácidos graxos livres) (DIEBERGER, 2018), nutrientes, oxigênio e hormônios, podem causar alteração dos sistemas fisiológicos durante as fases do desenvolvimento, desde o período de concepção (FOWDEN *et al.*, 2006). Mudanças das vias metabólicas de sinalização, no crescimento e desenvolvimento, em níveis genético, celular, tecidual, órgão e de sistemas, podem levar a efeitos relativamente não reversíveis na estrutura e/ou mudanças funcionais de crescimento e desenvolvimento fetal (ZHU *et al.*, 2019; FOWDEN *et al.*, 2006). O resultado fisiológico é determinado através do tempo, duração, gravidade e tipo de insulto ocorrido durante o desenvolvimento (FOWDEN *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, a nutrição melhorou progressivamente, com isso, muitas pessoas apresentam um fenótipo no útero que é programado para um nível de nutrição significativamente menor do que atualmente disponível. Isso pode explicar, em parte, a epidemia de obesidade, hipertensão e diabetes tipo 2 em populações em todo o mundo (FOWDEN *et al.*, 2006).

Elementos da dieta materna estão envolvidos na programação dos comportamentos alimentares da prole e, além das alterações metabólicas, podem ocorrer alterações das células neuronais (MOLTENI *et al.*, 2002). A diferenciação das

principais estruturas cerebrais ocorrem durante a vida pré-natal, onde o cérebro em desenvolvimento é particularmente plástico (LINDSAY *et al.*, 2019) e com isso podem ocorrer alterações comportamentais, maior incidência de doenças psiquiátricas (MOLTENI *et al.*, 2002), e alteração no tamanho do cérebro em embriões, como no caso de mães diabéticas e desnutridas (CHANG *et al.*, 2008).

Embora haja semelhança no desenvolvimento entre os mamíferos, algumas espécies como roedores são imaturas ao nascimento. Sistemas fisiológicos continuam a se desenvolver após o nascimento, estendendo o período de plasticidade além da fase uterina. Mudanças ambientais pós-natal, particularmente antes do desmame, como alterações na disponibilidade de nutrientes, concentrações hormonais e comportamento materno durante o período neonatal imediato podem alterar funções neuroendócrinas, cognitivas e reprodutivas, podendo amenizar ou exagerar as alterações morfológicas e funcionais programadas no útero (FOWDEN *et al.*, 2006).

2.4 DEPRESSÃO

O termo depressão tem sido utilizado para designar um estado de tristeza anormal, um sintoma, uma síndrome ou doença. Segundo a OMS, o número de pessoas que vivem com depressão aumentou em 18% entre 2005 e 2015. Estima-se que mais de 300 milhões de pessoas, de idades variadas, sofram com a doença em todo o mundo. No Brasil, cerca de 5,8% da população sofrem de depressão, totalizando aproximadamente 11,5 milhões de casos. A depressão é a principal causa de incapacidade laboral do planeta (Organização Mundial da Saúde, 2016/2017) e é caracterizada por tristeza ou vazio, menor interesse pelo meio ambiente e perda de interesse por atividades anteriormente tidas como prazerosas, que é conhecida como anedonia. Normalmente associados a uma sensação de fadiga ou perda de energia (DEL PORTO, 1999) e incapacidade de realizar atividades diárias, estes sintomas devem durar pelo menos duas semanas para que se caracterize um transtorno. Outros sintomas, porém, podem também estar associados como por exemplo: mudanças no apetite, aumento ou redução do sono, ansiedade, perda de concentração, indecisão, inquietude, pensamentos de suicídio entre outros (Organização Mundial da Saúde, 2016/2017).

Os sintomas depressivos podem ser observados nos animais através de diversos comportamentos como: desespero comportamental, alterações no sono e no apetite, anedonia, desesperanças entre outros (RANG *et al.*, 2016).

Também conhecido por Distúrbio Depressivo Maior (DDM) ou Transtorno Depressivo Maior, a depressão ainda não apresenta fisiopatologia bem definida, entretanto, algumas teorias tentam explicar suas possíveis causas.

A teoria da neuroinflamação traz uma possível ligação entre a depressão e a inflamação. Como no estresse psicológico, onde existe um possível aumento da produção de citocinas como IL-1b, IL-6 e TNF- α , existe um feedback positivo entre a depressão e a inflamação, onde a inflamação causa depressão e estresse psicológico, que, por sua vez, é um mecanismo pró-inflamatório (DEAN; KESHAVAM, 2017).

Outra teoria defende que as alterações nas concentrações de neurotransmissores e neuromoduladores teriam efeito a longo prazo sobre a organização neuronal do cérebro, levando a sintomas do tipo depressivo (HELM *et al.*, 2018).

A teoria fala sobre a deficiência das monoaminas, onde a diminuição de neurotransmissores como a serotonina (5-HT) e catecolaminas (norepinefrina, epinefrina e dopamina) influenciam na etiologia do DDM (HELM *et al.*, 2018).

Novos estudos, porém, apresentam outros possíveis componentes fisiopatológicos neurais, endócrinos e metabólicos, que estariam relacionado ao DDM como o Glutamato, Ácido gama-aminobutírico (GABA), Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e demais hormônios (CASTILLO *et al.*, 2019).

O Glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro de mamíferos. Em circunstâncias normais, apresenta um papel importante na memória, aprendizagem e plasticidade sináptica, e vem demonstrando apresentar um potencial no tratamento antidepressivo (CASTILLO *et al.*, 2019).

O GABA é o principal neurotransmissor inibidor no cérebro dos mamíferos, e seus receptores se espalham pelo SNC. Estudos vem apresentando um aumento da ligação ao receptor GABA-B no cérebro de roedores após a administração crônica de diversos medicamentos antidepressivos, defendendo a hipótese de ação de drogas GABAérgicas como antidepressivas (CASTILLO *et al.*, 2019).

O BDNF é a principal neurotrofina do hipocampo, necessário no desenvolvimento neuronal e regeneração; desempenha um papel crucial na

sobrevivência e manutenção das funções normais do cérebro. Nos neurônios imaturos, o BDNF atua no crescimento, diferenciação e maturação, enquanto em neurônios maduros, desempenha um papel essencial na plasticidade sináptica, especialmente no reforço da transmissão sináptica (PENG *et al.*, 2018).

Além das substâncias descritas acima, evidências demonstram o papel da microbiota intestinal em transtornos de ansiedade e distúrbios comportamentais semelhantes. O "eixo microbiota-intestino-cérebro" é composto pelo SNC, os sistemas neuroendócrino e neuroimune, o sistema nervoso autônomo (simpático e o parassimpático), o sistema nervoso entérico e a microbiota intestinal (ZALLAR *et al.*, 2018), é um sistema de comunicação bidirecional, que liga as respostas de estresse psicológico, a função do sistema imunológico e a composição do microbioma intestinal (INSERRA *et al.*, 2018).

Pesquisas mostram que a microbiota desempenha um papel importante na organização do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) nas fases iniciais da vida e influencia a resposta ao estresse ao longo do ciclo de vida (ZALLAR *et al.*, 2018).

A exposição ao estresse aumenta a sinalização de um sensor imunológico (NLRP3), que ativa as vias mediadas pela IL-1 e TNF. Estes aumentam a sinalização pró-inflamatória em áreas cerebrais responsivas ao estresse e ativam o eixo HPA, exacerbando a ansiedade e comportamentos depressivos. A composição e função do microbioma intestinal parece influenciar a medida que a sinalização do sensor imunológico é ativada (INSERRA *et al.*, 2018).

2.5 ANSIEDADE

Segundo a *American Psychiatric Association*, a ansiedade é uma reação normal ao estresse e pode ser benéfica em algumas situações. É caracterizada por tensão ou desconforto oriundos de possíveis situações de perigo de algo desconhecido ou estranho, é um sentimento vago e desagradável de medo excessivo apreensão e angústia (CASTILLO *et al.*, 2000; PAREKH, 2017). O Manual de diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5 difere medo de ansiedade onde medo é a resposta emocional a ameaça iminente real ou percebida, normalmente associado a comportamento de luta ou fuga, enquanto ansiedade é a antecipação de

ameaça futura, associada a tensão muscular e comportamentos de cautela ou esquivia (KUPFER *et al.*, 2013).

A ansiedade torna-se patológica quando exagerada e desproporcional em relação ao estímulo inicial. Uma maneira de diferenciar ansiedade normal da patológica é avaliando sua duração, se é curta, autolimitada e relacionada ao estímulo ou não. Sintomas de ansiedade são frequentes em diversos transtornos psiquiátricos como depressão, psicose e outros, enquanto o transtorno ansioso ocorre quando os sintomas são primários, sem interação com outras condições psiquiátricas (CASTILLO *et al.*, 2000). Entre os transtornos mentais mais comuns, o transtorno de ansiedade está presente em quase 30% dos adultos em algum momento da vida, sendo as mulheres mais afetadas. Ainda não se sabe suas causas, mas provavelmente fatores como o genético, ambiental, psicológico e de desenvolvimento estejam combinados (PAREKH, 2017).

Existem vários tipos de transtornos de ansiedade, e embora cada tipo apresente características distintas, o tratamento normalmente consiste em psicoterapia e medicamentos. As medicações mais utilizadas são os ansiolíticos e antidepressivos (PAREKH, 2017).

Uma maneira de estudar os transtornos de ansiedade se dá através dos modelos animais. Estes começaram a ser utilizados nas ciências biológicas com Claude Bernard ainda em meados do século XIX, com a finalidade de estudar experimentalmente reações fisiológicas humanas, e são até hoje empregados nos mais variados ramos da ciência. Os modelos animais de ansiedade tentam reproduzir uma situação ambiental de aversão ou desconforto. Geralmente, isso é feito expondo os animais a ambientes novos ou potencialmente perigosos e os padrões comportamentais e as reações fisiológicas ativadas, utilizados como medidas de ansiedade, geralmente apresentam grande correspondência com as medidas de ansiedade em humanos. No modelo animal, o transtorno de ansiedade pode ser verificado como imobilidade ou ainda, a anulação de uma resposta comportamental (RANG *et al.*, 2016).

2.6 MEMÓRIA

Transtornos comportamentais como depressão e ansiedade estão comumente ligados a déficits de memória. A memória é um termo amplo, que descreve uma série de processos cognitivos responsáveis pela codificação, armazenamento, consolidação e recuperação das informações. É responsável pela identidade pessoal, pelas ações durante a maior parte do dia a dia, funções executivas e aprendizado. As informações que chegam no cérebro ativam uma rede de neurônios formando um circuito neural, e caso seja reforçada produzirá uma retenção dessa informação. Isso explica a necessidade de repetição para o armazenamento da memória, pois cada vez que o estímulo é repetido, o circuito neural é reforçado (MOURÃO; FARIA, 2015).

O processo de armazenamento pode ser dividido em três subprocessos conhecidos como: aquisição - momento em que a informação chega ao sistema nervoso e cérebro; consolidação - armazenamento da informação, que pode ser através de alterações bioquímicas ou fenômenos eletrofisiológicos; evocação - retorno espontâneo ou voluntário das informações armazenadas (MOURÃO; FARIA, 2015).

Considerando toda a complexidade do desenvolvimento e crescimento dos sistemas nervoso e endócrino na fase intra-uterina e início da vida, e todas as possíveis alterações presentes no SNC devido a exposição à DCaf nessas fases, consideramos verificar até onde a nutrição materna influencia na saúde e comportamento de mães e de seus descendentes machos.

Como a obesidade em mães poucas vezes é correlacionada com o desenvolvimento de transtornos comportamentais nos filhos, a justificativa deste projeto é poder demonstrar que as complicações da obesidade não se restringem ao paciente que a porta, mas também podem acometer os descendentes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar se o desenvolvimento de obesidade em ratas altera seus comportamentos e perfis lipídicos além do comportamento e perfil lipídico de seus descendentes machos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar se a DCaf provoca obesidade em ratas, mensurando os depósitos de gordura e a concentração sanguínea de glicose, triglicerídeos e colesterol.

- Avaliar possíveis alterações comportamentais e de motilidade em ratas obesas, usando testes de motilidade, comportamento tipo depressivo, tipo ansioso e de memória.

- Avaliar se a obesidade materna interfere nos estoques de gordura nos filhotes.

- Avaliar se há diferença nas respostas comportamentais nos filhotes de ratas obesas, usando testes de motilidade, comportamento tipo depressivo, tipo ansioso e de memória.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

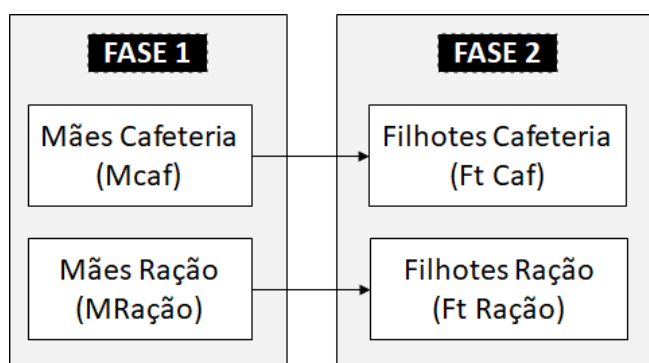
4.1 ANIMAIS

O estudo utilizou ratos da linhagem Wistar, oriundos do Núcleo Avançado de Estudos da Vida da UEPG. Os animais foram obtidos aos 21 dias de vida, e foram mantidos em caixas para roedores, em ambiente climatizado ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro/escuro de 12 horas (ciclo claro inicia às 07h). A manipulação dos animais seguiu todos os cuidados necessários para minimizar possíveis desconfortos de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, recomendado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA (COBEA, 1991). Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UEPG (processo CEUA – 030/2018 (Anexo 1) e 006/2019 (Anexo 2)).

4.2 DESENHO EXPERIMENTAL

O projeto foi dividido em duas fases, sendo a primeira com as mães e a segunda com seus filhotes, conforme apresentado na figura 1.

FIGURA 1 - DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS



Fonte: A autora.

4.2.1 Fase 1

Na primeira fase, foram utilizadas 23 ratas fêmeas que, após desmame, do 21º ao 30º dia de vida, receberam dieta comercial, Nuvilab CR1, e água potável ad libitum. A partir do 31º dia de vida, elas foram subdivididas em dois grupos, sendo

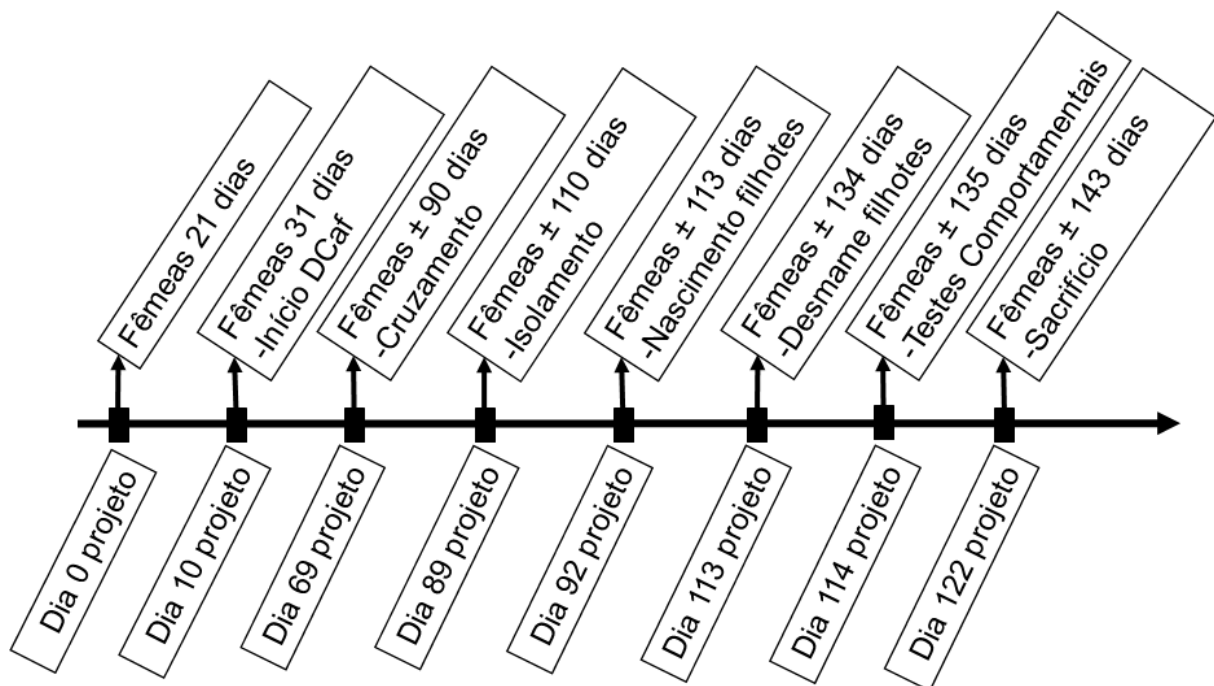
eles: Mães Ração (MR) (N - 12) e Mães Cafeteria (MCaf) (N - 11). O grupo ração recebeu ração comercial e água potável *ad libitum*, enquanto o grupo cafeteria teve associado à ração, livre acesso à DCaf até o fim do experimento.

Aproximadamente aos 90 dias de vida, os animais foram expostos ao sistema de acasalamento poligâmico, permanecendo um macho para cada 3 fêmeas em cada caixa por um período de 20 dias, sendo então o rato macho retirado. Antes do parto, as fêmeas foram isoladas, desta maneira evitando interferência do macho nos filhotes, as perdas por superlotação e a mistura de ninhadas. A dieta original de cada fêmea permaneceu durante todas as etapas até o sacrifício.

Após o desmame dos filhotes, aproximadamente 21 dias, todas as mães passaram por testes comportamentais sendo eles; Teste Labirinto Cruz Elevado (LCE), Teste de Campo Aberto (CA), Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO) e Teste de Nado Forçado (NF). Após os testes comportamentais, foram sacrificadas pelo método físico de decapitação por guilhotina, devido a necessidade de coleta de material de sangue (MEZADRI *et al.*, 2004)

Na figura 2 encontra-se um resumo da Fase 1.

FIGURA 2 – FASE 1



Fonte: A autora.

4.2.1.1 Dieta de Cafeteria

A DCaf foi agrupada em três combinações distintas (A, B e C – QUADRO 2) e ofertada alternadamente durante a semana. Todos os animais receberam ração padrão seguido dos seguintes alimentos sendo na segunda-feira: dieta A - salgadinho sabor queijo, bolacha wafer sabor chocolate e refrigerante cola; quarta-feira: dieta B - marshmallow, apresuntado e refrigerante cola; sexta-feira: dieta C - salgadinho sabor bacon, bolacha maizena e refrigerante. Os alimentos foram dispostos na grade da caixa e permaneceram até a próxima troca dos alimentos. As porções dos alimentos foram ofertadas de acordo com o consumo através de um controle de ingestão por pesagem. Esta dieta foi adaptada e padronizada a partir de Didek e colaboradores (2019).

QUADRO 2 – INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS DOS ALIMENTOS DA DIETA DE CAFETERIA.

CARDÁPIO A						
ALIMENTO	QTD (G)	KCAL/G	CARBOIDRATO (G)	PROTEÍNA (G)	LIPÍDIOS (G)	NA (MG)
RAÇÃO PADRÃO	1	2,95	0,55	0,22	0,04	0,00
SALGADINHO SABOR QUEIJO	1	3,92	0,72	0,08	0,09	12,3
BOLACHA WAFER DE CHOCOLATE	1	5,56	0,63	0,03	0,51	0,76
REFRIGERANTE DE COLA	1	0,42	0,11	0,00	0,00	0,05
CARDÁPIO B						
RAÇÃO PADRÃO	1	2,95	0,55	0,22	0,04	0,00
MARSHMALLOW	1	3,35	0,82	0,04	0,00	0,25
APRESUNTADO	1	1,85	0,07	0,13	0,16	11,7
REFRIGERANTE DE COLA	1	0,42	0,11	0,00	0,00	0,05
CARDÁPIO C						
RAÇÃO PADRÃO	1	2,95	0,55	0,22	0,04	0,00
SALGADINHO SABOR BACON	1	5,08	0,521	0,08	0,29	6,40
BOLACHA MARIA	1	4,30	0,73	0,07	0,12	4,33
REFRIGERANTE DE COLA	1	0,42	0,11	0,00	0,00	0,05

Fonte: DIDEK *et al.*, 2019

Foi mensurado o consumo semanal em Kcal. Este foi calculado usando a média de alimentos consumidos por cada animal, através da fórmula:

$$\frac{\text{quantidade colocada de alimento (g)} - \text{quantidade restante de alimento na grade (g)}}{\text{número de dias}}$$

o valor obtido foi dividido pelo número de animais na caixa. Os valores obtidos de cada alimento em gramas foram convertidos em Kcal de acordo com o quadro 2.

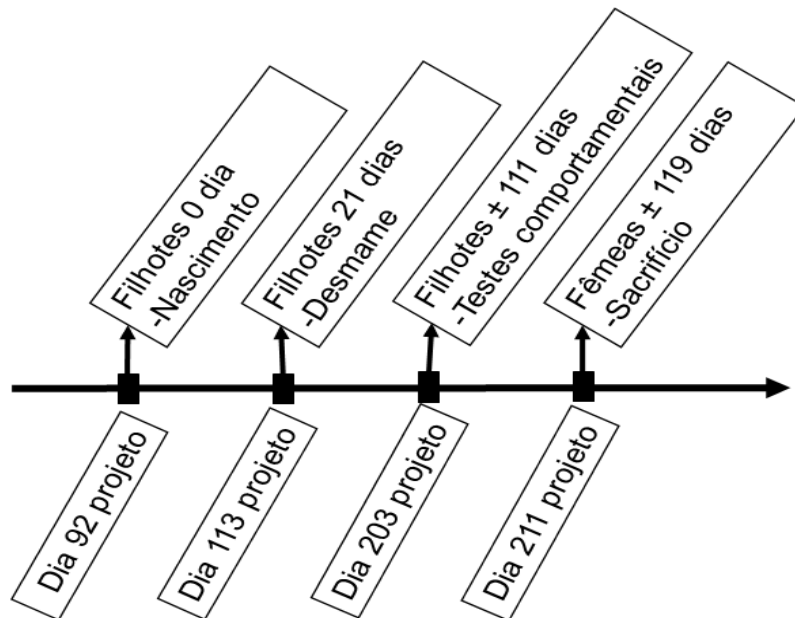
4.2.2 Fase 2

Durante a segunda fase do projeto, foi utilizado um filhote macho de cada rata formando dois grupos, sendo eles Filhotes Ração (Ft Ração) (N - 12), correspondente aos filhotes mães alimentadas com ração e Filhotes Cafeteria (Ft Caf) (N - 12), correspondente aos filhotes das mães alimentadas com DCaf. Os grupos tiveram dieta de ração comercial e água potável *ad libitum* até o fim do experimento.

Com aproximadamente 111 dias de vida, os filhotes passaram pelos mesmos testes comportamentais que as mães, com o acréscimo do *Splash Test* (ST).

Na figura 3, encontra-se um resumo da Fase 2.

FIGURA 3 - FASE 2



Fonte: A autora.

4.3 DADOS BIOMÉTRICOS

Todos os animais foram pesados individualmente a partir do 30º dia de vida, duas vezes na semana, até o dia da eutanásia para obtenção da curva de crescimento corporal. As fêmeas da fase 1 tiveram, junto com a pesagem, a medição da circunferência abdominal, para um acompanhamento do possível aumento da gordura visceral. No dia da eutanásia, foi realizada a medida do comprimento naso-anal de todos os animais. Esse valor foi utilizado para posterior verificação do índice de Lee (NERY *et al.*, 2011). O índice de Lee é expresso através da fórmula:

$$\frac{\text{peso corporal (g)} / 3}{\text{comprimento naso – anal (cm)}}$$

Após a eutanásia, foi realizada a pesagem de três estoques de gordura de todos os animais sendo eles: gordura retroperitoneal, mesentérica, perigonadal nos machos e periovariana nas fêmeas. Além da comparação entre cada estoque de gordura isoladamente, foi realizado o cálculo de adiposidade corporal, usando a fórmula:

$$\text{índice de adiposidade corporal} = \frac{\text{soma das gorduras}}{\text{peso corporal final}} \times 100$$

4.4 EXAMES BIOQUÍMICOS

As análises bioquímicas foram realizadas com amostras de sangue não hemolisado, coletadas imediatamente após a eutanásia, centrifugadas e armazenadas em freezer. Os animais permaneceram em jejum por pelo menos 8 horas. Foram utilizados kits comerciais específicos para dosagem de glicose, colesterol e triglicérides, parâmetros importantes para a verificação de SM. Os kits utilizados foram: GLICOSE BIOLIQUID KIT 4X250mL, para dosagem de glicose; COLESTEROL BIOLIQUID KIT 2X100mL, para dosagem de colesterol total; TRIGLICERIDES BIOLIQUID KIT 2X100mL, para dosagem de triglicérides.

Para a realização dos exames, as amostras e os reagentes foram deixados em temperatura ambiente. Foi utilizado espectrofotômetro com ajuste de comprimento de onda de acordo com as recomendações do fabricante de cada kit para todos os exames (glicose, triglicérides e colesterol).

A determinação de concentração de glicose na amostra analisada utilizou da seguinte fórmula:

$$\text{Glicose (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 100$$

A determinação de concentração de colesterol total na amostra analisada utilizou da seguinte fórmula:

$$\text{Colesterol Total (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 200$$

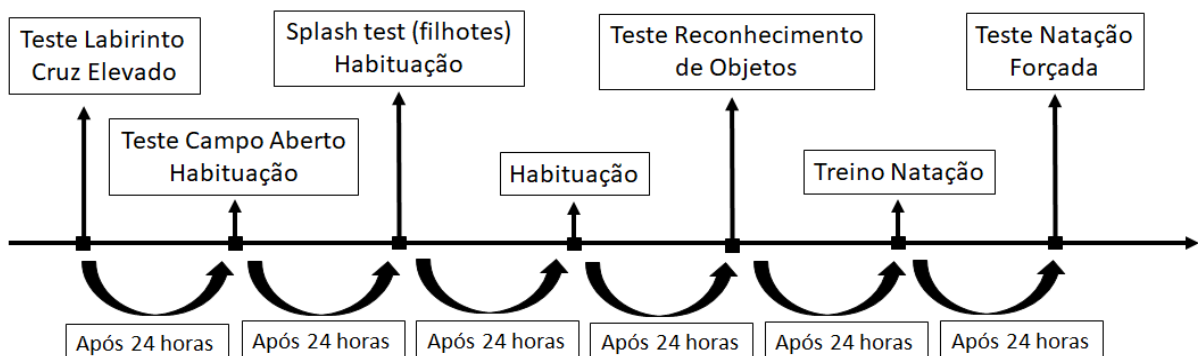
A determinação de concentração de triglicérides na amostra analisada utilizou da seguinte fórmula:

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 200$$

4.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

Todos os animais foram submetidos a testes comportamentais, com as mesmas condições experimentais, sendo que os testes foram realizados no mesmo período do dia e filmados para posterior análise. A ordem dos testes comportamentais está apresentada na figura 4.

FIGURA 4 – CRONOGRAMA EXPERIMENTAL.



Fonte: A autora.

4.5.1 Teste de Labirinto em Cruz Elevado

O teste de LCE foi inspirado em um experimento relatado por Montgomery na década de 50 usando um labirinto Y elevado, posteriormente desenvolvido por Handley e Mithani (1984) e posteriormente validado farmacológica, fisiológica e

comportamentalmente por Pellow e colaboradores (1985). É um dos modelos animais de ansiedade mais utilizados para o estudo experimental de drogas ansiolíticas (MORATO, 2006)

O modelo avalia o animal diante de um ambiente desconhecido somado a tendência natural de esquiva em relação a regiões abertas, potencialmente perigosas e conflituosas, e o medo de altura, com a tendência natural de explorar ambientes novos, medindo assim comportamento tipo-ansioso destes animais (MORATO, 2006; PINTO *et al.*, 2012).

O labirinto todo tem 50 cm de altura do chão, e é composto por dois braços abertos e dois braços fechados, ambos opostos, formando uma cruz. O rato é posicionado no centro do LCE para exploração livre, sempre voltado para o lado aberto durante um período de 5 minutos (PINTO *et al.*, 2012). A disposição do aparato permite que os animais percebam simultaneamente a altura e o espaço aberto. Existe uma tendência dos animais explorarem mais os braços fechados que os abertos, isso se dá mais pela tendência de evitar o espaço aberto que pelo medo da altura (MORATO, 2006). O teste é filmado para análise e os fatores observados e registrados são: tempo de permanência nos braços abertos, fechados, plataforma central e entradas no braço fechado. Antes de cada início de testes, ele é higienizado com álcool 5% (PINTO *et al.*, 2012). Ilustração do teste LCE apresentada na figura 5.

FIGURA 5 - TESTE DE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO



Fonte: A autora.

4.5.2 Teste de Campo Aberto

O teste de CA tem por objetivo avaliar a atividade motora dos animais, através da quantificação da locomoção espontânea. O CA consiste em uma arena iluminada, de 1m², com bordas de 40 cm de altura, dividida em 25 quadrados (20 x 20 cm), onde o rato é colocado no centro para explorar livremente por 5 minutos. O teste é filmado e os parâmetros observados e registrados são: número de linhas cruzadas (ESTRELA *et al.*, 2015). A arena é limpa antes de cada teste com solução etílica 5%. Ilustração do teste de CA apresentada na figura 6.

FIGURA 6 - TESTE DE CAMPO ABERTO.



Fonte: A autora.

4.5.3 Teste de Reconhecimento de Objetos

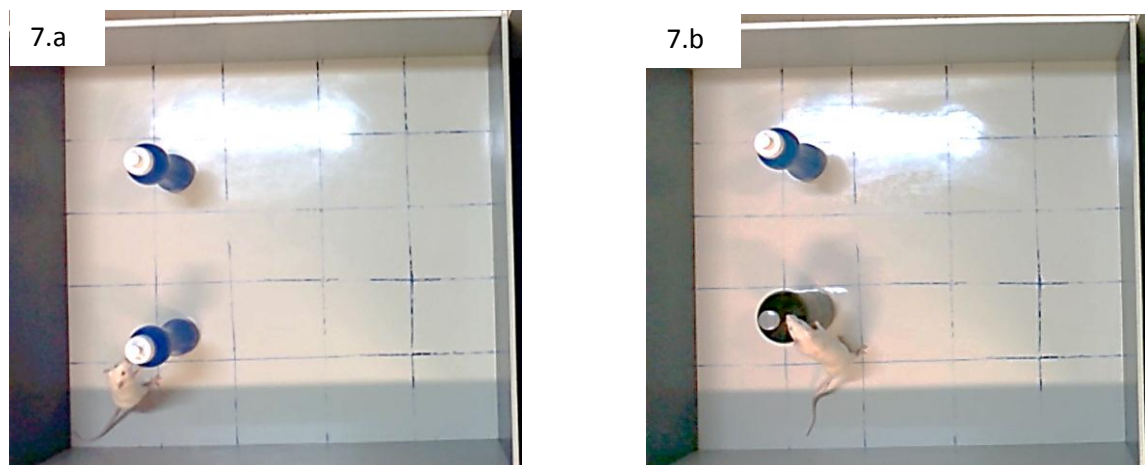
O TRO avalia a memória de reconhecimento. O aparato utilizado para o teste é o mesmo do teste de CA. O teste é realizado em quatro dias consecutivos, sendo três dias para habituação do animal ao aparato de teste e um dia para a realização do teste propriamente dito, conforme protocolo adaptado de Ennaceur e Delacour (2000). Durante as sessões de habituação, o animal é colocado no centro do aparato de teste durante o período de 10 minutos sem a presença de nenhum objeto. No 4º dia, o teste é realizado em dois momentos, com intervalo de 30 minutos entre cada exposição. Inicialmente, são colocados dois objetos idênticos no aparato, garrafas de plástico

azul de 1 litro, cada qual estando em um dos lados da caixa a uma distância aproximada de 10 cm das paredes. O animal é colocado no centro do aparato, tendo ele cinco minutos para investigar estes objetos. O comportamento de investigação é considerado quando o animal se aproximar ao menos dois centímetros a sua narina do respectivo objeto. Após 30 minutos do primeiro período de investigação, o animal é recolocado no aparato, porém, um dos objetos utilizados no primeiro período de investigação é substituído por um novo objeto, garrafa de vidro marrom de modelo diferente da garrafa anterior, tendo o animal novamente 5 minutos para investigá-los. Os valores referentes ao tempo de investigação no segundo período do teste são calculados pelo índice de discriminação (ID). O índice é obtido pela diferença entre o tempo gasto na exploração do objeto novo (b) em relação ao objeto já conhecido (a), divididos pelo tempo total de exploração de ambos os objetos (b+a), sendo calculado pela seguinte fórmula.

$$ID = \frac{b - a}{b + a}$$

O TRO é baseado no comportamento natural dos ratos para explorar um novo objeto em preferência a um objeto familiar já explorado em uma primeira apresentação. Valores de tempo de exploração maiores que zero indicam animais explorando mais o objeto novo em relação ao objeto antigo. Já resultados próximos ou abaixo de zero indicam que não houve preferência ou exploração do objeto familiar (ENNACEUR; DELLACOUR, 1988). Ilustrações sobre o TRO apresentadas na figura 7 (a, b).

FIGURA 7 - TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS.



Fonte: A autora.

7.a. Primeira exposição, caracterizada pela presença de dois objetos idênticos. 7.b. Segunda exposição, após 30 minutos da primeira exposição, mudança de um dos objetos.

4.5.4 Teste do Nado Forçado

O NF avalia o comportamento tipo depressivo dos ratos. Para realizar o teste, é utilizado um cilindro com 50 cm de altura e 20 cm de diâmetro, aproximadamente 2/3 do cilindro é completado com água (22 ± 2 °C). O teste é realizado em dois momentos, o primeiro é o treino e o segundo o teste propriamente dito, separados por um intervalo de 24 horas. Durante o treino, o rato é colocado de modo a não encostar no fundo do cilindro, pelo tempo de 10 minutos, encontrando-se em uma situação inescapável. No segundo dia o animal é colocado no cilindro da mesma forma que no dia anterior, porém por um período de 5 minutos. Os animais são filmados durante o teste, e os parâmetros observados são: tempo e comportamento de imobilidade; tempo de escalada e tempo de natação. Ao fim de cada teste, os animais são retirados e secos com toalhas (ESTRELA *et al.*, 2015; HU *et al.*, 2017). A água é trocada entre todos os testes, sempre iniciando com água limpa.

Ilustrações do NF apresentadas na figura 8 (a, b).

FIGURA 8 - TESTE DE NADO FORÇADO.



Fonte: A autora.

8. Ilustração do Teste de Nado Forçado.

4.5.5 *Splash Test*

O ST avalia uma forma de comportamento motivacional considerado semelhante com alguns sintomas de anedonia e com o comportamento apático. Para

a realização do teste, é esguichada uma solução de sacarose 20% sobre o dorso do rato. Em seguida, os animais são colocados em uma caixa, como a do CA, para a avaliação comportamental. Devido à sua viscosidade, a solução de sacarose se adere à pelagem dos ratos e estes iniciam o comportamento de autolimpeza (em inglês grooming). Depois de aplicada a solução de sacarose, os animais são filmados e observados por um período de 10 minutos. Os itens registrados são: latência para o início do grooming; duração; padrão (ordem em que realiza o grooming como patas, nariz, rosto). Após o fim de cada teste, a caixa é limpa com álcool 5%, para a retirada de odores (HU *et al*, 2017; SMOLINSKY *et al.*, 2010). Representação na figura 9

FIGURA 9- GROOMING



Face Grooming



Body Grooming

Fonte: Casarrubea M, *et al* (2015).

https://researchgate.net/figure/Ethogram-of-rat-behavior-in-the-hole-board-apparatus-Walking-Ea-the-rat-walks-around_fig4_277885389.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

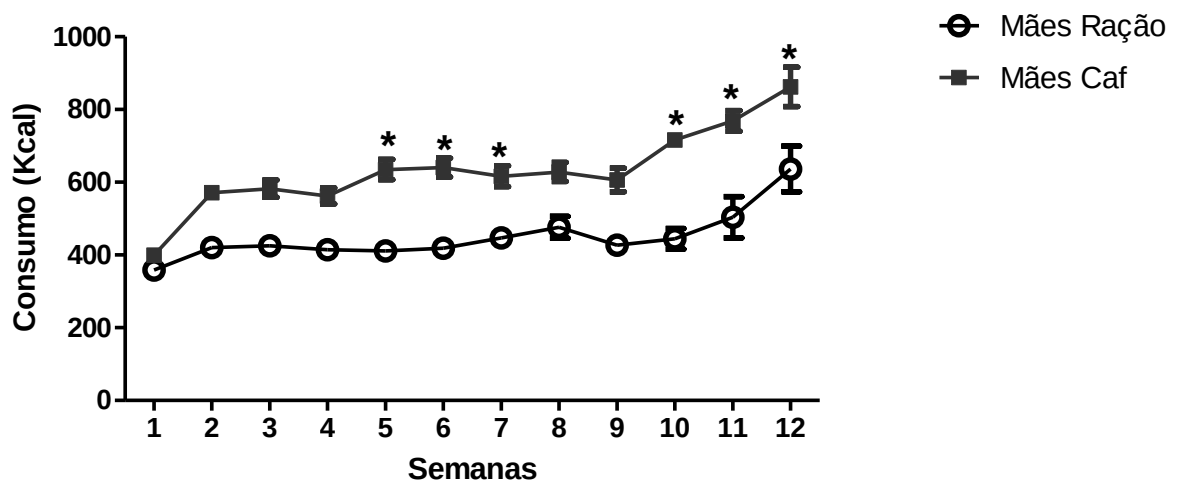
Os dados foram previamente testados quanto à distribuição normal por meio do teste de Shapiro-Wilk. Quando os dados apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste paramétrico T de Student ou ANOVA de medidas repetidas, sendo seus dados expressos como média $\pm$ erro padrão da média (e.p.m). Caso contrário, foi utilizado o teste não paramétrico U de Mann-Whitney, sendo seus dados expressos como mediana $\pm$ intervalos inter quartis. As diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando $p \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o software estatístico GraphPadPrism® 5.01.

5 RESULTADOS

5.1 MÃES

A análise do consumo alimentar mostrou que o grupo das Mães Caf apresentou um consumo maior de Kcal semanais quando comparado ao grupo das Mães Ração. Os dados foram expressos através da soma de todas as Kcal ingeridas durante a semana. O teste ANOVA indicou diferença significativa nos parâmetros dieta com $F_{(1,231)} = 95,33$; tempo com $F_{(11,231)} = 22,41$; interação com $F_{(11,231)} = 2,81$. Dados apresentados na figura 10.

FIGURA 10– CURVA DE CONSUMO MÃES



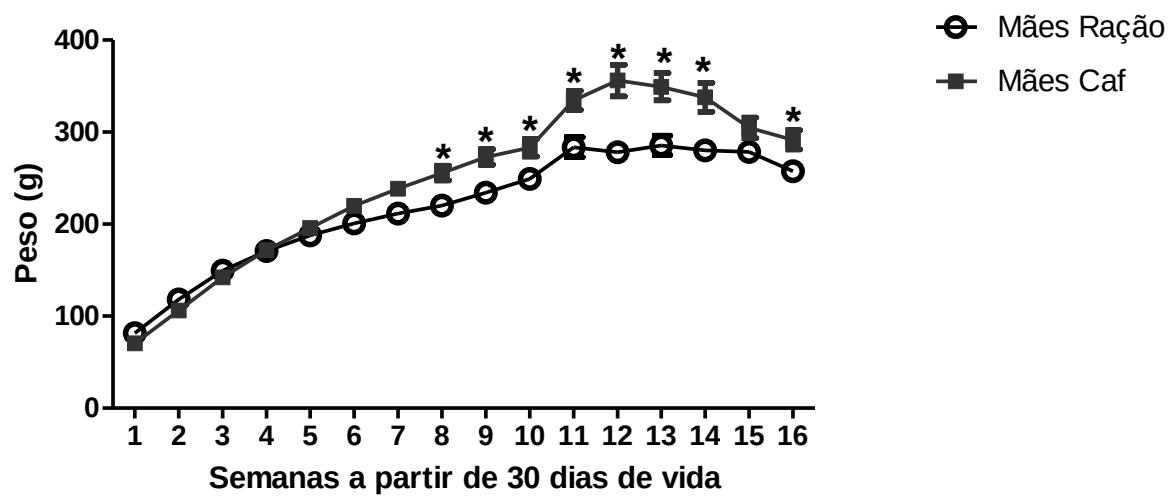
Fonte: A autora.

Figura 10. Curva de consumo semanal das ratas mães a partir do início da dieta. Dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$, ANOVA de medidas repetidas seguida + pos-hoc de Newman-Keuls. (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.1.1 Dados biométricos

A análise da curva de peso corporal mostrou que o grupo das Mães Caf apresentou maior ganho de peso quando comparado ao grupo das Mães Ração. Os dados foram obtidos através do peso dos animais uma vez por semana a partir do dia 30 de vida. O teste ANOVA indicou diferença nos parâmetros dieta com $F_{(1,315)} = 17,69$; tempo com $F_{(15,315)} = 268,25$; interação com $F_{(15,315)} = 8,62$. Dados apresentados na figura 11.

FIGURA 11– CURVA DE PESO CORPORAL MÃES

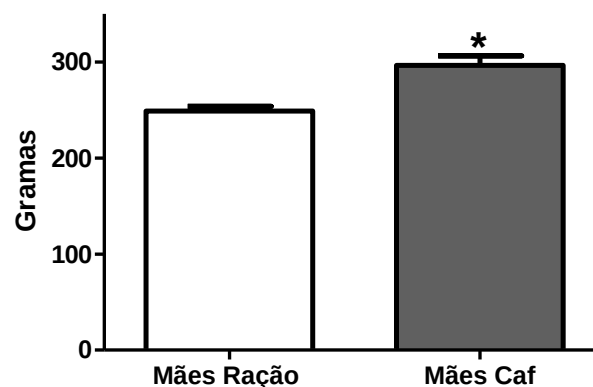


Fonte: A autora.

Figura 11: Curva de peso corporal semanal das ratas mães a partir de 30 dias de vida. Dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$, ANOVA de medidas repetidas seguida + pos-hoc de Newman-Keuls. (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

A DCaf causou aumento significativo no peso corporal final das mães, assim como nos seus estoques de gordura mesentérica, periovariana, retroperitoneal e no índice de adiposidade. Não foi observada diferença no índice de LEE. Os dados referentes a estes parâmetros são apresentados nas figuras 12 a 15.

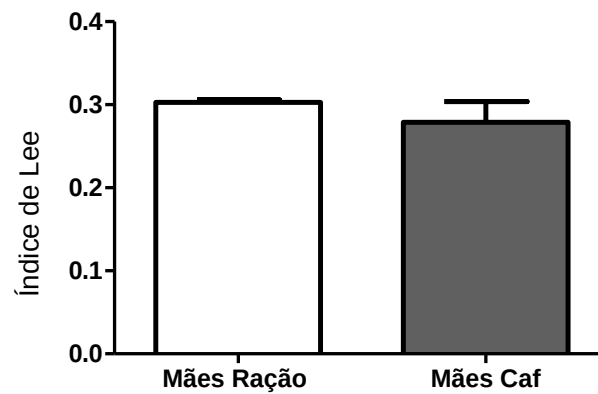
FIGURA 12 – PESO FINAL MÃES



Fonte: A autora.

Figura 12. Peso final das ratas mães em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Mães Ração (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

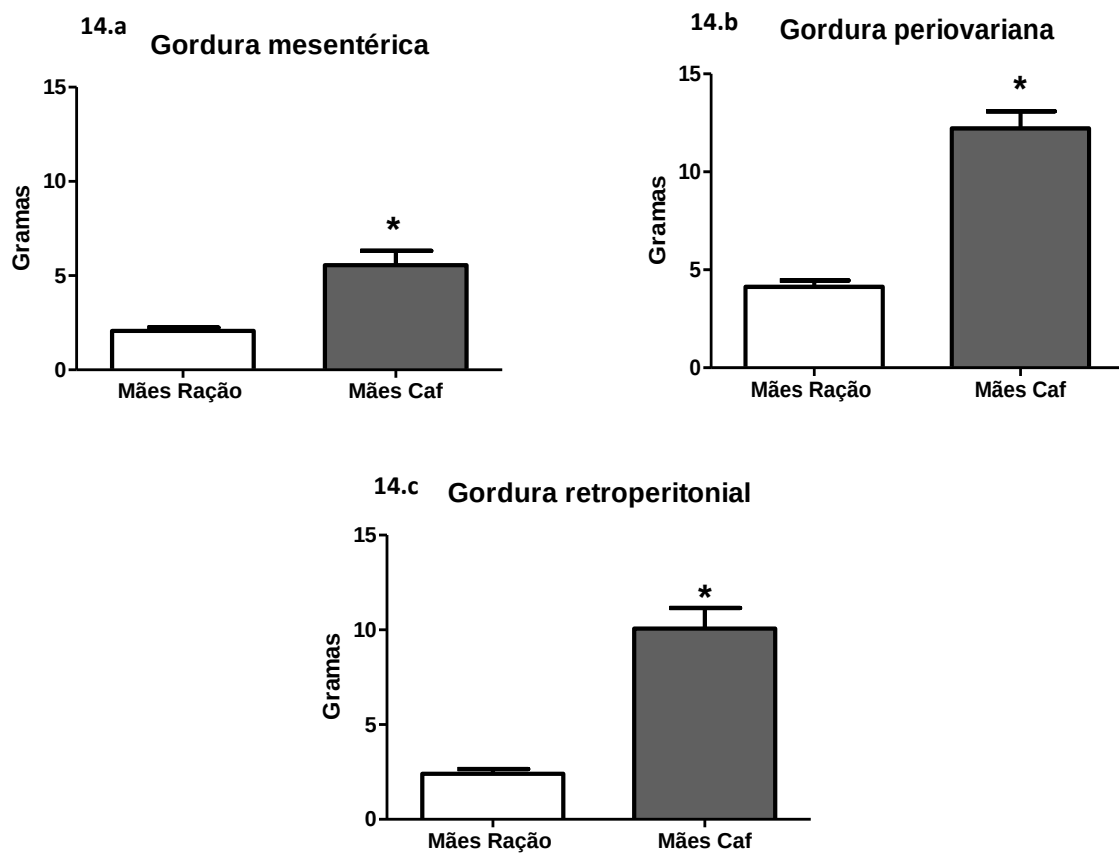
FIGURA 13 – ÍNDICE DE LEE MÃES



Fonte: A autora.

Figura 13. Índice de LEE das ratas mães em relação aos grupos. Dados expressos como média ± EPM. Não houve diferença estatística (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

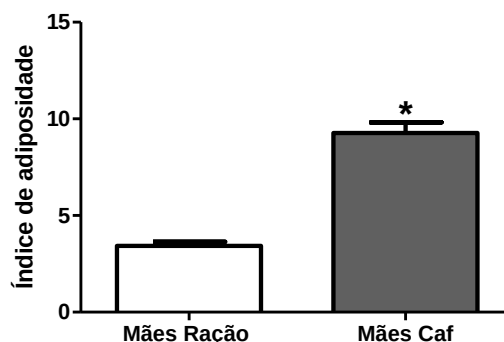
FIGURA 14 – PESO DOS ESTOQUES DE GORDURAS MÃES



Fonte: A autora.

Figura 14. Peso dos estoques de gorduras das ratas mães, (a) mesentérica, (b) periovariana, (c) retroperitoneal, em relação aos grupos. Dados expressos como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Mães Ração (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

FIGURA 15 – ÍNDICE DE ADIPOSIDADE CORPORAL MÃES



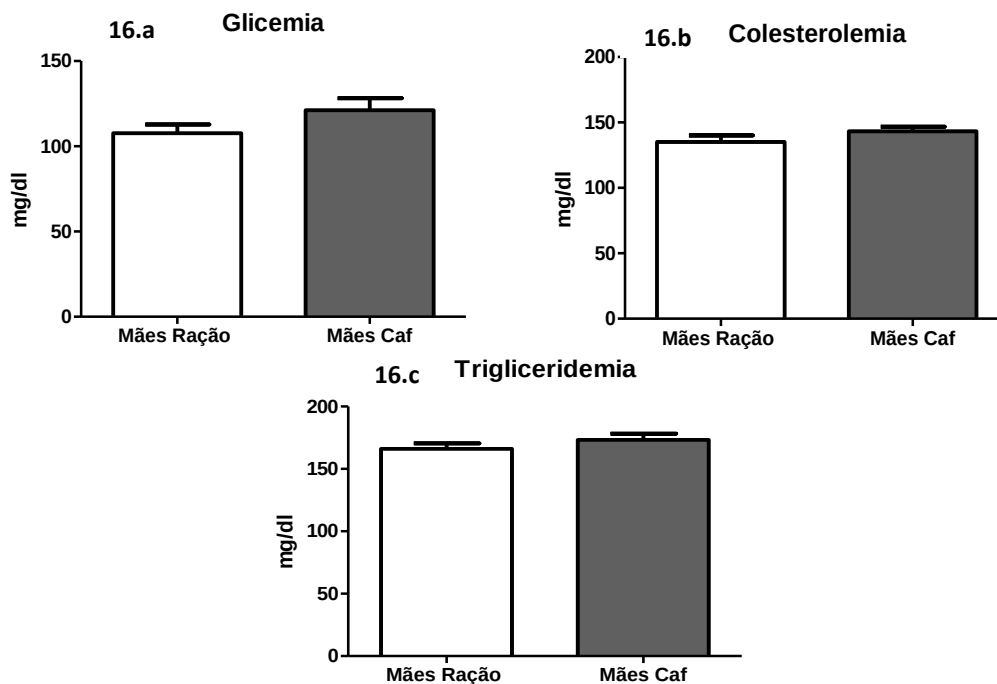
Fonte: A autora.

Figura 15. Índice de adiposidade corporal das ratas mães em relação aos grupos. Dados expressos como média ± EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Mães Ração (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.1.2 EXAMES BIOQUÍMICOS MÃES

Nos exames sanguíneos, os aumentos encontrados nos valores de glicose, colesterol e triglicérides sanguíneos nos grupos DCaf em relação ao Ração, 11,16976%, 5,617694% e 4,124429% respectivamente, não foram significativos. Os dados referentes a estes parâmetros são apresentados na figura 16 (a, b, c).

FIGURA 16 – EXAMES BIOQUÍMICOS MÃES



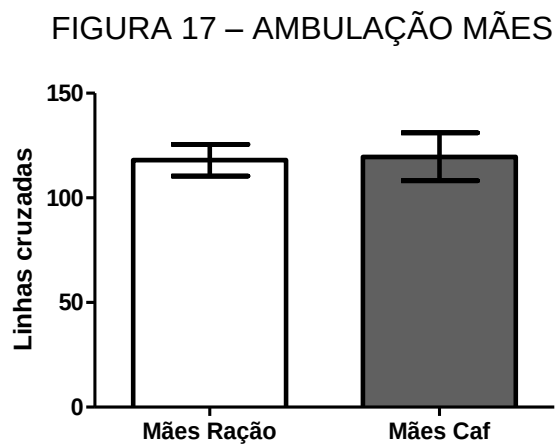
Fonte: A autora.

Figura 16. Dosagens sanguíneas de (a) glicose, (b) colesterol total e (c) triglicérides em relação aos grupos. Dados expressos como média ± EPM. Não houve diferença estatística (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.1.3 Testes comportamentais

5.1.3.1 *Teste Campo Aberto*

Conforme apresentado na figura 17, não foi observada diferença estatística entre os grupos na ambulação no CA.

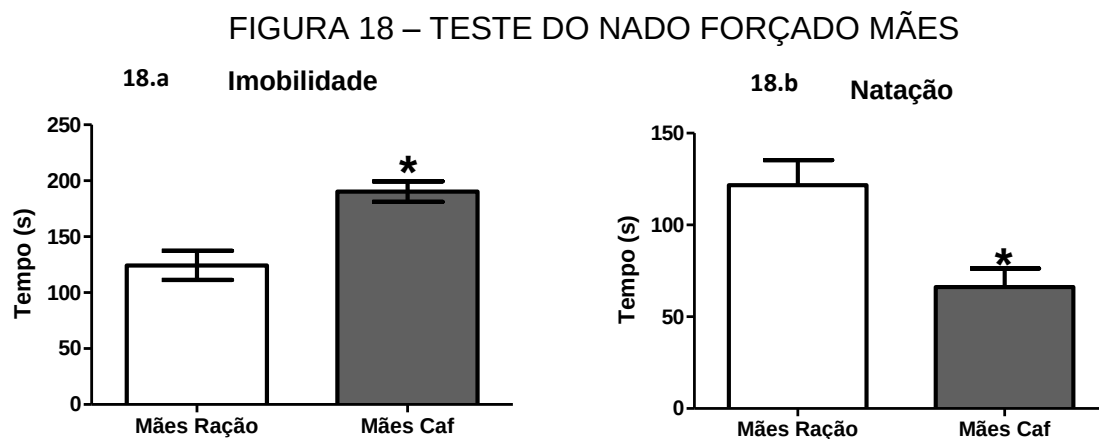


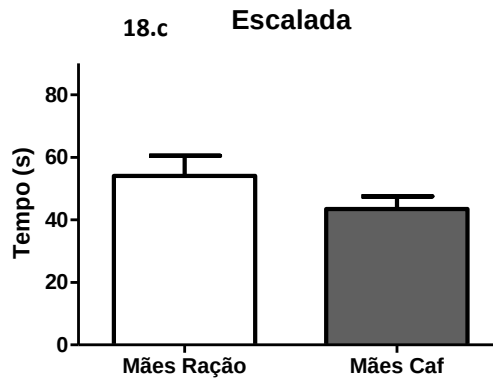
Fonte: A autora.

Figura 17. Linhas cruzadas no teste de campo aberto das ratas mães em relação aos grupos. Dados expressos como média ± EPM. Não houve diferença estatística (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.1.3.2 *Teste do Nado Forçado*

No teste de NF, o grupo Mães Caf apresentou um tempo de imobilidade maior e um tempo de natação menor em relação ao grupo Mães Ração, com $p \leq 0,05$. Não foi verificado diferença no parâmetro tempo de escalada. Os dados referentes ao teste de NF são apresentados na figura 18 (a, b, c).





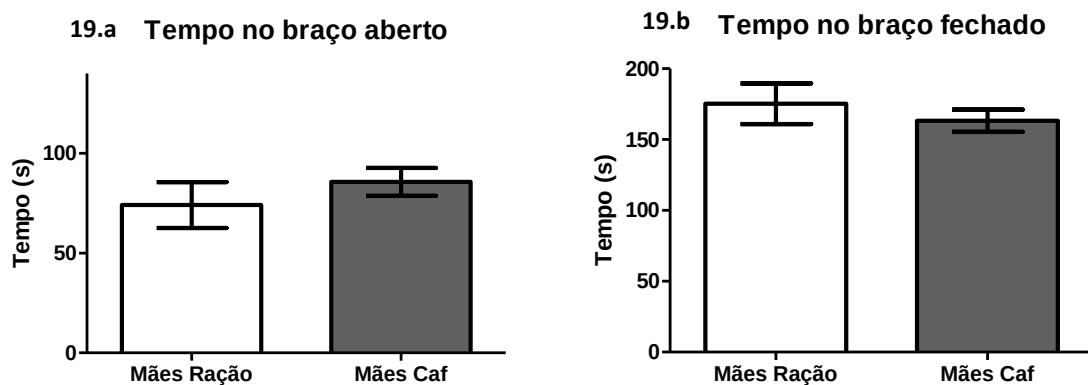
Fonte: A autora.

Figura 18. Teste de nado forçado das ratas mães, (a) imobilidade, (b) natação, (c) escalada. Dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Mães Ração (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.1.3.3 Teste Labirinto Cruz Elevado

No teste de LCE das ratas mães, não foi observada diferença estatística significativa nos parâmetros tempo no braço fechado e tempo no braço aberto. Os dados estão apresentados na figura 19 (a, b).

FIGURA 19 – TESTE DE LABIRINTO CRUZ ELEVADO MÃES



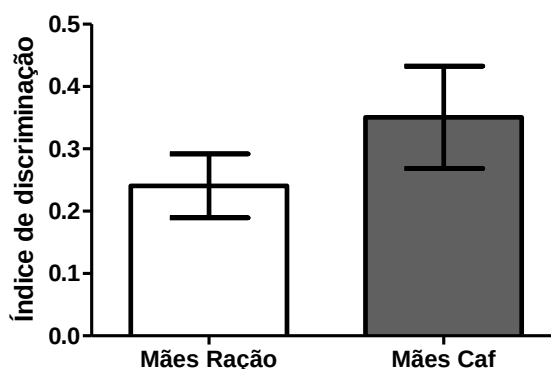
Fonte: A autora.

Figura 19. Teste de labirinto cruz elevado das ratas mães, (a) tempo no braço aberto, (b) tempo no braço fechado, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.1.3.4 Teste Reconhecimento de Objetos

Como observado na figura 20, no TRO das ratas mães, não foi observado diferença estatística significativa entre os grupos.

FIGURA 20 – TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS MÃES



Fonte: A autora.

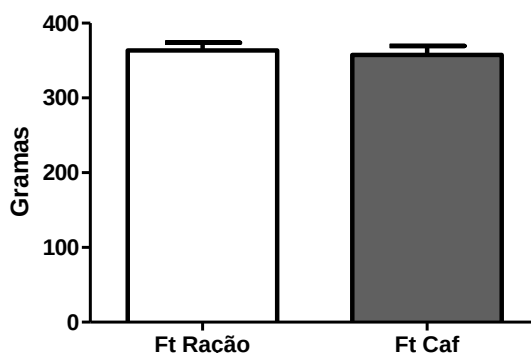
Figura 20. Teste de reconhecimento de objetos das ratas mães, índice de discriminação, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística (Teste T de Student). (Mães Ração, N-12; Mães Caf, N-11).

5.2 FILHOTES

5.2.1 Dados biométricos

Não houve diferença no peso final e nos estoques de gorduras mesentérica, perigonadal e retroperitoneal quando avaliados isoladamente. Contudo, a análise do índice de adiposidade indica maior acúmulo de gordura dos animais Ft Caf. Os gráficos referentes a estes dados são apresentados nas figuras 21 a 23.

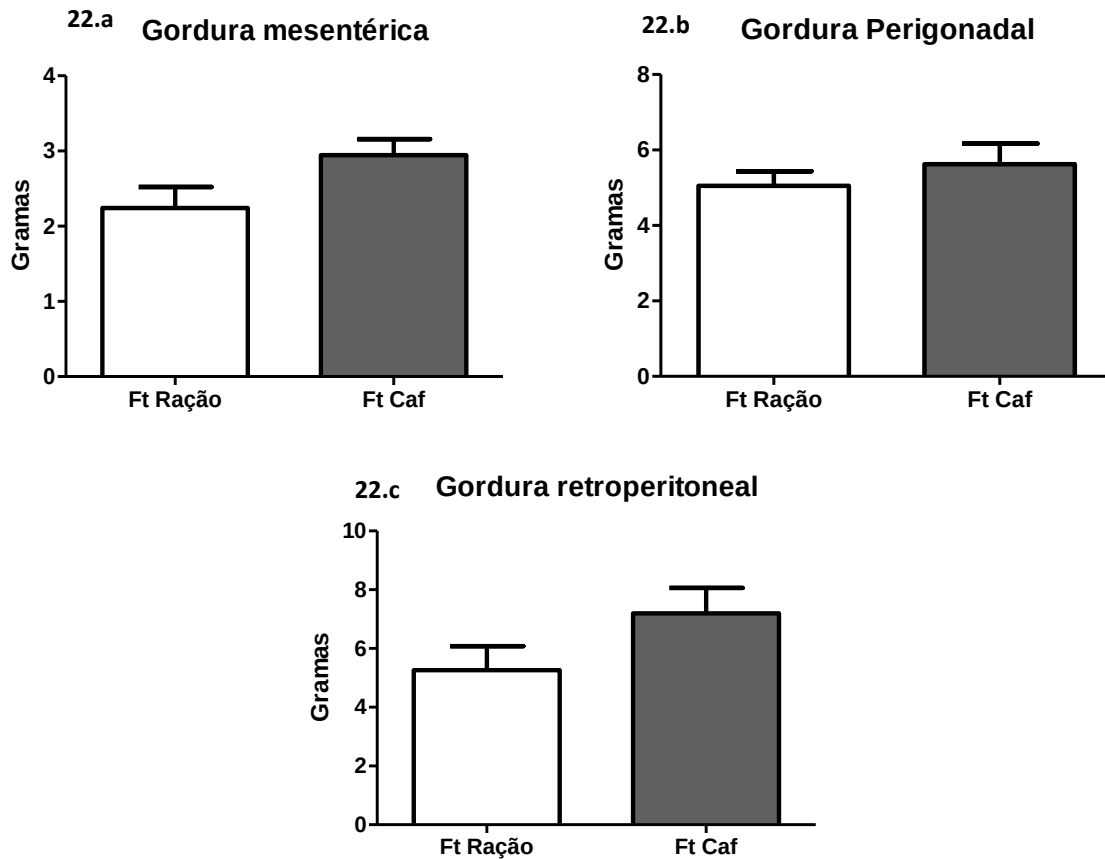
FIGURA 21 – PESO FINAL FILHOTES



Fonte: A autora.

Figura 21. Peso final dos filhotes, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística entre os grupos (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

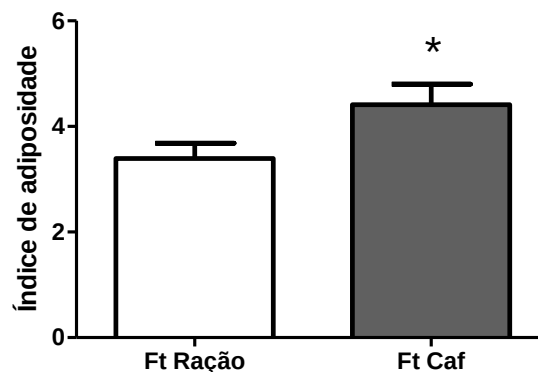
FIGURA 22 – PESO DOS ESTOQUES DE GORDURAS FILHOTES



Fonte: A autora.

Figura 22. Peso dos estoques de gorduras dos filhotes, (a) mesentérica, (b) perigonadal, (c) retroperitoneal, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

FIGURA 23 – ÍNDICE DE ADIPOSIDADE FILHOTES



Fonte: A autora.

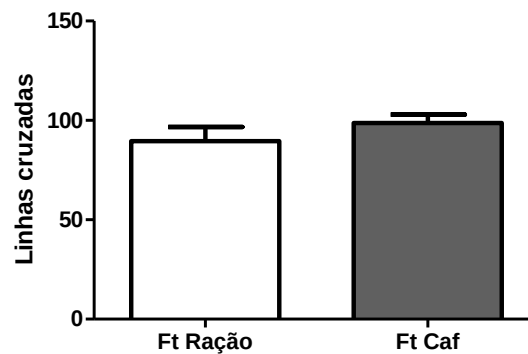
Figura 23. Índice de adiposidade corporal dos filhotes, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Mães Ração (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

5.2.2 Testes comportamentais

5.2.2.1 *Teste Campo Aberto*

No parâmetro ambulação, não houve diferença estatística significativa entre os grupos (Figura 24).

FIGURA 24 – AMBULAÇÃO FILHOTES



Fonte: A autora.

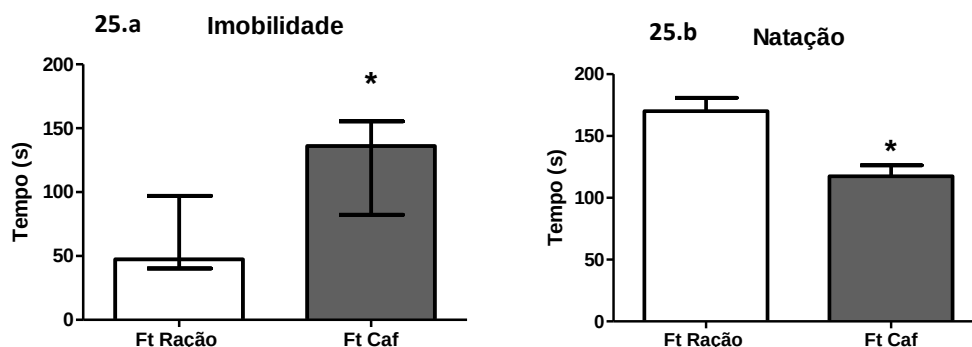
Figura 24. Ambulação dos filhotes no campo aberto. Número de linhas cruzadas (eixo y) no período de 5 minutos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística entre os grupos (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

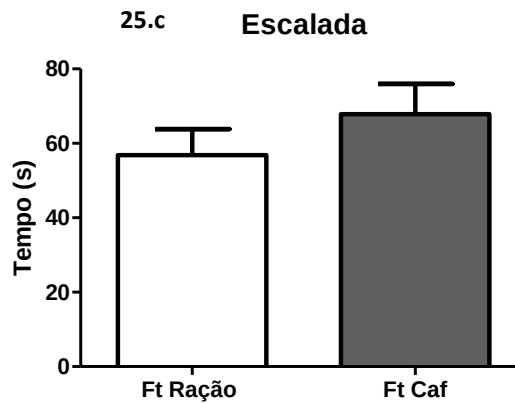
5.2.2.2 *Teste de Nado Forçado*

O grupo Ft Caf apresentou maior tempo de imobilidade em relação ao grupo Ft Ração (teste U de Mann-Whitney). Isso se refletiu em um menor tempo de natação, quando comparado ao grupo Ft Ração, não havendo diferença nos tempos de escalada (teste T de Student).

Os dados referentes ao teste de NF são apresentados na figura 27 (a, b, c).

FIGURA 25 – TESTE NADO FORÇADO FILHOTES





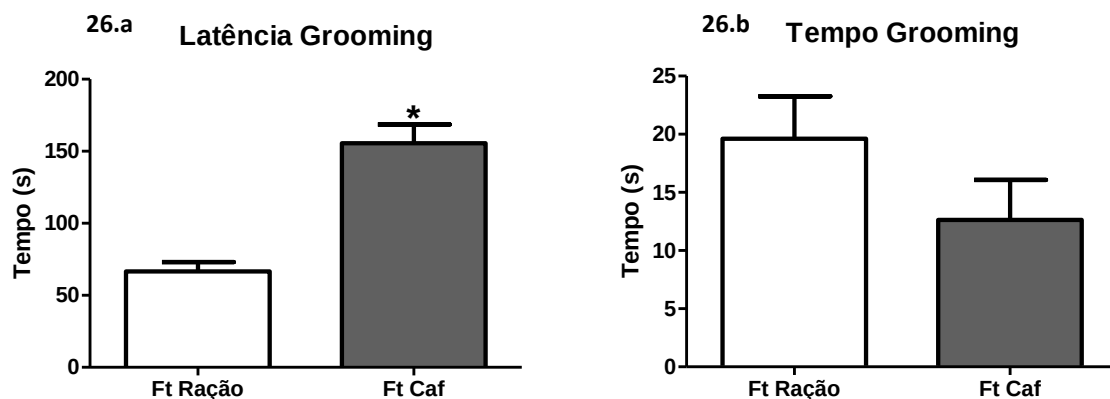
Fonte: A autora.

Figura 25. Teste de nado forçado, (a) imobilidade, (b) natação e (c) escalada, em relação aos grupos. Teste U de Mann-Whitney (a), dados expressos como mediana $\pm$ intervalos inter quartis e teste T de Student (b, c), dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Ft Ração. (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

5.2.2.3 *Splash Test*

No *splash test*, foi observado um aumento no tempo de latência do grooming no grupo Ft Caf em relação ao Ft Ração. Não foi observada diferença no tempo de grooming entre os grupos. Dados apresentados na figura 26 (a, b).

FIGURA 26 – *SPLASH TEST* FILHOTES



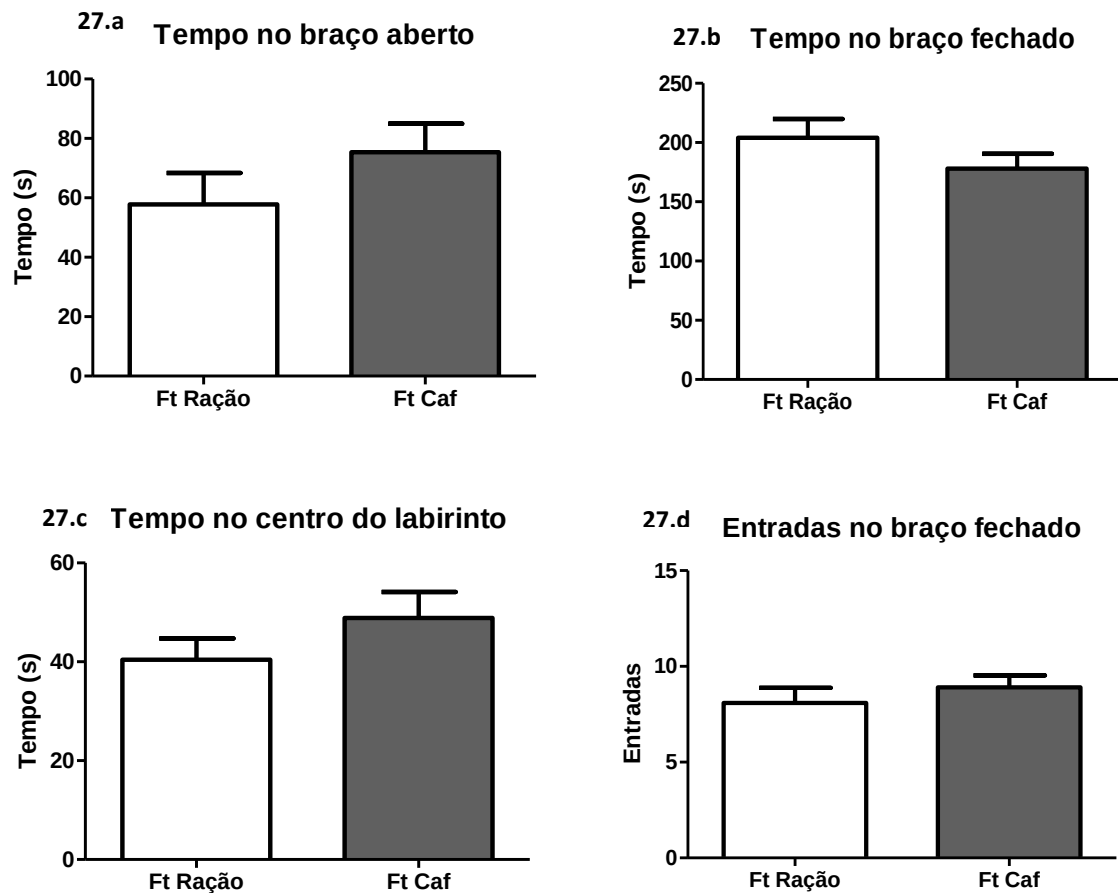
Fonte: A autora.

Figura 26. *SplashTest* filhotes, (a) latência grooming, (b) tempo grooming, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo Ft Ração (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

5.2.2.4 Teste Labirinto Cruz Elevado

No teste de LCE não foi observada diferença estatística entre os grupos. Os dados referentes ao teste são apresentados na figura 27 (a, b, c, d).

FIGURA 27 – TESTE LABIRINTO CRUZ ELEVADO FILHOTES



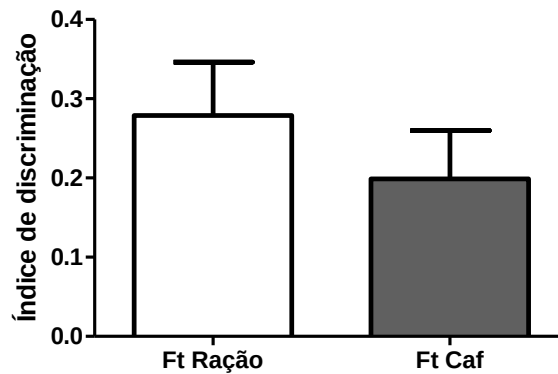
Fonte: A autora.

Figura 27. Teste de labirinto cruz elevado filhotes, (a) tempo no braço aberto, (b) tempo no braço fechado, (c) tempo no centro do labirinto, (d) entradas no braço fechado, em relação aos grupos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística entre os grupos (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

5.2.2.5 Teste Reconhecimento de Objetos

Como observado na figura 28, não houve diferença estatística entre os grupos no TRO.

FIGURA 28 – TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS FILHOTES



Fonte: A autora.

Figura 28. Índice de discriminação no Teste de reconhecimento de objetos. Dados expressos como média $\pm$ EPM. Não houve diferença estatística entre os grupos (Teste T de Student). (Ft Ração, N-12; Ft Caf, N-12).

6. DISCUSSÃO

6.1 MÃES

A ingestão da DCaf foi eficiente em induzir obesidade nos animais, visto que provocou um aumento significativo no peso corporal deste grupo a partir da 5ª semana de dieta. Esse aumento de peso foi causado pelo aumento nos estoques de gordura mesentérica, retroperitoneal e periovariana. Também foi observada diferença com relação ao índice de adiposidade corporal em relação ao peso final dos animais. Assim, pode-se inferir que a principal diferença entre as condições de gestação dos filhotes dos dois grupos foi a obesidade materna.

A DCaf contém alimentos de alta palatabilidade, com um elevado aporte calórico. Esse tipo de dieta contém baixo teor de proteínas, fibras alimentares e micronutrientes, elevado teor de carboidratos simples, provenientes do uso de cereais refinados e grandes quantidades de gordura, principalmente ácidos graxos saturados ou trans (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005);

A DCaf em ratos é considerada um modelo adequado de obesidade humana, usado para indução de SM. Entretanto, a reprodução deste modelo se torna dificultada devido a não padronização de alimentos e seus componentes, com isso, a quantidade de alimentos e energia consumida por esses animais pode variar substancialmente (LANG *et al.*, 2019), explicando a divergência encontrada em diversos trabalhos, onde alguns animais desenvolvem algumas alterações bioquímicas diferente de outros.

Além do aumento dessas variáveis, também foi observado uma maior ingesta calórica (figura 10) nos animais alimentados com DCaf em comparação ao grupo ração, o que pode ter contribuído para o desenvolvimento da obesidade nesses animais. Dados semelhantes também foram encontrados em outros estudos (SAMPEY *et al.*, 2011; SCLAFANI *et al.*, 1976; STACI; VERNE, 2010).

Os alimentos palatáveis, ricos em gordura e açúcar, aumentam a ingesta de alimentos, ativando o “sistema de recompensa”. Analisando pelo ponto de vista evolutivo, os alimentos ricos em gordura e açúcar são atraentes devido a rapidez em serem convertidos em energia. O consumo excessivo de alimentos palatáveis pode ser comparado à toxicodependência, onde uma série de adaptações levam a uma mudança nos pontos de fixação homeostáticos, mudando gradualmente o ponto de

equilíbrio energético e o peso corporal (ERLANSO-ALBERTSSON, 2005). A DCaf promove hiperfagia voluntária, ganho de peso rápido e aumento dos estoques de gordura (LANG *et al.*, 2019).

Em relação aos índices de Lee (figura 13), as Mães Caf obtiveram uma média de 0,305, enquanto as Mães Ração obtiveram uma média de 0,303, que não foram diferentes. O trabalho de Nery, onde cita Bernardis e Patterson (1968), sugere que o índice de Lee maior que 0,3 pode ser usado como indicador do excesso de gordura corporal (NERY *et al.*, 2011). Entretanto, como pôde ser observado nos valores dos depósitos de gordura, reforça-se que o índice de Lee não deve ser o único fator considerado para a determinação de obesidade, e sim deve ser associado a outros dados biométricos.

Os testes bioquímicos de glicemia, colesterolemia e trigliceridemia (figura 16), não apresentaram diferença entre os grupos, evidenciando que, apesar de as Mães Caf desenvolverem obesidade, não foi possível confirmar o desenvolvimento de SM. Entretanto não descartamos a hipótese de que os animais estivessem em desenvolvimento da SM.

Uma hipótese para a não alteração nos valores de glicose seria o aumento da secreção de insulina, o que seria capaz de manter a normoglicemia (HALL, 2017). Contudo, a insulinemia não foi mensurada no presente trabalho. Desta forma, é possível que uma SM estivesse em desenvolvimento, e que com o prolongamento da DCaf fosse possível evidenciar uma hiperglicemia ou dislipidemia.

Dietas com alto teor de gordura induzem a resistência à insulina, podendo reduzir a penetração da insulina através da barreira cerebral, que do ponto de vista da regulação do apetite significa saciedade suprimida (ERLANSO-ALBERTSSON, 2005). A insulina tem um papel importante na modulação da atividade de várias enzimas, sua secreção está associada à abundância de energia. Quando existe grande quantidade de alimentos muito energéticos na dieta, em especial quantidades excessivas de carboidratos, a secreção aumenta (ERLANSO-ALBERTSSON, 2005; HALL, 2017). Imediatamente após as refeições ricas em carboidratos, a glicose absorvida para o sangue causa secreção rápida de insulina, por sua vez, a insulina causa a captação, armazenamento e utilização da glicose por quase todos os tecidos do organismo, mas em especial pelos músculos, pelo tecido adiposo e pelo fígado

(HALL, 2017). Com o ganho de peso e obesidade, pode ocorrer a resistência à insulina.

A insulina também está relacionada à saciedade agindo em receptores no cérebro enquanto as ações anabólicas ocorrem periféricamente (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005). A insulina passa a barreira hematencefálica e age em receptores específicos para influenciar homeostase calórica (WOODS *et al.*, 2003). A passagem de insulina através da barreira hematencefálica é diminuída após uma refeição rica em gordura em comparação com uma refeição com baixo teor de gordura, levando a uma saciedade reduzida (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005)

No trabalho de Didek e colaboradores (2019), os animais tratados com a mesma DCaf, apresentaram diferença nos exames bioquímicos de glicose, triglicérides e colesterol. Devemos levar em consideração que os animais são diferentes, visto que no trabalho de Didek foram utilizados ratos machos, enquanto no presente trabalho foram utilizadas ratas fêmeas. Ainda, as ratas deste trabalho passaram pelo processo de prenhez e lactação antes do recolhimento das amostras. Outra situação que deve ser levada em consideração para a diferença nos valores bioquímicos é, apesar de ter sido exposto o mesmo tipo de alimentação durante as semanas, não existe uma padronização de marcas, podendo o mesmo alimento ter valores diferentes de referência em marcas diferentes.

Uma dieta rica em gordura causa aumento da secreção da leptina e aumento do peso corporal (20%) em comparação com a dieta padrão. Concentrações elevadas de leptina podem ser observadas em indivíduos obesos, demonstrando uma incapacidade da leptina de inibir a ingestão de alimentos desses indivíduos. Essa condição é conhecida como resistência à leptina. Este aumento sustentado dos níveis de leptina sugere que esse tipo de dieta muda o “ponto de ajuste” para o peso corporal / gordura corporal, restringindo a ação da leptina. Outras explicações para o desenvolvimento da resistência à leptina seria a capacidade prejudicada da leptina passar a barreira hematencefálica, ou ainda a inibição da sinalização pós-receptor (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005). No presente trabalho, não se quantificou a leptina, então não se pode afirmar se os animais apresentaram uma resistência a leptina ou não.

Em relação aos testes comportamentais, considerando os resultados obtidos no teste de CA (figura 17), não houve diferença estatística significativa entre os

grupos, indicando portanto, que a mobilidade dos animais não foi afetada pela obesidade induzida pela DCaf, semelhante ao encontrado no trabalho de Gancheva e colaboradores, (2017).

Com relação ao teste de NF realizado pelas mães (figura 18), observou-se que o grupo Mães Caf, quando comparado ao grupo Mães Ração, apresentou um comportamento do tipo depressivo, devido o maior tempo de imobilidade, e menor tempo de natação, este último, podendo estar relacionado ao sistema serotoninérgico.

Esse comportamento tipo depressivo pode ter a obesidade como causa, uma vez que ambas estão associadas a inflamações crônicas e de baixo grau. Isso é caracterizado pelo aumento das citocinas pró-inflamatórias circulantes, valores de leucócitos alterados no sangue, acúmulo de células imunes em tecidos, incluindo o cérebro, e ativação dessas células imunes.

A ingestão de dieta com alto teor de açúcar e gordura saturada aumenta a inflamação sistêmica e no hipotálamo, o que pode ser fundamental para o desenvolvimento de alterações metabólicas associadas à obesidade. A inflamação sistêmica também é transferida para regiões cognitivas do cérebro, podendo diminuir a plasticidade neuronal via regulação do BDNF (MOLTENI *et al.*, 2002; STACI; VERNE, 2010).

Este estado inflamatório pode induzir a depressão, devido um aumento do estresse oxidativo. A peroxidação lipídica parece desempenhar um papel em alterações induzidas pela dieta relacionadas a transtornos comportamentais (GRASES *et al.*, 2019). O estresse e a peroxidação reduzem a síntese de neurotransmissores e a transdução de sinais. Modelos animais de obesidade e depressão revelaram uma relação bidirecional pela qual a alimentação de alto teor de gordura e o estresse crônico aumentam a desregulação metabólica e anormalidades comportamentais (CHAN *et al.*, 2019).

Níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF- α e IL-6 foram observados em pacientes que sofrem de transtornos neuropsiquiátricos (MALLIN *et al.*, 2003), assim como o aumento de IL-1 β central está associado a várias condições neuroinflamatórias (STACI; VERNE, 2010). Tais citocinas estimulam agudamente a neurotransmissão serotoninérgica, mas a longo prazo reduzem a expressão de receptores de serotonina e estimulam a enzima indoleamina 2,3-dioxygenase, a qual converte triptofano, o precursor de 5-HT, em quinurenina. A superestimulação dessa

enzima leva a diminuição de concentrações de triptofano do plasma levando a síntese reduzida de 5-HT no cérebro.

É conhecido que citocinas inflamatórias, como o TNF- α e a IL-1 β são capazes de estimular a recaptação de 5-HT, efeito oposto ao dos fármacos antidepressivos. O TNF- α pode aumentar tanto a expressão quanto a atividade de transportadores de 5-HT em células em cultivo de glioma e em astrócitos primários de ratos (MALYNN *et al.*, 2013), além de estimular a atividade desses mesmos transportadores em células de rafe *in vitro*, assim como em sinaptossomas de tronco encefálico e estriado de camundongos (Zhu *et al.*, 2006). Ainda, foi demonstrado que essas citocinas estimulam a indolamina 2,3-dioxigenase, reduzindo a síntese de 5-HT (WICHERS; MAES, 2002). Desta forma, a redução da síntese de 5-HT pode estar ligada ao comportamento depressivo observado pelos animais obesos.

Segundo alguns autores, com relação ao teste de NF, o aumento no tempo de escalada está relacionado à antidepressivos noradrenérgicos enquanto que os antidepressivos que aumentam a neurotransmissão serotoninérgica aumentam predominantemente o tempo de natção (BOGDANOVA *et al.*, 2013; Cryan *et al.*, 2005; CASTAGNE *et al.*, 2009), com isso, um menor tempo de natção poderia ser indicativo de uma diminuição nos valores de 5-HT.

Além do sistema serotoninérgico, citocinas pró-inflamatórias, como o interferon- α , afetam a atividade do eixo HPA, uma vez que esses sistemas mostram ampla interconectividade, permitindo interações entre eles. Com isso pode-se supor que uma perturbação em um desses sistemas também afeta outros sistemas. Mudanças como o aumento da atividade noradrenérgica, aumento da atividade HPA e diminuição da disponibilidade cerebral de 5 HT, causada por citocinas pró-inflamatórias, são os mecanismos observados em pacientes com depressão, sugerindo que citocinas podem induzir a depressão por seu efeito sobre o sistema serotoninérgico, sistema noradrenérgico e o eixo HPA (WICHERS; MAES, 2002).

Ainda, a obesidade pode causar alterações na microbiota intestinal. Estas alterações afetam a permeabilidade intestinal e a ativação resultante das vias de sinalização imunológica contribui para uma resposta inflamatória crônica e de baixo grau que está associada a um risco maior de doenças associadas a obesidade (COX *et al.*, 2014).

Hormônios produzidos pelo tecido adiposo também podem estar envolvidos, como por exemplo a adiponectina. Existem 3 receptores para a adiponectina, sendo eles: receptores de Adiponectina 1 (AdipoR1), receptor de Adiponectina 2 (AdipoR2) e T-caderina. Estudos indicam que o AdipoR1 e AdipoR2 são importantes para regular os níveis basais de glicose e a sensibilidade à insulina. No SNC, AdipoR1 e AdipoR2 estão presentes em diversas regiões do cérebro, incluindo: hipotálamo, tronco cerebral, hipocampo e córtex, apresentando propriedades neuroprotetoras e antidepressivas (BLOEMER *et al.*, 2018). Uma meta-análise demonstrou uma significativa redução nos valores de adiponectina plasmática em pacientes com depressão em comparação com aqueles sem a desordem (HU *et al.*, 2015).

Existe uma possível relação entre os mecanismos da adiponectina à fisiopatologia dos transtornos de ansiedade e / ou depressão. Algumas hipóteses seriam: a adiponectina reduz a produção do TNF- α , que normalmente ativa o eixo HPA, e induz a produção de diversas citocinas anti-inflamatórias, causando a hiperatividade do eixo HPA que poderia estar relacionada a depressão, ou reduzindo a disponibilidade de 5-HT, como descrito anteriormente (BLOEMER *et al.*, 2018).

Não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos no teste de LCE (figura 19). Esse resultado indica que, apesar de envolver mecanismos comuns, a obesidade induzida pela DCaf não causou comportamento do tipo ansioso nesses animais.

Assim como no teste de LCE, também não foi observada diferença estatística entre os grupos no teste de reconhecimento de objetos (figura 20). A memória de curto prazo não foi alterada pela obesidade, semelhante ao encontrado no trabalho de Gancheva e colaboradores (2017).

6.2 FILHOTES

Com relação aos dados biométricos dos filhotes, não foi observada diferença com relação ao peso final e os estoques de gorduras isolados. Isso pode ser explicado devido as massas das gorduras serem muito baixas e as variações serem modestas. Contudo, quando calculado o índice de adiposidade corporal, a diferença entre os grupos foi observada. Isto indica que, neste trabalho, a DCaf oferecida às mães foi capaz de aumentar os estoques de gorduras dos filhotes. Esse aumento foi discreto

quando as gorduras foram analisadas individualmente, mas a soma delas em relação ao peso corporal foi significativamente maior.

No trabalho de Staci e Verne (2010), foi observado que filhotes de mães expostas a uma dieta com alto teor de gordura saturada e gordura trans, apresentaram um maior peso corporal e níveis aumentados de leptina ao nascer quando comparado ao grupo controle. Assim, pode se propor a hipótese de que, nos animais deste trabalho, houve a passagem pela placenta de hormônios associados à obesidade materna, que afetaram o metabolismo dos filhotes, mesmo depois de adultos.

Com relação aos testes comportamentais, sua interpretação foi facilitada pelo fato de não haver diferença entre os grupos na ambulação no teste do CA (figura 24). Ou seja, a dieta das mães não alterou o padrão motor dos filhotes.

Já houve apresentação de resultados diferentes. Os trabalhos de Wright e colaboradores (2011) e Tozuka e colaboradores (2010) mostraram que filhotes de mães obesas, quando na idade adulta, apresentaram atividade locomotora maior do que os filhotes de mães controle. O de Tozuka também avaliou filhotes na puberdade onde não foi encontrada diferença entre os grupos. A diferença entre os resultados obtidos pode ser devida as ratas mães do presente trabalho não estarem com SM bem estabelecida, pois não apresentaram alterações bioquímicas no sangue.

No teste de NF (figura 25) e no *splash test* (figura 26), foi observado que a dieta das mães interferiu no comportamento dos filhotes. Os Ft Caf apresentaram um comportamento do tipo depressivo, apresentando um tempo de imobilidade maior e tempo de natação menor quando comparados ao grupo Ft Ração, o que pode ser interpretado como “desespero comportamental” (HU *et al.*, 2017). Este comportamento foi observado também no *splash test*, onde os Ft Caf apresentaram um tempo de latência para início do grooming maior quando comparado ao grupo Ft ração, demonstrando um desinteresse em reagir à situação exposta (solução glicosada), o que pode ser interpretado como uma perda de comportamento motivacional e está ligado ao sintoma de apatia (HU *et al.*, 2017). Os dois sintomas apresentados (desespero e apatia) estão presentes no transtorno depressivo em humanos. Semelhante aos resultados encontrados nas mães, a alteração no parâmetro natação indica relação com a via serotoninérgica (BOGDANOVA *et al.*, 2013).

Os hormônios apresentam um importante papel na regulação do crescimento e desenvolvimento normal no útero, e suas concentrações e mudanças de bioatividade podem causar programação intrauterina. Diversos fatores como desnutrição, hipoxemia e estresse, assim como alimentação materna de gordura e manipulação dietética de micronutrientes específicos, podem alterar as concentrações maternas e fetais de muitos hormônios, incluindo hormônio do crescimento, insulina, glicocorticoides (GC), catecolaminas, leptina, entre outros. Como alguns desses hormônios cruzam a placenta, a resposta endócrina fetal a condições adversas reflete a atividade das glândulas endócrinas maternas e fetais e depende do tipo, duração, gravidade e idade gestacional no início do insulto (FOWDEN *et al.*, 2006).

Filhotes de mães expostas a uma dieta com alto teor de gordura saturada e gordura trans, apresentaram um aumento periférico (em fígado, gordura e soro) na concentração de citocinas, como a IL-1 β , na idade adulta (STACI; VERNE, 2010). Como já discutido em relação às mães, as citocinas inflamatórias podem reduzir a disponibilidade de 5-HT e ativar o eixo HPA, influenciando no comportamento.

Níveis elevados de hormônios do estresse materno (por exemplo, cortisol) e outros mediadores de estresse biológico (por exemplo, IL-6) em toda a gestação estão associados a alterações na estrutura cerebral da prole, conectividade e problemas comportamentais (LINDSAY *et al.*, 2019), o que pode explicar o comportamento do tipo depressivo nos filhotes.

Alguns hormônios são conhecidos por regular o desenvolvimento fetal, e os GC são considerados os mais propensos a ter efeitos de programação generalizada no útero. Estes são inibidores de crescimento e afetam o desenvolvimento de todos os tecidos e sistemas de órgãos que apresentam um maior risco de doenças quando o crescimento fetal é prejudicado. A superexposição fetal a GC endógenos ou exógenos, em ratos cobaias e ovelhas, leva à anormalidades na função do eixo HPA após nascimento, hipertensão e intolerância à glicose (FOWDEN *et al.*, 2006).

O principal hormônio GC circulante em humanos é o cortisol, enquanto no rato é a corticosterona. Este é essencial para o desenvolvimento fetal normal e maturação tecidual. Os níveis de cortisol materno circulante aumentam cerca de três vezes durante a gravidez. Embora os GC sejam lipofílicos e, acredite-se que cruzem livremente a placenta, os níveis de cortisol fetal são 5- a 10 vezes mais baixos que os níveis maternos. Isso acontece devido à atividade da enzima placentária 11- β -

hidroxisteroide desidrogenase-tipo 2 (11 β -HSD2), que catalisa a conversão de cortisol ativo em cortisona inativa (STIRRAT *et al.*, 2017).

O mesmo trabalho de Stirrat e colaboradores (2017) demonstrou que a 11 β -HSD2 age como uma grande "barreira" para a transferência de cortisol para o feto, e mostram evidências preliminares da produção local de cortisol dentro da placenta. Também foi demonstrado que a atividade de 11 β -HSD2 se mostra diminuída nas últimas 2 semanas antes da parturição. A partir do exposto, não se sabe qual seria a capacidade de 11 β -HSD2 se exposta a altos níveis de GC maternos por períodos mais prolongados.

A alteração do eixo HPA é observada em várias condições, incluindo depressão e obesidade. A resistência do GC e a dessensibilização dos receptores GC periféricos estão ligados aos casos de alterações do eixo HPA vista na depressão, e o GC desempenha um papel fundamental na regulação da inflamação (CHENG *et al.*, 2016), encontrada na obesidade. A superexposição fetal aos GC no útero está associada à restrição de crescimento intrauterino (STIRRAT *et al.*, 2017).

Os GC podem aumentar o apetite com preferência por alimentos energéticos, causar uma redistribuição do tecido adiposo branco para a região abdominal e suprimir a atividade de tecido adiposo marrom, resultando em obesidade abdominal e suas sequelas metabólicas adversas (visto em animais e *in vitro*). Com o aumento da obesidade, SM e doenças cardiovasculares, a ingestão de alimentos com alto índice glicêmico e níveis de estresse aumentam, enquanto as horas médias de sono diminuem. Todos fatores conhecidos por induzir aumento na produção diária de cortisol. Uma relação entre obesidade, estilo de vida não saudável e o aumento do cortisol pode levar a piora ou manutenção da obesidade e neutralizar a perda de peso (VAN ROSSUM, 2017).

Os achados no trabalho de Cheng e colaboradores (2016) demonstram que não há uma relação causal entre sintoma depressivo e o comprometimento relacionado à obesidade na regulação mediada por cortisol de processos inflamatórios, mas indicam a regulação de inflamação mediada por cortisol como um mecanismo compartilhado que sustenta a inflamação elevada na obesidade e um subconjunto de depressão.

No teste de LCE (figura 27), não houve diferença em relação ao tempo nos braços abertos, fechados e centro do labirinto, bem como não houve diferença no

número de entradas no braço fechado, indicando que a capacidade locomotora dos filhotes não foi alterada, como demonstrado também no teste de CA. A ausência de diferença nos tempos nos braços do labirinto indica que os Ft Caf não apresentaram um comportamento do tipo ansioso quando comparados aos Ft Ração.

Alguns estudos demonstram uma relação da dieta materna com comportamentos tipo ansioso nos filhotes (STACI; VERNE, 2010). Haveria uma associação entre a dieta materna e a 5-HT. No trabalho de Peleg-Raibstein e colaboradores (2012) foi observado um aumento da ansiedade no LCE em um modelo de alta alimentação materna de gordura, esse resultado seria devido à menor secreção de 5-HT no hipocampo ventral.

Não foi verificada diferença estatística significativa no TRO (figura 28), indicando que não houve diferença quanto a discriminação dos objetos, quanto a memória de curto prazo, no teste.

Apesar de não ter evidenciado um mecanismo, este trabalho traz forte indicação da capacidade de fatores relacionados ao desenvolvimento de obesidade materna causarem alterações comportamentais na sua prole.

7 CONCLUSÃO

Considerando que:

- A DCaf causou obesidade, mas não foi possível evidenciar SM nas mães.
- A DCaf causou comportamento tipo-depressivo no grupo Mães Caf.
- A DCaf não causou comportamento tipo-ansioso ou alteração de memória nas mães.
- A DCaf não alterou a motilidade nas mães.
- A obesidade materna causou aumento discreto nas reservas de lipídios dos filhotes.
- A obesidade materna causou comportamento tipo-depressivo nos filhotes.
- A obesidade materna não causou comportamento tipo-ansioso ou alteração de memória nos filhotes.
- A obesidade materna não alterou a motilidade nos filhotes.

Podemos concluir que as alterações metabólicas oriundas da obesidade materna foram capazes de influenciar o desenvolvimento uterino de seus filhotes, aumentando o acúmulo de lipídeos e provocando comportamento tipo depressivo também nas mães.

REFERÊNCIAS

- ALBERTI, G. *et al.* IDF Consensus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome. **International Diabetes Federation**, 2006.
- BERNARDIS L.L.; PATTERSON B.D. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v. 40, p. 527-528, 1968.
- BLOEMER, J. *et al.* Role of Adiponectin in Central Nervous System Disorders. **Neural Plasticity**, v. 2018, p. 15, jul.2018.
- BOGDANOVA, O.V. *et al.* Factors influencing behavior in the forced swim test. **Physiology & Behavior**, v. 118, p.227-239, maio.2013.
- BRANDÃO, A.P. *et al.* I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. São Paulo, v.84, n.1, abr.2006.
- CASTAGNE, V.; PORSOLT, R.D.; MOSER, P. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. **European Journal of Pharmacology**, v. 606, p.128-133, ago.2009.
- CASTILLO, A.R.G. *et al.* Transtornos de ansiedade. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, p. 20-23, 2000.
- CASTILLO, C.M. *et al.* Depression as a Neuroendocrine Disorder: Emerging Neuropsychopharmacological Approaches Beyond Monoamines. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2019, p. 20, jan.2019.
- CHAN, K.L.; CATHOMAS, F.; RUSSO, S.J. Central and Peripheral Inflammation Link Metabolic Syndrome and Major Depressive Disorder. **Physiology**, v. 34, p. 123-133, mar.2019.
- CHANG, G. *et al.* Maternal high-fat diet and fetal programming: Increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. **The Journal of Neuroscience**, v. 28, p. 12107-12119, nov.2008.
- CHENG, T. *et al.* Glucocorticoid mediated regulation of inflammation in human monocytes is associated with depressive mood and obesity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 66, p. 195-2014, jan.2016.
- COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. **Princípios Éticos na Experimentação Animal**. 1991.
- COUTINHO, W. Etiologia da Obesidade. **ABESO**, 2004.
- COX, A.J.; WEST, N.P.; CRIPPS, A.W. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. **The lancet diabetes & endocrinology**, v. 3, p. 207-215, mar.2015.

CRUJEIRAS, A.B. *et al.* Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. **Life Sciences**, v. 140, p. 57-63, nov.2015.

CRYAN, J.F.; VALENTINO, R.J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavior effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, p. 547-569, 2005.

DEAN, J.; KESHAVAN, M. The neurobiology of depression: An integrated view. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 27, p. 101-111, jan.2017.

DEL PORTO, J.A. Conceito e diagnóstico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 06-11, maio.1999.

DIDEK, D. *et al.* Association Between Exercise and Treatment with Liraglutide in Obese Rats by Cafeteria Diet. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, jun.2019.

DIEBERGER, A; *et al.* Maternal Lipid Concentrations during Early Pregnancy and Eating Behaviour and Energy Intake in the Offspring. **Nutrientes**, v. 10, ago.2018.

KUPFER, D.J; *et al.* **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**, Associação Brasileira de Psiquiatria, 5. ed, Porto Alegre: Editora Artmed, 2004.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. Spatial vs. non-spatial working memory. **Behavioural Brain Research**, v. 51, n. 1, p. 83–92, out.1992.

ERLANSON-ALBERTSSON, C. How Palatable Food Disrupts Appetite Regulation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 97, p. 61-73, jul.2005.

ESTADELLA, D. *et al.* Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v. 20, p. 218-224, fev.2004.

ESTRELA, D.C. *et al.* Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. **Physiology e Behavior**, v. 151, p. 252-263, nov.2015.

FOWDEN, A.L.; GIUSSANI, D.A.; FORHEAD, A.J. Intrauterine Programming of Physiological Systems: Causes and Consequences. **American Phytopathological Society**, Department Of Physiology, University Of Cambridge, Cambridge, v. 21, p. 29-37, fev.2006.

GANCHEVA, S.; GALUNSKA, B.; ZHELYAZKOVA-SAVOVA, M. Diets rich in saturated fat and fructose induce anxiety and depression-like behaviours in the rat: is there a role for lipid peroxidation? **International journal of experimental pathology**, p. 296-306, out.2017.

GRASES, G. *et al.* Possible relation between consumption of different food groups and depression. **BMC psychology**, v.7, mar.2019.

GUIMARÃES, D.E.D. *et al.* Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 20, n. 5, p. 549-559, set.2007.

HALL, K.D. A review of the carbohydrate-insulin model of obesity. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 71, p. 323-326, maio.2017.

HELM, K. *et al.* Neuronal connectivity in major depressive disorder: a systematic review. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 2018, p. 2715–2737, out.2018.

HU, C. *et al.* Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. **Plos One**, set.2017.

HU, Y.; DONG, X.; CHEN, J. Adiponectin and depression: A meta-analysis. **Biomedical Reports**, China, n. 3, p. 38-42, jan.2015.

HUNSAKER, M.R.; RAYMOND P.K. Evaluating the Differential Roles of the Dorsal Dentate Gyrus, Dorsal CA3, and Dorsal CA1 During a Temporal Ordering for Spatial Locations Task. **Hippocampus**, v. 18 p. 955–964, mai.2008.

INSERRA, A. *et al.* The Microbiota-Inflammasome Hypothesis of Major Depression. **Bio Essays**, v.40, jul.2018.

LANG, P. *et al.* Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. **Scientific Reports**, dez.2019.

LINDSAY, K.L. *et al.* The Interplay Between Nutrition and Stress in Pregnancy: Implications for Fetal Programming of Brain Development. **Biological Psychiatry**, v. 85, p. 135-149, jan.2019.

LI, X.N. *et al.* The role of leptin in central nervous system diseases. **Neuroreport**, v. 27, p. 350-355, mar.2016.

LIU, J. *et al.* The leptin resistance. Neural regulation of Metabolism. **Advances in experimental medicine and biology**, Springer, Singapore, v. 1090, p. 145-163, nov.2018.

LUZ, F; OLIVEIRA, M. Terapia cognitivo-comportamental da obesidade: uma revisão da literatura. **Periódicos Eletrônicos em Psicologia**, Aletheia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Canoas, n. 40, p. 159-173, abr.2013.

MALAFIA, A. *et al.* Indução de obesidade com sacarose em ratos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 26, n.1, p.17-21, 2013.

MALYNN S, CAMPOS-TORRES A, MOYNAGH P, HAASE J. The pro-inflammatory cytokine TNF- α regulates the activity and expression of the serotonin transporter (SERT) in astrocytes. **Neurochem**, v. 38, p. 694-704, 2013.

Mapa da Obesidade. **Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica – ABESO**. Disponível em: [https:// abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/](https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/). Acesso em: 22, agosto de 2019.

MELO, E.M. Doenças Desencadeadas ou Agravadas pela Obesidade. **ABESO**, 2011. Disponível em: [https:// abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/5521afaf13cb9.pdf](https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/5521afaf13cb9.pdf). Acesso em: 22, agosto de 2019.

MELO, E.M. Ganho de Peso na Gestação. **ABESO**, 2011. Disponível em: [https:// abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/5521b01341a2c.pdf](https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/5521b01341a2c.pdf). Acesso em: 22, agosto de 2019.

MEZADRI, T.J; TOMÁZ, V.A; AMARAL, V.L. **Animais de Laboratório: Cuidados na Iniciação Experimental**, Florianópolis: Editora da UFSC, 2004.

MOLTENI, R. *et al.* A High-fat, Refined Sugar Diet Reduces Hippocampal Brain-derived Neurotrophic Factor, Neuronal Plasticity, and Learning. **Neuroscience**, v. 112, n. 4, p. 803-814, 2002.

MORATO, S. O Papel da Visão na Aversão aos Espaços Abertos no Labirinto em Cruz Elevado. **Psicologia USP**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 159-174, 2006.

MOURÃO, C.A.J.; FARIA, N.C. Memória. **Psychology /Psicologia Reflexão e Crítica**, v. 28, n. 4, p. 780-788, 2014.

NERY, C.S. *et al.* Medidas Murinométricas e Eficiência Alimentar em Ratos Provenientes de Ninhadas Reduzidas na Lactação e Submetidos ou Não ao Exercício de Natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v.17, n.1, p.49-55, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS) / ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DA SAÚDE. **Depressão: O que você precisa saber**. 2016–2017.

PAREKH, R. What are Anxiety Disorders. **American Psychiatric Association**, jan.2017.

PELEG-RAIBSTEIN, D.; LUCA E.; WOLFRUM, C. Maternal high-fat diet in mice programs emotional behavior in adulthood. **Behavior Brain Research**, v. 223, p. 398-404, ago.2012.

PELOW, A. *et al.* Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p.147-167, ago.1985.

PENG, S. *et al.* BDNF as a Biomarker in Diagnosis and Evaluation of Treatment for Schizophrenia and Depression. **Discovery Medicine**, out.2018.

PINTO, W.B.V.R. *et al.* Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais.

Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório, v. 1, n. 1, p. 102-120, jan.2012.

RANG, H.P. *et al.* **Farmacologia**, 8. ed, Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2016.

SAMPEY, B. P. *et al.* Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. **Obesity (Silver Spring)**, v. 19, n. 6, p. 1109-1117, jun, 2011.

SCLAFANI A.; SPRINGER D. Dietary obesity in adult rat: similarities to hypothalamic and human obesities. **Physiology. Behavior**, v. 17, p. 461–471, set.1976.

SMOLINSKY , A.N. *et al.* Analysis of Grooming Behavior and Its Utility in Studying Animal Stress, Anxiety, and Depression. **Springer Protocols**, v. 42, p. 21-36, out.2010.

SOARES, T.S. *et al.* Effect of the induction of transgenerational obesity on maternal-fetal parameters. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, v. 64, 2017.

STACI, D.B.; VERNE T. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **The FASEB Journal**, fev.2010.

STIRRAT, L.I. *et al.* Transfer and Metabolism of Cortisol by the Isolated Perfused Human Placenta. **The Journal Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 103, p. 640-648.

STOLARCZYK, E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 35-40, ago.2017.

TOZUKA Y., *et al.* Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring. **Neurochemistry International**, v. 57, p. 235–247, out.2010.

VAN ROSSUM, E.F. Obesity and cortisol: New perspectives on an old theme. **Obesity**, v. 25, p. 500-501, fev.2017.

WICHES, M; MAES, M. 18. The psychoneuroimmuno-pathophysiology of cytokine-induced depression in humans. **Int Journal Neuropsychopharmacol**, v. 5, p.375-388, 2002.

WOODS, S.C. *et al.* Insulin and the blood-brain barrier. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, p. 795-800, 2003.

ZALLAR, B.; HASLBERGER, A.; PETERLI, B. The role of microbiota in depression: a brief review. **Psychiatria Danubina**, v. 30, n. 2, p. 136-141, maio.2018.

ZHU, C; BLAKELY, R.D.; HEWLETT A. The Proinflammatory Cytokines Interleukin-1beta and Tumor Necrosis Factor-Alpha Activate Serotonin Transporters. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, p.2121-2131, fev.2006.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO CEUA 1

UEPG

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA DO USO DE ANIMAL****CARTA DE APROVAÇÃO**

Processo/ Process CEUA – 030/2018
Protocolo UEPG – 10290/2018

Título – *“Projeto de pesquisa “Influência da síndrome metabólica em ratas prenhas no comportamento e na resposta ao citalopram nos filhotes” -*

Interessada: Gabrielle Medeiros Bertolo e Prof. Marcelo Machado Ferro.

e-mail: marmferro@hotmail.com

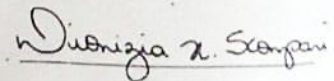
Data de Entrada – 04/07/2018

Resultado: Aprovado

Considerações

A comissão de Ética no Uso de animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa acima especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecidas pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizada a utilização de 08 ratos machos de 90 dias e 24 ratas fêmeas de 21 dias, totalizando 32 animais para a execução desse projeto.

Ponta Grossa, 28 de agosto de 2018



Prof. Dra. Dionízia Xavier Scomparin
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UEPG

Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, CEP 84.030-900 Campus Universitário em Uvaranas
Ponta Grossa – Paraná
Bloco da Reitoria - anexo a PROPESP

ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO CEUA 2

UEPG

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA DO USO DE ANIMAL****CARTA DE APROVAÇÃO**

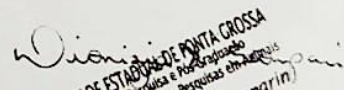
Processo CEUA – 006/2019

Protocolo UEPG – 10290/2018

Título – Projeto de pesquisa "Influência da síndrome metabólica em ratas prenhas no comportamento e na resposta ao citalopram nos filhotes"**Interessados:** Gabrielle Medeiros Bertolo e Marcelo Machado Ferro**Data de Entrada** – 04/07/2018**Resultado:** Aprovado**Considerações**Mestranda Gabrielle Medeiros Bertolo e Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro
(gabi.bertolo@gmail.com)

Em relação a utilização de animais no protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade, a CEUA deliberou pela sua aprovação, do uso de utilização de 12 ratas fêmeas.

Ponta Grossa, 05 de abril de 2019


 UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
 Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 CEUA - Comissão de Estudos e Pesquisas em Animais
 Dra. Dionizia Xavier Scamparini
 Coordenadora

 Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, CEP 84 030-900 Campus Universitário em Uvaranas
 Ponta Grossa – Paraná
 Bloco da Reitoria - anexo a PROPESP
 Fone: (042) 3220-3264