

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DO POLIMORFISMO A3669G DO GENE DO
RECEPTOR DE GLICOCORTICOIDE SOBRE O CONTROLE
METABÓLICO, COMPORTAMENTO ALIMENTAR E
NEUROIMAGEM FUNCIONAL EM UMA AMOSTRA DE
ADOLESCENTES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DANITSA MARCOS RODRIGUES

Porto Alegre, Brasil
2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DO POLIMORFISMO A3669G DO GENE DO
RECEPTOR DE GLICOCORTICOIDE SOBRE O CONTROLE
METABÓLICO, COMPORTAMENTO ALIMENTAR E
NEUROIMAGEM FUNCIONAL EM UMA AMOSTRA DE
ADOLESCENTES**

DANITSA MARCOS RODRIGUES

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Pelufo Silveira

Co-orientadora: Profa. Dra. Gisele Gus Manfro

Porto Alegre, Brasil, 2015

DEDICATÓRIA

Aos pacientes que colaboram silenciosamente para o aprimoramento da saúde e são a finalidade maior deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida.

À minha família pela cuidado, formação e educação. À minha filha Luiza, que soube compreender minhas ausências neste período, mostrando-se sempre uma leal torcedora. À minha família de coração, especialmente à tia Arita, ao dindo Daltro e à Alice, inesgotáveis no apoio amoroso.

Ao grupo DOHaD por me receber tão bem e em especial, a minha orientadora Profa. Dra. Patrícia Pelufo Silveira, que me aceitou como aluna, e me incentivou e auxiliou sempre de forma carinhosa, dedicada e competente, a trilhar o caminho da pesquisa.

Ao grupo PROTAIA e a minha co-orientadora, Profa. Dra. Gisele Gus Manfro, pela oportunidade de aprendizado e crescimento que enriqueceu muito este trabalho e também à minha experiência pessoal. Ao Giovanni A. Salum pelas importantes colaborações.

Aos meus amigos pela parceria e companheirismo, com um especial agradecimento às minhas amigas Carmem, às amigas, cumadres e irmãs de coração Flávia e Sandra e ao querido amigo e cumpadre Alemão Francisco. Também agradeço imensamente o apoio e o carinho dos amigos Christian, Anelise, Clarissa, Suzana e Letícia.

Aos amigos que fiz nos grupos DOHaD e PROTAIA, que compartilharam momentos bons e outros difíceis; em especial à Roberta DM, Roberta S, Amanda, Tania, Adolfo, Rudineia e Andressa.

À profa. Dra. Stela Castro pelo valioso auxílio no mundo da estatística. Agradeço também às valiosas contribuições da Dra. Marylin Agrononik nos cálculos estatísticos deste trabalho.

Ao prof. Luciano Minuzzi pelo importante auxílio nas análises de neuroimagem e aos professores Augusto Buchweitz e Alexandre Franco pela contribuição na realização das ressonâncias funcionais.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências pela oportunidade.

Ao CAPES, CNPq e FINEP pelo apoio financeiro. A todos que de forma direta ou indireta me auxiliaram na realização deste trabalho.

EPIÍGRAFE

“ Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse Amor, seria como o bronze que soa ou como o címbalo que retine. E ainda que tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse Amor, nada seria. ”

Paulo de Tarso, Bíblia Sagrada. 1 Coríntios 13:1-13.

RESUMO

Introdução: Os glicocorticoides (GCs) estão envolvidos na regulação e adaptação da resposta ao estresse, exercendo seus efeitos através de seus receptores. Variações polimórficas no gene do receptor de glicocorticoide (GR) têm sido caracterizadas funcionalmente. O polimorfismo A3669G do gene do GR está relacionado a modificações na sensibilidade aos GCs e mudanças no perfil metabólico. Concentrações fisiológicas de GCs estimulam a ingestão calórica e, na presença de insulina, modificam a preferência alimentar. A variante A3669G do gene do GR parece levar a um menor risco para diabetes, em pacientes com Síndrome de Cushing, e para o tabagismo, quando associado a um polimorfismo do gene do receptor de mineralocorticoide, sugerindo uma modulação na via de recompensa. O objetivo deste trabalho é avaliar a associação de variantes do polimorfismo A3669G do gene do GR com o comportamento alimentar e parâmetros metabólicos em uma amostra de estudantes, correlacionando com dados de neuroimagem funcional. **Métodos:** A amostra provém de alunos de 6 escolas de Porto Alegre, avaliados em 2008 e em 2013. Em 2008, 131 indivíduos apresentavam o protocolo completo de avaliação e, destes, 74 retornaram em 2013. A avaliação incluiu genotipagem, antropometria, exames laboratoriais, comportamento alimentar e um paradigma avaliando a ativação cerebral em resposta a visualização de imagens de alimentos palatáveis, não palatáveis e de objetos neutros. A análise da associação com os fenótipos foi realizada através do teste *t de Student e Chi quadrado*; os dados do estudo longitudinal foram analisados por meio de Equações de Estimativa Generalizada. **Resultados:** A variante G do polimorfismo A3669G do gene do GR foi encontrado em 17,6% em 2008 e em 14,9% da amostra em 2013. Não houve diferença entre os grupos de carreadores do alelo G e não carreadores quanto a diferentes confundidores; a comparação entre as médias dos dois grupos sobre o consumo calórico proveniente de proteínas, carboidratos e gorduras em 2008 não revelou diferenças significativas; nesta etapa, as análises evidenciaram maior consumo de açúcares e de calorias totais no grupo não carreador do alelo G. Em 2013, estes indivíduos não carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G apresentaram maior insulinemia e além de aumento no índice de resistência à insulina, sem diferenças no consumo alimentar. Os dados de neuroimagem funcional indicaram que a visualização de imagens de alimentos palatáveis pelo grupo não carreador do alelo G ativou o giro occipital médio, uma região implicada no processamento visual, mostrando menor ativação em giro pré central e nas áreas de Brodmann 4 e 6, relacionadas ao planejamento motor e sensibilidade ao sabor. **Conclusão:** Os resultados mostram que os indivíduos não carreadores da variante G do polimorfismo A3669G do gene do GR apresentaram menor sensibilidade à insulina, precedidos pela modulação na preferência alimentar. Os achados em neuroimagem funcional indicam maior saliência de incentivo aos alimentos palatáveis e predisposição à impulsividade no grupo não carreador do alelo G. Sugere-se que a redução na sensibilidade em nível celular aos GCs relacionada à presença do alelo G, afete a ingestão alimentar, reduzindo o consumo de alimentos palatáveis, diminuindo o risco para doenças metabólicas.

PALAVRAS-CHAVE: polimorfismo do gene do receptor de glicocorticoide, comportamento alimentar, sensibilidade à insulina, neuroimagem funcional

ABSTRACT

Introduction: Glucocorticoids are involved in regulation and adaptation of the stress response, exerting effects through its receptors. Variations on the glucocorticoid receptors genes have been characterized functionally. The A3669G polymorphism of the glucocorticoid receptor gene is related to a change in the tissue sensitivity to glucocorticoids and altered metabolic profile. Physiological concentrations of glucocorticoids stimulate food intake and in the presence of insulin affect food preferences. The G variant of the A3669G polymorphism appears to lead to a lower risk for diabetes, in patients with Cushing's syndrome, and smoking, when associated with a polymorphism of the mineralocorticoid receptor gene, suggesting a modulation in reward pathways. The objective of this study is to evaluate the association of A3669G polymorphism variants with feeding behavior and metabolic parameters in a sample of students correlating with functional neuroimaging data. **Methods:** The sample includes students of 6 schools in Porto Alegre, evaluated at two occasions 2008 and in 2013. In 2008, 131 individuals had complete protocol assessment and, from these, 74 returned in for re- evaluation in 2013. The evaluation included genotyping, anthropometry, laboratory tests, feeding behavior and a functional MRI paradigm to verify brain activation in response to the visualization of palatable, non- palatable foods and neutral items. The association with phenotypes was performed using Student's t test and Chi-square; longitudinal study data were evaluated using Generalized Estimating Equations. **Results:** The variant of the A3669G polymorphism was found in 17.6% of the students in 2008 and 14.9% of the sample in 2013. There was no difference between groups in the sample composition; the comparison between groups of the mean caloric intake originating from proteins, carbohydrates and fats in 2008 revealed no significant differences; at this time, analysis showed lower consumption of sugars and total calories in the G carrier group. In 2013, these individuals showed a reduction in insulin level and resistance, with no differences in food intake. The fMRI data indicated that viewing a food palatable image by the wild-type allele carrier group activated a region involved in visual processing (middle occipital gyrus) and deactivated an area related to motor planning and sensitivity to taste (pre central gyrus). **Conclusion:** The results showed that G carriers of the A3669G polymorphism of glucocorticoid receptor gene had lower insulin resistance levels, preceded by modulation of their food preference. The findings in functional neuroimaging showed increased incentive salience on viewing palatable food images and a predisposition for impulsivity in noncarriers. Data suggest that reduction in glucocorticoids sensitivity at a cellular level affects food intake, by reducing consumption of palatable foods, possibly decreasing the risk for metabolic diseases.

KEYWORDS: glucocorticoid gene polymorphism, feeding behavior, insulin sensitivity, functional neuroimaging

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação simplificada do Eixo HHA	22
Figura 2- Regulação do eixo límbico-hipotálamo-hipófise-adrenal pelas ações de retroalimentação negativa dos glicocorticoides e dos centros locais intra e extra-hipotalâmicos	23
Figura 3- Núcleo do complexo hsp90-imunofilina-GR na forma como é imuno-absorvido no citosol	25
Figura 4- As estruturas cerebrais envolvidas nos comportamentos alimentares.....	47
Figura 5- Linha do tempo ilustrando as fases deste estudo, dentro do projeto PROTAIA.	52
Figuras 6 e 7- Aquisição de imagens de ressonância magnética cerebral, no Instituto do Cérebro- PUCRS.....	58
Figura 8- Linha do tempo que ilustra o modelo de sessão realizada no paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros.....	60
Figura 9- Identificação das áreas cerebrais ativadas de acordo com as coordenadas da ativação fornecidas pela análise de <i>second level</i> (SPM) na interface do <i>Talairach Client</i>.....	62
Figura 10- Comparação entre as médias de grupos do consumo de açúcares em 2008 e em 2013.....	66
Figura 11- Insulinemia entre os grupos de carreadores do polimorfismo A3669G e não carreadores.....	67
Figura 12- Sensibilidade insulínica medida pelo HOMA-IR ao longo do tempo.....	68

Figura 13- Representação das imagens de fMRI dispostas em 3 matrizes.....	69
Figura 14 - Vistas laterais dos mapas corticais de Brodmann e Campbell.....	70
Figura 15- Área de ativação no contraste palatável >não palatável, efeito de grupo dos indivíduos não carreadores da variante polimórfica.....	72
Figura 16- Área de desativação no contraste palatável >não palatável, efeito de grupo dos indivíduos não carreadores.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Dados de estudos que investigaram as associações entre o polimorfismo A3669G/ 9β do GR e parâmetros clínicos	36
Tabela 2- Estados associados com alteração na atividade do Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e alterada regulação ou desregulação do comportamento e/ou adaptação periférica	39
Tabela 3- Adaptação comportamental e física durante o estresse agudo.....	40
Tabela 4 – Frequência do polimorfismo A3669G na amostra.....	64
Tabela 5 – Características amostrais em 2008 e em 2013.....	65
Tabela 6- Resultados das comparações de consumo alimentar.	66
Tabela 7- Resultados das comparações da insulinemia, índice que representa a sensibilidade periférica à insulina e IMC em 2008 e em 2013 entre grupos e para a interação.....	67
Tabela 8– Resultados de maior ou menor captação de sinal BOLD no contraste palatáveis>não palatáveis.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABEP Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
- ACTH Hormônio adrenocorticotrópico
- APA *American Psychiatric Association*
- ARC Núcleo arqueado
- AVP Arginina vasopressina
- BNST Núcleo do leito da estria terminal
- BOLD *Blood oxygen level-dependent*
- BWR *Birth weight ratio*
- CeA Núcleo central da amígdala
- CPC Centro de Pesquisa Clínica
- CRH Hormônio liberador de corticotropina
- DA Dopamina
- DMH – Hipotálamo dorso medial
- DNA Ácido desoxirribonucleico
- DOHaD Origens Desenvolvimentais da Saúde e da Doença
- DSM-IV Manual Diagnóstico e Estatístico de Doenças Mentais – 4a edição
- EP Erro padrão da média
- fMRI Imagem por ressonância magnética funcional
- FWE *Family-wise error*
- GC Glicocorticoide
- GPPG Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
- GR Receptor de glicocorticoide
- GRE Elemento responsivo ao glicocorticoide
- HCPA Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HDL Lipoproteína de alta densidade

hGR Receptor de glicocorticoide humano

HHA Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

HSP Proteína de choque térmico

IGF-I *Insuline-like growth fator -1*

InsCer Instituto do Cérebro

K-SADS-PL *Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School- Age Children- Present and Lifetime Version*

LDL Lipoproteína de baixa densidade

LHHA Eixo límbico-hipotalâmico-hipofisário-adrenal

MINI *Neurodevelopment International Neuropsychiatric Interview*

MR Receptor de mineralocorticoide

NF- κ B Fator de transcrição nuclear κ B

PBI Parental Bounding Instrument

PCR Reação em cadeia da polimerase

PFC Córtex pré- frontal

POMC Pró-opiomelanocortina

PROTAIA Programa de Transtornos de Ansiedade na Infância e Adolescência

PUCRS Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

PVN Núcleo paraventricular do hipotálamo

QFA Questionário de Frequência Alimentar

RNAm RNA mensageiro

SCARED *Screen for Children and Anxiety Related Emotional Disorders*

SNC Sistema nervoso central

SNPs Polimorfismos de único nucleotídeo

SNPC *Substantia nigra pars compacta*

SPM Statistical Parametric Mapping

SPSS Statistical Package for the Social Sciences

STAT5 Transdutor de sinal e ativador da transcrição

TGs Triacilglicerídeos

UBS Unidade Básica de Saúde

VTA Área tegmentar ventral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 REGULAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO- HIPÓFISE- ADRENAL (HHA).....	21
2.2 RECEPTOR DE GLICOCORTICOIDE.....	24
2.2.1 Vias de Sinalização do GR	26
2.2.1.1 Sinalização Clássica do GR.....	26
2.2.1.2 Vias não Clássicas de Sinalização do GR.....	29
2.2.2 Variantes de Processamento do GR.....	29
2.2.3 Isoformas Translacionais do GR.....	30
2.2.4 Modificações Pós- Translacionais das Isoformas do GR.....	31
2.3 SENSIBILIDADE AOS GLICOCORTICOIDES.....	33
2.4 POLIMORFISMOS DO GENE DO RECEPTOR DO GLICOCORTICOIDE.....	35
2.5 EFEITOS DOS GLICOCORTICOIDES.....	38
2.5.1 Ações Agudas da Elevação de Glicocorticoides.....	40
2.5.2 Ações Basais Crônicas dos Glicocorticoides.....	41
2.5.3 Cortisol e Insulina: Efeitos Sobre a Ingestão Alimentar e Preferência Calórica.....	43
2.6 REGULAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR.....	46
3 JUSTIFICATIVA	48
4 OBJETIVOS	49
4.1 OBJETIVO GERAL.....	49
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
5 HIPÓTESE	50
6 METODOLOGIA	51

6.1 AMOSTRA.....	51
6.2 ASPECTOS ÉTICOS.....	52
6.3 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO.....	53
6.3.1 Avaliação Socioeconômica.....	53
6.3.2 Avaliação laboratorial.....	53
6.3.3 Avaliação Psiquiátrica.....	53
6.3.4 Avaliação de Trauma e Cuidado Materno.....	54
6.3.5 Avaliação Genética.....	55
6.3.6 Avaliação do Consumo Alimentar.....	56
6.3.7 Avaliação Antropométrica.....	57
6.3.8 Avaliação do Desenvolvimento Puberal.....	58
6.3.9 Neuroimagem funcional.....	58
6.4 AQUISIÇÃO DAS IMAGENS DE fMRI.....	59
6.4.1 Paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros.....	59
6.4.2 Pré-processamento e processamento das imagens fMRI.....	60
6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	63
7 RESULTADOS.....	64
7.1 FREQUÊNCIA GÊNICA.....	64
7.2 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA.....	64
7.3 COMPORTAMENTO ALIMENTAR.....	65
7.4 AVALIAÇÃO DO CONTROLE METABÓLICO.....	66
7.5 NEUROIMAGEM FUNCIONAL.....	69
8 DISCUSSÃO.....	74
9 CONCLUSÃO.....	81
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

1 INTRODUÇÃO

A prevalência do sobrepeso e da obesidade vem alcançando níveis epidêmicos na população geral (National Center for Health Statistics, 2009) coincidente com o aumento no número de casos e também na severidade do estresse psicológico (KUDIŁKA & WUST, 2010; American Psychological Association, 2009). Por isto, compreender as conexões entre estresse e obesidade é de extrema relevância clínica.

Estresse psicológico é um fator bem estabelecido implicado no desenvolvimento da obesidade (DALLMAN, 2010). Os organismos vivos sobrevivem através da manutenção de uma dinâmica complexa e de um equilíbrio harmonioso, chamado homeostase, que é constantemente desafiado por ameaças perturbadoras intrínsecas ou extrínsecas, os estressores. O estado de equilíbrio necessário para a adaptação bem sucedida é mantido através da neutralização e do reestabelecimento de forças, via respostas adaptativas. Neste contexto, o estresse é definido como um estado de desarmonia ou de ameaça à homeostase (CHROUSOS, 1992) ou como um estado subjetivo de percepção de alterações potencialmente adversas (JOËLS & BARAM, 2009).

O mecanismo chave através do qual o estresse predispõe ao ganho de peso e obesidade tem sido chamado de *alimentação induzida pelo estresse*; este dispositivo adaptativo de busca por alimentos palatáveis durante o estresse é conservado entre espécies. Ambos, seres humanos (GREENO & WING, 1994; ADAM & EPEL, 2007), e animais (DALLMAN *et al.*, 2003) demonstraram aumentar a ingestão de alimentos após estresse ou emoção negativa, mesmo quando o organismo não está com fome (APPELHANS *et al.*, 2010). Além disso, em uma situação e/ou em um ambiente tidos como estressantes, o tipo de alimento consumido tende a ser rico em açúcar e/ou gordura (PECORARO *et al.*, 2004; EPEL *et al.*, 2001), os alimentos confortantes, no inglês chamados de *comfort foods*. Conforme Pecoraro e colaboradores (2004), os alimentos confortantes são nutrientes saborosos, ricos em açúcar e gordura, consumidos como forma de aliviar o efeito de estressores.

Os estressores, em conjunto com redes emocionais cerebrais, promovem mudanças que podem modificar o controle homeostático alimentar. Através da ativação de redes neurais de resposta ao estresse, ocorre um direcionamento da cognição a um aumento na atividade emocional e redução na função executiva; assim, em resposta a um estímulo estressor, estes

padrões são preferencialmente ativados em detrimento a uma via de avaliação cognitiva. Em nível hormonal, durante o estresse ocorre a secreção de glicocorticoides (GCs), que aumentam a motivação para o consumo de alimentos. Após a ingestão de alimentos promovida pelo estresse há a secreção de insulina, que atua sobre a preferência alimentar. A ativação destas vias direcionadas à busca e utilização de alimentos confortantes/prazerosos, reduz a atividade na rede de resposta ao estresse, fortalecendo a relação entre o alimento palatável e a atenuação ou extinção da sensação de estresse. Deste modo, a alimentação rica em gordura e açúcar reduz atividade da resposta ao estresse e reforça um determinado padrão de consumo alimentar (DALLMAN, 2010).

A exposição crônica a eventos estressores desregula o eixo límbico-hipotalâmico-hipofisário-adrenal (LHHA) (figura 2), levando a inúmeros desfechos adversos (MCEWN, 1998), incluindo desde alterações alimentares e metabólicas até distúrbios do humor (SCHULKIN *et al.*, 1998; SWAAB *et al.*, 2005; HOLSBOER, 2001). As doenças induzidas pelo estresse são muitas vezes co-mórbidas tal que a incidência de depressão, transtorno de humor e ansiedade é frequentemente associada a distúrbios alimentares e obesidade (LO SAURO *et al.*, 2008; WARNE, 2009; GÁLVEZ *et al.*, 2015). Estudos em animais demonstraram que o estresse crônico (HOUSHYAR *et al.*, 2004; DALLMAN & BHATNAGAR, 2001) ou a administração do hormônio liberador de corticotropina (CRH) (RICHARD *et al.*, 2002; HOTTA *et al.*, 1999) atenuaram a ingestão de dieta de baixa caloria. Além disso, sessões repetidas de estresse por contenção (MARTI *et al.*, 1994; SMAGIN *et al.*, 1999), estressor crônico variável (GAMARO *et al.*, 2003) ou exposição a predadores (JOCHMAN *et al.*, 2005) reduziram a ingestão alimentar e o peso corporal em ratos. A subordinação social também demonstrou reduzir a ingestão alimentar e o peso em ratos (GAMARO *et al.*, 2003) e em macacos (SMALL, 1981). Estes achados são consistentes com observações de estudos clínicos mostrando que a anorexia em mulheres está muitas vezes associada com anormalidades na função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) (LICINIO *et al.*, 1996). No entanto, os efeitos anorexígenos da exposição ao estressor estão em desacordo com dados que ligam transtornos de humor à obesidade (MCELROY *et al.*, 2004; WERREIJ *et al.*, 2006).

Do ponto de vista evolutivo, consumo e armazenamento de calorias sugerem um melhor desempenho frente a estressores, porém a cronicidade do estressor combinada com o

consumo de dietas altamente calóricas podem tornar tais comportamentos prejudiciais; pesquisas em humanos têm demonstrado uma relação entre estresse e ingestão de alimentos palatáveis (GIBSON, 2006). Estudos com modelos animais mostraram que o estresse leva a um aumento no consumo calórico em certas circunstâncias: ratos em jejum expostos a estressores físicos consomem preferencialmente alimentos palatáveis (HAGAN *et al.*, 2003), com rápido ganho de peso e aumento da gordura abdominal (DALLMAN *et al.*, 2003; DALLMAN *et al.*, 2005). A administração crescente de corticosterona aumenta o consumo de alimentos palatáveis, aumentando também a deposição de tecido adiposo abdominal, demonstrando que a ativação continuada do eixo LHHA atua como fator determinante na alteração do padrão de escolha e ingestão alimentares (DALLMAN *et al.*, 2005; LA FLEUR *et al.*, 2004).

Os GCs e a insulina, em estados basais, estão intimamente entrelaçados na regulação da quantidade e variedade de ingestão alimentar e a disposição calórica (DALLMAN *et al.*, 1993). Ambos atuam na periferia e no sistema nervoso central (SNC), geralmente em direções opostas. Os GCs agem centralmente para motivar a ingestão calórica, a memória e o aprendizado associados a este comportamento, embora possam induzir a apoptose neuronal (SAPOLSKY, 1992). Já a insulina age no hipotálamo (WOODS & PORTE, 1983), bem como no sistema de recompensa (FIGLEWICZ *et al.*, 2004, 2006) para limitar a ingestão calórica. A insulina, assim como o GC, promove a aprendizagem e memória e é anti-apoptótica (VAN DER HEIDE *et al.*, 2006). Periféricamente, os GCs reduzem as calorias armazenadas e aumentam a insulina. Uma vez na periferia, a insulina aumenta os depósitos calóricos através da estocagem de gorduras e proteínas (LEIBEL *et al.*, 1989) e também parece atuar sistemicamente (sobrepondo um sinal inibitório hepático) com o intuito de promover a ingestão de calorias oriundas de lipídeos (WARNE *et al.*, 2007a). Em conjunto, a insulina e o GC atuam sinergicamente para expandir os depósitos de gordura mesentérica, favorecendo o acúmulo de gordura abdominal por apresentarem ação adipogênica e lipogênica.

Estas ações dos GCs e da insulina são altamente adaptativas do ponto de vista evolutivo, permitindo que os organismos reajam e tenham energia armazenada disponível para escapar diante de uma ameaça. No entanto, as modernas sociedades industrializadas podem ter superado esta utilidade das ações destes hormônios. A vida no século XXI tem um ritmo acelerado e o alimento é abundante e disponível. Além disso, parece haver um aumento na quantidade de estresse percebido pelos indivíduos nas sociedades modernas, afetando o

comportamento alimentar (LATTIMORE & MAXWELL, 2004; O'CONNOR *et al.*, 2008; WALLIS & HETHERINGTON, 2009). Evidências recentes mostram que estresse no trabalho e baixo apoio social estão significativamente associados com o aumento do índice de massa corporal e obesidade abdominal (BRUNNER *et al.*, 2007).

Recentemente têm sido identificados genes candidato específicos, que poderiam explicar a variação na reatividade ao estresse. Muitos estudos vem direcionando-se ao receptor de glicocorticoide (GR), que intermedia várias ações dos GCs. Variantes genéticas do gene do GR, os chamados polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*), parecem contribuir para as diferenças na atividade do eixo HHA, por afetar a sensibilidade celular ao GC (WÜST *et al.*, 2004; de RIJK & de KLOET, 2008). Cinco diferentes SNPs do gene do GR têm sido investigados: BclII (rs41423247), TthIII (rs10052957), A3669G/GR-9 β (rs6198), N363S (rs6195) e ER22/23EK (rs6189 e 6190). Embora os GCs regulem a função de quase todos os tecidos do corpo, o efeito fisiológico mais conhecido desses hormônios é a regulação do metabolismo energético (PARIANTE & MILLER, 2001). A excitação emocional foi associada tanto com o aumento quanto com a diminuição da ingestão alimentar e do peso (STONE & BROWNELL, 1994; WIILENBRING *et al.*, 1986). A compreensão dos possíveis mecanismos implicados na alimentação induzida pelo estresse é importante, podendo funcionar como um gatilho tanto para a obesidade (RAND & STUNKARD, 1978) como para outros transtornos relacionados com o controle alimentar (LINGSWILER *et al.*, 1989). Estudos neurofisiológicos e comportamentais (KRUCK *et al.*, 2005; KARST *et al.*, 2005) sugerem que os GCs podem aumentar a reação inicial ao estresse no cérebro límbico, o que preveniria um subsequente estado de hiperativação (SAPOLSKY *et al.*, 2000). Caso uma destas vias de ativação ou inibição estejam desreguladas, o sistema de estresse desequilibra-se, aumentando a vulnerabilidade a outros insultos. A variedade entre as respostas de resiliência ou de vulnerabilidade apresentadas diante de um evento estressor têm sido explicadas através de um modelo de 'três golpes', no qual uma variação genética interage com um evento precoce de vida, influenciando a resposta do cérebro e do corpo após um grande desafio na vida adulta (de KLOET *et al.*, 2005).

Tendo em vista a relevância dos aspectos epidemiológicos apresentados, este trabalho pretende investigar possíveis efeitos de variantes genéticas do GR sobre funções hormonais e neurais de mecanismos implicados no comportamento e na preferência alimentar

em uma amostra comunitária, analisando dados coletados de forma longitudinal e correlacionando estes achados com dados de neuroimagem funcional.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 REGULAÇÃO DO EIXO HHA

A secreção dos GCs possui um ritmo ultradiano de aproximadamente um pulso por hora (VELDHUIS *et al.*, 1989). Em humanos, os pulsos de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) têm amplitudes aumentadas pela manhã que, combinados com o aumento da sensibilidade da glândula adrenal para o ACTH, resultam no observado ritmo circadiano do cortisol. Após qualquer ameaça à homeostase, a liberação do CRH pelo núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) é acionada; a figura 1 representa esquematicamente o funcionamento do eixo HHA. O CRH ativa e coordena tanto as respostas comportamentais quanto neuroendócrinas, a fim de lidar com o estressor (HEINRICHS & KOOB, 2004). A síntese e liberação dos GCs é mediada pelo ACTH, atuando sobre seus receptores localizados no córtex adrenal. A sensibilidade adrenal ao ACTH varia no tempo, estando muito elevada pela manhã; este efeito é provavelmente regulado pelo núcleo supraquiasmático (BUIJS *et al.*, 2003). A cascata do eixo HHA resulta em um perfil diurno da secreção de cortisol, com altos níveis pela manhã e baixas concentrações no período da tarde e da noite, com um pequeno pico após o almoço.

O aumento do cortisol induz retroalimentação negativa na hipófise através da ligação ao GR (de KLOET *et al.*, 1998; de KLOET *et al.*, 2005). Nas células corticotrópicas, os GCs têm efeitos inibitórios sobre a transcrição gênica de pró-opiomelanocortina (POMC) e ACTH (LUNDLAD & ROBERT, 1988). Além disso, GCs diminuem os níveis de RNAm de CRH e AVP nos núcleos paraventriculares do hipotálamo (DAVIS *et al.*, 1986; ITOI *et al.*; BEYER, MATTA, SHARP, 1988). Um terceiro mecanismo pelo qual os GCs exercem um efeito negativo sobre a sua própria produção é o bloqueio do efeito estimulador do CRH na transcrição gênica de POMC (LUNDLAD & ROBERT, 1988).

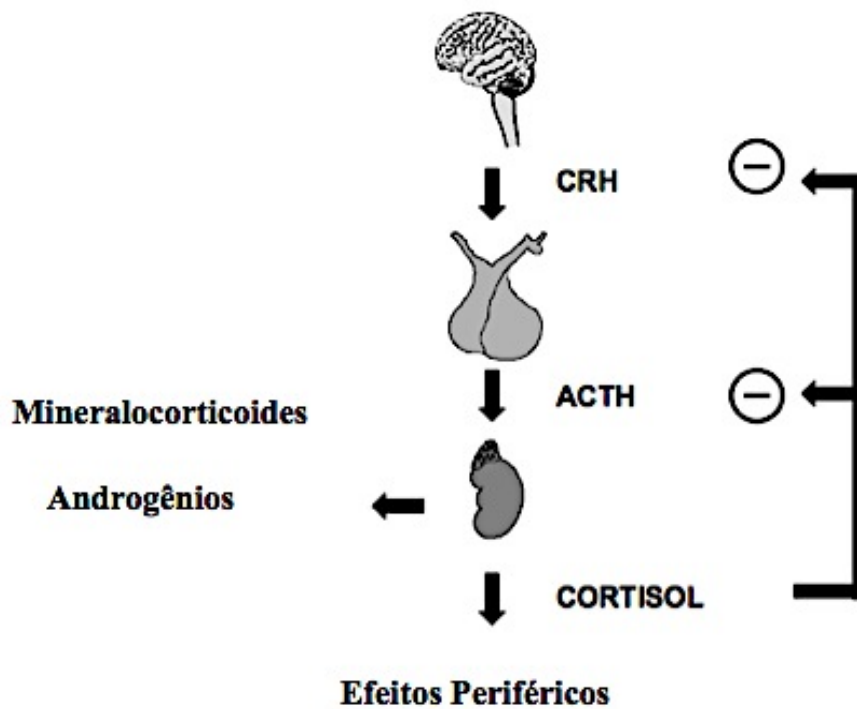


Figura 1- Representação simplificada do Eixo HHA. Mediante a atuação de um estímulo estressor, e/ou pelo próprio o ritmo circadiano, o hipotálamo secreta CRH e AVP (arginina vasopressina) para o sistema portal hipofisário, estimulando a produção de ACTH pela hipófise. Em resposta ao aumento dos níveis de ACTH, as glândulas suprarrenais aumentam a secreção de cortisol, juntamente com outros esteroides suprarrenais com atividade mineralocorticoide e androgênica. As respostas neuroendócrinas incluem atividade simpática e aumento da liberação de ACTH, levando ao incremento nos níveis de glicocorticoides. O cortisol inibe a sua própria produção, tanto ao nível hipotalâmico quanto hipofisário, completando assim um ciclo de retroalimentação negativa. Adaptado de Van Rossum, 2005.

Várias estruturas cerebrais estão envolvidas nos processos de retroalimentação, dentre as quais destacam-se o hipotálamo, a amígdala, o córtex cerebral pré-frontal e o hipocampo (CAMPEAU *et al.*, 1998), estando esta última região fortemente implicada na regulação do eixo, devido à alta densidade de GRs; na figura 2 estão representadas algumas regiões que fazem parte do eixo LHHA.

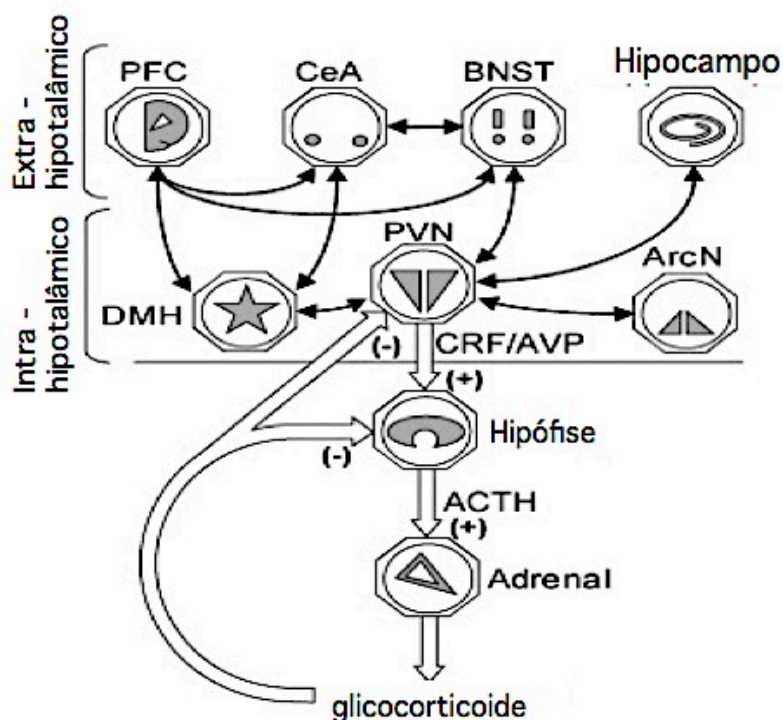


Figura 2- Regulação do eixo límbico-hipotálamo-hipófise-adrenal pelas ações de retroalimentação negativa dos glicocorticoides e dos centros locais intra e extra-hipotalâmicos. PFC = córtex pré-frontal, CeA = núcleo central da amígdala, BNST = núcleo do leito da estria terminal, DMH = hipotálamo dorso medial, PVN = núcleo paraventricular, ARC = núcleo arqueado, CRH = fator de liberação de corticotropina, ACTH = hormônio adrenocorticotrópico, AVP = arginina vasopressina, (+) = ações estimuladoras, (-) = ações inibidoras. Adaptada de Warne, 2009.

O receptor de mineralocorticoide (MR), predominantemente localizado no hipocampo e outras regiões límbicas, desempenha um papel na inibição tônica do eixo HHA (RATKA *et al.*, 1989). Em contraste com o GR, o MR exibe uma afinidade muito mais elevada para os GCs e sua expressão é mais restrita no encéfalo (REUL & de KLOET, 1985). Tem sido proposto que o equilíbrio entre a atividade de MRs e GRs desempenhe um papel importante na regulação da resposta ao estresse (de KLOET *et al.*, 1998; de KLOET *et al.*, 2005).

2.2 RECEPTOR DE GLICOCORTICOIDE

O GR, clonado em 1985, pertence à superfamília dos receptores nucleares (HOLLENBERG, 1985), que inclui, em humanos, 48 membros (EVANS, 1988). O GR medeia atividade imunossupressora e anti-inflamatória em vários sistemas fisiológicos (PELAIA *et al.*, 2003). O GR atua como um fator de transcrição ativado por ligante, consistindo em um domínio de transativação do terminal N (NTD), um domínio de ligação de DNA (DBD) e um terminal C que contém um domínio para o ligante (LBD) (KUMAR & THOMPSON, 2005). Recombinações alternativas durante a transcrição gênica podem resultar em diferentes isoformas: GR α , GR β , GR γ , GR-A e GR-P. As isoformas GR α (considerada a forma predominante) e GR γ podem ligar-se a hormônios e regular a expressão gênica. Em contraste, o GR β , isoforma modificada do terminal C do GR α , é incapaz de ligar-se a hormônios, exercendo efeitos dominantes negativos sobre GR α . Os GCs também são impossibilitados de se ligar às isoformas GR-A e GR-P, devido às truncadas configurações de seus domínios LBDs (OAKLEY & CIDLOWSKI, 2011).

O GR está localizado no citoplasma em um complexo oligomérico inativo ligado a proteínas reguladoras (figura 3): a proteína de choque térmico-90 (Hsp90), do inglês *heat shock protein*, proteína de choque térmico-70 (Hsp70), proteína de choque térmico-40 (Hsp40), as imunofilinas (IMNs) –PP5, FKBP51 e FKBP52– e a fosfoproteína P23 (PRATT & DITTMAR, 1998; HUTCHISON *et al.*, 1993; PICARD *et al.*, 1990; RATAJCZAK *et al.*, 2003; RATAJCZAK *et al.*, 2015). Estas proteínas mantêm o receptor em uma conformação transcricionalmente inativa, mas que favorece a ligação de elevada afinidade ao ligante. As IMNs são proteínas amplamente expressas, que exibem atividade peptidil- prolil-cis-trans-isomerase (PPIase) que catalisam o dobramento proteico (SCHREIBER, 1991). A caracterização mais detalhada dos componentes proteicos dos heterocomplexos dos receptores de esteroides levou à identificação de um subconjunto de repetições tetratricopeptídeos (TPR), contidos nas IMNs, que interagem com as Hsp90 (PRATT & TOFT, 1997). A chaperona molecular Hsp90 desempenha um papel essencial na manutenção dos receptores esteroides em um estado ativável e esta associação é um pré-requisito para uma transdução de sinal eficiente (PRATT & TOFT, 1997). As IMNs FKBP51, FKBP52 e PP5 associadas ao GR tem papéis específicos sobre a afinidade da ligação do hormônio, com impactos no transporte citoplasma-núcleo e na ativação da transcrição tecido específica em genes alvo. A expressão aberrante destas IMNs tem o potencial de desencadear distúrbios de bases hormonais,

incluindo alterações metabólicas e transtornos psiquiátricos (RATAJCZAK, 2015). A FKBP51 é a IMN TPR preferida (juntamente com PP5) para o complexo Hsp90-GR. A FKBP51 inibe a função dos GRs, reduzindo a afinidade do hormônio ao receptor, resultando em diminuição da sensibilidade ao GC (DENNY, et al., 2000; REYNOLDS et al., 1999; SCAMMELL et al., 2001; DENNY et al., 2005). A FKBP52 aumenta atividade transcricional do GR, aumentando a afinidade de ligação do hormônio e o seu transporte nuclear (DAVIES et al., 2005; RIGGS et al., 2003). A PP5 é outra das IMNs TPR preferidas (juntamente com FKBP51) para o complexo Hsp90-GR (BANERJEE et al., 2008). Em animais modificados para PP5 ocorre um aumento da atividade transcricional do GR sem afetar afinidade de ligação hormonal, sugerindo um papel da PP5 sobre o tráfego do GR entre citoplasma e núcleo celular (DEAN et al., 2001). A PP5 controla o equilíbrio entre a lipólise e lipogênese, impedindo hiperfosforilação do GR e inibindo sua atividade (SANCHEZ, 2012; LEHRKE & LAZAR, 2005; HINDS et al., 2011).



Figura 3. Núcleo do complexo hsp90-imunofilina-GR na forma como é imunoabsorvido no citosol. Preparado a partir de células sem hormônio. Molécula de GR é mostrada ligada a um dímero de Hsp90 e uma molécula de imunofilina. A imunofilina (IMN) liga-se via domínio TPR (linha preta cheia) em um receptor TPR na Hsp90. A estrutura branca no GR indica que a fenda de ligação para o ligante está aberta e pode ser acessada pelo hormônio. Domínio imunofilina PPIase (linha preta pontilhada). Adaptada de Pratt et al., 2006.

2. 2.1 Vias de Sinalização do GR

2.2.1.1 Sinalização Clássica do GR

Conforme descrito na sessão 2.2, o GR é uma proteína composta por três domínios principais: o domínio de transativação NTD, o domínio de ligação ao DNA, DBD e o domínio LBD, que liga o hormônio ao terminal C (KUMAR & THOMPSON, 2005). O DBD é o domínio mais conservado em toda a família de receptores nucleares e contém dois dedos de zinco que reconhecem e ligam a sequências alvo no DNA chamadas de elemento responsivo ao glicocorticoide (GRE, do inglês: *glucocorticoid response element*). O NTD abriga um potente fator de ativação transcricional (AF1) que interage com co-reguladores e com o maquinário basal de transcrição e é o principal local para modificações pós-translacionais. O LBD forma uma bolsa hidrofóbica para a ligação dos GCs e também contém um fator de ativação (AF2) que interage com co-reguladores de maneira dependente do ligante (BLEDSOE *et al.*, 2002).

Na ausência de hormônio, GR reside predominantemente no citoplasma das células, como parte do complexo multiproteico, incluindo as proteínas chaperonas (hsp90, hsp70, e p23) e imunofilinas da família FK506 e PP5 (GRAD & PICARD, 2007; PRATT & TOFT, 1997). O cortisol, o GC endógeno mais abundante em humanos, é transportado no sangue ligado predominantemente à globulina de ligação a corticosteroide (CBG). A CBG não só facilita a distribuição do cortisol, mas também desempenha um papel na sua liberação para os tecidos. O cortisol livre difunde-se passivamente através da membrana plasmática. No entanto, a sua biodisponibilidade no interior da célula é controlado por duas enzimas que trabalham de forma oposta (SECKL, 2004): a 11 β -hidroxisteroides desidrogenase tipo 2 (11 β -HSD2), que oxida o cortisol no metabólito inativo cortisona e a 11 β -hidroxisteroides desidrogenase tipo 1 (11 β -HSD1) que converte cortisona em cortisol. Alterações no nível e/ou atividade destas enzimas podem contribuir para diferenças na sensibilidade aos GCs celulares. Após a ligação aos GCs, o GR sofre uma alteração conformacional que resulta na liberação das proteínas associadas. Este rearranjo estrutural expõe dois sinais de localização nuclear e o GR é rapidamente translocado para o núcleo através de poros nucleares. Uma vez no núcleo, o GR liga-se diretamente aos GREs e regula a expressão de genes alvo (BEATO, 1989; FREEDMAN, 1992). O GRE demonstrou mediar a ativação dependente de GC em muitos genes e, por isto, é referido como ativador ou GRE positivo. No entanto, análises

recentes de varredura genômica têm revelado que a ocupação em GREs canônicos por GRs também pode levar à repressão de genes-alvo (UHLENHAUT *et al.*, 2013). Estes resultados sugerem um papel crítico para fatores externos a sequência GRE, tais como reguladores epigenéticos e a conformação da cromatina, na determinação da polaridade da resposta transcricional. O GRE negativo (nGRE) também foi recentemente descrito mediando a repressão de genes específicos dependentes de GC (SURJIT *et al.*, 2011). Ensaio de recrutamento de GR indicam que apenas uma pequena fração de GRE está efetivamente ocupada pelo receptor, e os locais de ligação do GR variam de forma tecido-específica, devido a diferenças na acessibilidade da cromatina e na exposição do GRE (JOHN *et al.*, 2011). Estes resultados sugerem que os efeitos amplamente diversos dos GCs em diferentes tecidos podem ser atribuídos em parte às diferenças específicas da conformação da cromatina de cada tipo celular que expõe o GRE que encontra-se acessível para a ligação com o GR. Além disso, a concentração de GCs em que GRs ligam-se a GREs e que regulam a expressão gênica varia ao longo do genoma: alguns GREs estão ocupados por GRs em concentrações muito baixas de GCs (hipersensibilidade), enquanto outros exigem doses elevadas de hormônio para que ocorra a ligação (REDDY *et al.*, 2012). A identificação de GREs hipersensíveis sugere que a terapia de baixa dose de GC pode proporcionar uma nova opção de tratamento para a regulação de conjuntos específicos de genes que evitariam os efeitos secundários prejudiciais de altas doses de GC exógeno.

Análises de varredura genômica também encontraram que a maioria dos locais de ligação do GR situam-se fora da região promotora de genes responsivos aos GCs em regiões inter/intra gênicas, frequentemente afastadas do local de início da transcrição (BURD & ARCHER, 2013). A localização de GRE e nGRE a grandes distâncias a partir do local de início da transcrição sugere que estes elementos de resposta podem ligar-se às áreas promotoras de genes alvo para regular a transcrição. A interação do GR com o DNA é altamente dinâmica, com o GR variando entre os estados de ligado e não ligado em poucos segundos (MacNALLY *et al.*, 2000). Uma vez ligado ao GRE, o receptor sofre alterações conformacionais que levam ao recrutamento de co-reguladores e complexos de remodelação da cromatina que modulam as taxas de transcrição gênica afetando a atividade da RNA-polimerase II (JENKINS *et al.*, 2001; LONARD & O'MALLEY, 2005; ROSENFELD & GLASS, 2001). Os cofatores que medeiam a ativação da transcrição incluem co-ativadores de receptores esteroides (SRC1-3), a histona acetiltransferase CBP/p300 e o co-ativador

metiltransferase 1 associado à arginina (CARM1, do inglês, *coactivator-associated arginine methyltransferase 1*). O co-repressor de receptor nuclear (NCoR, do inglês, *nuclear receptor co-repressor*) e o mediador de silenciamento para receptor de hormônio tireoidiano ou retinoide (SMRT, do inglês, *silencing mediator for retinoid or thyroid-hormone receptors*) são co-repressores recrutados para estabelecer a ligação dos GRs aos nGREs. Os cofatores especificamente recrutados e a sua atividade subsequente são ditadas tanto pela natureza do ligante quanto pela sequência específica de GRE ligada pelo receptor (MEIJSING *et al.*, 2009; RONACHER *et al.*, 2009). O GR também pode regular a transcrição de genes alvo, interagindo fisicamente com outros fatores de transcrição. A associação de GR com membros específicos da família STAT (transdutor de sinal e ativador da transcrição 5, do inglês: *Signal Transducer and Activator of Transcription 5*), com ou sem ligação GRE, demonstrou aumentar a transcrição de genes responsivos (ROGASTKY & IVASHKIV, 2006). Em contraste, a interação do GR com os AP1(ativador de proteína 1, do inglês, *activator protein 1*) e NF- κ B (fator de transcrição nuclear κ B) inibe a atividade pró-inflamatória destes fatores de transcrição sendo considerado o mecanismo primário pelo qual os GCs suprimem a inflamação. O GR liga-se diretamente a subunidade jun da AP1 e a subunidade p65 da NF- κ B e interfere com a função de ativação transcricional destas duas proteínas (NISSEN & YAMAMOTO, 2000; YANG-YEN *et al.*, 1990). Para alguns genes, a repressão é realizada pela ancoragem do GR a proteínas de ligação do DNA, sem interação direta. No entanto, para outros genes, o GR atua de maneira composta, ligando-se diretamente a um GRE e associando-se fisicamente com um AP1 ou NF- κ B ligados a uma região próxima de DNA. O recrutamento é dependente da proteína de interação 1 do receptor de glicocorticoide (GRIP1, do inglês, *Glucocorticoid Receptor Interacting Protein 1*), um co-regulador transcricional da família P160, importante para esta atividade de inibição (CHINENOV *et al.*, 2012).

2.2.1.2 Vias não clássicas de sinalização do GR

Enquanto os principais efeitos dos GCs são mediados por respostas transcricionais que ocorrem de minutos a horas, evidências demonstram que o GR também pode atuar através de mecanismos não genômicos para induzir respostas celulares rápidas que ocorrem de segundos a minutos e não alteram a expressão gênica (GROENEWEG *et al.*, 2012; SAMARASINGHE *et al.*, 2012). Vários mecanismos parecem estar envolvidos nestes eventos de sinalização que afetam a atividade de várias cinases, tais como PI3K, AKT e MAPK (CROXTALL *et al.*, 2000; SOLITO *et al.*, 2003). A existência de sinalização não genômica adiciona maior complexidade e diversidade aos GCs e às suas ações biológicas e levantam a possibilidade de que moduladores seletivos dependentes de GR nestas vias possam trazer vantagens terapêuticas.

2.2.2 Variantes de Processamento do GR

A recombinação alternativa de éxons do gene do GR na transcrição gênica resulta em diferentes isoformas: GR α , GR β , GR γ , GR-A e GR-P. O gene do GR humano (hGR) é composto por 9 exons: o domínio NTD do GR é codificado principalmente pelo éxon 2; o domínio DBD é codificado pelos éxons 3 e 4; o domínio LDB e a região articular da proteína são codificados pelos éxons 5, 6, 7, 8 e 9. O processamento alternativo do éxon 9, próximo da extremidade do transcrito primário do GR gera duas isoformas do receptor, denominados GR α e GR β (BAMBERGER *et al.*, 1995; OAKLEY *et al.*, 1996).

O GR α é derivado a partir da união da extremidade do éxon 8 com o início do éxon 9, enquanto que GR β resulta da junção da extremidade do éxon 8 com sequências terminais do éxon 9. A sequência única carboxi-terminal do GR β confere propriedades distintas para esta isoforma do receptor: o GR β não interage com agonistas de GCs e é inativo em genes responsivos aos GCs (KINO *et al.*, 2009; LEWIS-TUFFIN & CIDLOVSKI, 2006). O GR β , quando co-expresso com GR α , funciona como um inibidor negativo dominante e antagoniza a atividade de GR α em muitos genes-alvo responsivos aos GCs. A capacidade de GR β para inibir a atividade de GR α sugere que níveis elevados de GR β conduzam a resistência aos GCs. O polimorfismo A3669G que ocorre naturalmente na região não traduzida 3' do RNAm de GR β leva ao aumento da expressão de GR β (DERIJK *et al.*, 2005; SHAAF & CIDLOVSKI,

2002). Os carreadores do A3669G têm um risco elevado para patologias com bases inflamatórias como por exemplo, doenças autoimunes, infarto do miocárdio, doença coronariana e insuficiência cardíaca (GEELHOED *et al.*, 2011; OTTE *et al.*, 2011; van den AKKER *et al.*, 2008). Estes resultados sugerem que o aumento em GR β em indivíduos carreadores do polimorfismo A3669G podem atenuar as ações imunossupressoras e anti-inflamatórias do GR α . Além do GR β , o processamento alternativo do gene GR dá origem a outras isoformas de receptores com propriedades de sinalização distintas.

A utilização de uma região doadora no processamento alternativo no íntron que separa os éxons 3 e 4 resulta em uma isoforma do receptor que contém uma inserção de um único resíduo de arginina entre os 2 dedos de zinco do domínio DBD-GR (RAY *et al.*, 1996). Esta variante do receptor, denominado GR γ , é largamente expressa e liga-se aos GCs e ao DNA de um modo semelhante ao GR α . No entanto, GR γ tem diminuída capacidade de regular os genes responsivos aos GCs e exibe um perfil transcricional distinto da GR α em um subconjunto de genes regulados por GCs endógenos (RAY *et al.*, 1996; BEGER *et al.*, 2003; RIVERS *et al.*, 1999).

A isoforma GR-A não possui os éxons 5-7 que codificam a metade amino-terminal do LBD. Na isoforma GR-P estão ausentes os éxons 8-9 de terminais que codificam a metade carboxi-terminal do LBD. Como esperado a partir dessas mudanças no LBD, GR-A e GR-P não ligam-se aos GCs (de LANGE *et al.*, GAITAN *et al.*, 1995; KRETT *et al.*, 1995).

2.2.3 Isoformas Translacionais do GR

A translação alternativa do transcrito de RNAm de GR α produz um conjunto adicional de diversas proteínas de GR. Oito códons derivados do éxon 2 do gene do GR originam 8 subtipos de GR α com NTDs progressivamente mais curtos: GR α -A, GR α -B, GR α -C1, C2-GR α , GR α -C3, GR α -D1, GR α -D2 e GR α -D3 (LU & CIDLOWSKI, 2005; YUDT *et al.*, 2003). Todas as 8 regiões são altamente conservadas entre as espécies. As isoformas translacionais de GR α exibem afinidade semelhante para os GCs assim como capacidade equivalente na interação com GRE ; no entanto, elas mostram diferenças marcantes em outras propriedades (LU *et al.*, 2007, LU & CIDLOWSKI, 2005). As isoformas GR α -A, GR α -B, e GR α -C estão localizadas no citoplasma das células na ausência do ligante e translocam-se

para o núcleo após ligação com o GC. Em contraste, a isoforma GR α -D reside constitutivamente no núcleo das células. Além disso, as GR α -D nucleares associam-se com promotores contendo GRE de genes alvo específicos independente da presença de GCs (LU *et al.*, 2007, WU *et al.*, 2013). Menos de 10% dos genes são regulados por todos os subtipos, o que indica que a grande maioria dos genes são seletivamente regulados por diferentes isoformas de GR α . O perfil único de regulação genética destas isoformas conduzem a diferenças funcionais na apoptose induzida por GCs (LU *et al.*, 2007, WU *et al.*, 2013, GROSS *et al.*, 2011).

A descoberta de que cada isoforma translacional GR α regula um transcriptoma único sugere que a resposta celular aos GCs será regida pelo complemento expresso nos subtipos de receptores. As isoformas GR α -A e GR α -B são as proteínas de GR mais abundantes em muitos tipos de células. No entanto, células dendríticas imaturas expressam predominantemente as isoformas GR α -D enquanto que células dendríticas maduras expressam o subtipo GR α -A (CAO *et al.*, 2013). Estudos recentes também demonstraram que a composição de subtipos GR α em uma determinada célula ou tecido pode mudar em resposta a diferentes condições (WANG *et al.*, 2009; WU *et al.*, 2013). No cérebro humano, foram observadas alterações na expressão dos subtipos de GR durante o desenvolvimento e envelhecimento (SINCLAIR *et al.*, 2010). Além disso, verificou-se um aumento seletivo na GR α -D em regiões específicas do cérebro em doentes com esquizofrenia e a doença bipolar (SINCLAIR *et al.*, 2012; SINCLAIR *et al.*, 2011). Modificações pós-translacionais que afetam diferencialmente a meia vida de vários subtipos de receptores também podem contribuir para alterações na expressão das isoformas GR α .

2.2.4 Modificações Pós- Translacionais das Isoformas do GR

Cada isoforma proveniente do processamento alternativo do gene do GR está sujeita a uma variedade de modificações pós-translacionais que também modulam sua função e expandem o repertório de subtipos de receptores disponíveis para a sinalização por GCs. A primeira modificação covalente do GR identificada e mais extensamente estudada é a fosforilação (BECK *et al.*, 2009; GALLIHER-BECKLEY & CIDLOWSKI, 2009; KUMAR & CALHOUN, 2008). O GR α humano é fosforilado em pelo menos 7 resíduos serina (Ser-

113, Ser-134, Ser-141, Ser-203, Ser-211, Ser-226, e Ser-404), localizados no domínio NTD do receptor. Um dos principais efeitos da fosforilação do GR α é a alteração da atividade transcricional do receptor. Estudos demonstraram que mutantes GR α com fosforilação deficiente apresentavam prejuízos na capacidade de ativar alguns promotores responsivos aos GCs (WEBSTER *et al.*, 1997). A fosforilação altera outras propriedades do GR que impactam o perfil da sinalização pelo GC. A degradação da proteína GR α é aumentada pela fosforilação dependente do GR, assim como a fosforilação deficiente de receptores mutantes são estabilizadas em presença de GCs (WEBSTER *et al.*, 1997).

Outras modificações pós-translacionais do GR que regulam a função do receptor têm sido descritas. A ubiquitina é uma proteína composta por 76 aminoácidos que, quando ligados a resíduos de lisina, marca proteínas específicas para degradação proteossômica. A ubiquitinação de GR α a um resíduo de lisina (Lys-419) demonstrou marca o receptor como alvo para substituição pelo proteassomo (DEROO *et al.*, 2002; WALLACE & CIDLOWSKI, 2001).

GR α é também modificado pós-translacionalmente por sumoilação, um processo no qual peptídeos SUMO (modificadores pequenos relacionados à ubiquitina, do inglês, *Small Ubiquitin-related Modifier*) são covalentemente ligados a resíduos específicos de lisina (Lys-277, Lys-293, Lys-703) no receptor. A adição de peptídeos SUMO ao receptor ocorre na ausência de ligante e é aumentada pela ligação dos GCs. Dependendo do local da sumoilação, a atividade transcricional de GR α pode ser aumentada ou reprimida através de alterações no recrutamento e/ou a atividade de co-reguladores específicos (DRUKER *et al.*, 2013; DAVIES *et al.*, 2008; HOLMSTOM *et al.*, 2003; HOLMSTOM *et al.*, 2008; Le DREAN *et al.*, 2002).

Estudos sugerem que a acetilação do GR α em resíduos de lisina (Lys-494 e Lys-495) localizada na região articular da proteína, ocorre em resposta à ligação dos GCs (ITO *et al.*, 2006). A desacetilação do GR foi descrita como necessária para o receptor reprimir eficazmente a atividade transcricional de NF-kB, sugerindo que a acetilação do GR limita as ações inibitórias dos GCs sobre a sinalização de NF-kB. Mais recentemente, estudos têm demonstrado que o fator de transcrição clock (*Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*) acetila GR α , atenuando sua capacidade para ativar e/ou reprimir genes responsivos aos GCs, conferindo resistência GC em tecidos alvo (CHARMANDARI *et al.*, 2011). Claramente,

modificações pós- translacionais podem regular múltiplos aspectos da função GR α , fornecendo células com heterogeneidade adicional do receptor para controlar as respostas aos GCs.

2.3 SENSIBILIDADE AOS GLICOCORTICOIDES

Um desafio ao uso clínico dos GCs é a heterogeneidade na capacidade de resposta individual, com uma porção de até 30% da população exibindo um certo grau de resistência aos GCs (BARNES & ADCOCK, 2009). Através do teste de supressão à dexametasona (TSD) observa-se uma variabilidade na sensibilidade aos GCs entre indivíduos normais (HUIZENGA *et al.*, 1998); no entanto, a sensibilidade ao GC em nível individual é bastante estável. Isto sugere que em seres humanos exista um ponto de ajuste no mecanismo de retroalimentação para a sensibilidade à dexametasona, geneticamente determinado.

A síntese do GC desempenha um papel importante na produção dos efeitos sistêmicos do cortisol, mas sua atividade e disponibilidade também são regulados após sua secreção e, muitas vezes, no nível tecidual ou celular (BREUNER & ORCHINIK, 2002). Em indivíduos saudáveis, 80 a 90% do cortisol circulante está ligado à CBG enquanto que entre 5 e 15% encontra-se ligado à albumina, formas inativas do cortisol; apenas 5% do cortisol circulante é bioativo. Assim, a biodisponibilidade de cortisol depende da concentração de CBG, com níveis relativamente elevados desta globulina atuando como tampão contra picos de cortisol. Atividade GC ao nível celular é regulada por enzimas da família da desidrogenase 11 β -hidroxiesteroide (11 β -HSD). As representantes desta família, 11 β -HSD1 e 11 β -HSD2, citadas na seção 2.2.1.1, regulam a conversão do cortisol bioativo. Sob condições fisiológicas, 11 β -HSD1 favorece a conversão de cortisol a partir de cortisona, amplificando a atividade do GC (COOPER & STEWART, 2009). Assim, o balanço entre a expressão de 11 β -HSD1 e 11 β -HSD2 regulam a atividade do GC em nível celular (ZBANKOVA *et al.*, 2007; STEGK *et al.*, 2009).

Os efeitos dos GCs são mediados pelo GR, cujas múltiplas isoformas parecem estar implicadas nas variações de sensibilidade e especificidade de sinalização. A descoberta de múltiplas isoformas de GR têm ampliado a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos celulares específicos dos GCs, diversidade amplificada por modificações pós-translacionais e pelo potencial das isoformas do GR em atuar como

monômeros, homodímeros, e heterodímeros. Nos seres humanos, a resistência ao GC pode ocorrer por dois mecanismos principais: mutações com de perda de função em GR α ou através da expressão aumentada de GR β (KINO & CHOROUSOS, 2001). As mutações em GR α são raras e resultam em um tipo de resistência aos GC que são graves e sistêmicas. Em contraste, evidências sugerem que a resistência aos GCs relacionada com a isoforma GR β seja mais frequente e provavelmente tecido específica. A reduzida sensibilidade aos GC por GR β tem sido estudada através das doenças imunológicas de estados de resistência a medicamentos. Neste sentido, muitos esforços têm sido dedicados nas últimas décadas para melhorar a potência dos GCs, enquanto se minimizam os efeitos adversos, modificando a estrutura química do cortisol. Através do entendimento das vias moleculares da sinalização pelo GC, novas estratégias terapêuticas tem sido desenvolvidas. A manipulação da expressão de GR α e GR β é uma proposta para sensibilizar as células aos efeitos de GCs. O metotrexato, por exemplo, aumenta a relação GR α /GR β em células mononucleares de sangue (GOECKE *et al.*, 2007) e o tratamento com metotrexato em asmáticos resistentes ao cortisol sensibiliza as células T para a supressão induzida pelos GCs (CORRIGAN *et al.*, 2003).

O conhecimento da sinalização pelo GC vem elucidando possíveis vias moleculares implicadas na resistência aos GCs. Além de interações proteína-proteína, a capacidade de resposta tecidual aos GCs tornou-se mais complexa a partir da identificação e caracterização funcional dos polimorfismos do hGR (HUIZENGA *et al.*, 1998; Van ROSSUM *et al.*, 2002). Até o momento, os mecanismos melhor caracterizados na resistência ao GC envolvem falhas do GR na regulação da transcrição genética. Assim, parte da variabilidade individual nas respostas de vulnerabilidade e/ou resiliência aos estímulos ambientais pode ser atribuída a variações nos genes do hGR. A busca pelo entendimento da heterogeneidade de respostas aos GCs direcionou à investigação de variantes polimórficas do gene do GR como um fator implicado na sensibilidade aos GCs.

2.4 POLIMORFISMOS DO GENE DO RECEPTOR DO GLICOCORTICOIDE

O gene *NR3C1* que codifica o hGR, está localizado no braço longo do cromossomo cinco (5q31), apresenta cerca de 140.000 pares de base e é composto por 9 éxons (HOLLENBERG *et al.*, 1985).

As variantes polimórficas do gene do GR, ER22/23EK (frequência alélica 3%), N363S (4%), BclI (37%) e A3669G (15%), demonstraram mudanças *in vitro* ou na capacidade transativacional ou afetando a estabilidade do RNAm (DERIJK & de KLOET, 2008). Estas variantes do gene do GR foram caracterizadas funcionalmente: nenhum efeito sobre a secreção basal do cortisol foi encontrado (ROSMOND *et al.*, 2000; RAUTANEN *et al.*, 2006). Entretanto, a resposta ao eixo HHA avaliada utilizando-se um protocolo de indução de de estresse agudo, o *Trier Social Stress Test*, mostrou que os carreadores do alelo G do N3635S obtiveram aumento na reatividade ao cortisol. Por outro lado, os carreadores dos alelos BclI G e A3669G demonstraram uma resposta atenuada (WÜST *et al.*, 2004; KUMSTA *et al.*, 2007; ISING *et al.*, 2008).

O polimorfismo A3669G surge de um *splicing* alternativo do gene do GR, em que o éxon 8 pode juntar-se ao éxon 9 α ou ao éxon 9 β , este último produzindo a isoforma β do GR. Estas duas proteínas são idênticas até o aminoácido 727. O GR α contém 50 aminoácidos adicionais; já a variante GR β contém 15 aminoácidos adicionais não homólogos. Foi descrita uma substituição da base adenina por guanina na sequência *ATTTA modif*, localizada na região 3'UTR do éxon 9 β . Esta alteração na sequência *ATTTA modif* é conhecida por desestabilizar o RNAm e diminuir a expressão da proteína clássica do receptor *in vitro* (DERIJK *et al.*, 2001); Derijik e colaboradores (2008) propuseram que a isoforma β induz resistência aos GCs.

A proteína hGR β é expressa em todo o corpo humano e apresenta-se principalmente no citoplasma das células da humanas, em complexos oligoméricos. A proteína GR β é predominante em muitos tecidos e células mas, em geral, é encontrada em níveis mais baixos do que a isoforma GR α . No entanto, a forma GR β é abundante em determinados tipos de células, tais como neutrófilos e células epiteliais. Além disso, a expressão de GR β pode ser aumentada seletivamente pelas citocinas pró-inflamatórias e outros ativadores imunitários e levar à redução da sensibilidade de GCs (HAUCK *et al.*, 2000; TLIBA *et al.*, 2006; WEBSTER *et al.*, 2001). Níveis elevados de GR β têm sido associadas com a redução da

sensibilidade aos GCs em uma variedade de doenças inflamatórias, incluindo asma, artrite reumatoide, colite ulcerativa, polipose nasal, lúpus eritematoso sistêmico, septicemia, leucemia linfoblástica aguda, e leucemia linfocítica crônica (LEWIS-TUFFIN & CIDLOVSKI, 2006). Manenschijn *et al.* (2009), em um artigo de revisão, sintetizaram os achados de estudos que investigaram a associação da presença do polimorfismo 9 β e parâmetros clínicos, conforme dados expressos na tabela 1, onde aparecem variados desfechos, a maior parte sugerindo reduzida sensibilidade ao GC.

Tabela 1- Dados de estudos que investigaram as associações entre o polimorfismo A3669G/ 9 β do GR e parâmetros clínicos (Adaptada de Manenschijn *et al.*, 2009)

Referência	População	Associação com polimorfismo 9 β / A3669G
van den Akker	216 holandeses idosos	<ul style="list-style-type: none"> •Nenhuma associação com supressão do cortisol após TSD. •Nenhuma associação com IMC , RCQ , sensibilidade à insulina , perfil lipídico e PC-r.
van den Akker	3851 holandeses idosos, 678 portadores de S. aureus nasal 2.804 não-portadores	<ul style="list-style-type: none"> •Menor risco de transporte nasal S. aureus persistente em carreadores homozigotos.
van den Akker	4.878 holandeses idosos com mais de 55 anos	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento do risco de IM e cardiopatia em carreadores homozigotos • Níveis mais elevados de PC-r, IL -6
Don <i>et al</i>	198 pacientes com AR e 393 controles	<ul style="list-style-type: none"> • Nenhuma associação com AR
DeRijk <i>et al</i>	30 pacientes com AR , 40 pacientes com LES, 24 controles	<ul style="list-style-type: none"> • Associação com a AR • Maior estabilidade RNAm GR β
Kumsta <i>et al</i>	206 indivíduos saudáveis	<ul style="list-style-type: none"> • carreadores do sexo masculino com aumento ACTH e nas respostas de cortisol total ao estresse psicossocial • carreadores do sexo masculino níveis elevados de ACTH pós TSD
Spijker <i>et al</i>	241 pacientes com TAB e 532 controles	<ul style="list-style-type: none"> • Redução do risco de TAB • Menos episódios maníacos e hipomaníacos
Syed <i>et al</i>	322 indivíduos europeus e 262 indivíduos asiáticos	<ul style="list-style-type: none"> • Baixa RCQ em mulheres Europeias •Perfil lipídico favorável em homens europeus • Nenhuma associação com pressão arterial, glicemia de jejum , insulina

ACTH , hormônio adrenocorticotrópico. TSD, teste de supressão com dexametasona. IMC, índice de massa corporal. RCQ , relação cintura e quadril. PC-r , proteína C reativa. S. aureus, Staphylococcus aureus. IL , interleucina . AR, artrite reumatoide. TAB, transtorno afetivo bipolar. IM , infarto do miocárdio. LES, lupus eritematoso sistêmico.

Os fatores moleculares que controlam a expressão GR β são pouco compreendidos, mas vários estudos têm implicado o envolvimento do fator de processamento SRp30c (JAIN *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2003; ZHU *et al.*, 2007). O tratamento das células com agentes que induzem a expressão SRp30c leva a um aumento seletivo na GR β e conseqüente redução da sensibilidade ao GC. Na presença de GC, hGR β heterodimeriza-se com a ligação do ligante ao hGR α , translocando-se para o núcleo para agir como um heterodímero dominante negativo, com função inibitória sobre a transcrição. A competição para a ligação ao GRE, a concorrência para co-reguladores transcricionais e a formação de heterodímeros inativos de GR α /GR β têm sido alguns dos mecanismos propostos para explicar o antagonismo mediado pela isoforma GR β .

Descobertas recentes sugerem um papel ainda mais amplo para GR β na sinalização celular e tecidual. Utilizando micro ensaios de varredura genômica em células manipuladas para expressar seletivamente GR β , vários estudos têm mostrado que esta isoforma β diretamente induz e reprime a expressão de um grande número de genes independente da sua atividade dominante negativa sobre GR α (KINO *et al.*, 2009; LEWIS-TUFFIN *et al.*, 2007). A capacidade de GR β para recrutar desacetilases de histonas e fechar a estrutura da cromatina parece estar envolvida na repressão de determinados genes, como os da interleucina 5 e da interleucina 13 (KELLY *et al.*, 2008, KIM *et al.*, 2009). Estes achados indicam que GR β pode funcionar como um fator de transcrição genuíno e levantam a possibilidade de que GR β module a resposta ao GC através de ações genômicas distintas a partir do seu antagonismo ao GR α . Um achado interessante foi a descoberta de GR β em peixes da espécie *zebrafish*, em camundongos e em ratos; estas isoformas têm estrutura e função semelhantes ao GR β humano, mas têm origem a partir de um mecanismo diverso de processamento alternativo (DUBOIS *et al.*, 2013; HINDS *et al.*, 2010; SHAAF *et al.*, 2008). O trabalho de Hinds e colegas (2010) forneceu evidências de que a proteína mGR β esteja envolvida em processos metabólicos: a indução das enzimas gliconeogênicas PDK4 G6Pase pelo GC foi inibida por mGR β , sugerindo que uma das funções da isoforma GR β , semelhante à insulina, seria bloquear a produção de glicose em nível hepático.

2.5 EFEITOS DOS GLICOCORTICOIDES

Os GCs, cortisol em humanos e corticosterona em roedores, representam a maior subclasse de hormônios esteroides que regulam processos metabólicos, cardiovasculares, imunológicos e comportamentais (CHARMANDARI *et al.*, 2005; SAPOLSKY *et al.*, 2000). Os hormônios GCs são essenciais para o desenvolvimento normal e para o controle da homeostase basal, sendo também indispensáveis na habilidade em lidar com mudanças (de KLOET *et al.*, 2005). O cortisol tem inúmeros efeitos no corpo humano, incluindo a mediação da resposta ao estresse, a regulação do metabolismo de lipídios e glicose, as ações imunossupressoras e anti-inflamatórias, os efeitos vasculares, o aumento da reabsorção óssea, além da atuação sobre o desenvolvimento e função de numerosos órgãos. Embora os GCs organizem a resposta fisiológica ao estresse, a exposição excessiva ou crônica aos GCs pode ter efeitos adversos no sistema nervoso e metabolismo energético, com alterações patológicas na memória e cognição (de QUERVAIN *et al.*, 2009), obesidade (PASQUALI *et al.*, 1993), crescimento (BURGUERA *et al.*, 1990; MAGIAKOU *et al.*, 1994), deposição de gordura corporal (CHROUSOS, 2000), metabolismo lipídico e controle glicêmico (TSIGOS *et al.*, 1993). Na tabela 2, são listadas algumas alterações clínicas que apresentam-se associadas a distúrbios do eixo HHA.

A composição do corpo desempenha um papel importante no metabolismo lipídico e na sensibilidade à insulina, influenciando o risco sobre doenças cardiovasculares (VAGUE, 1956). Uma importante atuação dos GCs é sua participação na composição corporal, incluindo a redistribuição de gordura, com deposição de tecido adiposo no abdômen e tronco e atrofia muscular (RUDMAN & GIROLAMO, 1971). A exposição de longo prazo a altos níveis de GCs induz a perda de massa muscular e inibe seu crescimento (HASSELGREN, 1999; HUGHES, 1987).

Tabela 2- Estados associados com alteração na atividade do Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

Aumento da Atividade do Eixo HPA	Redução da Atividade do Eixo HPA
Estresse Crônico	Insuficiência Adrenal
Depressão	Depressão Atípica
Anorexia Nervosa	Síndrome da Fadiga Crônica
Desnutrição	Fibromialgia
Transtorno Obsessivo Compulsivo	Hipotireoidismo
Transtorno do Pânico	Abstinência da Nicotina
Exercício Excessivo	Suspensão do tratamento com glicocorticoide
Alcoolismo	Após Síndrome de Cushing
Abstinência alcoólica	Tensão Pré-menstrual
Diabete Mellitus	Período pós parto
Obesidade Troncular (Síndrome Metabólica)	Após Estresse Crônico
Abuso Sexual na infância	Artrite Reumatoide
Baixa estatura psicossocial	Menopausa
Transtorno do Apego na Infância	
Doença Gastrointestinal Funcional	
Hipertireoidismo	
Síndrome de Cushing	
Gravidez (último trimestre)	

Adaptado de: Chrousos GP, Gold PW. 1992. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 267:1244–52

2.5.1 Ações Agudas da Elevação de Glicocorticoides

Os GCs foram nomeados por Hans Selye por suas principais ações: mobilização de depósitos de gordura e de reservas musculares e o aumento da gliconeogênese (CHERRINGTON, 1999). Após um estímulo estressor, o aumento na atividade do eixo HHA interage com a elevação de adrenalina, com o glucagon e com a atividade neural simpática para elevar as concentrações de glicose no sangue, garantindo substrato adequado para o cérebro e os músculos em uma situação de risco iminente. Os efeitos agudos do aumento dos GCs inibem a atividade do eixo HHA através de retroalimentação rápida sobre a hipófise e o hipotálamo (WIDMEIR & DALLMANN, 1984). Na tabela 3 aparecem listados alguns efeitos do estresse agudo sobre o metabolismo energético e sobre a resposta comportamental.

Tabela 3- Adaptação comportamental e física durante o estresse agudo

Adaptação comportamental: redirecionamento adaptativo do comportamento	Adaptação física: redirecionamento adaptativo de energia
Aumento da excitação e alerta	Oxigênio e nutrientes direcionados ao SNC e locais de estresse no corpo
Aumento cognitivo, vigilância e atenção focada	Alteração do tônus cardiovascular, aumento da pressão sanguínea, frequência cardíaca
Euforia (ou disforia)	Aumento da frequência respiratória
Analgesia aumentada	Aumento da gliconeogênese e lipólise
Aumento na temperatura	Desintoxicação de produtos tóxicos Inibição do crescimento e reprodução
Supressão do apetite e comportamento alimentar	
Supressão do eixo reprodutivo	Inibição da digestão; estimulação da motilidade colônica
Contenção da resposta ao estresse	Contenção da resposta imune e inflamatória

Adaptado de Chrousos & Gold, 1992.

Estudos experimentais que avaliam a secreção elevada de GC em resposta a um estressor agudo em laboratório também estão relacionados ao aumento de ingestão voluntário de doces e alimentos ricos em gordura, após o estímulo (EPEL *et al.*, 2001). Indivíduos com alta resposta de cortisol no *Trier Social Stress Test* ingerem mais calorias contidas em alimentos doces e gordurosos do que indivíduos com baixas respostas de cortisol, mostrando diferenças nas respostas ao estresse (EPEL *et al.*, 2001). A ação rápida sobre a ingestão calórica pode ser exercida através dos efeitos dos GCs sobre a secreção de endocanabinoides em neurônios-alvo (DI *et al.*, 2003).

2.5.2 Ações Basais Crônicas dos Glicocorticoides

Nos níveis de atividade basal, o eixo HHA, o CRH e os GCs estão principalmente relacionados com as tarefas de armazenamento, mobilização e consumo energéticos. O estresse crônico ativa a secreção GC e altera marcadamente as relações normais entre dois grandes sistemas reguladores neurais da ingestão alimentar: a retroalimentação negativa relacionada com os depósitos metabólicos (modulada por ações periféricas dos GCs) e acionamento neural direto através dos GCs. A mudança induzida pelo estresse na relação de forças entre estes sinais mediados por GC determina a subsequente modulação cerebral de determinados comportamentos. Em outras palavras, sob condições de estresse crônico, os GCs liberados atuam centralmente aumentando a expressão do CRH no PVN. No entanto, a atividade do eixo HHA e expressão de CRH- RNAm sob condições de estresse crônico estão muitas vezes reduzidas, o que implica em outras ações indiretas periféricas ou extra-hipotalâmicas dos GCs (WARNE, 2009).

Os GCs cronicamente aumentam a ingestão de alimentos palatáveis, o que aumenta os depósitos de gordura visceral e os níveis de insulina circulantes, sendo que ambos se correlacionam negativamente com a expressão de CRH-RNAm e podem, por sua vez, suavizarem a resposta ao estresse. Tal efeito é dependente tanto das escolhas alimentares quanto do total de calorias ingeridas. Assim, a ingestão de alimentos palatáveis pode representar um meio para combater a sensação de estresse, o que, mantido de forma continuada, pode tornar-se um mecanismo mal adaptativo (WARNE, 2009).

O estresse crônico, aplicado repetidamente e de forma intermitente ou contínua, revela a complexidade na regulação do eixo HHA. Podem ocorrer duas formas principais de

adaptações ao estressor crônico. Estressores repetidos podem conduzir a habituação, onde as respostas do eixo HHA diminuem com o tempo, ou a facilitação, em que o eixo HHA responde progressivamente a maior atividade (PECORARO *et al.*, 2006).

Os GCs têm profunda influência sobre os comportamentos de consumo alimentar. Estudos com ratos adrenalectomizados, a reposição de corticosterona aumentou a ingestão de sacarose (BELL *et al.*, 2000), de sacarina (BHATNAGAR *et al.*, 2000) e gorduras (la FLEUR *et al.*, 2004). Além disso, ratos adrenalectomizados também apresentavam redução na alimentação e no peso corporal (COHN *et al.*, 1955 e CASTONGUAY *et al.*, 1986). Curiosamente, a adrenalectomia corrigiu a obesidade em ratos geneticamente obesos (NAESER, 1973). No entanto, a expressão de neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos foi regulada negativamente após adrenalectomia (WHITE *et al.*, 1990 e SAVONTAUS *et al.*, 2002), sugerindo um cenário mais complexo. Um limiar reduzido tem sido proposto para ratos adrenalectomizados (GREEN *et al.*, 1992), talvez em consonância com a redução global da expressão de neuropeptídeos no núcleo arqueado. O estresse crônico demonstrou aumentar a ingestão de alimentos palatáveis em ratos (PECORARO *et al.*, 2004).

É interessante notar que os efeitos neuroendócrinos e metabólicos da adrenalectomia em ratos podem ser normalizados através de acesso livre à solução de sacarose associada à ração de consumo (LAUGERO, 2001). Este acesso à sacarose reduz a expressão de CRH no PVN (normalmente elevados pela adrenalectomia) e aumenta o consumo de calorias totais ingeridas por ratos adrenalectomizados (LAUGERO *et al.*, 2002). Isto é consistente com as ações inibitórias estabelecidas pelo CRH do PVN sobre a ingestão de alimentos (HEINRICHS & RICHARD, 1999).

2.5.3 Cortisol e Insulina: Efeitos Sobre a Ingestão Alimentar e Preferência Calórica

O aumento na concentração a partir de estados basais de GCs são acompanhados por aumentos nos níveis plasmáticos de insulina (la FLEUR *et al.*, 2004, CHRIST-CRAIN *et al.*, 2008 e WARNE *et al.*, 2008). A insulina atua inibindo os efeitos orexígenos e estimulando neurônios anorexígenos no núcleo arqueado (SCHWARTZ *et al.*, 2003), inibindo, desta forma, a ingestão de alimentos. Usualmente, o aumento nos níveis de insulina plasmática induzido por GCs antagonizam os efeitos estimulantes mais diretos dos GCs sobre a ingestão de alimentos. No entanto, os estudos experimentais revelaram um outro papel da insulina. Em condições de possibilidade de escolha alimentar, a corticosterona promoveu aumentos dose-dependente na ingestão de calorias totais, enquanto que a proporção de calorias derivadas de determinada fonte alimentar foi influenciada pelos níveis de insulina circulantes (la FLEUR *et al.*, 2004). Em ratos adrenalectomizados, a reposição de corticosterona produz um aumento na ingestão de gordura, que é dose dependente, mas não sobre a ingestão da ração padrão; o inverso ocorre em ratos adrenalectomizados e diabéticos: neste caso, a ingestão de ração padrão mostrou-se dependente da reposição de corticosterona, que não interferiu sobre a ingestão de gorduras. Nesta situação, o consumo de gorduras pode ser reestabelecido através administração de insulina (la FLEUR *et al.*, 2004). Esta outra ação da insulina não interfere em sua atividade sobre a redução do consumo calórico total (WARNE *et al.*, 2007a).

Os achados dos modelos experimentais estão em conformidade com estudos em seres humanos. Pacientes com doença de Cushing pareados por peso e comparados a controles de peso normal foram testados para palatabilidade e cremosidade de amostras de produtos lácteos que variavam no teor de gordura; neste estudo, mais de 50% dos indivíduos com doença de Cushing (elevados GC e insulina) escolheram produtos com pelo menos 10% de gordura, enquanto que os outros dois grupos preferiram significativamente menos alimentos palatáveis (CASTONGUAY, 1991). Tais evidências sugerem que a corticosterona e o cortisol aumentem as unidades de calorias ingeridas e que a insulina exerça duas ações: a primeira, já bem descrita, estaria implicada na inibição da síntese e secreção do neuropeptídeo Y, um orexígeno, no núcleo arqueado do hipotálamo (SCHWARTZ, 2000); a segunda estaria relacionada com o aumento, em baixas concentrações de insulina, da palatabilidade ou dos efeitos hedônicos da gordura por meio de suas ações nos sistemas catecolaminérgicos que regulam a atividade de células no núcleo accumbens, uma região de recompensa no encéfalo

(FIGLEWICZ, 2003). Esta hipótese propõe uma ação bifásica da insulina sobre o núcleo *accumbens*: quando em baixas concentrações haveria a estimulação da preferência por calorias de alta densidade (por exemplo, as gorduras); já em concentrações elevadas, a insulina induziria a inibição da palatabilidade. Tem sido proposto que esta curva dose-resposta bifásica resulte da ação de baixas concentrações de insulina sobre receptores de alta afinidade IGF-I (Fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 1, do inglês, *Insuline-like growth factor -1*) ou da atividade de elevadas concentrações de insulina sobre receptores de afinidade inferior (KITAMURA *et al.*, 2003).

A ação da corticosterona parece principalmente aumentar a motivação ou o direcionamento para agir. Na ausência de insulina, a corticosterona aumenta ingestão calórica de ração padrão; na presença de insulina, a corticosterona aumenta ingestão calórica de gorduras; em ambas as condições, o esteroide aumenta a ingestão calórica total. Assim, os GCs parecem induzir o aumento da saliência de incentivo (BERRIDGE & ROBINSON, 2003) para comportamentos que podem servir ao organismo, tanto positiva quanto negativamente; já a insulina parece direcionar as escolhas alimentares.

Alguns estudos vem examinando o papel das escolhas alimentares e a atividade do eixo HHA, apresentando resultados variáveis, tanto em direção a redução da resposta ao estresse como quanto ao aumento. Um trabalho que investigou o consumo de alimentos palatáveis em resposta ao estresse por contenção mostrou uma atenuação da resposta do ACTH no grupo alimentado com palatáveis; esta diferença persistiu apesar da habituação da resposta ao estresse em ambos os grupos de dieta; além disso, o estresse por imobilização aumentou o consumo de alimentos palatáveis em relação ao consumo do grupo que não recebeu estressor (PECORARO *et al.*, 2004).

O acesso restrito a alimentos palatáveis, um modelo experimental de compulsão alimentar, pode acentuar ainda mais esse efeito inibitório sobre o eixo HHA. De acordo com essas conclusões, os ratos alimentados com uma dieta rica em gordura durante 2-3 meses reduziram resposta simpática ao estresse, em comparação com aqueles alimentados com uma dieta de baixo teor de gordura e de carboidrato (BUWALDA *et al.*, 2001). A exposição a curto prazo a uma dieta rica em gordura, também reduziu a ansiedade no teste do labirinto em cruz elevado (PRASAD & PRASAD, 1996). Contra o argumento de que a ingestão de alimentos palatáveis atenua a atividade do eixo HHA, alguns estudos têm observado um

aumento da reatividade ao estresse com a ingestão de dieta rica em gordura. Por exemplo, os ratos submetidos a uma dieta rica em gordura (TANNENBAUM *et al.*, 1997; KAMARA *et al.*, 1998) têm maiores níveis de ACTH e/ou de corticosterona em resposta à contenção. A infusão lipídica involuntária aguda em ratos também produziu um aumento acentuado na resposta ao estresse pelo eixo HHA (WIDMAIER *et al.*, 1992), consistente com elevações da corticosterona após infusões de emulsão de triglicerídeos no cérebro (CLEMENT *et al.*, 2002). A aparente discrepância entre os achados pode ser atribuída não ao conteúdo calórico da dieta, mas sim a possibilidade da escolha de alimento palatável, como abordado por La Fleur e colegas: a provisão de ração padrão e/ou rica em gordura para ratos submetidos ao estresse por contenção levou a uma redução significativa dos níveis de ACTH e corticosterona (la FLEUR *et al.*, 2005). Em contraste, quando forneceu-se apenas a ração rica em gordura, na mesma proporção calórica consumida pelo grupo de animais com liberdade de escolha alimentar, as respostas ACTH e corticosterona para o estresse por contenção são significativamente mais altas (la FLEUR *et al.*, 2005). Os resultados de dois experimentos independentes (TANNENBAUM *et al.*, 1997; la FLEUR *et al.*, 2005) de dietas com escolha e dietas sem-escolha sobre as respostas do ACTH e da corticosterona ao estresse demonstraram diferenças na reatividade ao estresse tanto sobre o ACTH quanto sobre a corticosterona, evidenciando maiores respostas na ausência de escolha combinada com baixo teor calórico. Animais que recebiam acesso a solução de sacarina, que é doce mas não tem calorias, mostraram uma resposta atenuada da corticosterona à contenção, semelhante aos achados do ensaio no qual os ratos tinham acesso diário a uma solução de sacarose de alto teor calórico (ULRICH-LAI *et al.*, 2007). Portanto, atenuação da resposta ao estresse é um efeito tanto do valor calórico do nutriente mas também da possibilidade da escolha alimentar.

A insulina também pode desempenhar um papel-chave na atenuação das respostas do ACTH e da corticosterona à contenção. Os níveis de insulina no plasma são negativamente correlacionados com a expressão de CRH-RNAM no PVN (WARNE, 2008). Embora os locais de ligação e os componentes da sinalização da insulina (CORP *et al.*, 1986; BASKIN *et al.*, 1993) tenham sido detectados no núcleo paraventricular, a ação direta central da insulina sobre a expressão de CRH é improvável uma vez que a administração intracerebroventricular de insulina não afeta expressão de CRH-RNAM no PVN em ratos diabéticos, apesar de reduzir a expressão de RNAm da colecistoquinina neste mesmo sítio (SIPOLS *et al.*, 1995). Assim, acredita-se que a insulina possa atuar através de outros núcleos cerebrais,

possivelmente extra-hipotalâmicos que, agiriam então sobre o PVN. A área tegmentar ventral (VTA) e *substantia nigra pars compacta* (SNPC), dois locais chave na via da recompensa, expressam receptores de insulina (FIGLEWICZ *et al.*, 2003) e são sítios candidatos da ação insulínica. Apesar de ligações diretas entre a ação da insulina na expressão de CRH- RNAm no PVN e VTA / SNPC não tenham sido demonstradas, o VTA e a SN mostraram resposta à ingestão de gorduras ou aos níveis de insulina circulantes, respectivamente, com uma redução no número de células c-Fos imunorreativas (WARNE *et al.*, 2007b). Além disso, as projeções de CRH a partir do núcleo do leito da estria terminal, do núcleo central da amígdala e do PVN inervam a área tegmentar ventral (RODAROS *et al.*, 2007), sugerindo que o VTA possa também responder a alterações na expressão de CRH-RNAm PVN.

2.6 REGULAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

Devido à sua importância biológica, a ingestão alimentar é controlada por um sistema altamente complexo, com funcionamento robusto e preciso. Estão envolvidos na regulação do consumo alimentar os componentes homeostático, hedônico e executivo. A figura 4 ilustra esquematicamente os diversos níveis e regiões fisiológicas envolvidas na modulação do comportamento alimentar.

O núcleo arqueado (ARC), localizado no hipotálamo, é o principal centro de controle homeostático do apetite, recebendo informações de hormônios periféricos, para os quais possui receptores. O controle hedônico envolve o circuito dopaminérgico mesocorticolímbico, que pode ser ativado pelo consumo de alimentos palatáveis, induzindo à ingestão além das necessidades homeostáticas. O componente executivo inclui o controle inibitório, a atenção e a flexibilidade mental, a sensibilidade à recompensa e a memória de trabalho. Estes comportamentos são mediados por regiões corticais pré-frontais e modulados por neurotransmissores dopaminérgicos, noradrenérgicos, serotoninérgicos e colinérgicos, em resposta a mudanças no ambiente (PORTELLA & SILVEIRA, 2014; LOGUE & GOULD, 2014).

Sabe-se que os comportamentos voluntários, estimulados por desafios externos ou internos ou sentimentos de prazer, memórias e hábitos podem substituir os controles de homeostase do balanço energético (FIGLEWICZ, 2003; FIGLEWICZ & BENOIT, 2009;

ZHENG *et al.*, 2009; GIBSON, 2006 MYERS *et al.*, 2009; KELLEY *et al.*, 2005; STEPTOE *et al.*, 2007). Um estudo recente mostrou que a tristeza favorecia a ingestão de alimentos com alto teor de gordura/doce, com valência hedônica e gratificante, enquanto que a ingestão durante um estado de contentamento favorecia a ingestão de frutas secas (GARG, WANSINK & INMAN, 2007). A base para este comportamento e outros que levam à obesidade incluem vias corticais e subcorticais que envolvem a aprendizagem e memória de recompensa e prazer, bem como a formação de hábitos e diminuição do controle cognitivo. Hormônios de estresse elevados e ingestão de alimentos palatáveis e a consequente acréscimo de gordura podem servir como sinais de retroalimentação que reduzem o estresse percebido (PECORARO *et al.*, 2006), o que reforça o comportamento alimentar induzido pelo estresse.

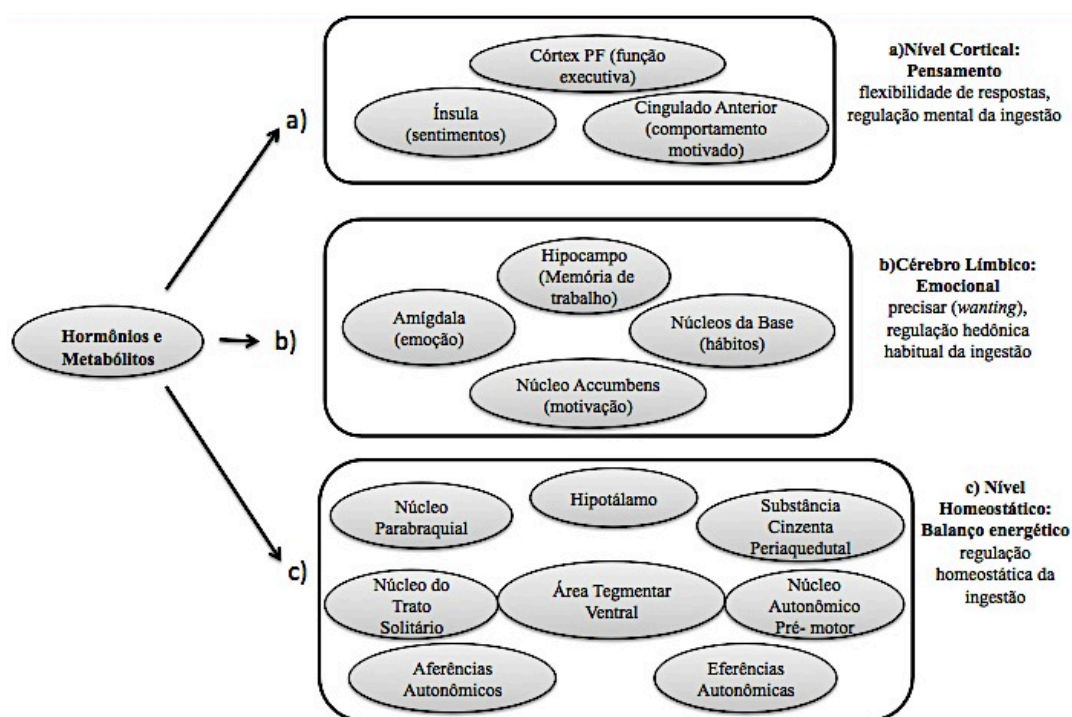


Figura 4 -As estruturas cerebrais envolvidas nos comportamentos alimentares. (A) No nível cortical, o encéfalo emocional está ligado à ínsula anterior que fornece "sentimentos", e ao córtex cingulado anterior que governa o "comportamento motivado". (B) O cérebro límbico é responsável pelas respostas emocionais (amígdala), motivacionais (núcleo accumbens) e habituais (núcleos da base). Em (C) tem-se representado o hipotálamo e algumas estruturas pertencentes ao tronco cerebral e a medula espinhal, que regulam o equilíbrio energético. As aferências para o cérebro e para as estruturas corticais e emocionais são mostradas à esquerda, e as eferências das estruturas corticais, subcorticais habituais e emocionais são mostradas à direita. Existem interações horizontais entre componentes aferentes e eferentes em cada nível e as estruturas também são bidirecionalmente e verticalmente ligadas. Enquanto os neurônios hipotalâmicos são suficientes para regular a ingestão energética, componentes do cérebro límbico e córtex frontal podem substituir a manutenção básica do balanço energético e resultar em um fenótipo de sub ou sobrepeso. Adaptada de Dallman (2010).

3 JUSTIFICATIVA

Considerando a participação dos GCs na modulação do comportamento alimentar e os crescentes aumentos de incidência e prevalência de obesidade e distúrbios na alimentação, particularmente na infância e na adolescência, torna-se relevante identificar possíveis preditores. Acredita-se que a investigação da heterogeneidade produzida pelas variantes polimórficas de genes envolvidos no controle do eixo HHA contribuirá no entendimento dos mecanismos neurobiológicos subjacentes às variações fenotípicas da resposta ao estresse.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

O estudo pretende investigar em uma amostra comunitária de adolescentes se a presença do polimorfismo A3669G do gene do GR interfere na preferência, no comportamento alimentar e perfil metabólico destes indivíduos, avaliando a presença de outros possíveis preditores, descrevendo os respectivos padrões de ativação cerebral frente a uma tarefa de visualização de imagens de alimentos palatáveis, de alimentos não-palatáveis e de imagens de objetos neutros.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a frequência e a distribuição do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR na amostra.
- Estimar padrões nutricionais e antropométricos dos participantes da pesquisa.
- Descrever a glicemia, a concentração e a sensibilidade à insulina dos indivíduos da amostra; avaliar como estas medidas variam em dois momentos: 2008 e 2013.
- Determinar a presença de traços de ansiedade na amostra; avaliar se esta variável interfere no comportamento alimentar entre os grupos de carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G e não carreadores.
- Analisar a existência de associação entre o cuidado parental sobre o comportamento e preferência alimentar dos participantes.
- Avaliar a possível associação entre trauma e abuso na infância sobre a preferência e o comportamento alimentar dos indivíduos deste estudo.
- Descrever os padrões de ativação cerebral relativos à preferência e ao comportamento alimentar dos indivíduos da amostra através de ressonância magnética cerebral funcional, por meio de um paradigma de imagens de alimentos palatáveis, de alimentos não palatáveis e de imagens de objetos neutros.

5 HIPÓTESE

A alteração da reatividade ao GC, com aumento de sua resistência, relacionada à sensibilidade de seu receptor, altera a resposta ao cortisol, induzindo menor consumo calórico total e de alimentos de conforto, traduzindo-se em parâmetros neurobiológicos (avaliação clínica, laboratorial e de neuroimagem funcional).

6 METODOLOGIA

Este estudo realizou-se em duas fases: as coletas da primeira etapa, ocorrida em 2008, foram realizadas por pesquisadores que integravam o projeto Avaliação Multidimensional e Tratamento da Ansiedade em Crianças e Adolescentes (PROTAIA) (SALUM *et al.*, 2011) nesta época, que, gentilmente cederam alguns dados para a elaboração deste trabalho.

6.1 AMOSTRA

A população da amostra é originária de alunos matriculados em seis escolas da rede pública de ensino da cidade de Porto Alegre, pertencentes à área de abrangência da Unidade Básica de Saúde Santa Cecília. O desenho da amostra foi estruturado para garantir poder na investigação do efeito das variáveis em estudo. A pesquisa foi planejada para desenvolver-se em 2 etapas, sendo a primeira fase de coleta realizada no ano de 2008 e a segunda, em 2013. No total, 2457 participantes responderam inicialmente a uma escala de triagem para transtornos de ansiedade, o questionário auto-aplicativo *Screen for Children Anxiety Related Emotional Disorder- Children rated* (SCARED) (ISOLAN *et al.*, 2011). A partir desta triagem, todos os participantes classificados no quartil superior e amostras de 10% de cada um dos outros três quartis foram convidados para seguir a pesquisa, que compreendia uma avaliação psiquiátrica e nutricional, totalizando 242 indivíduos; destes, seis foram excluídos por diagnóstico de retardo mental e sete por parentesco com outro participante, totalizando 229 sujeitos elegíveis para o estudo. Na primeira etapa, em 2008, os 229 participantes realizaram investigação completa que incluiu: avaliação bioquímica, nutricional e psiquiátrica, genotipagem e antropometria; destes 229, um total de 137 retornaram os protocolos preenchidos de auto-avaliação para a criança, a mãe, o pai e irmãos; dos 137, seis indivíduos não completaram a todas as avaliações subsequentes, totalizando assim 131 participantes na primeira fase. Em 2013, recrutou-se todos os participantes que finalizaram as coletas da etapa anterior, comparecendo um total de 74 indivíduos. A reavaliação, realizada entre 2013 e 2014, compreendeu (1) diagnóstico psiquiátrico; (2) medidas antropométricas e de comportamento alimentar; (3) coleta de sangue e saliva para extração de DNA para

medidas de metilação e avaliação bioquímica; (4) avaliação com neuroimagem funcional. Os 74 participantes compareceram à coleta de dados no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA (CPC - HCPA) e 43 realizaram ressonância magnética funcional (fMRI) no Instituto do Cérebro da PUCRS. A figura 5 esquematiza a linha do tempo deste trabalho. Na segunda fase, um indivíduo foi excluído das análises, por diagnóstico de adenoma de hipófise.

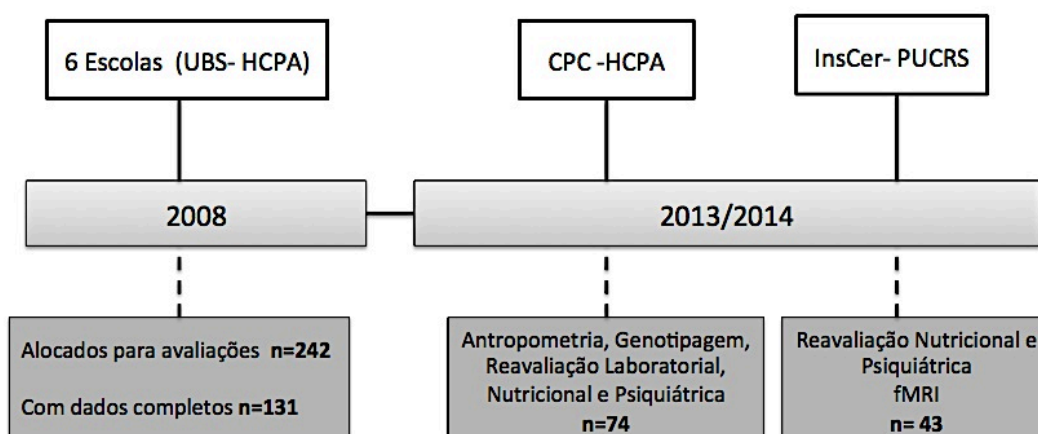


Figura 5- Linha do tempo ilustrando as fases deste estudo, dentro do projeto PROTAIA. UBS :Unidade Básica de Saúde. HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre. CPC: Centro de Pesquisa Clínica; InsCer: Instituto do Cérebro. PUCRS: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. fMRI: Functional Magnetic Resonance Imaging

6.2 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi aprovada, em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo Seres Humanos Resolução (196/96), pelo Comitê de Ética do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (GPPG/HCPA) (número do protocolo 08-017). Todos os participantes, incluindo pais e/ou responsáveis, foram informados e esclarecidos acerca dos objetivos da pesquisa e foi garantido o sigilo com relação à identidade, privacidade e confidencialidade dos dados obtidos. Na primeira fase da pesquisa, foi utilizado um termo de dissentimento para a coleta dos dados. Na etapa seguinte foram coletados consentimentos informados separados dos responsáveis e da criança ou adolescente.

6.3 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO

6.3.1 Avaliação Socioeconômica

A classificação socioeconômica foi com base nos critérios da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP), que classifica a condição socioeconômica conforme pontuação obtida de acordo com a posse de determinados itens e com o grau de instrução do chefe da família em: Classe A - 35 a 46; Classe B - 23 a 34; Classe C - 14 a 22; Classe D - 8 a 13 e Classe E - 0 a 7.

6.3.2 Avaliação laboratorial

Amostras sanguíneas dos participantes, em jejum por 10 a 12h, foram coletadas no turno da manhã (entre 7:00h e 10:00h) através de punção venosa no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA. Três tubos contendo 4,5ml de amostras de sangue foram imediatamente transportadas, em caixas térmicas com gelo, para o Laboratório de Análises Clínicas do HCPA, um dos tubos para análise de glicemia, insulina, colesterol total, HDL (Lipoproteína de alta densidade), triglicerídeos e TSH (Hormônio tireotrófico); os outros dois tubos de amostras foram armazenados à temperatura adequada para pesquisas hormonais e moleculares, no Laboratório de Análises Moleculares do HCPA (SALUM *et al.*, 2011). Os níveis plasmáticos de glicose, colesterol total, HDL e triglicerídeos foram determinados pelo método enzimático colorimétrico, os níveis de insulina por quimioluminescência e os níveis de LDL foram estimados através da equação de Friedewald.

6.3.3 Avaliação psiquiátrica

A avaliação psiquiátrica utilizada neste estudo foi composta de um instrumento de triagem, a escala *SCARED* e dois instrumentos diagnósticos, o *Schedule for Affective Disorder and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL)* (KAUFMAN *et al.*, 1997) para participantes até 17 anos e o *MINI (International Neuropsychiatric Interview)*, versão brasileira (AMORIM, 2000), para os que estivessem

acima de 18 anos. O *Screen for Children and Anxiety Related Emotional Disorders* (SCARED), validado para a utilização em crianças e adolescentes brasileiros (ISOLAN *et al.*, 2011) é uma escala auto aplicativa composta por 41 itens que podem ser agrupados em cinco subescalas de sintomas ansiosos: transtorno de ansiedade de separação, transtorno de pânico, transtorno de ansiedade social ou fobia social, transtorno de ansiedade generalizada e fobia escolar conforme o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV – DSM IV*) (American Psychiatric Association –APA). Os instrumentos para avaliar o diagnóstico psiquiátrico dos participantes, o *K-SADS-PL* e *MINI*, foram aplicados por pesquisadores treinados e revisados por um psiquiatra da infância e da adolescência.

6.3.4 Avaliação de Trauma e Cuidado Materno

A avaliação retrospectiva de experiências traumáticas (abuso e negligência, nas esferas emocional, física e sexual) foi realizada através do CTQ, do inglês *Childhood Trauma Questionnaire* (BERSTEIN *et al.*, 2003), um instrumento auto aplicativo, traduzido e validado para o português (GRASSI-OLIVEIRA *et al.*, 2006). O CTQ é um instrumento para adolescentes a partir de 12 anos e para adultos através do qual o respondedor gradua a frequência de 28 assertivas relacionadas com situações ocorridas na infância em uma escala *Likert* de cinco pontos. Os participantes responderam ao CTQ nas duas etapas deste estudo.

A adaptação transcultural do *Parental Bonding Instrument* (PBI) para o português foi utilizada para mensurar o cuidado materno. O PBI é representado por uma escala *Likert-like* (0 a 3) consistindo em 25 itens relacionados a cuidados parentais retrospectivos. Esta escala considera dois fatores: afeto (afeto, calor, disponibilidade, cuidado, sensibilidade versus frieza e rejeição) e controle ou proteção (controle, intrusão versus encorajamento da autonomia). A avaliação da proteção apresenta itens sugerindo controle, superproteção, intrusão, contato excessivo, infantilização e prevenção de comportamentos independentes, que indicam alta superproteção e itens sugerindo encorajamento de independência, que indicam baixa superproteção (PARKER *et al.*, 1979, HAUCK *et al.*, 2006, SEGANFREDO *et al.*, 2009). Na primeira fase de coletas, em 2008, o PBI foi aplicado à mãe do participante; na

segunda etapa, em 2013, os próprios participantes respondiam à escala para avaliar o tipo de cuidado conforme percebido pelo adolescente. O PBI respondido pelo participante também é composto por 25 perguntas em que o entrevistado responde questões em relação ao comportamento materno ou paterno até seus 16 anos de idade (PARKER, 1979; HAUCK *et al.*, 2006), avaliando as dimensões do comportamento parental em duas subescalas: amabilidade e superproteção. O PBI mostra uma elevada associação com ansiedade e depressão na vida adulta (PARKER, 1979; SPOKAS *et al.*, 2009).

6.3.5 Avaliação genética

A avaliação genética foi realizada mediante coleta de saliva dos participantes, de seus irmãos e de seus pais para extração do DNA para genotipagem; esta coleta foi realizada na primeira fase, em 2008. A extração do DNA das células do epitélio bucal dos adolescentes foi obtida através do *Oragene™ Kit (DNA Genotek, Ottawa, Ontário, Canadá)*. A genotipagem do polimorfismo A3669G do gene *NR3C1* foi realizada por PCR (Reação em cadeia da polimerase) em tempo real.

As informações sobre o ensaio encomendado pela *LifeTechnologies* (<https://www.lifetechnologies.com>) podem ser verificadas através do código C_8951023_10, no próprio *site*.

O experimento utilizou um volume final de 13µl contendo 20ng de DNA genômico e 6,25µl de 2X do *TaqMan® Universal PCR Master Mix* Master Mix, No AmpErase®UNG (Applied Biosystems) e 3,1µl de 20X *TaqMan™ SNP genotyping assay*. As condições da amplificação foram: 10 min a 95°C seguido por 15s a 95°C e 60s a 60°C por 40 ciclos. A discriminação alélica com sondas fluorescentes (uma para o alelo selvagem e outra para o alelo variante) foi determinada a 60°C com o *ABI StepOne*, seguida de análise apropriada com o software da *Applied Biosystems*.

6.3.6 Avaliação do consumo alimentar

A ingestão alimentar foi avaliada por um questionário de frequência alimentar aplicado aos participantes composto por 135 alimentos, o Questionário de Frequência Alimentar (QFA), desenvolvido e validado para adolescentes e adultos (QFA-Porto Alegre) (HENN *et al.*, 2010). O QFA avalia o consumo alimentar do último ano de forma retrospectiva, por meio da frequência (número de vezes por dia/por semana/por mês ou por ano) e quantidades (tamanho da porção) ingeridas, através de auto relatos. Para o cálculo do consumo de carboidratos, proteínas e gorduras, foi desenvolvido o QFA semiquantitativo adaptado do QFA-Porto Alegre, (HENN *et al.*, 2010). Para determinar a quantidade em gramas (g) ou mililitros (ml) das porções pré-estabelecidas pelo QFA-Porto Alegre, foram empregados os valores fornecidos pelos autores do instrumento original (HENN *et al.*, 2010); porções/medidas caseiras divergentes das pré-estabelecidas, foram corrigidas pela Tabela de Avaliação do Consumo Alimentar em Medidas Caseiras (PINHEIRO *et al.*, 2005). As frequências e as quantidades consumidas pelos participantes foram convertidas em equivalentes diários: [número de vezes/número de dias*(quantidade*valor da medida caseira)]. Os dados foram digitados e posteriormente calculados em uma planilha do Microsoft Office Excel; para cada item alimentar, foi estimado o valor dos nutrientes e o valor energético total, em quilocalorias (Kcal). Para obtenção da composição nutricional dos alimentos, foram empregados os valores fornecidos pelos autores do QFA-Porto Alegre, provenientes em sua maioria da tabela americana (United States Department of Agriculture - USDA) seguido pelas tabelas brasileiras (PHILIPPI, 2002; PINHEIRO *et al.*, 2005). Para os itens sem equivalentes na tabela americana (por exemplo, nhoque de batata, legumes empanados, pastel/coxinha/risoles/croquete, pastelão/empadão/ quiche, legumes variados, salada misturada, aipim frito, bolinho de arroz, capuccino, sushi, brigadeiro/negrinho/doce com chocolate) foram elaboradas receitas e com base na pesquisa dos ingredientes, foi possível obter a composição pela USDA. A estimativa do consumo de cada nutriente foi consolidada com base no cálculo onde o valor nutricional total equivale ao número de porções deste alimento multiplicado pelas frequência de ingestão diária e proporção em cada porção. O cálculo do consumo nutricional total individual foi realizado através do programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL,

EUA®). A análise quantitativa de macronutrientes e micronutrientes consumidos foi calculada usando o *software* NutriBase® (versão NB& Network) [Phoenix, AZ, USD].

6.3.7 Avaliação Antropométrica

Todas as medidas antropométricas foram realizadas no turno da manhã, avaliadas por pesquisadores capacitados que utilizaram técnicas padronizadas e equipamentos calibrados (*World Health Organization- WHO*). As medidas foram realizadas em duplicata, sendo adotado o valor médio e de acordo com a metodologia descrita no manual de orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN (BRASIL, 2011).

Massa corporal

A massa corporal (peso) foi aferida em quilogramas (kg) por meio de uma balança digital eletrônica, com capacidade de 180 kg e precisão de 100 g marca Filizola®.

Altura

A estatura dos adolescentes foi medida por um estadiômetro fixo com precisão de 1 mm da marca Harpenden®. As três medidas foram realizadas em duplicata, sendo adotado o valor médio e de acordo com a metodologia descrita no manual de orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN (BRASIL, 2011).

Índice de Massa Corporal

O cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC) foi obtido através da fórmula:

$IMC = P \div E^2$, onde P = peso em quilogramas (kg) e E = estatura em metros, ao quadrado.

6.3.8 Avaliação do desenvolvimento puberal

O estadiamento puberal foi realizado por meio da auto-avaliação do adolescente, através de fotos das características sexuais secundárias. Posteriormente, as fotos foram classificadas segundo os critérios de Tanner.

6.3.9 Neuroimagem funcional

Todos os participantes que compareceram à avaliação no CPC-HCPA em 2013 (n=74) foram convidados a participar do exame de neuroimagem funcional. Através de contato telefônico procedia-se ao agendamento do exame, excluindo-se participantes que apresentassem contraindicações: presença de metais no corpo, tatuagem recente e/ou gestação. Os participantes eram orientados a comparecer no Instituto do Cérebro da PUCRS (figuras 6 e 7) em jejum de quatro horas e, trinta minutos antes do exame, recebiam lanche padronizado [uma barra de cereal + um suco de caixinha = 174 kcal, 39g de carboidratos (90% das calorias totais), 0,9 g de proteínas (2% das calorias totais) e 1,6g de lipídeos (8% das calorias totais)]. No total, 44 participantes dos 74 que foram reavaliados em 2013 realizaram exame de neuroimagem funcional. Destes 44, 8 participantes apresentavam o alelo G do polimorfismo A3669G.



Figuras 6 e 7 - Aquisição de imagens de ressonância magnética cerebral, no Instituto do Cérebro- PUCRS

6.4 AQUISIÇÃO DE IMAGENS DE fMRI

A aquisição das imagens foi realizada em equipamento de 3,0 Tesla (GE Healthcare modelo Signa HDxT), com uso de bobina de crânio de oito canais para recepção do sinal. Adquiridas inicialmente imagens estruturais de crânio total em T1, com *voxels* de resolução isotrópica espacial de 1mm³, sendo adquiridas 170 fatias contíguas, com matriz de imagem de 256 x 256 (frequência e fase) e imagens do tipo *Inversion Recovery* com TE 2.18ms e TR 6.1ms. A aquisição estrutural foi seguida pela aquisição de imagens funcionais. A aquisição das imagens de ressonância magnética funcional foi através de imagens ecoplanares T2* (EPI) *Blood oxygen level-dependent* (BOLD), com 26 fatias axiais intercaladas, de espessura de corte de 4,0mm e com gap de 0,4mm, FOV 240mm x 240mm e tamanho da matriz de 80 x 64, TE 30ms, TR 2.000ms, ângulo flip de 90°. A tarefa foi dividida em três sessões com 233 volumes, com tempo de aquisição de 7 min e 46 s cada sessão. Durante o exame, os participantes realizavam uma tarefa, chamada paradigma, descrita logo a seguir.

6.4.1 Paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros

Paradigmas em fMRI representam o conjunto de tarefas que o indivíduo deve realizar no momento do exame para identificar as áreas de atividade cerebral (DELLA JUSTINA, 2005; MAZZOLA, 2009). O paradigma utilizado neste trabalho foi adaptado do estudo de Page *et al.* (2011), desenhado para avaliar as respostas cerebrais dos indivíduos frente a visualização de imagens de alimentos altamente palatáveis, imagens de alimentos não palatáveis e de imagens de itens neutros (objetos não relacionados à alimentação). As figuras foram selecionadas de um banco de imagens da Faculdade de Psicologia da UFRGS (DELUCHI, 2014) e do *International Affective Picture System* (IAPS) (LANG *et al.*, 2008). Um estudo piloto realizado com adolescentes da mesma faixa etária desta pesquisa determinou quais alimentos seriam classificados como altamente palatáveis e não palatáveis. O paradigma foi criado e apresentado no *software* E-Prime versão 2.0 (*Psychological Software Tools Inc.*) e dividido em três sessões, cada uma com vinte e uma imagens randomizadas (sete alimentos altamente palatáveis, sete alimentos não palatáveis e sete itens neutros) e com duração sete minutos. Antes da realização do paradigma de palatáveis, os indivíduos eram treinados, visualizando as imagens da tarefa na tela de um computador.

As sessões do paradigma foram estruturadas da seguinte forma:

- 1) Apresentação da figura de um alimento altamente palatável ou um alimento não palatável ou um item neutro (duração 4 segundos).
- 2) Escala do “gostar”: Quanto você gosta deste alimento? (duração 5 segundos).
- 3) Escala do “querer”: Quanto você quer comer este alimento agora? (duração 5 segundos).

As escalas dos itens 2 e 3 eram formadas por respostas que variavam de 1 (nada) a 4 (muito).

- 4) Ponto de fixação (duração média de 6 segundos), configurando o descanso entre as sessões.

Para imagens de itens neutros as perguntas eram reformuladas da seguinte maneira: “Quanto este objeto é importante para você?” e “Quanto você utiliza este objeto?”. A figura 8 ilustra o paradigma de alimentos palatáveis/não palatáveis.

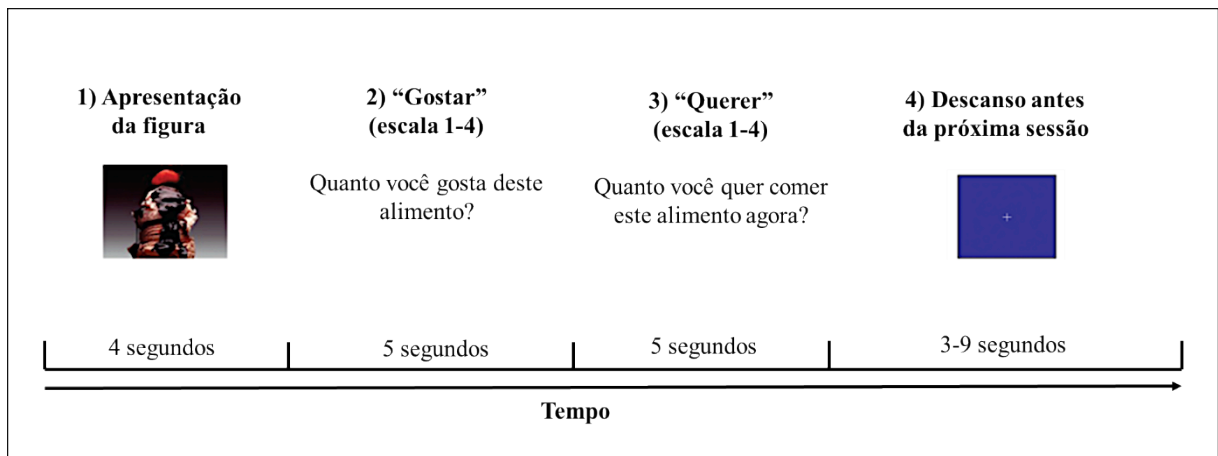


Figura 8- Linha do tempo que ilustra o modelo de sessão realizada no paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros. Adaptada de Page *et al.* (2011).

6.4.2 Pré-processamento e processamento das imagens fMRI

O pré-processamento de imagens foi realizado utilizando o programa *Statistical Parametric Mapping* (SPM, versão 8, *University College London*, UK; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>). Inicialmente, as imagens foram convertidas de DICOM (formato do *scanner*) para o formato Nifti-1. Em seguida, realizou-se a interpolação

temporal dos dados (*slice-timing correction*) (HENSON et al., 1999; SLADKY et al., 2011) para compensar as diferenças temporais entre as fatias (*slices*). Logo após, as imagens foram processadas para corrigir diferenças relacionadas a pequenos movimentos da cabeça durante a aquisição. Cada imagem foi transformada a partir de seis parâmetros de transformação de corpo rígido onde foi aplicado um modelo autorregressivo de movimento, para corrigir mudanças na posição da cabeça (FRISTON et al., 1996). Quatro participantes foram excluídos por movimentação excessiva durante o exame. As imagens corrigidas foram co-registradas com imagens anatômicas individuais de alta resolução (ASHBURNER & FRISTON, 1997); estas imagens de alta resolução foram segmentadas em substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano (CSF) (ASHBURNER & FRISTON, 2005). Após a suavização das imagens, a substância cinzenta foi transformada em espaço padrão, utilizando-se uma transformação de doze parâmetros e modificação quadrática tridimensional de seis parâmetros (WRIGHT et al., 1995; ASHBURNER e FRISTON, 2000). Os parâmetros para normalização do espaço padrão foram aplicados nas imagens funcionais e anatômicas de cada indivíduo. Após a normalização, os dados funcionais foram suavizados utilizando filtro gaussiano de 8x8x8mm *full width at half maximum* (FWHM) para análises estatísticas (MIKL et al., 2008). O processamento das imagens também foi realizado no programa Statistical Parametric Mapping (SPM). Neste programa, a análise de dados de vários sujeitos prossegue em duas etapas, utilizando modelos de dois níveis (ASHBURNER et al., 2014). As análises estatísticas de primeiro nível (*first level*), são usadas para implementar uma análise intrassujeito, havendo muitos modelos de primeiro nível, pois há vários sujeitos (POLDRACK et al., 2011; ASHBURNER et al., 2014). Nessa etapa, são consideradas as informações sobre as diferentes condições/contrastes, o tempo de início (*onsets*) e a duração para todos os *scans* combinados do sujeito (SPM 8 Processing Manual). Os modelos de primeiro nível podem ser utilizados para produzir um resumo adequado dos dados que serão utilizados para as análises de segundo nível (*second level*) (ASHBURNER et al., 2014). O segundo nível leva em consideração as estimativas dos parâmetros específicos do sujeito e as estimativas de variância do primeiro nível (POLDRACK et al., 2011). Trata-se de uma análise de grupo (ASHBURNER et al., 2014). Neste trabalho, o segundo nível foi utilizado para verificar as diferenças de ativações cerebrais em dois grupos: um grupo dos indivíduos carreadores da variante polimórfica A3669G do gene do GR (n= 7) e o outro grupo dos indivíduos não carreadores (n=32),

controlados para a variável nível de ansiedade. Foram considerados três tipos de contrastes, definidos de acordo com o paradigma fMRI realizado e também utilizado no primeiro nível, conforme descrição:

- 1) alimentos palatáveis > itens neutros;
- 2) alimentos palatáveis > alimentos não palatáveis;
- 3) alimentos não palatáveis > itens neutros.

Utilizou-se o *teste t* para duas amostras independentes como análise estatística, corrigindo para comparações múltiplas (FWE, *family-wise error*, com valor de $p < 0,05$).

Para localizar as regiões cerebrais identificadas, inseriu-se as coordenadas X, Y, Z encontradas pela análise de *second level* (SPM) na interface do *Talairach Client* (<http://www.talairach.org/>), conforme ilustrado na Figura 9.

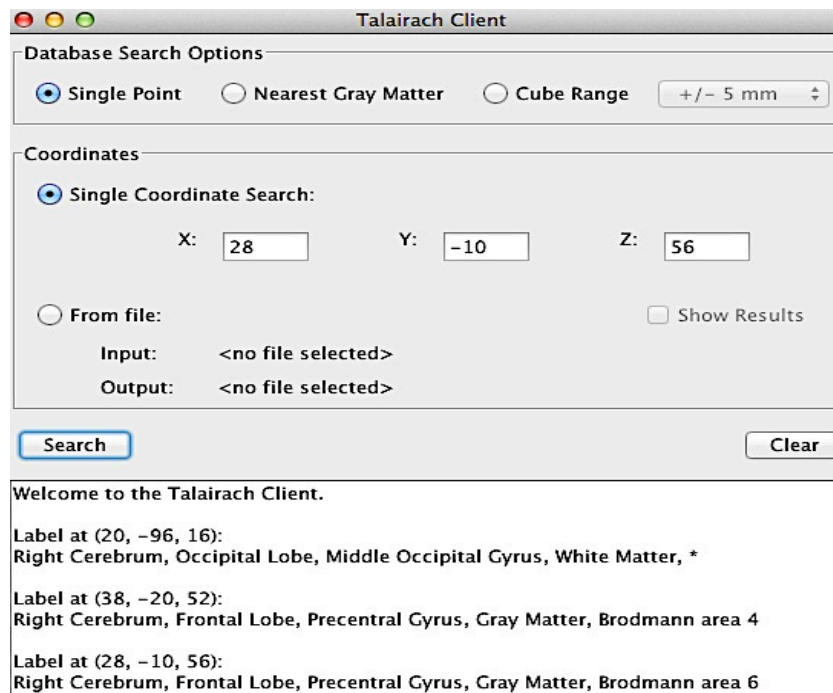


Figura 9- Identificação das áreas cerebrais ativadas de acordo com as coordenadas da ativação fornecidas pela análise de *second level* (SPM) na interface do *Talairach Client*.

6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram descritos em média \pm erro padrão para variáveis contínuas e frequência (em percentual) para as categóricas. Os desfechos de cada fase do estudo foram comparados entre as variantes polimórficas utilizando teste Qui-Quadrado, para variáveis categóricas e teste *t de Student*, para variáveis contínuas; os dados de interação das variáveis longitudinais de desfecho foram calculados através de Equações de Estimação Generalizadas (EEG). As análises da pesquisa foram realizadas com o software *Statistical Package for the Social Sciences for Mac v. 22.0* (SPSS Inc., IBM Company, Chicago, EUA). As análises das imagens de ressonância magnética funcional foram descritas na sessão Aquisição de Imagens. O nível de significância considerado foi de $\alpha=0,05$.

7 RESULTADOS

7.1 FREQUÊNCIA GÊNICA

O alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR foi encontrado em 17,6% dos indivíduos em 2008 e em 14,9% da amostra em 2013, com distribuição genotípica conforme tabela 4. As populações apresentavam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg para o alelo G nas duas etapas do estudo, na frequência de 17,6% (IC95%: 12,8 - 23,8; P=0,601) e 14,9% (IC95%: 8,1-23; P=0,473), respectivamente.

Tabela 4 – Frequência do polimorfismo A3669G na Amostra

	Mudança Nucleotídeo	Não carreador	Carreador	Total
2008	A G	186 (82,3)	40 (17,6)	226 (100)
2013		63 (85,1)	11 (14,9)	74 (100)

Dados expressos em frequências absolutas (n) e relativas (%). A: Adenosina. G: Guanina

7.2 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Não houve diferenças na composição amostral entre os grupos quanto à idade, sexo, cor, peso ao nascimento, nível de escolaridade materna e nível socioeconômico dos participantes que realizaram as coletas em 2008 e em 2013 (tabela 5); também não houve diferença quanto ao cuidado materno, verificado pela escala PBI (P=0,864 em 2008 e P=0,612 em 2013) e quanto a experiências de abuso e trauma na infância, avaliado pelo questionário CTQ (P= 0,202 em 2008 e P=0,927 em 2013), expressos na tabela 5. O nível de ansiedade, medido pela escala SCARED, foi estatisticamente menor no grupo dos carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G do que no grupo não carreador na reavaliação de 2013 (média ± EP: carreadores 13,8±1,82 e não carreadores 24,46±1,64, com valor de P=0,011) conforme descrito na tabela 5.

Tabela 5 – Características Amostrais em 2008 e em 2013

Característica Amostras	2008				2013			
	n	Carreador	Não Carreador	P	n	Carreador	Não Carreador	P
Idade (anos) ^b	131	13,88 ± 0,59	13,61 ± 0,21	0,672	73	18,13 ± 0,87	17,46 ± 0,29	0,667
Sexo masculino ^a	132	8 (6,1%)	37(28%)	0,453	74	2(18,2%)	27(42,9%)	0,183
Cor branca ^a	92	19(14,4%)	73(55,3%)	0,138	73	7(70%)	41(65,1%)	1,0
Escolaridade materna (< 8 anos) ^a	131	3(2,3%)	17(13%)	0,335	45	7(100%)	25(65,8%)	0,089
ABEP ^b	121	15,76 ± 0,92	16,17 ± 0,5	0,232	65	16,38 ± 1,93	17,04 ± 0,7	0,735
BWR ^b	35	0,97 ± 0,08	0,95 ± 0,07	0,689	70	1,04 ± 0,06	1,05 ± 0,02	0,516
SCARED-C ^b	131	29,67 ± 2,33	33,27 ± 1,17	0,954	68	13,8 ± 1,82	24,46 ± 1,64	0,011*
CTQ ^b	89	38,62 ± 3,5	36,47 ± 1,2	0,202	39	2 ± 0,309	2,03 ± 0,15	0,927
PBI ^b	91	7,88 ± 0,77	8,26 ± 0,38	0,854	54	8,42 ± 1,74	7,67 ± 0,55	0,612

^a Qui-quadrado. Dados expressos em frequências absolutas (n) e relativas (%). ^bTeste t de Student. Dados expressos em média ± EP. ABEP: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. BWR: Birth Weight Raitio. SCARED- C: Screen for Children and Adolescent Emotional Related Disorders- Child version. CTQ: Childhood Trauma Questionnaire. PBI: Parental Bonding Instrument.

7.3 COMPORTAMENTO ALIMENTAR

A análise realizada através do QFA mostrou que não houve diferenças entre os grupos quanto ao consumo de proteínas, gorduras e carboidratos no ano de 2008, com dados evidenciados na tabela 6; neste mesmo período, os carreadores do alelo G do polimorfismo do gene do GR consumiam menos calorias (média±EP, em quilocalorias totais: carreadores 2599,65±122,3 e não carreadores 2974,96±133,42, P= 0,041) e menos açúcares (média±EP açúcares, em gramas: carreadores 120,72±6,04 e não carreadores 153,16±8,8, P=0,003); em 2013, o grupo carreador manteve um menor consumo em açúcares (média±EP, carreadores 122,62±9,28; não carreadores 157,94±11,42, P=0,021), conforme expresso na tabela 6 e na figura 10. O consumo de calorias totais, proteínas, gorduras e carboidratos no ano de 2013 não mostrou diferenças entre os grupos, dados descritos na tabela 6.

Tabela 6- Resultados das comparações de consumo alimentar

	2008				2013			
	n	Carreadores	Não carreadores	P	n	Carreadores	Não carreadores	P
QFA P (%)	131	15,87±0,046	15,91±0,28	0,953	74	15,81±0,64	15,92±0,38	0,295
QFA G (%)	131	27,47±0,97	27,48±0,44	0,988	74	27,34±1,46	27,04±0,48	0,391
QFA C (%)	131	57,41±1,18	57,33±0,57	0,950	74	57,55±1,57	57,82±0,74	0,715
KCal totais	131	2599,65±122,37	2974,96±133,42	0,041*	74	2515,57±196,02	2871,73±169,28	0,180
Açúcar (g)	131	120,72±6,04	153,16±8,8	0,003*	74	122,62±9,28	157,94±11,42	0,021*

Valor p para o teste *t de Student*. Dados expressos em média ± EP. QFA P/G/C: Questionário de Frequência Alimentar proteínas/gorduras/carboidratos. Kcal totais: quilo calorias totais.

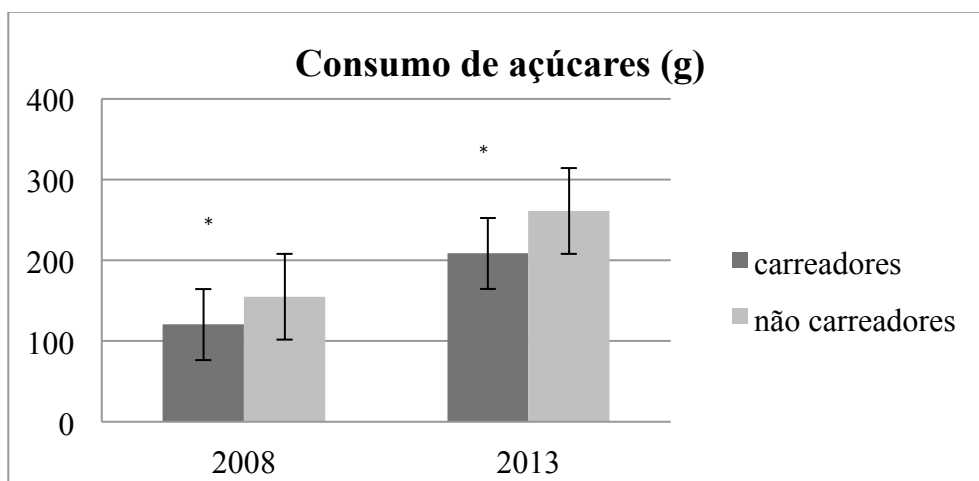


Figura 10- Comparação entre as médias de grupos do consumo de açúcares em 2008 e em 2013. Valor p obtido através do teste *t de Student*.

7.4 AVALIAÇÃO DO CONTROLE METABÓLICO

Para análise das medidas repetidas de cada grupo, utilizou-se método estatístico de Equações de Estimação Generalizadas, testando o comportamento das variáveis insulina, HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment-Insuline Resistance*) e IMC em função do tempo. A média dos níveis de insulina foi significativamente maior no grupo não carreador do que no grupo carreador ($P=0,03$) em 2013; comparando as médias de insulina em 2008 com as de 2013 do grupo não carreador, observou-se um aumento estatisticamente significativo ($P=0,001$), evidenciando um efeito de tempo neste grupo. A resistência à insulina, parâmetro calculado pelo HOMA-IR através da equação: $(\text{Glicemia} \times \text{Insulinemia}) \div 22,5$, também

mostrou-se mais elevada na comparação entre médias no grupo não carreador (P=0,026) em 2013 conforme apresentado na tabela 7 e nas figuras 11 e 12. Houve um aumento significativo ao longo do tempo sobre o índice de resistência à insulina apenas no grupo dos indivíduos não carreadores (p= 0,019), com dados expressos na tabela 7 e na figura 12.

Tabela 7- Resultados das comparações de níveis de insulina, índice de resistência à insulina e IMC ao longo do tempo entre grupos e para a interação

	2008			2013			P para grupos	P para tempo	P para interação grupo X tempo
	n	Carreadores	Não carreadores	n	Carreadores	Não carreadores			
Insulina	51	12,37 ^{a,b} ±1,41	11,61 ^a ±0,76	73	11,23 ^a ±1,37	14,81 ^b ±0,91	0,311	0,225	0,011
HOMA	51	2,62 ^{a,b} ±0,31	2,56 ^a ±0,19	73	2,29 ^a ±0,29	3,08 ^b ±0,19	0,226	0,634	0,030
IMC	72	21,97±1,02	20,94±0,50	73	24,90±1,52	23,26±0,57	0,325	<0,001	0,425

Dados expressos em média ± EP. Valor p obtido através de Equações de Estimação Generalizadas (GEE). Médias seguidas por letras iguais não diferem pelo teste *Post Hoc* da Diferença Mínima Significativa de Fisher. IMC: Índice de Massa Corporal. HOMA-IR *homeostatic model assessment- insuline resistance*.

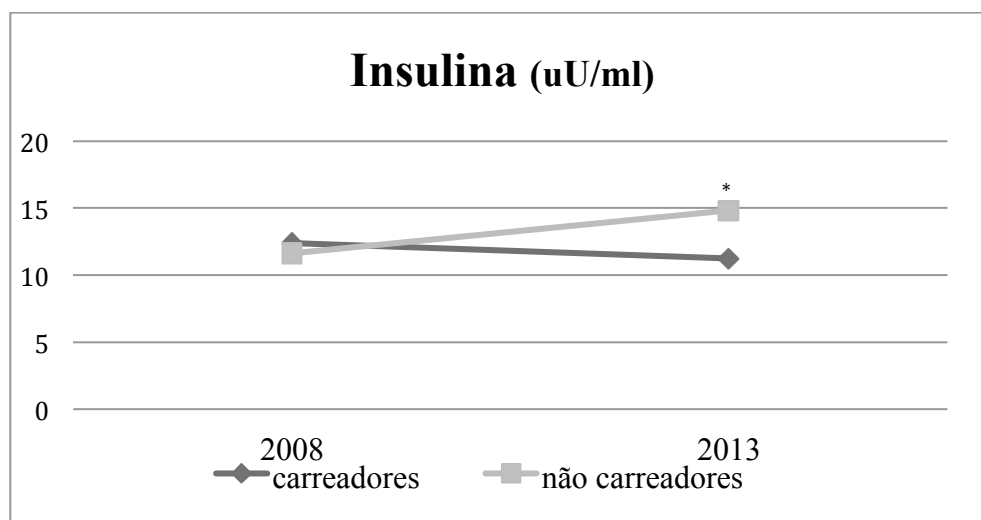


Figura 11- Insulinemia entre os grupos de carreadores do polimorfismo A3669G e não carreadores. Valor de p calculado através de Equações de Estimação Generalizadas.

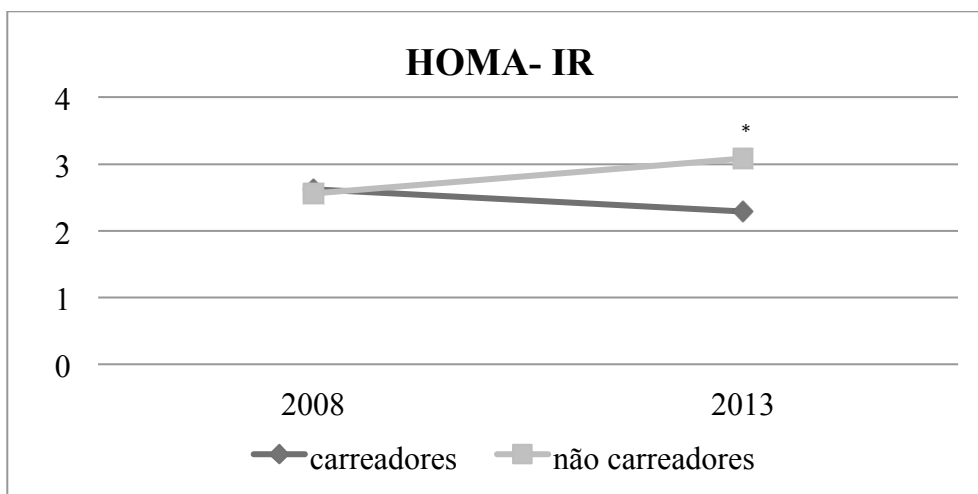


Figura 12- Sensibilidade insulínica medida pelo HOMA-IR ao longo do tempo. Valor de p calculado através de Equações de Estimação Generalizadas. HOMA-IR: *Homeostatic Model Assessment- Insuline Resistance*

A avaliação das medidas de IMC não mostrou interação significativa entre as variáveis ($p=0,425$) (tabela 7); quando testou-se o efeito do tempo sobre o IMC nos grupos, a diferença observada ($p<0,001$) é explicada pelo crescimento ponderal esperado dos indivíduos para esta faixa etária.

7.5 NEUROIMAGEM FUNCIONAL

As imagens geradas pela fMRI para cada indivíduo nos contrastes do paradigma de alimentos palatáveis foram utilizadas para as análises de *second level*. Para a análise de grupo, estas imagens de contrastes individuais foram inseridas em um *teste t* para duas amostras independentes para comparar os padrões de ativação do cérebro em resposta à estimulação visual ajustada para a co-variável ansiedade. Todas as análises foram corrigidas para comparações múltiplas utilizando FWE (*Family-wise error*) e $p < 0.05$ sendo considerado estatisticamente significativo. O desenho matricial utilizado para verificar diferenças de ativação com imagens obtidas através do contraste palatáveis > não palatáveis, obedeceu a seguinte ordem:

- 1) na primeira posição estavam representados os *scans* do grupo não carreador (n=31);
- 2) na segunda posição representou-se os *scans* do grupo carreador (n=6);
- 3) na terceira posição estavam contidas as imagens referentes à co-variável ansiedade.

A partir desta disposição, foram definidas as seguintes análises de combinações de contrastes: 1 -1 0; -1 1 0; 0 1 0, 0 -1 0; 1 0 0; -1 0 0. A figura 13 ilustra a disposição conforme a ordenação definida das matrizes:

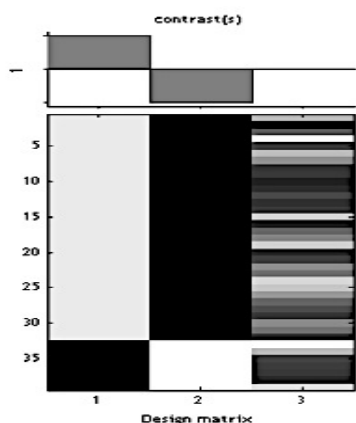


Figura 13- Representação das imagens de fMRI dispostas em 3 matrizes. A primeira matriz representa as imagens do grupo de indivíduos não carreadores; na segunda matriz estão dispostas as imagens dos participantes carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR; a terceira matriz corresponde à co-variável de ajuste do modelo; neste exemplo, o contraste definido foi: 1 -1 0.

No contraste alimento palatável > não palatável, a análise de grupos não revelou diferenças de ativação para o sinal BOLD, em todas as comparações, conforme demonstrado na tabela 8. Também não foi possível detectar nenhum efeito de ativação do grupo carreador conforme os contrastes entre matrizes: 0 1 0 e 0 -1 0. Neste mesmo contraste de palatáveis > não palatáveis, as análises revelaram efeito do grupo não carreador com ativação estatisticamente significativa nas coordenadas X= 20mm, Y= -96mm e Z= 16mm (limite de extensão: 20 *voxels*; p=0,004), que correspondem à região do giro occipital médio, lobo occipital, localizado no hemisfério direito, conforme Atlas Tailarach. Também evidenciou-se área de menor ativação no contraste palatável > não palatável, referente a efeito do grupo não carreador, nas coordenadas: X= 28mm Y= -10mm Z= 56mm e X= 38 Y= -20 Z= 52 que, pelo Atlas Tailarach, representam respectivamente, as regiões do giro pré-central/área de Brodmann 6, localizada no lobo frontal, hemisfério direito (limite de extensão: 31 *voxels*; P=0,025), e ao giro pré-central/área de Brodmann 4 do lobo frontal, no hemisfério direito (limite de extensão: 23 *voxels*; P=0,031). Estes dados aparecem expressos na tabela 8; a figura 12 ilustra a representação esquemática dos mapas de Brodmann e de Campbell (ZILLES & AMUNT, 2010), demonstrando a correspondência anatômica entre as áreas de Brodmann e giros cerebrais.

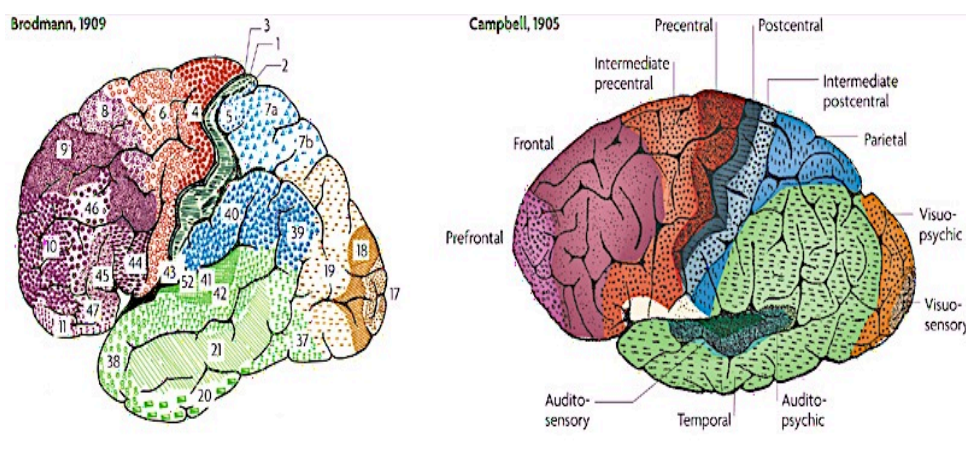


Figura 14 - Vistas laterais dos mapas corticais de Brodmann e Campbell. Similaridades de cores indicam semelhanças na estrutura; os números representam as regiões corticais delimitadas em 43 áreas citoarquitetônicas por Brodmann. Adaptada de Zilles & Amunt, 2010.

As figuras 14 e 15 representam as áreas de significância de captação de sinal referente ao contraste palatável>não palatável para o grupo não carreador (n=31), com a representação das respectivas coordenadas.

Tabela 8– Resultados de maior ou menor captação de sinal BOLD no contraste palatáveis>não palatáveis

Contraste de matrizes	Região Cerebral	Hemisfério	Área de Brodmann	Voxels	Tailarach (mm)	Z	T	p
					X Y Z			
1 0 0	Giro Occipital Médio ^a	HD	-	20	20 -96 16	4,91	5,97	0,004
-1 0 0	Giro pré central ^b	HD	6	31	28 -10 56	4,48	5,28	0,025
	Giro pré central ^b	HD	4	23	38 -20 52	4,42	5,19	0,03

^a Regiões cerebrais ativadas; ^b Regiões cerebrais desativadas. Análises através do software SPM 8 (Correção por FWE, P<0,05, tamanho de cluster ≥ 10 voxels). Z é o valor da transformação estatística no teste t; valores mais altos de Z indicam diferenças mais significativas. HD: hemisfério direito.

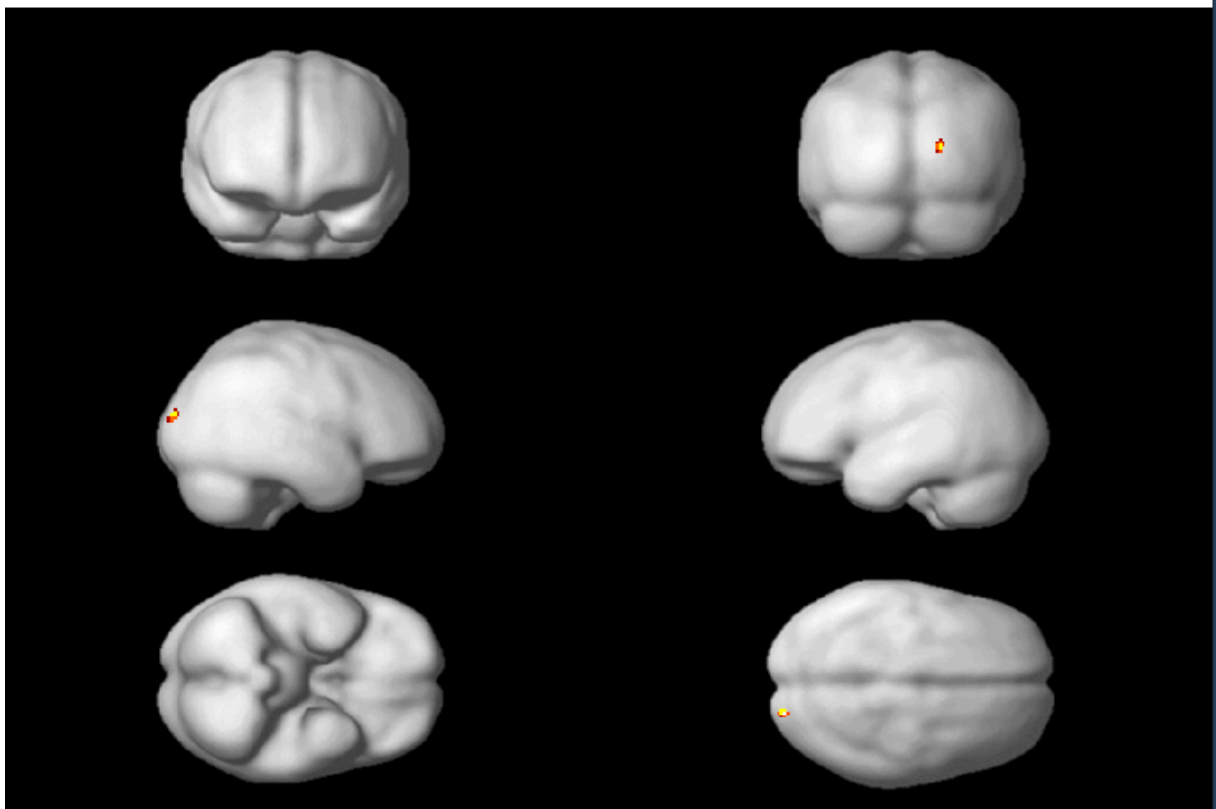
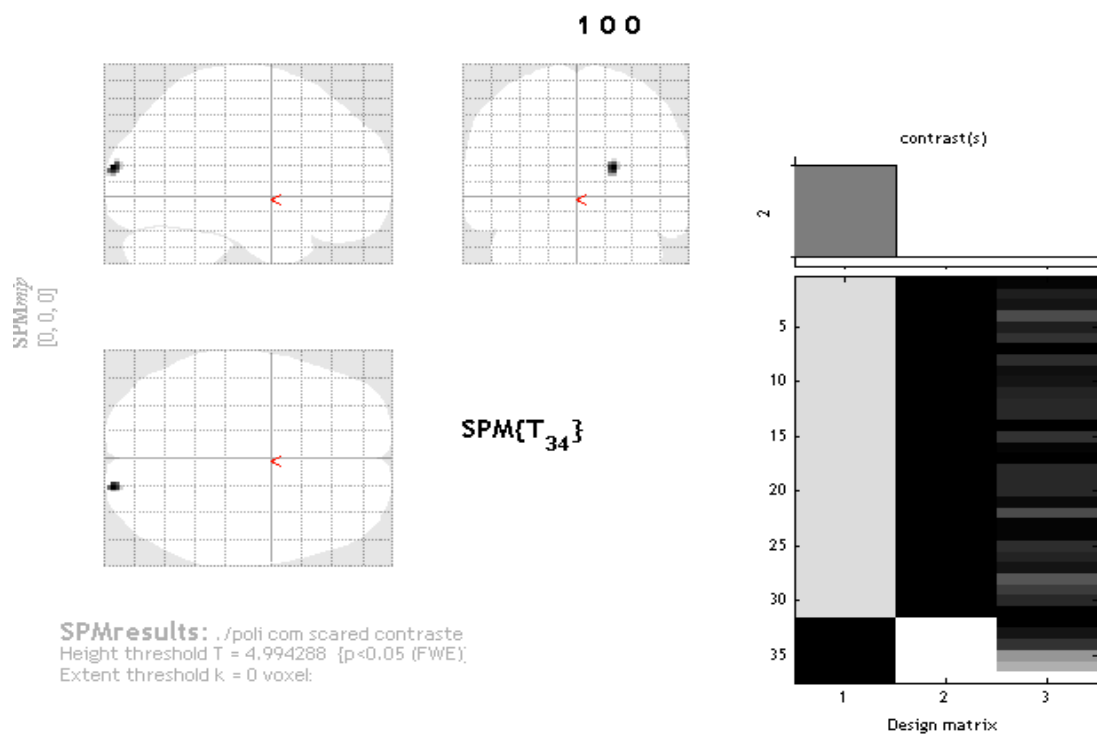


Figura 15- Área de ativação no contraste palatável >não palatável, efeito de grupo dos indivíduos não carreadores da variante polimórfica A3669G do gene do GR. Análises através do software SPM 8 (Teste t para amostras independentes, FWE para comparações múltiplas, com $p < 0,05$, tamanho de cluster ≥ 10 voxels)

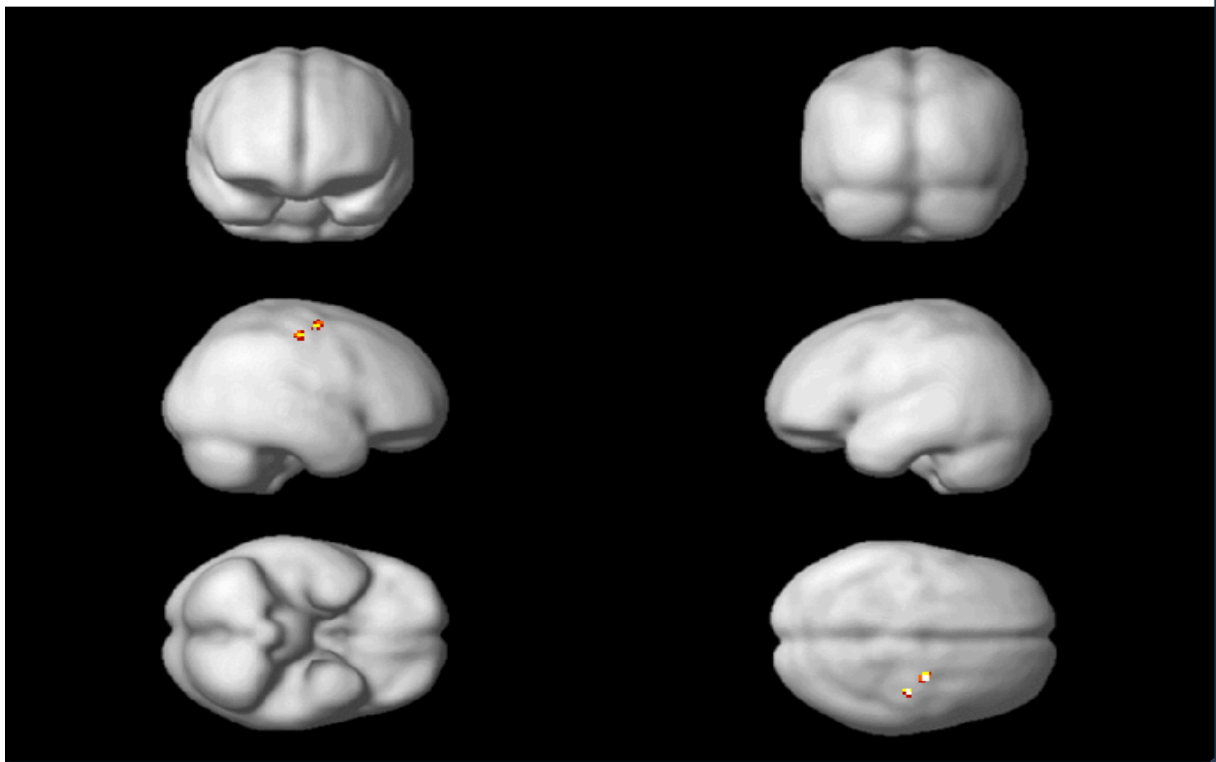
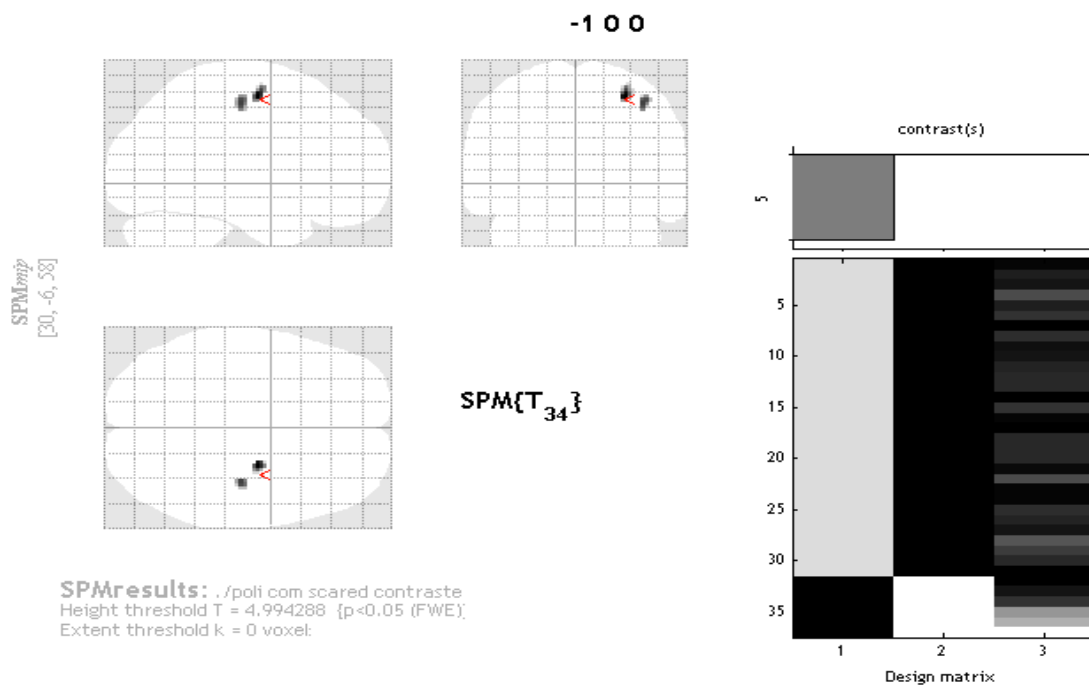


Figura 16- Área de desativação no contraste palatável > não palatável, efeito de grupo dos indivíduos não carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR. Análises através do software SPM 8 (Teste t para amostras independentes, FWE para comparações múltiplas, com $p < 0,05$, tamanho de cluster ≥ 10 voxels)

8 DISCUSSÃO

Neste estudo verificou-se que o grupo carreador do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR apresentou menor consumo de açúcares e de calorias totais na primeira fase da pesquisa, mostrando menor preferência por açúcares em todas as avaliações, comparativamente ao grupo não carreador. As análises longitudinais dos níveis séricos e da sensibilidade à insulina revelaram que o grupo carreador do alelo G também apresentou menores concentrações e índice de resistência à insulina que o grupo não carreador. Tais achados fornecem pistas para o entendimento do padrão alimentar observado nos dois grupos.

A presença do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR está associada à diminuição da sensibilidade ao cortisol (KUMSTA et al 2007; KUMSTA et al 2008), induzida pela isoforma β do GR. Sabe-se que um dos efeitos principais dos GCs sobre o metabolismo energético é a indução de hiperglicemia (via gliconeogênese e lipólise) e diminuição na sensibilidade à ação da insulina, o que, cronicamente, tem efeito diabetogênico. Assim, é possível supor que os indivíduos carreadores do alelo G tenham uma atenuação dos efeitos mediados pelos GCs. Um estudo com indivíduos com Síndrome de Cushing investigou associação com diabetes entre as quatro variantes polimórficas funcionalmente descritas para o gene do GR (BclI, N363S, ER22/23EK e A3669G), encontrando, para os carreadores do alelo A3669G uma menor frequência de diabetes mellitus tipo II (TREMMENTINO *et al.*, 2012). Syed *et al.* (2006) demonstraram que o alelo G parece estar associado à redução da obesidade central em mulheres caucasianas e um perfil lipídico mais favorável em homens caucasianos; estes dados fortalecem a ideia de que a presença do alelo G reduza os efeitos indesejáveis dos GCs sobre a distribuição de gordura e o metabolismo lipídico.

Em contrapartida, os resultados do grupo de indivíduos não carreadores do alelo G evidenciaram um aumento no índice de resistência à insulina ao longo do tempo, acompanhado por preferência a açúcares. Além disso, este mesmo grupo demonstrou, na segunda etapa deste estudo, um escore significativamente mais alto para traços de ansiedade. É sabido que a ativação da resposta aguda ao estresse tem efeitos sobre a preferência voluntária por doces e alimentos ricos em gordura, mediada pela elevação do cortisol (EPEL, 2001). Arce e colaboradores (2010) investigaram em um modelo animal de subordinação social, o padrão de ingestão e preferência a alimentos, os parâmetros de secreção de

corticosterona e o comportamento sócio-emocional por três semanas, encontrando os seguintes resultados: todos os animais preferiram a dieta hipercalórica, sendo o consumo significativamente maior no grupo das fêmeas estressadas; houve um achatamento no ritmo diurno da corticosterona durante a fase de preferência alimentar (ração padrão versus dieta hipercalórica) em todas as fêmeas. Nesta mesma etapa de escolha alimentar, a taxa de comportamento ansioso foi diminuindo progressivamente nas fêmeas dominantes, mas não nas subordinadas (estressor crônico). Estes dados fornecem suporte para a hipótese de que a exposição diária ao estresse psicossocial, e portanto aos efeitos dos GCs, aumenta o consumo de alimentos hipercalóricos. Além disso, é possível que o consumo de dietas altamente calóricas seja um fator de estresse metabólico que atue sinergicamente com o estressor psicossocial, reforçando ainda mais este padrão alimentar e que a ansiedade medeie esta associação. Embora variantes genéticas que regulam saciedade e metabolismo sejam conhecidos por influenciar o apetite e controle do peso corporal (HINNEY *et al.*, 2010), os gatilhos ambientais são os mais prováveis determinantes deste fenótipo (FONT *et al.*, 2010). De fato, a alimentação emocional resultante da exposição crônica a estressores psicossociais é considerada o fator desencadeante principal para o excesso de ingestão alimentar (BJÖRNTORP, 2001; DALLMAN *et al.*, 2005; ROSMOND, 2004; SCOTT *et al.*, 2008). A alimentação emocional ocorre tanto nos períodos de exposição aguda quanto crônica a estressores psicossociais (ADAM & EPEL, 2007). Psicopatologias relacionadas com a exposição crônica a estressores psicossociais, como por exemplo depressão e ansiedade, são altamente comórbidas com obesidade (SIMON & ARTERBURN, 2009; WERRIJ *et al.*, 2006).

Atuando sobre a amígdala, hipocampo, ínsula, cíngulo anterior e em outras áreas do córtex pré-frontal, a norepinefrina, o GC e o CRH são fundamentais para aprender e lembrar, em particular após os eventos emocionais com valência negativa (ROOZENDAAL *et al.*, 2009; de QUERVAIN, 2009, ROOZENDAAL *et al.*, 2008). Assim, quando o estresse induzido pelo GC promove a ingestão de alimentos palatáveis, os mecanismos de memória implícita (procedural) são acionados para garantir a lembrança deste acoplamento. Uma associação muito comum é "sentir-se estressado" e "sentir-se melhor" após ingerir "alimentos de conforto". A alimentação emocional pode ser uma das hipóteses que liga o estresse induzido pelos GCs ao ganho de peso e ao desenvolvimento de obesidade.

Em seres humanos os estressores promovem, muitas vezes, comportamentos automatizados em detrimento de ações cognitivas e dirigidas a objetivos (SCHWABE *et al.*, 2009; SCHWABE & WOLF, 2009). Associações aprendidas, quando reforçadas através da plasticidade sináptica, podem se transformar em hábitos que são expressos por meio dos gânglios da base, com pouco reconhecimento consciente (memória implícita) (KELLEY *et al.*, 2005; GRAYBIEL, 2008). A atitude de aliviar intensos sentimentos induzidos por um estressor incontrolável ingerindo alimentos gratificantes é mais frequente do que usar estes alimentos para produzir o mesmo efeito durante estímulos de baixa intensidade. Há dois principais problemas gerados por esta atitude: primeiro, "conforto alimentar" emocional quando usado repetidamente resulta em obesidade abdominal, principalmente, por resultado da maior sensibilidade do tecido adiposo abdominal para os sinais combinados de insulina e GC (DALLMAN, 2003); segundo, em alguns indivíduos, pode servir para aliviar o desconforto mental, induzido pelo estresse, na medida em que evita o pensamento consciente sobre como lidar com o estressor. Uma vez que a alimentação emocional torna-se habitual, a parte executiva do córtex pré-frontal pode não ser mais recrutada para atuar na solução do problema. Assim, a ingestão de '*comfort food*' pode tornar-se reflexa. No entanto, é claro que o uso consciente do córtex pré-frontal pode, com o trabalho, revogar maus hábitos. Este fato constitui a base para exercícios de meditação *mindfulness*, com evidências de resposta terapêutica (CRESWELL, 2007; LIEBERMAN, 2007).

Com relação ao papel da via da dopamina, demonstrou-se que alimentos palatáveis, ricos em gordura e açúcar podem ativar significativamente o circuito de recompensa dopaminérgico (BAIK, 2013). O papel da dopamina na recompensa e motivação é altamente relevante na gênese do comportamento alimentar. Estudos demonstraram que indivíduos com excesso de peso ($IMC \geq 25$) têm maior prevalência do alelo A1 TaqI do gene do receptor de dopamina D2 (DRD2), associado com baixa disponibilidade de receptor D2 (THOMAS *et al.*, 2001; COMINGS *et al.*, 1996; BLOOM *et al.*, 1996). Estes resultados sugerem um padrão sistêmico de hiporresponsividade em centros de recompensa que coexistem com hiperresponsividade para pistas alimentares específicas, descritos em estudos de ativação através de sinais visuais/gustatórios. Um outro acoplamento paradoxal semelhante com do aumento "querer" (*wanting*) e diminuição do "gostar" (*liking*) (BERRIDGE, 2009) é evidente na dependência química (VOLKOW *et al.*, 2009). Estudos pré-clínicos e de neuroimagem mostrando que o cortisol aumenta a liberação de dopamina nas vias mesocorticolímbicas são

consistentes com uma relação entre estresse/liberação de GCs e a ativação das vias de recompensa (OSWALD *et al.*, 2005; SINHA 2008; WAND *et al.*, 2007). Rovaris et al (2013) apontam para uma relação do SNP A3669G sobre o sistema de recompensa, demonstrando um efeito protetor sobre o tabagismo conferido pela presença simultânea do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR e de uma variante polimórfica do gene do MR (rs5522 Val); tais achados estão de acordo com os dados encontrados neste trabalho para o grupo de participantes carreadores da variante polimórfica A3669G nas análises do comportamento alimentar, mostrando menor consumo de alimentos palatáveis.

No grupo dos carreadores do alelo A3669G, não foi possível estabelecer um padrão de ativação cerebral frente ao paradigma de alimentar. É possível que o número reduzido de participantes fMRI neste grupo (n=6) tenha contribuído para tal. Já no grupo não carreador do alelo G (n=31), o padrão de resposta de efeito BOLD encontrado no exame de neuroimagem funcional acompanha os achados de comportamento alimentar e controle metabólico apresentados neste trabalho. Na fMRI, o grupo dos indivíduos não carreadores do alelo G apresentou ativação significativa no contraste palatável>não palatável, região implicada no processamento visual complexo (córtex occipital direito, giro occipital médio). A detecção visual de alimentos é ativa às respostas antecipatórias que provavelmente irão determinar o comportamento alimentar (STICE *et al.*, 2009). Este resultado sugere que o grupo não carreador, com maior consumo de açúcares e maior resistência à insulina nas avaliações alimentares e laboratoriais, percebe o alimento palatável como visualmente saliente. Um estudo recente de neuroimagem funcional de Nielen *et al.* (2009) investigando as respostas neurais de valência versus excitação mostrou que a sensibilização do sistema de processamento visual (córtex occipital) por imagens de conteúdo emocional provocava ativação mais consistente do que fotografias neutras (DOLAN, 2002; LANE *et al.*, 1999; MATHER *et al.*, 2006; MOURAO-MIRANDA *et al.*, 2003; SABATINELLI *et al.*, 2004); além disso, para as imagens de conteúdo hedônico, o aumento na excitação foi acompanhada pela ativação bilateral do córtex occipital, giro fusiforme direito, giro para-hipocampal esquerdo e córtex cingulado posterior. A sensibilidade de regiões corticais visuais para excitação hedônica concorda com a constatação de que a ativação do córtex visual em mães que olham para fotografias de seus recém-nascidos, está explicitamente ligado ao nível de excitação percebido através das imagens (NITSCHKE *et al.*, 2004). Além disso, o trabalho de Nielen e colaboradores demonstrou que o córtex visual não responde a excitação ou a

valência em separado, mas sim a uma combinação específica de ambos. Outro trabalho (GEARHARDT *et al.*, 2013) avaliou a resposta neural à visualização de comerciais de alimentos versus não-alimentos por adolescentes, demonstrando maior ativação do giro occipital para as imagens de alimentos. Estes achados estendem evidências anteriores que já sugeriam maior ativação no giro occipital durante a exposição de alimentos versus não alimentos (SCHUR *et al.*, 2009). Frank *et al.*, (2010) também encontraram que o giro occipital ativava mais fortemente do que regiões tradicionalmente envolvidas na recompensa (córtex órbito-frontal, ínsula) diante de alimentos de alto valor calórico versus imagens neutras. Esta região do lobo occipital, (associada ao precuneus e ao giro lingual) tem sido apontada como uma zona de identificação de saliência de pistas apetitivas (TANG, FELLOWS, SMALL & DAGHER, 2012). Outro resultado interessante de Mather *et al.* (2006) mostrou maior efeito BOLD *para* imagens de alta e média excitação nas áreas associadas com o processamento visual (áreas do giro fusiforme, giro temporal médio, giro occipital médio, giro lingual) e menor atividade no giro pré-central superior e na intersecção entre os giros pré-central e temporal superior. Estes resultados reforçam a hipótese de que a área de processamento visual esteja implicada na detecção de conteúdos emocionalmente relevantes.

No presente trabalho também foram encontrados dois pontos de desativação no lobo frontal esquerdo, dentro do contraste alimento palatável > não palatável, no grupo dos participantes não carreadores do alelo G, que correspondem ao giro pré-central e as áreas de 4 e 6 de Brodmann. A área 4 de Brodmann está relacionada ao controle cognitivo para o planejamento e *timing* visomotor dos movimentos executados; a área 6 de Brodmann participa da sensopercepção e motricidade da mão (LAIRD *et al.*, 2011). O giro pré-central está envolvido em planejamento motor, na sensibilidade ao odor e ao gosto, e à atividade oromotora associada ao ato de comer (ALLMAN *et al.*, 2001) e parece ser ativado durante o jejum (HOLSEN, 2005). Assim, estão envolvidas no controle inibitório diversas regiões corticais e subcorticais, regiões do lobo frontal incluindo o giro frontal superior, o giro frontal médio, o giro frontal inferior, o córtex pré-frontal medial, o córtex pré-frontal dorsolateral, o córtex pré-frontal ventrolateral e o córtex órbito-frontal (MOSTOFSKY *et al.*, 2003; HORN *et al.*, 2003; BATTERINK, YOKUM & STICE, 2010; SIMMONDS, PEKAR E MOSTOFSKY, 2008; YOKUM & STICE, 2013).

Rosenbaum *et al.* estudaram a resposta neural de indivíduos obesos durante o jejum diante da apresentação visual de alimentos versus não-alimentos e as áreas que apresentaram maior ativação na fMRI foram o pálido ventral (ação baseada em recompensa), tronco cerebral (sensorial e motor), giro para-hipocampal, cerebelo (aprendizagem motora, emoção), giro temporal médio (processamento visual e semântica) e giro frontal inferior (inibição cognitiva); já as regiões que mostraram menor ativação foram: a amígdala, o hipocampo, o giro pré-central, lóbulo parietal inferior (integração sensorial, processamento viso-espacial, atenção), cíngulo e giro frontal médio (função executiva). Estes achados sugerem que a excitação (e talvez algumas valências emocionais) recrutem a atenção para determinados itens, interrompendo os processos de memória de trabalho que auxiliam a vincular contextos e situações (MATHER *et al.*, 2006). Estudos prévios mostraram que a frequência de estímulos emocionais pode perturbar a atenção para outra informação (MACKAY *et al.*, 2004; MCKENNA & SHARMA, 2004). Por exemplo, a presença de uma palavra emocional, juntamente com duas palavras neutras apresentadas em uma exibição breve, torna mais difícil lembrar uma representação neutra ativa (JOHNSON *et al.*, 2005). Johnson *et al.* denominaram de “virada mental” (*Rubbernecking*) a esta atenção reflexiva persistente sobre um item saliente que não está perceptualmente presente. O *Rubbernecking* traz alguns benefícios, como a melhora na memória para o item que é retido no espaço mental. No entanto, tal estratégia implica na perda e/ou redução da memória contextual. Assim, um estímulo com colorido emocional (valência e/ou excitação) pode alterar processos reflexivos, através da inibição no processamento de ligação do evento ao contexto, atividade dependente da memória de trabalho (MITCHELL *et al.*, 2000). Muitas evidências associam a obesidade com a redução no funcionamento cognitivo, especialmente nas áreas de atenção e de funções executivas, traduzindo-se em comportamentos alimentares mal adaptados (CALVO *et al.*, 2014).

A partir dos dados apresentados é possível inferir que os resultados na fMRI dos indivíduos não carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR refletem um aumento na ativação em regiões de processamento visual ligadas à saliência de incentivo acompanhado de redução da atividade de áreas corticais relacionadas com sensopercepção, controle cognitivo e planejamento motor, sugerindo uma excitação para o alimento palatável acompanhada de uma diminuição na capacidade de programação de tarefas/inibição de movimento. Desta forma, a redução da atividade na rede inibitória em indivíduos vulneráveis

para transtornos do hábito alimentar pode representar um possível correlato neural para o comportamento impulsivo, relacionado com padrões alimentares inadequados e ganho de peso. Além disso, a sensibilidade aumentada para estímulos apetitivos e o déficit em controle inibitório, são possíveis preditores de pior desempenho em tarefas experimentais bem como de risco para situações de vida que necessitem da participação dos mecanismos cognitivos envolvidos com inibição (BATTERINK, YOKUM & STICE, 2010).

O presente trabalho conseguiu demonstrar o efeito protetor sobre o comportamento alimentar e sobre os níveis de ansiedade nos indivíduos carreadores do alelo G do polimorfismo A366G do gene do GR, através de mecanismos moleculares implicados na redução da sensibilidade celular ao GC conferida por este SNP. A redução da carga alostérica no grupo dos carreadores foi evidenciada por medidas que demonstraram menor consumo de açúcares, menor índice de resistência à insulina e menores escores para ansiedade. Também foi possível detectar e descrever um padrão diferenciado de atividade neural frente a pista de alimentos palatáveis para o grupo de participantes não carreadores do alelo G, que reforça os achados na literatura e acrescenta novas informações na pesquisa relativa à funcionalidade de variantes gênicas dos GRs. Dentre as limitações deste estudo destaca-se a impossibilidade de controlar confundidores como, por exemplo, a coexistência de mais de um SNP para o GR em um mesmo indivíduo e o efeito de gênero nos grupos. Por último, as análises de fMRI para o grupo carreador da variante G contaram com um N amostral reduzido, diminuindo o poder estatístico desta avaliação e limitando os resultados.

9 CONCLUSÃO

Os dados apresentados mostraram que os indivíduos carreadores da variante G do polimorfismo A3669G do gene do GR apresentaram maior sensibilidade à insulina, antecedidos pela modulação na preferência alimentar, traduzidos por comportamentos de menor consumo de açúcares e de calorias totais. Em contrapartida, os achados em neuroimagem funcional para os indivíduos não carreadores do alelo G, indicaram maior ativação em área de processamento visual e um padrão de menor atividade em regiões de sensopercepção e motricidade. Estas áreas estão implicadas na detecção de pistas salientes e no planejamento executivo, respectivamente, correlacionando-se com os achados de maior preferência e desinibição comportamental diante de alimentos palatáveis evidenciados no grupo dos indivíduos não carreadores.

Sugere-se que a redução na sensibilidade em nível celular aos GCs relacionada à presença do alelo G atenua globalmente a resposta ao estresse, alterando vias emocionais/neurais compensatórias, verificada através da diminuição nos níveis de ansiedade e do consumo de alimentos palatáveis. Estes achados sugerem um efeito protetor para os indivíduos carreadores do alelo G do polimorfismo A3669G do gene do GR sobre o risco para doenças metabólicas e para transtornos psiquiátricos.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AdamTC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav.* 2007; 91:449–458.
2. Adaptação transcultural para o português brasileiro do Parental Bonding Instrument (PBI). *Rev Psiquiatr*, 28, 162-168.
3. Allman, J., Hakeem, A., Erwin, J., Ninchinsky, E., and Hof, P. The anterior cingulate cortex: the evolution of an interface between emotion and cognition. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* . 2001, 935:107–117.
4. American Psychological Association. *Stress in America*. Washington, DC: 2009.
5. Amorim, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2000, v. 22, n. 3, p. 106-115.
6. Appelhans, B.M., Pagoto SL, Peters EN, Spring BJ. HPA axis response to stress predicts short-term snack intake in obese women. *Appetite.* 2010; 54:217–220.
7. Arce M, Michopoulos V, Shepard KN, Ha QC, Wilson ME. Diet choice, cortisol reactivity, and emotional feeding in socially housed rhesus monkeys. *Physiol Behav.* 2010 Nov 2;101(4):446-55.
8. Ashburner, J. et al. SPM12 Manual. 2014. Disponível em: <<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>>.
9. Avenant C, Ronacher K, Stubbsrud E, Louw A, Hapgood JP. Role of ligand-dependent GR phosphorylation and half-life in determination of ligand-specific transcriptional activity. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 327(1-2):72–88.
10. Baik, J. H. Dopamine signaling in food addiction: role of dopamine D2 receptors. *BMB Rep*, Nov 2013 v. 46, n. 11, p. 519-26.
11. Bamberger CM, Bamberger AM, de Castro M, Chrousos GP. Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J Clin Invest.* 1995; 95(6): 2435–41.
12. Bamberger CM, Bamberger AM, Wald M, Chrousos GP, Schulte HM. Inhibition of mineralocorticoid activity by the beta- isoform of the human glucocorticoid receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1997, 60(1–2):43–50.
13. Banerjee A, Periyasamy S, Wolf IM, Hinds TD Jr, Yong W, Shou W, et al. Control of glucocorticoid and progesterone receptor subcellular localization by the ligand-binding domain is mediated by distinct interactions with tetratricopeptide repeat proteins. *Biochemistry* 2008;47:10471-80.
14. Barnes PJ, Adcock IM. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *Lancet* 2009; 373:1905e17.
15. Baskin, D.G., Sipols, A.J., Schwartz, M.W., White, M.F., 1993. Immunocytochemical detection of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) in rat brain: colocalization with phosphotyrosine. *Regul. Pept.* 48, 257–266.
16. Batterink, L.; Yokum, S.; Stice, E. Body mass correlates inversely with inhibitory control in response to food among adolescent girls: an fMRI study. *Neuroimage.* Oct 2010, v. 52, n. 4, p. 1696-703.
17. Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell.* 1989; 56(3):335–44.
18. Beck IM, Vanden Berghe W, Vermeulen L, Yamamoto KR, Haegeman G, De Bosscher K. Crosstalk in inflammation: the interplay of glucocorticoid receptor-based mechanisms and kinases and phosphatases. *Endocr Rev.* 2009; 30(7):830–82.
19. Beger C, Gerdes K, Lauten M, Tissing WJ, Fernandez-Munoz I, Schrappe M, et al. Expression and structural analysis of glucocorticoid receptor isoform gamma in human leukaemia cells using an isoform-specific real-time polymerase chain reaction approach. *Br J Haematol.* 2003; 122(2):245– 52.
20. Bender IK, Cao Y, Lu NZ. Determinants of the Heightened Activity of Glucocorticoid Receptor Translational Isoforms. *Mol Endocrinol.* 2013
21. Bernstein DP, Stein JA, Newcomb MD, Walker E, Pogge D, Ahluvalia T, Stokes J, Handelsman L, Medrano M, Desmond D, Zule W. Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse Negl.* 2003;27(2):169-90.
22. Berridge KC, Robinson TE. Parsing reward. *Trends Neurosci.* 2003, 26:507–513.
23. Berridge KC. ‘Liking’ and ‘wanting’ food rewards: brain substrates and roles in eating disorders. *Physiol Behav.* 2009; 97:537–550.
24. Beyer HS, Matta SG, Sharp BM. Regulation of the messenger ribonucleic acid for corticotropin-releasing factor in the paraventricular nucleus and other brain sites of the rat. *Endocrinology* 1988;123(4):2117-23.
25. Bhatnagar, S., Bell, M.E., Liang, J., Soriano, L., Nagy, T.R., Dallman, M.F., 2000. Corticosterone facilitates saccharin intake in adrenalectomized rats. Does corticosterone increase stimulus salience? *J. Neuroendocrinol.* 12, 453–460.
26. Bhatnagar, S., Dallman, M.F., 1998. Neuroanatomical basis for facilitation of hypothalamic-pituitary-

- adrenal responses to a novel stressor after chronic stress. *Neuroscience* 84, 1025–1039.
27. Bjorntorp P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obes Rev.* 2001; 2:73– 86.
 28. Bledsoe RK, Montana VG, Stanley TB, Delves CJ, Apolito CJ, McKee DD, et al. Crystal structure of the glucocorticoid receptor ligand binding domain reveals a novel mode of receptor dimerization and coactivator recognition. *Cell.* 2002; 110(1):93–105.
 29. Blum K, Braverman ER, Wood RC, Gill J, Li C, Chen TJ, et al. Increased prevalence of the TaqIA1 allele of the dopamine receptor gene (DRD2) in obesity with comorbid substance use disorder: a preliminary report. *Pharmacogenetics.* 1996; 6:297–305.
 30. Brasil. Orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: norma técnica do sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN. 2011. Brasília: Ministério da Saúde.
 31. Breuner CW, Orchinik M. Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *J Endocrinol* 2002; 175:99e112.
 32. Brunner, E., Chandola, J. T., Marmot, M. G. Prospective Effect of Job Strain on General and Central Obesity in the Whitehall II Study. *Am J Epidemiol.* 2007 Apr 1;165(7):828-37.
 33. Buijs R.M., C.G. van Eden, V.D. Goncharuk, A. Kalsbeek The biological clock tunes the organs of the body: timing by hormones and the autonomic nervous system. *Journal of Endocrinology*, 177 (2003), pp. 17–26.
 34. Burd CJ, Archer TK. Chromatin architecture defines the glucocorticoid response. *Mol Cell Endocrinol.* 2013.
 35. Calvo D., Galioto R, Gunstad J, Spitznagel MB. Uncontrolled eating is associated with reduced executive functioning. *Clin Obes.* 2014 Jun;4(3):172-9.
 36. Campeau S, Day HE, Helmreich DL, Kollack-Walker S, Watson SJ. Principles of psychoneuroendocrinology. *Psychiatr Clin North Am.* 1998; 21: 259-76.
 37. Cao Y, Bender IK, Konstantinidis AK, Shin SC, Jewell CM, Cidlowski JA, et al. Glucocorticoid receptor translational isoforms underlie maturational stage-specific glucocorticoid sensitivities of dendritic cells in mice and humans. *Blood.* 2013; 121(9):1553–62.
 38. Castonguay TW. Glucocorticoids as modulators in the control of feeding. *Brain Res Bull.* 1991, 27:423–428.
 39. Castonguay, T.W., Dallman, M.F., Stern, J.S., 1986. Some metabolic and behavioral effects of adrenalectomy on Zucker rats. *Am. J. Physiol.* 251, R923–R933.
 40. Centers for Disease Control and Prevention. National Health and Nutrition Examination Survey Data. 2009, Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics.
 41. Charmandari E, Chrousos GP, Lambrou GI, Pavlaki A, Koide H, Ng SS, et al. Peripheral CLOCK regulates target-tissue glucocorticoid receptor transcriptional activity in a circadian fashion in man. *PLoS One.* 2011; 6(9):e25612.
 42. Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E, Chrousos GP. Pediatric stress: hormonal mediators and human development. *Horm Res.* 2003; 59: 161-79.
 43. Chen W, Dang T, Blind RD, Wang Z, Cavasotto CN, Hittelman AB, Rogatsky I, Logan SK, Garabedian MJ. Glucocorticoid receptor phosphorylation differentially affects target gene expression. *Mol Endocrinol.* 2008 Aug;22(8):1754-66.
 44. Cherrington A.D. Control of glucose uptake and release in the liver in vivo. *Diabetes.* 1999, 48:1198–1214.
 45. Chinenov Y, Gupte R, Dobrovolna J, Flammer JR, Liu B, Michelassi FE, et al. Role of transcriptional coregulator GRIP1 in the anti-inflammatory actions of glucocorticoids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109(29):11776–81.
 46. Christ-Crain, M., Kola, B., Lolli, F., Fekete, C., Seboek, D., Wittmann, G., Feltrin, D., Igreja, S.C., Ajodha, S., Harvey-White, J., Kunos, G., Muller, B., Pralong, F., Aubert, G., Arnaldi, G., Giacchetti, G., Boscaro, M., Grossman, A.B., Korbonits, M., 2008. AMP-activated protein kinase mediates glucocorticoid-induced metabolic changes: a novel mechanism in Cushing's syndrome. *FASEB J.* 22, 1672–1683.
 47. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA.* 1992, 267:1244–52.
 48. Chrousos GP, Kino T. Intracellular glucocorticoid signaling: a formerly simple system turns stochastic. *Sci STKE.* 2005 Oct 4;2005(304):pe48. Review.
 49. Clement, L., Cruciani-Guglielmacci, C., Magnan, C., Vincent, M., Douared, L., Orosco, M., Assimacopoulos-Jeannet, F., Penicaud, L., Ktorza, A., 2002. Intracerebroventricular infusion of a triglyceride emulsion leads to both altered insulin secretion and hepatic glucose production in rats. *Pflugers Arch.* 445, 375–380.

50. Cohn, C., Shrago, E., Joseph, D., 1955. Effect of food administration on weight gains and body composition of normal and adrenalectomized rats. *Am. J. Physiol.* 180, 503–507.
51. Comings D.E., Gade R, MacMurray JP, Muhleman D, Peters WR. Genetic variants of the human obesity (OB) gene: association with body mass index in young women, psychiatric symptoms, and interaction with the dopamine D2 receptor (DRD2) gene. *Mol Psychiatry.* 1996; 1:325–335.
52. Cooper MS, Stewart PM. 11Beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and its role in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, metabolic syndrome, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:4645e54.
53. Corp, E.S., Woods, S.C., Porte Jr., D., Dorsa, D.M., Figlewicz, D.P., Baskin, D.G., 1986. Localization of ¹²⁵I-insulin binding sites in the rat hypothalamus by quantitative autoradiography. *Neurosci. Lett.* 70, 17–22.
54. Corrigan CJ, Shiner R, Shakur BH, et al. Methotrexate therapy in asthma increases T cell susceptibility to corticosteroid inhibition. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol* 2003; 33:1090e6.
55. Creswell JD, et al. Neural Correlates of Dispositional Mindfulness During Affect Labeling. *Psychosom Med.* 2007;69(6):560–565.
56. Croxtall JD, Choudhury Q, Flower RJ. Glucocorticoids act within minutes to inhibit recruitment of signalling factors to activated EGF receptors through a receptor-dependent, transcription-independent mechanism. *Br J Pharmacol.* 2000; 130(2):289–98.
57. Dallman MF, Pecoraro N, Akana SF, La Fleur SE, Gomez F, Houshyar H, et al. Chronic stress and obesity: a new view of “comfort food”. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100:11696–701.
58. Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun.* 2005; 19:275–280.
59. Dallman MF, Strack AM, Akana SF, Bradbury MJ, Hanson ES, Scribner KA & Smith M. Feast and famine: critical role of glucocorticoids with insulin in daily energy flow. *Frontiers Neuroendocrinol* 1993; 14, 303–347
60. Dallman MF. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends Endocrinol Metab.* 2010; 21:159–165.
61. Dallman, M.; Bhatnagar, S. Chronic stress and energy balance: Role of the HPA axis. In: McEwen, B., editor. 2001. *Handbook of Physiology, Section 7: The Endocrine System.* Oxford University Press; New York:
62. Davies L, Karthikeyan N, Lynch JT, Sial EA, Gkourtsa A, Demonacos C, et al. Cross talk of signaling pathways in the regulation of the glucocorticoid receptor function. *Mol Endocrinol.* 2008; 22(6):1331–44.
63. Davies TH, Ning YM, Sánchez ER. Differential control of glucocorticoid receptor hormone-binding function by tetratricopeptide repeat (TPR) proteins and the immunosuppressive ligand FK506. *Biochemistry* 2005;44:2030-8.
64. Davis LG, Arentzen R, Reid JM, et al. Glucocorticoid sensitivity of vasopressin mRNA levels in the paraventricular nucleus of the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83(4):1145-9.
65. de Kloet E.R., M. Joëls, F. Holsboer. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005, 6, pp. 463–475.
66. de Kloet, E.R., Vreugdenhil, E., Oitzl, M.S., Joëls, M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr. Rev.* 1998, 19, 269–301.
67. de Lange P, Segeren CM, Koper JW, Wiemer E, Sonneveld P, Brinkmann AO, et al. Expression in hematological malignancies of a glucocorticoid receptor splice variant that augments glucocorticoid receptor-mediated effects in transfected cells. *Cancer Res.* 2001; 61(10):3937–41.
68. de Quervain DJ-F, et al. Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 2009, Aug;30(3):358–370.
69. Dean DA, Urban G, Aragon IV, Swingle M, Miller B, Rusconi S, et al. Serine/threonine protein phosphatase 5 (PP5) participates in the regulation of glucocorticoid receptor nucleocytoplasmic shuttling. *BMC Cell Biol* 2001;2:6.
70. Della Justina, H. M. Variabilidade da Atividade Cerebral em Resposta a Estímulos Vestibular e Oculomotor Avaliada por fMRI. (Mestrado). 2005, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.
71. Deluchi, M. Viés atencional para pistas associadas a alimentos em adultos obesos com e sem o Transtorno da Compulsão Alimentar Periódica. 2014. (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Psicologia, UFRGS.
72. Denny WB, Prapapanich V, Smith DF, Scammell JG. Structure-function analysis of squirrel monkey FK506-binding protein 51, a potent inhibitor of glucocorticoid receptor activity. *Endocrinology*

- 2005;146:3194-201.
73. Denny WB, Valentine DL, Reynolds PD, Smith DF, Scammell JG. Squirrel monkey immunophilin FKBP51 is a potent inhibitor of glucocorticoid receptor binding. *Endocrinology* 2000;141:4107-13.
 74. DeRijk RH, Schaaf MJ, Turner G, Datson NA, Vreugdenhil E, Cidlowski J et al. A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2001, 28(11):2383–2388.
 75. DeRijk RH. Single nucleotide polymorphisms related to HPA axis reactivity. *NeuroImmunomodulation.* 2009, 16(5):340–352.
 76. DeRijk, R.H. *et al.* A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2001, 28: 2383–2388.
 77. DeRijk, RH, de Kloet, ER. Corticosteroid receptor polymorphisms: determinants of vulnerability and resilience. *Eur. J.Pharmacol.* 2008, 583 (2—3), 303—311.
 78. Deroo BJ, Rentsch C, Sampath S, Young J, DeFranco DB, Archer TK. Proteasomal inhibition enhances glucocorticoid receptor transactivation and alters its subnuclear trafficking. *Mol Cell Biol.* 2002; 22(12):4113–23.
 79. Di S, Malcher-Lopez R, Halmos KC, Tasker JG. Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci.* 2003, 23:4850 – 4857.
 80. Dolan, R. J. Emotion, cognition, and behavior. *Science.* 2002, 298, 1191–1194.
 81. Druker J, Liberman AC, Antunica-Noguerol M, Gerez J, Paez-Pereda M, Rein T, et al. RSUME enhances glucocorticoid receptor SUMOylation and transcriptional activity. *Mol Cell Biol.* 2013; 33(11):2116–27.
 82. DuBois DC, Sukumaran S, Jusko WJ, Almon RR. Evidence for a glucocorticoid receptor beta splice variant in the rat and its physiological regulation in liver. *Steroids.* 2013; 78(2):312–20.
 83. Duma D, Collins JB, Chou JW, Cidlowski JA. Sexually dimorphic actions of glucocorticoids provide a link to inflammatory diseases with gender differences in prevalence. *Sci Signal.* 2010; 3(143):ra74.
 84. Epel E, Lapidus R, et al. Stress may add bite to appetite in women: A laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. *Psychoneuroendocrinology.* 2001; 26:37–49.
 85. Evans, R.M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science.* 1988, 240,889–895.
 86. Figlewicz D.P. Adiposity signals and food reward: expanding the CNS roles of insulin and leptin. *Am J Physiol.* 2003, 284:R882–R892.
 87. Figlewicz DP, Bennett J, Evans SB, Kaiyala K, Sipols AJ & Benoit SC. Intraventricular insulin and leptin reverse place preference conditioned with high-fat diet. *Behav Neurosci.* 2004, 118, 479–487.
 88. Figlewicz DP, Bennett JL, Naleid AD, Davis C & Grimm JW. Intraventricular insulin and leptin decrease sucrose self-administration in rats. *Phys Behav.* 2006, 89, 611–618.
 89. Figlewicz DP, Benoit SC. Insulin, leptin, and food reward: update 2008. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009;296(1):R9–R19.
 90. Figlewicz, D.P., Evans, S.B., Murphy, J., Hoen, M., Baskin, D.G. Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat. *Brain Res.* 2003: 964, 107–115.
 91. Font JC, Fabbri D, Gil J. Decomposing cross-country differences in levels of obesity and overweight: does the social environment matter? *Soc Sci Med.* 2010; 70:1185–1193.
 92. Frank, S., Laharnar, N., Kullmann, S., et al. Processing of food pictures: influence of hunger, gender and calorie content. *Brain Research.* 2010, 1350, 159–166.
 93. Freedman LP. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocr Rev.* 1992; 13(2):129– 45.
 94. Gaitan D, DeBold CR, Turney MK, Zhou P, Orth DN, Kovacs WJ. Glucocorticoid receptor structure and function in an adrenocorticotropin-secreting small cell lung cancer. *Mol Endocrinol.* 1995; 9(9):1193–201.
 95. Galliher-Beckley AJ, Cidlowski JA. Emerging roles of glucocorticoid receptor phosphorylation in modulating glucocorticoid hormone action in health and disease. *IUBMB Life.* 2009; 61(10):979– 86.
 96. Galliher-Beckley AJ, Williams JG, Cidlowski JA. Ligand-independent phosphorylation of the glucocorticoid receptor integrates cellular stress pathways with nuclear receptor signaling. *Mol Cell Biol.* 2011; 31(23):4663–75.
 97. Gálvez JF et al. Premorbid obesity and metabolic disturbances as promising clinical targets for the prevention and early screening of bipolar disorder. *Med Hypotheses.* 2015, Apr; 84(4): 285-93.
 98. Gamaro GD, Manoli LP, Torres IL, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem Int.* 2003; 42:107–14.

99. Garg N., Wansink B, Inman J. The influence of incidental affect on consumers' food intake. *J Marketing* 2007;71:194–206.
100. Gearhardt A.N., Yokum S., Stice E., Harris J.L., Brownell, K.D. Relation of obesity to neural activation in response to food commercials. *Soc Affect Neuros.* 2014, Jul;9(7):932-8.
101. Geelhoed JJ, van Duijn C, van Osch-Gevers L, Steegers EA, Hofman A, Helbing WA, et al. Glucocorticoid receptor-9beta polymorphism is associated with systolic blood pressure and heart growth during early childhood. *The Generation R Study. Early human development.* 2011; 87(2): 97–102.
102. Gibson, E.L. Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways. *Physiol Behav.* 2006; 89:53–61.
103. Goecke IA, Alvarez C, Henriquez J, et al. Methotrexate regulates the expression of glucocorticoid receptor alpha and beta isoforms in normal human peripheral mononuclear cells and human lymphocyte cell lines in vitro. *Mol Immunol* 2007; 44:2115e23.
104. Grad I, Picard D. The glucocorticoid responses are shaped by molecular chaperones. *Mol Cell Endocrinol.* 2007; 275(1-2):2–12.
105. Grassi-Oliveira R, Stein LM, Pezzi JC. Translation and content validation of the Childhood Trauma Questionnaire into Portuguese language. *Rev Saude Publica.* 2006;40(2):249-55.
106. Graybiel, A.M. Habits, rituals, and the evaluative brain. *Ann Rev Neurosci.* 2008;31:359–387.
107. Green, P.K., Wilkinson, C.W., Woods, S.C., 1992. Intraventricular corticosterone increases the rate of body weight gain in underweight adrenalectomized rats. *Endocrinology* 130, 269–275.
108. Greeno, C.G.; Wing R.R. Stress-induced eating. *Psychol Bull.* 1994; 115:444–464.
109. Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER, Joels M. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling. *Mol Cell Endocrinol.* 2012; 350(2):299–309.
110. Gross KL, Cidlowski JA. Tissue-specific glucocorticoid action: a family affair. *Trends Endocrinol Metab.* 2008; 19(9):331–9.
111. Gross KL, Oakley RH, Scoltock AB, Jewell CM, Cidlowski JA. Glucocorticoid Receptor {alpha} Isoform-Selective Regulation of Antiapoptotic Genes in Osteosarcoma Cells: A New Mechanism for Glucocorticoid Resistance. *Mol Endocrinol.* 2011; 25(7):1087–99.
112. Hagan, M.M.; Chandler, P.C.; Wauford, P.K.; Rybak, R.J.; Oswald, K.D. The role of palatable food and hunger as trigger factors in an animal model of stress induced binge eating. *Int J Eat Disord.* 2003; 34:183–97.
113. Hasselgren, P.O. Glucocorticoids and muscle catabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999;2(3):201-5.
114. Hauck, S., Schestatsky, S., Terra, L., Knijnik, L., Sanchez, P. & Ceitlin, L. Adaptação transcultural para o português brasileiro do Parental Bonding Instrument (PBI). *Rev Psiquiatr.* 2006;28(2):162-8.
115. Hauk PJ, Hamid QA, Chrousos GP, Leung DY. Induction of corticosteroid insensitivity in human PBMCs by microbial superantigens. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105(4):782–7.
116. Heinrichs, S.C., Koob, G.F. Corticotropin-releasing factor in brain: a role in activation, arousal, and affect regulation *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 311 . 2004, pp. 427–440
117. Heinrichs, S.C., Richard, D., 1999. The role of corticotropin-releasing factor and uro-cortin in the modulation of ingestive behavior. *Neuropeptides* 33, 350–359.
118. Henn, R. L. et al. Development and validation of a food frequency questionnaire (FFQ-Porto Alegre) for adolescent, adult and elderly populations from Southern Brazil. *Cad Saude Publica.* Nov 2010, v. 26, n. 11, p. 2068-79.
119. Hinds TD Jr, Ramakrishnan S, Cash HA, Stechschulte LA, Heinrich G, Najjar SM, et al. Discovery of glucocorticoid receptor-beta in mice with a role in metabolism. *Mol Endocrinol.* 2010; 24(9): 1715–27.
120. Hinds TD Jr, Stechschulte LA, Cash HA, Whisler D, Banerjee A, Yong W, et al. Protein phosphatase 5 mediates lipid metabolism through reciprocal control of glucocorticoid receptor and peroxisome proliferator-activated receptor-γ (PPARγ). *J Biol Chem* 2011;286:42911-22.
121. Hinney A, Vogel CI, Hebebrand J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2010; 19:297–310.
122. Hollenberg, S.M., Weinberger, C., Ong, E.S. et al. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature.* 1985, 318,635–641.
123. Holmstrom S, Van Antwerp ME, Iniguez-Lluhi JA. Direct and distinguishable inhibitory roles for SUMO isoforms in the control of transcriptional synergy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(26):15758–63.

124. Holmstrom SR, Chupreta S, So AY, Iniguez-Lluhi JA. Sumo-Mediated Inhibition of Glucocorticoid Receptor Synergistic Activity Depends on Stable Assembly at the Promoter but Not on Daxx. *Mol Endocrinol.* 2008.
125. Holsboer F. Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: implications for therapy. *J Affect Disord.* 2001; 62:77–91.
126. Holsen LM, Zarcone JR, Thompson TI, Brooks WM, Anderson MF, Ahluwalia JS et al. Neural mechanisms underlying food motivation in children and adolescents. *Neuroimage* 2005; 27: 669–676.
127. Horn, N. R., et al. Response inhibition and impulsivity: an fMRI study. *Neuropsychologia.* 2003, v. 41, n. 14, p. 1959-66,
128. Hotta M, Shibasaki T, Arai K, Demura H. Corticotropin-releasing factor receptor type 1 mediates emotional stress-induced inhibition of food intake and behavioral changes in rats. *Brain Res.* 1999, Mar 27;823(1-2):221-5.
129. Hudson WH, Youn C, Ortlund EA. The structural basis of direct glucocorticoid-mediated transrepression. *Nature structural & molecular biology.* 2013; 20(1):53–8.
130. Hughes, I.A. Steroids and growth. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;295(6600):683-4.
131. Huizenga NA, Koper JW, de Lange P, et al. Interperson variability but intraperson stability of baseline plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998;83(1):47-54.
132. Hutchison KA, Scherrer LC, Czar MJ, Stancato LF, Chow YH, Jove R, Pratt WB. Regulation of glucocorticoid receptor function through assembly of a receptor-heat shock protein complex. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Jun 11;684:35-48. Review.
133. IBGE: Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008–2009, Análise de Consumo Alimentar no Brasil. 2011: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE); 2011.
134. Isolun LR, Zeni CP, Mezzomo K, Blaya C, Kipper L, Heldt E, et al. Behavioral inhibition and history of childhood anxiety disorders in Brazilian adult patients with panic disorder and social anxiety disorder. *Rev Bras Psiquiatr.* 2005, p. 97-100.
135. Ito K, Mouri T, Takahashi K, et al. Suppression by glucocorticoid of the immunoreactivity of corticotropin-releasing factor and vasopressin in the paraventricular nucleus of rat hypothalamus. *Neurosci Lett.* 1987; 73(3):231-6.
136. Ito K, Yamamura S, Essilfie-Quaye S, Cosio B, Ito M, Barnes PJ, et al. Histone deacetylase 2- mediated deacetylation of the glucocorticoid receptor enables NF-kappaB suppression. *J Exp Med.* 2006; 203(1):7–13.
137. Jain A, Wordinger RJ, Yorio T, Clark AF. Spliceosome protein (SRp) regulation of glucocorticoid receptor isoforms and glucocorticoid response in human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53(2):857–66.
138. Jenkins BD, Pullen CB, Darimont BD. Novel glucocorticoid receptor coactivator effector mechanisms. *Trends Endocrinol Metab.* 2001; 12(3):122–6.
139. Jewell CM, Cidlowski JA. Molecular evidence for a link between the N363S glucocorticoid receptor polymorphism and altered gene expression. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(8):3268– 77.
140. Jochman KA, Newman SM, Kalin NH, Bakshi VP. Corticotropin-releasing factor-1 receptors in the basolateral amygdala mediate stress-induced anorexia. *Behav Neurosci.* 2005; 119:1448–58.
141. Joëls, M.; Baram, T.Z. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):459- 66.
142. John S, Sabo PJ, Thurman RE, Sung MH, Biddie SC, Johnson TA, et al. Chromatin accessibility pre-determines glucocorticoid receptor binding patterns. *Nature genetics.* 2011; 43(3):264–8. Epub 2011/01/25.
143. Johnson, M. K., Raye, C. L., Mitchell, K. J., Greene, E. J., Cunningham, W. A., & Sanislow, C. A. Using fMRI to investigate a component process of reflection: Prefrontal correlates of refreshing a just-activated representation. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience.* 2005, 5, 339–361.
144. Kamara, K., Eskay, R., Castonguay, T., 1998. High-fat diets and stress responsivity. *Physiol. Behav.* 64, 1–6.
145. Karst, H., Berger, S., Turiault, M., Tronche, F., Schütz, G., Joëls, M. Mineralocorticoid receptors are indispensable for non-genomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005, 102, 19204–19207.
146. Kaufman, J., et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children- Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* Jul 1997, v. 36, n. 7, p. 980-8.
147. Kelley AE, Baldo BA, Pratt WE. A proposed hypothalamic-thalamic-striatal axis for integration of

- energy balance, arousal, and food reward. *J Comp Neurol* 2005;493:72–85.
148. Kelley, A.E., et al. Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: integration of energy, action and reward. *Physiol Behav* 2005;86:773–795.
 149. Kelly A, Bowen H, Jee YK, Mahfiche N, Soh C, Lee T, et al. The glucocorticoid receptor beta isoform can mediate transcriptional repression by recruiting histone deacetylases. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121(1): 203–8 e1.
 150. Kim SH, Kim DH, Lavender P, Seo JH, Kim YS, Park JS, et al. Repression of TNF-alpha-induced IL-8 expression by the glucocorticoid receptor-beta involves inhibition of histone H4 acetylation. *Exp Mol Med*. 2009; 41(5): 297–306.
 151. Kino T, Chrousos GP. Glucocorticoid and mineralocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes. *J Endocrinol*. 2001 Jun;169(3):437-45.
 152. Kino T, Manoli I, Kelkar S, Wang Y, Su YA, Chrousos GP. Glucocorticoid receptor (GR) beta has intrinsic, GRalpha-independent transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 381(4):671–5.
 153. Kino T, Su YA, Chrousos GP. Human glucocorticoid receptor isoform beta: recent understanding of its potential implications in physiology and pathophysiology. *Cell Mol Life Sci*. 2009; 66(21): 3435–48.
 154. Kitamura T., Kahn C R, Accili D. Insulin receptor knock out mice. *Ann Rev Physiol*. 2003, 65:313–332.
 155. Krett NL, Pillay S, Moalli PA, Greipp PR, Rosen ST. A variant glucocorticoid receptor messenger RNA is expressed in multiple myeloma patients. *Cancer Res*. 1995; 55(13):2727–9.
 156. Kruk, M.R.; Halász, J.; Meelis, W.; Haller, J. Fast positive feedback between the adrenocortical stress response and a brain mechanism involved in aggressive behavior. *Behav. Neurosci*. 2005, 118, 1062–1070.
 157. Kumar R, Calhoun WJ. Differential regulation of the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor through site-specific phosphorylation. *Biologics*. 2008; 2(4):845–54.
 158. Kumar R, Thompson EB. Gene regulation by the glucocorticoid receptor: structure: function relationship. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005; 94(5):383–94.
 159. Kumsta R, Entringer S, Koper JW, van Rossum EF, Hellhammer DH, Wust S. Sex specific associations between common glucocorticoid receptor gene variants and hypothalamus-pituitary-adrenal axis responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry*. 2007, 62(8):863–869.
 160. Kumsta R, Entringer S, Koper JW, van Rossum EF, Hellhammer DH, Wust S. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and glucocorticoid sensitivity of sub dermal blood vessels and leukocytes. *Biol Psychol*. 2008, 79(2):179–184.
 161. la Fleur S.E.; Akana S.F.; Manalo S.L.; Dallman M.F. Interaction between corticosterone and insulin in obesity: regulation of lard intake and fat stores. *Endocrinology*. 2004: 145:2174–85.
 162. la Fleur, S.E., Houshyar, H., Roy, M., Dallman, M.F. Choice of lard, but not total lard calories, dampens ACTH responses to restraint. *Endocrinology*. 2005: 146, 2193–2199.
 163. Laird AR, Fox PM, Eickhoff SB, et al. Behavioral Interpretations of Intrinsic Connectivity Networks. *Journal of cognitive neuroscience*. 2011;23(12):4022-4037.
 164. Lane, R. D., Chua, P. M., & Dolan, R. J. Common effects of emotional valence, arousal and attention on neural activation during visual processing of pictures. *Neuropsychologia*. 1999, 37, 989–997.
 165. Lattimore PJ, Maxwell L. Cognitive load, stress, and disinhibited eating. *Eating Behav* 2004;(5):315–324.
 166. Laugero, K.D. A new perspective on glucocorticoid feedback: relation to stress, carbohydrate feeding and feeling better. *J. Neuroendocrinol*. 2001: 13, 827–835.
 167. Le Drean Y, Mincheneau N, Le Goff P, Michel D. Potentiation of glucocorticoid receptor transcriptional activity by sumoylation. *Endocrinology*. 2002; 143(9):3482–9.
 168. Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPARgamma. *Cell* 2005;123:993-9.
 169. Leibel RL, Edens NK & Fried SK. Physiologic basis for control of body fat distribution in humans. *Annu Rev Nutrition*. 1989, 9, 417–443.
 170. Lewis-Tuffin LJ, Cidlowski JA. The physiology of human glucocorticoid receptor beta (hGRbeta) and glucocorticoid resistance. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1069:1–9.
 171. Lewis-Tuffin LJ, Jewell CM, Bienstock RJ, Collins JB, Cidlowski JA. The Human Glucocorticoid Receptor {beta} (hGR {beta}) Binds RU-486 and is Transcriptionally Active. *Mol Cell Biol*. 2007
 172. Li LB, Leung DY, Martin RJ, Goleva E. Inhibition of histone deacetylase 2 expression by elevated glucocorticoid receptor beta in steroid-resistant asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010; 182(7): 877–83.
 173. Licinio J, Wong ML, Gold PW. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in anorexia nervosa. *Psychiatry Res*. 1996; 62:75–83.

174. Lieberman MD, et al. Putting Feelings Into Words: Affect Labeling Disrupts Amygdala Activity in Response to Affective Stimuli. *Psychological Science* 2007;18(5):421–428.
175. Lingswiler, V., Crowther, J., Stephens, M. Affective and cognitive antecedents to eating episodes in bulimia and binge eating. *International Journal of Eating Disorders*. 1989, 8, 533–539.
176. Lo Sauro C, Ravaldi C, Cabras PL, Faravelli C, Ricca V. Stress, hypothalamic-pituitary-adrenal axis and eating disorders. *Neuropsychobiology*. 2008; 57:95–115.
177. Logue, S. F.; Gould, T. J. The neural and genetic basis of executive function: attention, cognitive flexibility, and response inhibition. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014, Aug; v. 123, p. 45-54.
178. Lonard DM, O'Malley BW. Expanding functional diversity of the coactivators. *Trends Biochem Sci*. 2005; 30(3):126–32.
179. Lu NZ, Cidlowski JA. Translational regulatory mechanisms generate N-terminal glucocorticoid receptor isoforms with unique transcriptional target genes. *Mol Cell*. 2005; 18(3):331–42.
180. Lu NZ, Collins JB, Grissom SF, Cidlowski JA. Selective regulation of bone cell apoptosis by translational isoforms of the glucocorticoid receptor. *Mol Cell Biol*. 2007; 27(20):7143–60.
181. Lundblad JR, Roberts JL. Regulation of proopiomelanocortin gene expression in pituitary. *Endocr Rev* 1988;9(1):135–58.
182. MacKay, D. G., Shafto, M., Taylor, J. K., Marian, D. E., Abrams, L., & Dyer, J. R. Relations between emotion, memory, and attention: Evidence from taboo Stroop, lexical decision, and immediate memory tasks. *Memory & Cognition*. 2004, 32, 474–488.
183. Manenshijn L, van den Akker EL, Lamberts SW, van Rossum EF. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An overview. *Ann N Y Acad Sci*. 2009, Oct;1179:179-98.
184. Mara Mather, Karen J. Mitchell, Carol L. Raye, Deanna L. Novak, Erich J. Greene, and Marcia K. Johnson. Emotional Arousal Can Impair Feature Binding in Working Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*. April 2006, Vol. 18, No. 4, Pages 614-625
185. Marti O, Marti J, Armario A. Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure. *Physiol Behav*. 1994; 55:747–53.
186. Mather, M., Mitchell, K. J., Raye, C. L., Novak, D. L., Greene, E. J., & Johnson, M. K. Emotional arousal can impair feature binding in working memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2006, 18, 614–625.
187. Matthews L, Berry A, Ohanian V, Ohanian J, Garside H, Ray D. Caveolin mediates rapid glucocorticoid effects and couples glucocorticoid action to the antiproliferative program. *Mol Endocrinol*. 2008; 22(6):1320–30.
188. Mazzola A. A. Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica*, 2009. v. 3, n. 1, p. 117-29.
189. McElroy SL, Kotwal R, Malhotra S, Nelson EB, Keck PE, Nemeroff CB. Are mood disorders and obesity related? A review for the mental health professional. *J Clin Psychiatry*. 2004; 65:634–51.
190. McEwen Bs. Stress, adaptation and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann NY Acad Sci*. 1998; 840:33-44.
191. McKenna, F. P., & Sharma, D. Reversing the emotional Stroop effect reveals that it is not what it seems: The role of fast and slow components. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*. 2004, 30, 382–392.
192. McNally JG, Muller WG, Walker D, Wolford R, Hager GL. The glucocorticoid receptor: rapid exchange with regulatory sites in living cells. *Science*. 2000; 287(5456):1262–5.
193. Meijsing SH, Pufall MA, So AY, Bates DL, Chen L, Yamamoto KR. DNA binding site sequence directs glucocorticoid receptor structure and activity. *Science*. 2009; 324(5925):407–10.
194. Mitchell, K. J., Johnson, M. K., Raye, C. L., & D'Esposito, M. fMRI evidence of age-related hippocampal dysfunction in feature binding in working memory. *Cognitive Brain Research*. 2000, 10, 197–206
195. Moalli PA, Pillay S, Krett NL, Rosen ST. Alternatively spliced glucocorticoid receptor messenger RNAs in glucocorticoid-resistant human multiple myeloma cells. *Cancer Res*. 1993; 53(17):3877– 9.
196. Mostofsky, S. H. et al. fMRI evidence that the neural basis of response inhibition is task-dependent. *Brain Res Cogn Brain Res*. Jul 2003, v. 17, n. 2, p. 419-30.
197. Mourao-Miranda, J., Volchan, E., Moll, J., de Oliveira-Souza, R., Oliveira, L., Bramati, I., et al. Contributions of stimulus valence and arousal to visual activation during emotional perception. *Neuroimage*, 2003, 20, 1955–1963.
198. Myers MG Jr, et al. The Geometry of Leptin Action in the Brain: More Complicated Than a Simple ARC. *Cell Metabolism*. 2009;9(2):117–123.
199. Naeser, P., 1973. Effects of adrenalectomy on the obese-hyperglycemic syndrome in mice (gene symbol

- ob). *Diabetologia* 9, 376–379. Oliver, G., Wardle, J., 1999. Perceived effects of stress on food choice. *Physiol. Behav.* 66, 511–515.
200. Nehme A, Lobenhofer EK, Stamer WD, Edelman JL. Glucocorticoids with different chemical structures but similar glucocorticoid receptor potency regulate subsets of common and unique genes in human trabecular meshwork cells. *BMC Med Genomics.* 2009; 2:58.
201. Nicolaides NC, Charmandari E, Chrousos GP, Kino T. Recent advances in the molecular mechanisms determining tissue sensitivity to glucocorticoids: novel mutations, circadian rhythm and ligand-induced repression of the human glucocorticoid receptor. *BMC Endocr Disord.* 2014 Aug 25;14:71.
202. Nicolaides NC, Galata Z, Kino T, Chrousos GP, Charmandari E. The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function. *Steroids.* 2010;75(1):1–12.
203. Nielen, M.M.A., D.J. Heslenfeld, K. Heinen, J.W. Van Strien, M.P. Witter, C. Jonker, D.J. Veltman. Distinct brain systems underlie the processing of valence and arousal of affective pictures. *Brain and Cognition.* 2009, 71: 387–396
204. Nissen RM, Yamamoto KR. The glucocorticoid receptor inhibits NFkappaB by interfering with serine-2 phosphorylation of the RNA polymerase II carboxy-terminal domain. *Genes Dev.* 2000; 14(18):2314–29.
205. Nitschke, J. B., Nelson, E. E., Rusch, B. D., Fox, A. S., Oakes, T. R., & Davidson, R. J. Orbitofrontal cortex tracks positive mood in mothers viewing pictures of their newborn infants. *Neuroimage*, 2004, 21, 583–592.
206. O'Connor DB, et al. Effects of daily hassles and eating style on eating behavior. *Health Psychol* 2008;27(1):S20–S31.
207. Oakley RH, Cidlowski JA. Cellular processing of the glucocorticoid receptor gene and protein: new mechanisms for generating tissue-specific actions of glucocorticoids. *J Biol Chem.* 2011, 286(5):3177–3184.
208. Oakley RH, Revollo J, Cidlowski JA. Glucocorticoids regulate arrestin gene expression and redirect the signaling profile of G protein-coupled receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109(43):17591–6.
209. Oakley RH, Sar M, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J Biol Chem.* 1996; 271(16):9550–9.
210. Oakley, R. H., & Cidlowski, J. A. (2011). Cellular processing of the glucocorticoid receptor gene and protein: new mechanisms for generating tissue-specific actions of glucocorticoids. *J Biol Chem* 286, 3177–3184.
211. Oswald LM, Wong DF, McCaul M, Zhou Y, Kuwabara H, Choi L et al. Relationships among ventral striatal dopamine release, cortisol secretion, and subjective responses to amphetamine. *Neuropsychopharmacology.* 2005, 30(4):821–832.
212. Otte C, Wust S, Zhao S, Pawlikowska L, Kwok PY, Whooley MA. Glucocorticoid receptor gene, low-grade inflammation, and heart failure: the Heart and Soul study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95(6):2885–91.
213. Page, K. A. et al. Circulating glucose levels modulate neural control of desire for high-calorie foods in humans. *J Clin Invest.* Oct 2011, v. 121, n. 10, p. 4161–9.
214. Pariante CM, Miller AH. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry.* 2001, 49(5):391–404.
215. Parker, G. Reported parental characteristics in relation to trait depression and anxiety levels in a non-clinical group. *Aust N Z J Psychiatry.* 1979, 13, 260–264.
216. Parker, G., Tupling, H. & Brown, L. A Parental Bonding Instrument. *British Journal of Medical Psychology.* 1979, 52, 1–10.
217. Pecoraro N, Dallman MF, Warne JP, Ginsberg AB, Laugero KD, La Fleur SE, Houshyar H, Gomez F, Bhargava A, Akana SF. From Malthus to motive: How the HPA axis engineers the phenotype, yoking needs to wants. *Prog Neurobiol.* 2006;79(5–6):247–340.
218. Pecoraro, N., Reyes, F., Gomez, F., Bhargava, A., Dallman, M.F. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology.* 2004: 145, 3754–3762.
219. Pedersen KB, Geng CD, Vedeckis WV. Three mechanisms are involved in glucocorticoid receptor autoregulation in a human T-lymphoblast cell line. *Biochemistry.* 2004; 43(34):10851–8.
220. Pelaia, G., Vatrella, A., Cuda, G., Maselli, R. Marsico, S.A. Molecular mechanisms of corticosteroid actions in chronic inflammatory airway diseases. *Life Sci,* 72 (14) (2003), pp. 1549–1561.
221. Philippi, S.T. Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para Decisão Nutricional. 2a edição, 2002. São Paulo: Coronário.
222. Picard D, Khursheed B, Garabedian MJ, Fortin MG, Lindquist S, Yamamoto KR. Reduced levels of

- hsp90 compromise steroid receptor action in vivo. *Nature*. 1990 Nov 8;348(6297):166-8.
223. Pinheiro, A.B.V. et al. Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras. 5a edição, 2005. São Paulo: Editora Atheneu.
224. Poldrack, R. A., Mumford, J. A., Nichols, T. E. Handbook of functional MRI data analysis. 2011 Cambridge university press.
225. Portella, A. K.; Silveira, P. P. Neurobehavioral determinants of nutritional security in fetal growth-restricted individuals. *Ann N Y Acad Sci*. Dec 2014 v. 1331, n. 1, p. 15-33.
226. Prasad, A., Prasad, C., 1996. Short-term consumption of a diet rich in fat decreases anxiety response in adult male rats. *Physiol. Behav.* 60, 1039–1042.
227. Pratt WB, Dittmar KD. Studies with Purified Chaperones Advance the Understanding of the Mechanism of Glucocorticoid Receptor-hsp90 Heterocomplex Assembly. *Trends Endocrinol Metab*. 1998 Aug;9(6):244-52.
228. Pratt WB, Dittmar KD. Studies with Purified Chaperones Advance the Understanding of the Mechanism of Glucocorticoid Receptor-hsp90 Heterocomplex Assembly. *Trends Endocrinol Metab*. 1998 Aug;9(6):244-52.
229. Pratt WB, Morishima Y, Murphy M, Harrell M. Chaperoning of glucocorticoid receptors. *Handb Exp Pharmacol*. 2006;(172):111-38.
230. Pratt WB, Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev*. 1997; 18(3):306–60.
231. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Ligand-induced repression of the glucocorticoid receptor gene is mediated by an NCoR1 repression complex formed by long-range chromatin interactions with intragenic glucocorticoid response elements. *Mol Cell Biol*. 2013; 33(9):1711–22.
232. Rand, C., Stunkard, A. Obesity and psychoanalysis. *American Journal of Psychiatry*. 1978, 135, 547–551.
233. Ratajczak T, Cluning C, Ward BK. Steroid Receptor-Associated Immunophilins: A Gateway to Steroid Signalling. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2015;36(2):31-52.
234. Ratajczak T, Ward BK, Minchin RF. Immunophilin chaperones in steroid receptor signalling. *Curr Top Med Chem*. 2003;3(12):1348-57.
235. Ratka, A., Sutanto, W., Bloemers, M., de Kloet, E.R. On the role of the brain type I and type II corticosteroid receptors in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinol*. 1989, 50, 117–123.
236. Ray DW, Davis JR, White A, Clark AJ. Glucocorticoid receptor structure and function in glucocorticoid-resistant small cell lung carcinoma cells. *Cancer Res*. 1996; 56(14):3276–80.
237. Reddy TE, Gertz J, Crawford GE, Garabedian MJ, Myers RM. The hypersensitive glucocorticoid response specifically regulates period 1 and expression of circadian genes. *Mol Cell Biol*. 2012; 32(18):3756–67.
238. Reynolds PD, Ruan Y, Smith DF, Scammell JG. Glucocorticoid resistance in the squirrel monkey is associated with overexpression of the immunophilin FKBP51. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:663-9.
239. Richard D, Lin Q, Timofeeva E. The corticotropin-releasing factor family of peptides and CRF receptors: their roles in the regulation of energy balance. *Eur J Pharmacol*. 2002; 440:189–97.
240. Riggs DL, Roberts PJ, Chirillo SC, Cheung-Flynn J, Prapapanich V, Ratajczak T, et al. The Hsp90-binding peptidylprolyl isomerase FKBP52 potentiates glucocorticoid signaling *in vivo*. *EMBO J* 2003;22:1158-67.
241. Rivers C, Levy A, Hancock J, Lightman S, Norman M. Insertion of an amino acid in the DNA-binding domain of the glucocorticoid receptor as a result of alternative splicing. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84(11):4283–6.
242. Rodaros, D., Caruana, D.A., Amir, S., Stewart, J., 2007. Corticotropin-releasing factor projections from limbic forebrain and paraventricular nucleus of the hypothalamus to the region of the ventral tegmental area. *Neuroscience* 150, 8–13.
243. Rogatsky I, Ivashkiv LB. Glucocorticoid modulation of cytokine signaling. *Tissue Antigens*. 2006; 68(1):1–12.
244. Ronacher K, Hadley K, Avenant C, Stubbsrud E, Simons SS Jr, Louw A, et al. Ligand-selective transactivation and transrepression via the glucocorticoid receptor: role of cofactor interaction. *Mol Cell Endocrinol*. 2009; 299(2):219–31.
245. Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:423–433.
246. Roozendaal B, Schelling G, McGaugh JL. Corticotropin-Releasing Factor in the Basolateral Amygdala Enhances Memory Consolidation via an Interaction with the β -Adrenoceptor-cAMP Pathway: Dependence on Glucocorticoid Receptor Activation. *J. Neurosci* 2008;28(26):6642–6651.

247. Rosenfeld MG, Glass CK. Coregulator codes of transcriptional regulation by nuclear receptors. *J Biol Chem.* 2001; 276(40):36865–8.
248. Rosmond R. Obesity and depression: same disease, different names? *Med Hypotheses.* 2004; 62:976–979.
249. Rovaris D, Mota NR, de Azeredo LA, Cupertino RB, Bertuzzi GP, Polina ER, Contini V, Kortmann GL, Vitola ES, Grevet EH, Grassi-Oliveira R, Callegari-Jacques SM, Bau CHD. MR and GR functional SNPs may modulate tobacco smoking susceptibility. *J Neural Transm.* 2013, 31/03.
250. Rozanski A, Blumenthal JA, Kaplan J. Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation.* 1999 Apr 27;99(16):2192–217.
251. Rudman D, Girolamo MD. Effects of adrenal cortical steroids on lipid metabolism. In: Christy NP E, ed. *The human adrenal cortex.* New York: Harper & Row, 1971;241–255.
252. Russcher H, van Rossum EF, de Jong FH, Brinkmann AO, Lamberts SW, Koper JW. Increased expression of the glucocorticoid receptor-A translational isoform as a result of the ER22/23EK polymorphism. *Mol Endocrinol.* 2005; 19(7):1687–96.
253. Sabatinelli, D., Flaisch, T., Bradley, M. M., Fitzsimmons, J. R., & Lang, P. J. (2004). Affective picture perception: Gender differences in visual cortex? *Neuroreport*, 15, 1109–1112.
254. Salum, G. A. et al. The multidimensional evaluation and treatment of anxiety in children and adolescents: rationale, design, methods and preliminary findings. *Rev Bras Psiquiatr.* Jun 2011, v. 33, n. 2, p. 181-95,
255. Samarasinghe RA, Di Maio R, Volonte D, Galbiati F, Lewis M, Romero G, et al. Nongenomic glucocorticoid receptor action regulates gap junction intercellular communication and neural progenitor cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(40):16657–62.
256. Samarasinghe RA, Witchell SF, DeFranco DB. Cooperativity and complementarity: synergies in non-classical and classical glucocorticoid signaling. *Cell Cycle.* 2012; 11(15):2819–27.
257. Sanchez ER. Chaperoning steroidal physiology: lessons from mouse genetic models of Hsp90 and its cochaperones. *Biochim Biophys Acta* 2012;1823:722-9.
258. Sapolsky RM. *Stress, the Aging Brain, and the Mechanisms of Neuron Death.* 1992; MIT Press, Cambridge, MA.
259. Sapolsky, R.M., Romero, L., Munck, A. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endo. Rev.* 2000, 21, 55–89.
260. Savontaus, E., Conwell, I.M., Wardlaw, S.L., 2002. Effects of adrenalectomy on ARGP, POMC, NPY and CART gene expression in the basal hypothalamus of fed and fasted rats. *Brain Res.* 958, 130–138.
261. Scammell JG, Denny WB, Valentine DL, Smith DF. Overexpression of the FK506-binding immunophilin FKBP51 is the common cause of glucocorticoid resistance in three New World primates. *Gen Comp Endocrinol* 2001;124:152-65.
262. Schaaf MJ, Champagne D, van Laanen IH, van Wijk DC, Meijer AH, Meijer OC, et al. Discovery of a functional glucocorticoid receptor beta-isoform in zebrafish. *Endocrinology.* 2008; 149(4): 1591–9.
263. Schaaf MJ, Cidowski JA. AUUUA motifs in the 3'UTR of human glucocorticoid receptor alpha and beta mRNA destabilize mRNA and decrease receptor protein expression. *Steroids.* 2002; 67(7):627–36.
264. Schreiber, S. L. Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science* 1991, 251, 283-7.
265. Schulkin J, Gold PW, McEwen BS. Induction of corticotropin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: implication for understanding the states of fear and anxiety and allostatic load. *Psychoneuroendocrinology.* 1998; 23:219–43.
266. Schur, E., Kleinhans, N., Goldberg, J., Buchwald, D., Schwartz, M., Maravilla, K. Activation in brain energy regulation and reward centers by food cues varies with choice of visual stimulus. *International Journal of Obesity.* 2009, 33(6), 653–61.
267. Schwabe L, et al. Modulation of spatial and stimulus-response learning strategies by exogenous cortisol in healthy young women. *Psychoneuroendocrinology* 2009;34(3):358–366
268. Schwabe L, Wolf OT. Stress Prompts Habit Behavior in Humans. *J. Neurosci.* 2009;29(22):7191–7198.
269. Schwartz MW, Woods SC, Porte Jr D, Seeley RJ, Baskin D. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000, 404:661–671.
270. Schwartz, M.W., Woods, S.C., Seeley, R.J., Barsh, G.S., Baskin, D.G., Leibel, R.L. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes.* 2003; 52, 232–238.
271. Scott KM, McGee MA, Wells JE, Oakley Browne MA. Obesity and mental disorders in the adult general population. *J Psychosom Res.* 2008; 64:97–105.

272. Seckl JR. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases: changing glucocorticoid action. *Curr Opin Pharmacol.* 2004; 4(6):597–602.
273. Seganfredo, A.C., Torres, M., Salum, G.A., Blaya, C., Acosta, J., Eizirik, C. & Manfro, G.G. Gender differences in the associations between childhood trauma and parental bonding in panic disorder. *Rev Bras Psiquiatr.* 2009, 31, 314–321.
274. Simmonds, D. J.; Pekar J. J.; Mostofsky, S. H. Meta-analysis of Go/No-go tasks demonstrating that fMRI activation associated with response inhibition is task-dependent. *Neuropsychologia.* Jan 2008, v. 46, n. 1, p. 224–32.
275. Simon GE, Arterburn DE. Does comorbid psychiatric disorder argue for or against surgical treatment of obesity? *Gen Hosp Psychiatry.* 2009; 31:401–402.
276. Sinclair D, Tsai SY, Woon HG, Weickert CS. Abnormal glucocorticoid receptor mRNA and protein isoform expression in the prefrontal cortex in psychiatric illness. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.* 2011; 36(13):2698–709.
277. Sinclair D, Tsai SY, Woon HG, Weickert CS. Abnormal glucocorticoid receptor mRNA and protein isoform expression in the prefrontal cortex in psychiatric illness. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.* 2011; 36(13):2698–709.
278. Sinclair D, Webster MJ, Fullerton JM, Weickert CS. Glucocorticoid receptor mRNA and protein isoform alterations in the orbitofrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder. *BMC psychiatry.* 2012; 12:84.
279. Sinclair D, Webster MJ, Wong J, Weickert CS. Dynamic molecular and anatomical changes in the glucocorticoid receptor in human cortical development. *Mol Psychiatry.* 2010:1–12.
280. Sinha, R. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Ann N Y Acad Sci.* 2008, 1141:105–130.
281. Sipols, A.J., Baskin, D.G., Schwartz, M.W., 1995. Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. *Diabetes* 44, 147–151.
282. Smagin GN, Howell LA, Redmann S Jr, Ryan DH, Harris RB. Prevention of stress-induced weight loss by third ventricle CRF receptor antagonist. *Am J Physiol.* 1999; 276:R1461–8.
283. Small, M.F. Body fat, rank, and nutritional status in a captive group of rhesus monkeys. *International Journal of Primatology.* 1981; 2:91–95.
284. Solito E, Mulla A, Morris JF, Christian HC, Flower RJ, Buckingham JC. Dexamethasone induces rapid serine-phosphorylation and membrane translocation of annexin I in a human folliculostellate cell line via a novel nongenomic mechanism involving the glucocorticoid receptor, protein kinase C, phosphatidylinositol 3-kinase, and mitogen-activated protein kinase. *Endocrinology.* 2003; 144(4):1164–74.
285. Spokas M, Heimberg RG. Overprotective parenting, social anxiety, and external locus of control: cross-sectional and longitudinal relationships. *Cogn Ther Res.* (2009) 33: 543–551.
286. Stegk JP, Ebert B, Martin HJ, et al. Expression profiles of human 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases type 1 and type 2 in inflammatory bowel diseases. *Mol Cell Endocrinol* 2009;301:104e8.
287. Steptoe A, et al. Neuroendocrine and cardiovascular correlates of positive affect measured by ecological momentary assessment and by questionnaire. *Psychoneuroendocrinology* 2007;32(1):56– 64.
288. Stone, A., Brownell, K. (1994) The stress-eating paradox: multiple daily measurements in adult males and females. *Psychology and Health.* 9, 425–436.
289. Surjit M, Ganti KP, Mukherji A, Ye T, Hua G, Metzger D, et al. Widespread negative response elements mediate direct repression by agonist-liganded glucocorticoid receptor. *Cell.* 2011; 145(2):224–41. Epub 2011/04/19.
290. Swaab D.F.; Bao A.M.; Lucassen P.J. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev.* 2005 May;4(2):141–94.
291. Tang, D., Fellows, L., Small, D., Dagher, A. Food and drug cues activate similar brain regions: a meta-analysis of functional MRI studies. *Physiology & Behavior.* 2012, 106, 317–324.
292. Tannenbaum, B.M., Brindley, D.N., Tannenbaum, G.S., Dallman, M.F., McArthur, M.D., Meaney, M.J., 1997. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *Am. J. Physiol.* 273, E1168–E1177.
293. Thomas GN, Critchley JA, Tomlinson B, Cockram CS, Chan JC. Relationships between the TaqI polymorphism of the dopamine D2 receptor and blood pressure in hyperglycaemic and normoglycaemic Chinese subjects. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001; 55:605–611.
294. Tian S, Poukka H, Palvimo JJ, Janne OA. Small ubiquitin-related modifier-1 (SUMO-1) modification of the glucocorticoid receptor. *Biochem J.* 2002; 367(Pt 3):907–11.

295. Tliba O, Cidlowski JA, Amrani Y. CD38 expression is insensitive to steroid action in cells treated with tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by a mechanism involving the up-regulation of the glucocorticoid receptor beta isoform. *Mol Pharmacol*. 2006; 69(2):588–96.
296. Trementino L, Appolloni G, Concettoni C, Cardinaletti M, Boscaro M, Arnaldi G. Association of glucocorticoid receptor polymorphism A3669G with decreased risk of developing diabetes in patients with Cushing's syndrome. *European Journal of Endocrinology*. 2012, 166 35–42.
297. Uhlenhaut NH, Barish GD, Yu RT, Downes M, Karunasiri M, Liddle C, et al. Insights into negative regulation by the glucocorticoid receptor from genome-wide profiling of inflammatory cistromes. *Mol Cell*. 2013; 49(1):158–71.
298. Ulrich-Lai, Y.M., Ostrander, M.M., Thomas, I.M., Packard, B.A., Furay, A.R., Dolgas, C.M., Van Hooren, D.C., Figueiredo, H.F., Mueller, N.K., Choi, D.C., Herman, J.P., 2007. Daily limited access to sweetened drink attenuates hypothalamic-pituitary- adrenocortical axis stress responses. *Endocrinology* 148, 1823–1834.
299. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr*. 1956; 4(1):20-34.
300. Van den Akker EL, Koper JW, van Rossum EF, Dekker MJ, Russcher H, de Jong FH, et al. Glucocorticoid receptor gene and risk of cardiovascular disease. *Arch Intern Med*. 2008; 168(1): 33–9.
301. Van den Akker EL, Koper JW, van Rossum EF, Dekker MJ, Russcher H, de Jong FH, et al. Glucocorticoid receptor gene and risk of cardiovascular disease. *Arch Intern Med*. 2008; 168(1): 33–9.
302. Van der Heide LP, Ramakers GM & Smidt MP. Insulin signaling in the CNS: learning to survive. *Prog Neurobiol*. 2006, 79, 205–221.
303. Van Rossum EF, Koper JW, Huizenga NA, Uitterlinden AG, Janssen JA, Brinkmann AO, Grobbee DE, de Jong FH, van Duyn CM, Pols HA, Lamberts SW. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. *Diabetes*. 2002;51:3128–3134.
304. Van Rossum EF, Lamberts SW. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog Horm Res*. 2004; 59:333–57.
305. Van Rossum. Variation in the Glucocorticoid Receptor Gene: Consequences for Body and Brain. 2005. http://www.researchgate.net/publication/254757100_Variation_in_the_Glucocorticoid_Receptor_Gene_Consequences_for_Body_and_Brain
306. Varricchio L, Masselli E, Alfani E, Battistini A, Migliaccio G, Vannucchi AM, et al. The dominant negative beta isoform of the glucocorticoid receptor is uniquely expressed in erythroid cells expanded from polycythemia vera patients. *Blood*. 2011; 118(2):425–36.
307. Veldhuis J.D., A. Iranmanesh, G. Lizarralde, M.L. Johnson Amplitude modulation of a burstlike mode of cortisol secretion subserves the circadian glucocorticoid rhythm *Am. J. Physiol.*, 257 (1989), pp. E6–E14.
308. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Baler R, Telang F. Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*. 2009; 56(Suppl. 1):3–8.
309. Wallace AD, Cidlowski JA. Proteasome-mediated glucocorticoid receptor degradation restricts transcriptional signaling by glucocorticoids. *J Biol Chem*. 2001; 276(46):42714–21.
310. Wallace AD, Cidlowski JA. Proteasome-mediated glucocorticoid receptor degradation restricts transcriptional signaling by glucocorticoids. *J Biol Chem*. 2001; 276(46):42714–21.
311. Wallis DJ, Hetherington MM. Emotions and eating. Self-reported and experimentally induced changes in food intake under stress. *Appetite* 2009;52(2):355–362.
312. Wand GS, Oswald LM, McCaul ME, Wong DF, Johnson E, Zhou Y et al. Association of amphetamine-induced striatal dopamine release and cortisol responses to psychological stress. *Neuropsychopharmacology*. 2007, 32(11):2310–2320.
313. Wang SC, Myers S, Dooms C, Capon R, Muscat GE. An ERRbeta/gamma agonist modulates GRalpha expression, and glucocorticoid responsive gene expression in skeletal muscle cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2009
314. Wang X, DeFranco DB. Alternative effects of the ubiquitin-proteasome pathway on glucocorticoid receptor down-regulation and transactivation are mediated by CHIP, an E3 ligase. *Mol Endocrinol*. 2005; 19(6):1474–82.
315. Wang Z, Frederick J, Garabedian MJ. Deciphering the phosphorylation “code” of the glucocorticoid receptor in vivo. *J Biol Chem*. 2002; 277(29):26573–80.
316. Warne JP. Shaping the stress response: Interplay of palatable food choices, glucocorticoids, insulin and abdominal obesity. *Mol Cell Endocrinol*. 2009; 300:137–46.

317. Warne, J.P., Foster, M.T., Horneman, H.F., Pecoraro, N.C., de Jong, H.K., Ginsberg, A.B., Akana, S.F., Dallman, M.F. The gastroduodenal branch of the common hepatic vagus regulates voluntary lard intake, fat deposition, and plasma metabolites in streptozotocin-diabetic rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2008; 294, E190–200.
318. Warne, J.P., Foster, M.T., Horneman, H.F., Pecoraro, N.C., Ginsberg, A.B., Akana, S.F., Dallman, M.F. Afferent signalling through the common hepatic branch of the vagus inhibits voluntary lard intake and modifies plasma metabolite levels in rats. *J. Physiol.* 2007a; 583, 455–467.
319. Warne, J.P., Horneman, H.F., Ginsberg, A.B., Pecoraro, N.C., Foster, M.T., Akana, S.F., Dallman, M.F. Mapping brain c-fos immunoreactivity after insulin-induced voluntary lard intake: insulin- and lard-associated patterns. *J. Neuroendocrinol.* 2007b; 19, 794–808.
320. Webster JC, Jewell CM, Bodwell JE, Munck A, Sar M, Cidlowski JA. Mouse glucocorticoid receptor phosphorylation status influences multiple functions of the receptor protein. *J Biol Chem.* 1997; 272(14):9287–93.
321. Webster JC, Oakley RH, Jewell CM, Cidlowski JA. Proinflammatory cytokines regulate human glucocorticoid receptor gene expression and lead to the accumulation of the dominant negative beta isoform: a mechanism for the generation of glucocorticoid resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98(12):6865–70.
322. Werrij MQ, Mulkens S, Hospers HJ, Jansen A. Overweight and obesity: the significance of a depressed mood. *Patient Educ Couns.* 2006; 62:126–31
323. White, B.D., Dean, R.G., Martin, R.J., 1990. Adrenalectomy decreases neuropeptide Y mRNA levels in the arcuate nucleus. *Brain Res. Bull.* 25, 711–715.
324. Widmaier EP, Dallman MF. The effects of corticotropin-releasing factor on adrenocorticotropin secretion from perfused pituitaries *in vitro*: rapid inhibition by glucocorticoids. *Endocrinology.* 1984; 115:2368–2374.
325. Widmaier, E.P., Rosen, K., Abbott, B., 1992. Free fatty acids activate the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in rats. *Endocrinology* 131, 2313–2318.
326. Willenbring, M., Levine, A., Morley, J. Stress induced eating and food preference in humans: a pilot study. *International Journal of Eating Disorders.* 1986; 5, 855–864.
327. World Health Organization - WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. *Report of a WHO Expert Committee.* Technical Report Series 854. 1995; Geneva: World Health Organization.
328. Wright, I. C. et al. A voxel-based method for the statistical analysis of gray and white matter density applied to schizophrenia. *Neuroimage*, Dec 1995, v. 2, n. 4, p. 244-52.
329. Wu I, Shin SC, Cao Y, Bender IK, Jafari N, Feng G, et al. Selective glucocorticoid receptor translational isoforms reveal glucocorticoid-induced apoptotic transcriptomes. *Cell death & disease.* 2013; 4:e453.
330. Wüst, S., Van Rossum, E.F., Federenko, I.S., Koper, J.W., Kumsta, R., Hellhammer, D.H. Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2004; 89 (2),565—573.
331. Xu Q, Leung DY, Kisich KO. Serine-arginine-rich protein p30 directs alternative splicing of glucocorticoid receptor pre-mRNA to glucocorticoid receptor beta in neutrophils. *J Biol Chem.* 2003; 278(29):27112–8.
332. Yang-Yen HF, Chambard JC, Sun YL, Smeal T, Schmidt TJ, Drouin J, et al. Transcriptional interference between c-Jun and the glucocorticoid receptor: mutual inhibition of DNA binding due to direct protein-protein interaction. *Cell.* 1990; 62(6):1205–15.
333. Yokum, S.; Stice, E. Cognitive regulation of food craving: effects of three cognitive reappraisal strategies on neural response to palatable foods. *Int J Obes (Lond)*, Dec 2013, v. 37, n. 12, p. 1565-70.
334. Yudit MR, Jewell CM, Bienstock RJ, Cidlowski JA. Molecular origins for the dominant negative function of human glucocorticoid receptor beta. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(12):4319–30.
335. Zbankova S, Bryndova J, Leden P, et al. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 expression in colon from patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:1019e23.
336. Zheng H, et al. Appetite control and energy balance regulation in the modern world: reward-driven brain overrides repletion signals. *Int J Obesity* 2009;33:S8–S13.
337. Zhu J, Gong JY, Goodman OB Jr, Cartegni L, Nanus DM, Shen R. Bombesin attenuates pre-mRNA splicing of glucocorticoid receptor by regulating the expression of serine-arginine protein p30c (SRp30c) in prostate cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1773(7):1087–94.
338. Zilles K, Amunts K. Centenary of Brodmann's map--conception and fate. *Nat Rev Neurosci.* 2010 Feb;11(2):139-45