



Dissertação de Mestrado

**ESTRESSE CRÔNICO ASSOCIADO À DIETA HIPERCALÓRICA EM RATOS
WISTAR: PARÂMETROS PONDERAIS E BIOQUÍMICOS.**

Isabel Cristina de Macedo

Porto Alegre, 2010.

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

**ESTRESSE CRÔNICO ASSOCIADO À DIETA HIPERCALÓRICA EM RATOS
WISTAR: PARÂMETROS PONDERAIS E BIOQUÍMICOS.**

Isabel Cristina de Macedo

ORIENTADORA
Prof^a Dr^a. Iraci Lucena da Silva Torres

Porto Alegre, 2010.

*“A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À **Deus** por abençoar aos que amo, iluminar meus caminhos e nunca me faltar quando preciso.

À minha orientadora, **Profª Dra. Iraci Lucena da Silva Torres**, que tornou possível a realização deste projeto desde o aceite como aluna até a finalização.

À minha família linda, em especial a minha mãe **Maria Deni** que sempre me incentivou em todas as minhas iniciativas, e ao meu amado pai **Christiano** (*in memoriam*) que zela por nós onde ele estiver.

Ao meu querido marido **Cléo** e minha adorada filha **Ana Carolina**, que são o motivo do meu esforço, pela compreensão, auxílio nos momentos mais complicados e por todo amor que me dedicam.

Aos colegas de grupo **Andressa, Carlinha, Cleverson, Gabriela, Joanna, Lauren, Liciane, Marina e Vanessa Scarabelot**, pela ajuda nos experimentos e pela agradável companhia em outros momentos.

Aos alunos de iniciação científica **Aline, Bruna, Fernanda, Stefânia, Paulo, Vanessa Jacovas, Vinícius e Yasmine**, pela boa convivência e colaboração.

Aos professores e funcionários do Departamento de Farmacologia da UFRGS.

Aos funcionários do ratário, D^a **Geni** (CREAL) e veterinária **Karen**, e da Unidade de Experimentação Animal em especial à veterinária **Fabíola Meyer** e à enfermeira **Marta Cioato** pelo profissionalismo e disponibilidade.

A todos os professores, colegas e funcionários do PPG, em especial às secretárias **Alice e Sílvia**.

Ao **GPPG-Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre** pelo apoio financeiro para o desenvolvimento do projeto bem como seu suporte oferecido pela **UEA-unidade de experimentação animal**.

A **CAPES**, pela bolsa parcial de mestrado.

A **PIBIC-CNPq/UFRGS**, pelas bolsas dos alunos que participaram deste trabalho.

Aos demais que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO	2
I.1. ESTRESSE	2
I.2. Estilo de Vida Atual e Alimentação.....	15
I.3.Sobrepeso e Obesidade.....	23
II. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	30
III. HIPÓTESE	31
IV. OBJETIVOS.....	33
IV.1. Objetivo geral	33
IV.2. Objetivos específicos.....	33
V. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
V.1. Animais experimentais.....	35
V.2. Desenho experimental.....	35
V.3. Dietas experimentais	36
V.4. Eficiência alimentar dos animais	37
V.5. Métodos para aferição das variáveis em estudo	38
V.6. Análise estatística.....	39
VI. RESULTADOS	41
VI.1.Peso corporal (g)	41
VI.2. Delta do peso(g)	43
VI.3. Índice de Lee (g/cm)	43
VI.4. Ingestão calórica (Kcal)	44
VI.5. Consumo de Líquidos (mL)	46
VI.6. Eficiência Alimentar	48
VI.7. Peso do Fígado (g/100g)	49
VI.8.Peso do Tecido adiposo (g/100g).....	49

VI.9. Peso das Adrenais – Peso bruto (g) e Relativo (g/100g).....	50
VI.10. Dosagem de Leptina (ng/mL)	51
VI.11. Dosagem de Corticosterona (ng/mL).....	52
VI.12. Dosagem de Glicose (mg/dL)	53
VI.13. Perfil Lipídico	54
VII. DISCUSSÃO	58
VIII. CONCLUSÃO	72
IX. PERSPECTIVAS.....	74
X. REFERÊNCIAS.....	76
XI.1. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	97
XI.2– DIVULGAÇÕES.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico (do inglês *Adrenocorticotropic Hormone*)
AgRP: Peptídeo relacionado ao Agouti (do inglês *Agouti-related Peptide*)
AVP: Arginina vasopressina
CBG: Globulina ligadora de glicocorticóides (do inglês *corticoids binding globulin*)
CCK: Colecistocinina
CT: Grupo controle
CNA: Comprimento naso-anal
CRH: Hormônio Liberador de Corticotrofina (do inglês *Corticotropin Releasing Hormone*)
E: Grupo estresse
DE: Grupo dieta e estresse
D: Grupo dieta
EA: Eficiência alimentar
GCs: Glicocorticosteróides
GH: Hormônio do crescimento
GR: Receptor de glicocorticóides
HDL: Lipoproteína de alta densidade (do inglês *High Density Lipoprotein*)
HHA: Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
IL-6: Interleucina 6
IMC: Índice de massa corporal
LDL: Lipoproteína de baixa densidade (do inglês *Low Density Lipoprotein*)
LPL: Lipoproteína lipase
VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade (do inglês *Very Low Density Lipoprotein*)
MC4R: Receptor 4 de melanocortina
MC3R: Receptor 3 de melanocortina
NHA: Núcleo arqueado do hipotálamo
NPY: Neuropeptídeo Y
NPV: Núcleo paraventricular (hipotálamo)
OMS: Organização mundial da saúde
POMC: Pró-ópiomelanocortina
PYY: Peptídeo YY
RNAm: Ácido Ribonucleico Mensageiro (do inglês *Messenger Ribonucleic Acid*)
SA: Simpato-adrenal
SNA: Sistema nervoso autônomo
SNC: Sistema nervoso central
SNS: Sistema nervoso simpático
SGA: Síndrome da adaptação geral
SBC: Sociedade Brasileira de Diabetes
SBH: Sociedade Brasileira de Hipertensão
SNC: Sistema nervoso autônomo
TAG: Triacilglicerol
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral
WHO: Organização Mundial de Saúde (do inglês *World Health Organization*)
11 β -HSD1:11 β -hidroxiesteróide desidrogenase
 α -MSH: α -melanócito

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema demonstrando a sinalização da adrenal pelo ACTH e pelo Sistema Simpato adrenal	3
Figura 2. Representação da reação de “luta ou fuga”.	4
Figura 3. Diagrama ilustrando o funcionamento do eixo HHA	6
Figura 4. Estresse crônico e deposição de gordura visceral	14
Figura 5. Conversão pela enzima 11 β HSD-1	15
Figura 6. Mecanismo de ação intracelular da leptina no hipotálamo	19
Figura 7. Controle do apetite e da ingestão alimentar.	21
Figura 8. Balanço da homeostase energética.	23
Figura 9. Relação entre a predisposição genética e o ambiente no desenvolvimento de obesidade e algumas das suas conseqüências.....	24
Figura 10. Índice de Lee (Adaptado de Moura et al., 2008).	26
Figura 11. Mecanismo proposto para obesidade abdominal	28
Figura 12. Desenho Experimental.	36
Figura 13. Ganho de peso (g).....	42
Figura 14. Delta de peso (g).	43
Figura 15. Índice de Lee (g/cm).....	44
Figura 16. Ingestão calórica	45
Figura 17A E 17B. Ingestão de líquidos (mL).....	47
Figura 18. Eficiência alimentar	48
Figura 19. Peso relativo do fígado (g/100g).	49
Figura 20. Peso relativo do tecido adiposo visceral total (g/110g).....	50
Figura 21. Peso das glândulas adrenais	51
Figura 22. Níveis de leptina (ng/mL).....	52
Figura 23. Níveis de corticosterona (ng/mL).....	53
Figura 24. Níveis de glicemia (mg/dL)	54
Figura 25. Perfil lipídico (mg/dL).....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos de corticosteróides.....	7
Tabela 2. Efeitos decorrentes da liberação de adrenalina e estimulação de receptores autonômicos.....	8
Tabela 3. Resposta neuroendócrina ao estresse.....	9
Tabela 4. Classificação do peso pelo IMC e os riscos de comorbidades.....	25
Tabela 5. Dieta de Cafeteria.....	37
Tabela 6. Dieta de Cafeteria - composição calórica.....	37

RESUMO

Atualmente as pessoas vivem sob constante nível de estresse, resultado das exigências do trabalho, da violência, de imposições e demandas sociais. O estresse crônico tem sido relacionado com inúmeros transtornos como ansiedade, alterações de memória, depressão, alterações cardiovasculares e transtornos alimentares. O ritmo de atividade na vida moderna leva a substituição de alimentos saudáveis por lanches prontos e industrializados que traduzem e exemplificam o que chamamos hoje de ocidentalização da alimentação. O sobrepeso e a obesidade, resultantes da ingestão de alimentos de alto valor calórico, vêm aumentando de forma alarmante em todo o mundo e atinge pessoas de todas as faixas etárias. Modelos experimentais de estresse e de obesidade são empregados por pesquisadores na busca de soluções para estes transtornos. Neste estudo avaliaram-se efeitos sobre parâmetros ponderais e bioquímicos da associação do estresse à alimentação hipercalórica buscando mimetizar o fenômeno da vida moderna. Utilizou-se para tanto ratos submetidos a um protocolo de estresse crônico por restrição associado a uma dieta hipercalórica conhecida como dieta de cafeteria. Utilizou-se 38 ratos adultos machos *Wistar*, pesando entre 200-250g, divididos em quatro grupos: controle total (CT)-ração padrão sem modelo de estresse, grupo estresse (E)-ração padrão e modelo de estresse, grupo dieta e estresse (DE)-dieta de cafeteria e modelo de estresse e grupo dieta (D)-dieta de cafeteria sem o modelo de estresse. Os animais foram submetidos ao modelo de estresse crônico por restrição diariamente entre 9h e 12h/5 dias da semana/40 dias. Utilizou-se um tubo plástico (25 x 7 cm) com diâmetro ajustável com a parte frontal aberta. Foram avaliados parâmetros ponderais, consumo alimentar, calórico e líquido, níveis séricos de: corticosterona, leptina, glicose, triacilglicerol, colesterol total, HDL, LDL e VLDL. Os dados foram expressos em Média \pm EPM, e analisados utilizando o teste ANOVA de medidas repetidas para peso ponderal e consumos, e ANOVA de uma via/SNK, $P<0.05$, para os demais parâmetros. A associação de um protocolo de estresse crônico a um modelo de dieta hipercalórica conhecida como dieta de cafeteria demonstra a supremacia da dieta hipercalórica na determinação de parâmetros como ganho de peso ponderal total, ganho de peso de tecido adiposo e aumento dos níveis séricos de leptina, mesmo na presença de estresse crônico por restrição.

ABSTRACT

Today we live under constant level of stress resulting from work, violence, and social demands. Chronic stress is associated with numerous disorders, including anxiety, changes in the formation of memories, depression and eating disorders. Long working hours, where time to make meals is reduced, leading to achievement of snacks that also abbreviate the time are low cost. Even those people who have time to eat properly are replacing more healthy foods for snacks and processed ready to translate and exemplify what we call western style diet. The overweight and obesity, resulting from ingestion of high calories, has been increasing alarmingly throughout the world and affects people of all ages. Experimental models of stress and obesity are used by researchers, this study linked a protocol of chronic stress restraint and hypercaloric diet known as cafeteria diet and examined the effects on weight and biochemical parameters in these animals. We used 38 adult male Wistar rats, weighing 200-250g. The animals were divided into four groups: control (TC)-standard food without the stress model, stress group (E)-standard food and model of stress, diet and stress group (DE)-cafeteria diet and stress model and diet group (D)-cafeteria diet without the stress model. Restraint was applied by placing the animal inside a 25 x 7 cm plastic tube, and fixing the tube with adhesive tape on the outside, so that the animal was unable to move. There was a 1 cm hole at the far end for breathing. The animals were subjected to chronic stress by restriction, one hour per day (between 9am to 12pm)/5 days a week/40 days. Parameters were evaluated by weight and consumption, and analyzed the serum: corticosterone, leptin, glucose, total cholesterol, HDL, LDL and triglycerides. Data were expressed as Mean + SEM, and analyzed using the ANOVA repeated measures for weight and presented consumptions, and one-way ANOVA / SNK, $P < 0.05$, for the rest parameters. The association of chronic stress model and cafeteria diet shows the supremacy of the hypercaloric diet in determination of parameters such as weight gain, total weight, adipose tissue and increased serum levels of leptin, although of chronic stress restraint.

I. INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

I.1. ESTRESSE

I.1.1. Definição

O cientista e médico austríaco Hans Selye em 1936 apresentou pela primeira vez o conceito de estresse, como um conjunto de reações sistêmicas, não-específicas e estereotipadas que ocorrem quando há exposição do organismo a agentes agressores, aos quais denominou de estressores. Em seus estudos observou características comuns a animais submetidos ao estresse como hipertrofia da glândula adrenal, sangramento gastrointestinal e diminuição dos órgãos do sistema imune, o que definiu com “Síndrome da Adaptação Geral” (SGA) (Selye, 1974; Sapolsky *et al.*, 1992; Sapolsky *et al.*, 2000).

O organismo reage ao estresse pela ativação de um complexo repertório de respostas comportamentais e fisiológicas, o paradigma de “luta ou fuga” descrito por Walter Cannon no início do século XX (1920), onde a percepção de ameaça mediada pela adrenalina, secretada da medula adrenal teria a função de preparar o organismo para enfrentar possíveis agressões à sua integridade (Graeff, 2003). Estas respostas são desencadeadas por um sistema complexo localizado no sistema nervoso central (SNC) que recebe e integra informações (visuais, auditivas, somatossensoriais, nociceptivas e viscerais), detectados por órgãos sensoriais primários que sinalizam para a amígdala, córtex pré-frontal e sistema límbico (Kvetnansky *et al.*, 2009). Estas regiões processam e avaliam as informações recebidas e respondem através dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e simpato-adrenal (SA) (Figura 1) visando manter a homeostase (Chrousos, 2007).

O sistema nervoso autônomo (SNA) responde rapidamente ao estressor com descarga dos neurônios simpáticos e secreção hormonal de catecolaminas no sangue, levando ao aumento da frequência cardíaca e respiratória, da pressão sangüínea, dilatação de pupilas, transpiração, palidez e mobilização de fontes energéticas, como parte da reação de “luta ou fuga” (Figura 2) (Chrousos, 2007; Graeff, 2007).

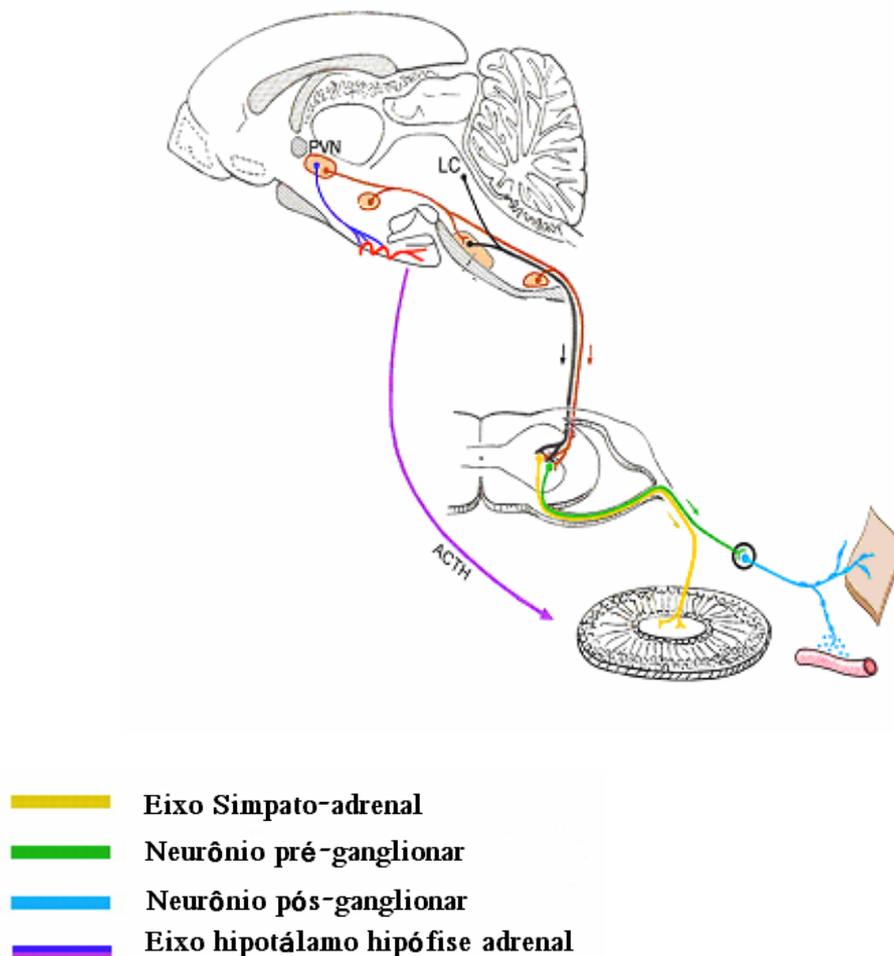


Figura 1. Esquema demonstrando a sinalização da adrenal pelo ACTH e pelo Sistema Simpato adrenal . PVN- Núcleo paraventricular; LC- *locus ceruleus*; ACTH- hormônio adrenocorticotrófico; (Adaptado de Kvetnansky *et al.*, 2009).

O estágio mais tardio é caracterizado pela liberação de outros hormônios como o cortisol. Esta etapa pode funcionar como um mecanismo supressivo, reduzindo as respostas orgânicas e re-estabelecendo a homeostase. Repercussões patológicas parecem estar associadas com estresse prolongado, em que os mecanismos homeostáticos são mais exigidos (Buckingham, 2006; Goldstein, 2010).

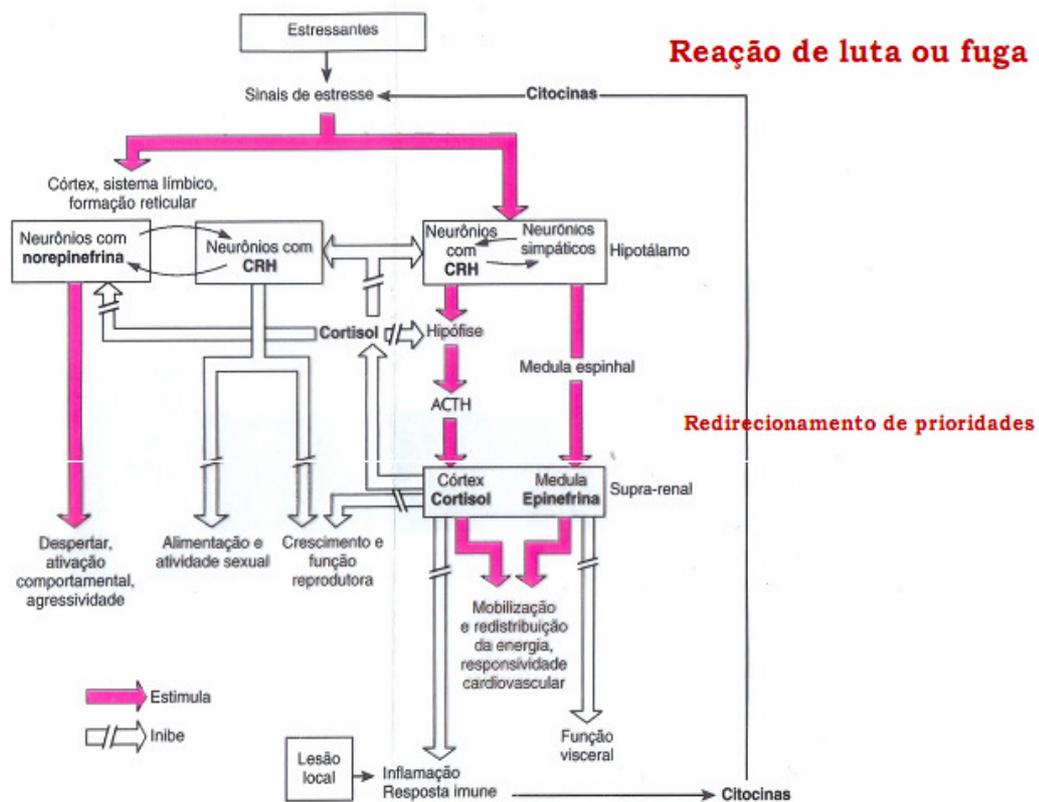


Figura 2. Representação da reação de “luta ou fuga”. As respostas, mediadas pelo sistema nervoso simpático e pelo eixo HHA se reforçam mutuamente, tanto no nível central como no periférico. Demonstra também o *feedback* negativo induzido pelo cortisol, a reação entre as respostas imunes locais a uma lesão e o complexo HHA-SNS (Adaptado de www2.fcav.unesp.br/bethurb/lib/exe/fet.)

Várias vias aferentes relacionadas com o estresse convergem para neurônios do núcleo para-ventricular do hipotálamo (NPV) que sintetiza, entre outros, o hormônio liberador de corticotrofina (CRH - *corticotrophin releasing hormone*) e

arginina vasopressina (AVP). Estes neurônios projetam-se para a eminência média, onde seus produtos são liberados na circulação porta hipofisária. Estes por sua vez, agem na hipófise anterior levando à síntese e liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH – *adrenocorticotrophic hormone*) e outros peptídeos derivados de um precursor comum, a pró-ópio-melanocortina (POMC). A vasopressina atua como fator sinérgico junto ao CRH na estimulação da secreção de ACTH. O ACTH ativa a biosíntese e liberação de glicocorticóides (GCs), corticosterona nos roedores e cortisol nos primatas, pelo córtex da adrenal (de Kloet *et al.*, 1993; Einarsson *et al.*, 2008).

Os GCs são os efetores finais do eixo HHA e participam no controle da homeostase do organismo e da resposta ao estresse. Estes hormônios têm função-chave na regulação da atividade basal do eixo HHA e na finalização da resposta ao estresse pela ação em centros extra-hipotalâmicos, hipotalâmicos e hipofisários (Tsigos & Chrousos, 2002). A secreção do cortisol/corticosterona é controlada por uma alça de retroalimentação negativa (*feedback*) ativada pelo próprios cortisol/corticosterona circulantes. A retroalimentação negativa de GCs sobre resposta secretória no eixo HHA, atua como fator limitante à intensidade da exposição dos tecidos a GCs, minimizando assim seus efeitos catabólicos, anti-reprodutivos e imunossupressores (Figura 3) (Chrousos, 2007). Estes esteróides apresentam atuação extremamente ampla, mediada por receptores especializados conhecidos como receptores de glicocorticóides (GR) e mineralocorticóides (MC) que afetam expressão e regulação de genes (Galon *et al.*, 2002), resultando em mudanças em vários processos. Entre os eventos observados em resposta a GCs, incluem-se, por exemplo, alterações em respostas imunológicas e processos inflamatórios, além da resposta ao estresse (Tabela 1). Por outro lado, a ativação

de receptores mineralocorticóides é responsável pela ação no equilíbrio hidroeletrolítico dos glicocorticóides (Buckingham, 2006).

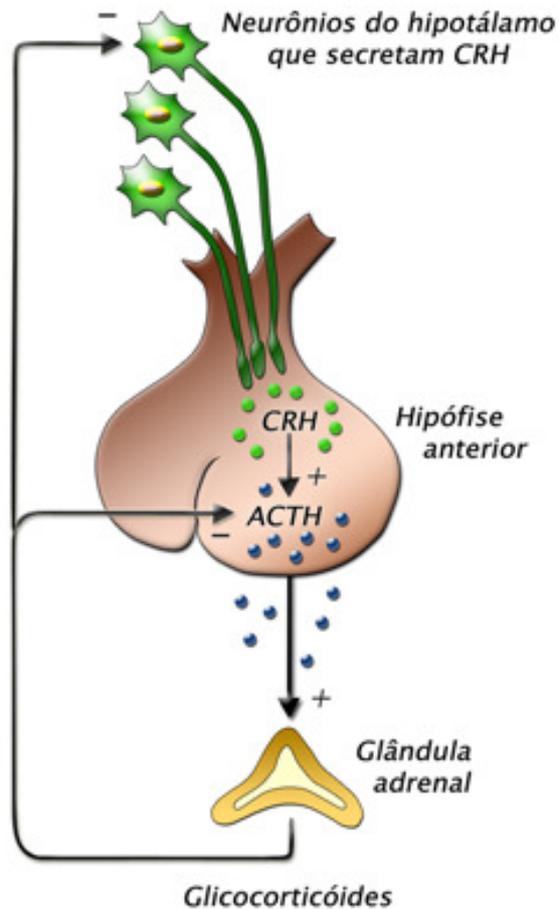


Figura 3. Diagrama ilustrando o funcionamento do eixo HHA. O hormônio liberador de corticotropina (CRH) atua na hipófise anterior e estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrofina (ACTH) na circulação sistêmica. O ACTH chega até o córtex das glândulas adrenais estimulando as células a produzirem e liberarem glicocorticóides na circulação. Os glicocorticóides atuam por retroalimentação negativa tanto na hipófise como no hipotálamo (www.inec-usp.org/cursos/cursosIII/figuraV.jpg.)

EFEITOS METABÓLICOS E SOBRE O EQUILÍBRIO HIDROELETROLÍTICO
Menor utilização periférica de glicose Aumento de gliconeogênese e armazenamento de glicogênio Menor síntese e maior degradação protéica Indução de lipólise e redistribuição de gorduras Retenção de sódio e perda de potássio Menor absorção gastrointestinal e maior excreção renal de cálcio
ATIVIDADE IMUNOSSUPRESSORA

Tabela 1. Efeitos de corticosteróides

Muitos desses processos são necessários para adaptar e preparar o organismo para lidar com a situação estressante, incluindo mudanças no metabolismo para obtenção de energia (Bowers *et al.*, 2008).

O aumento em conjunto dos níveis plasmáticos de adrenalina e de cortisol levam a uma maior produção de glicose. A adrenalina liberada ativa vias da glicogenólise, enquanto que o cortisol disponibilizará mais aminoácidos como substrato para gliconeogênese, aumentando o suprimento de glicose no sangue (Lehninger, 2006), deixando o animal preparado para lutar ou fugir (Berne & Levy, 2004). A ativação do sistema nervoso simpático em resposta a um evento estressante induz a uma série de repercussões orgânicas descritas na Tabela 2 (Hoffmann & Taylor, 2001).

A resposta neuroendócrina ao estresse leva à alterações em vários sistemas/tecidos orgânicos, como mostrado na tabela 3 (adaptado de Torres, 2004).

Sistemas e órgãos	Efeitos Simpáticos	Receptores Simpáticos
CARDIOVASCULAR		
-coração		
frequência cardíaca	aumento ++	beta-1 e beta-2
força de contração	aumento	beta-1 e beta-2
- arteríolas coronárias e músculos esqueléticos pulmonares	constrição +/dilatação++ ^{1,2}	alfa e beta-2
vísceras abdominais	constrição+/dilatação++ ¹	Alfa-1 e beta-2
renais	constrição+++ / dilatação ²	alfa-1 e beta-2
pele e mucosas	alfa, beta-1 e beta-2	
cerebrais	constrição+++	alfa
glândulas salivares	constrição (leve)	alfa-1
veias (sistêmicas)	constrição+++	alfa
	constrição++ / dilatação++	alfa e beta-2
RESPIRATÓRIO		
- secreções	redução	alfa-1
	Aumento	beta-2
- musculatura brônquica	relaxamento+	beta-2
OLHO		
- musculatura ocular radial da íris	contração (midríase)++	alfa-1
ciliar	relaxamento+	beta-2
glândulas lacrimais	secreção	alfa (predomínio)
PELE		
músculos piloerectores	contração ++	alfa-1
glândulas sudoríparas	secreção localizada +	alfa-1
BAÇO		
cápsula esplênica	contração +++	alfa-1
	Relaxamento +	beta-2

Tabela 2 - Efeitos decorrentes da liberação de adrenalina e estimulação de receptores autonômicos (Adaptado de Hoffman & Taylor, 2001).

¹Contração predomina *in situ* devido aos fenômenos auto-reguladores metabólicos.

²Acima das concentrações de adrenalina circulante liberada fisiologicamente, a resposta dos receptores β (vasodilatação) predomina nos vasos sanguíneos do músculo esquelético e fígado, a resposta dos receptores α (vasoconstrição) predomina nos vasos sanguíneos de outras vísceras abdominais.

Sistemas ou tecidos orgânicos	Efeitos observados
Cardiovascular	↑ pressão arterial, taquicardia, alterações de débito cardíaco (↑na maioria dos indivíduos normais, ↓em pacientes com comprometimento da função ventricular), ↑ consumo miocárdico de oxigênio.
Respiratório	↑ consumo total de oxigênio e da produção de dióxido de carbono (conseqüente ↑ da ventilação por minuto) ↑trabalho respiratório, especialmente em pacientes com doença pulmonar.
Gaстрintestinal e geniturinário	↑ tônus esfínteriano; ↓ motilidade intestinal e urinária (distensão abdominal e retenção urinária). Hipersecreção gástrica (úlceras de estresse) Náusea, vômito, constipação.
Endócrino	↑ hormônios catabólicos (catecolaminas, cortisol e glucagon) ↓ hormônios anabólicos (insulina e testosterona). Balanço nitrogenado (-) Intolerância a carboidratos (hiperglicemia). ↑ lipólise. Retenção de sódio e água por aumento de renina, aldosterona, angiotensina e ADH (associado ao aumento de cortisol).
Hematológico	↑adesividade plaquetária, ↓ fibrinólise, tendência à hipercoagulabilidade.
Imunológico	Leucocitose com linfopenia e depressão da atividade retículo-endotelial, predispondo a infecções.

Tabela 3 - Resposta neuroendócrina ao estresse (Adaptado de Torres, 2004).

I.1.2. Estresse crônico

Selye, em seus estudos iniciais, observou que uma variedade de estressores crônicos pode causar úlcera péptica, hipertrofia da adrenal e colapso auto-imune, demonstrando o estresse como causador de doenças.

Demandas repetidas ou de longo prazo podem levar a modificações no eixo HHA, resultando em respostas alteradas ao estresse (Tizabi & Aguilera, 1992; Chrousos, 2007). Entre as alterações resultantes da exposição crônica ao estresse,

estão alterações no mecanismo de *feedback* ou no ritmo circadiano (Hauger *et al.*, 1988; Pecoraro *et al.*, 2002; Epel, 2009). Repetidas exposições ao estresse de intensidade moderada produzem atenuação da responsividade do HHA (habituação ou adaptação) ao estressor, no entanto em presença de um novo estressor sua resposta pode estar aumentada (sensibilização), ambos são mecanismos adaptativos (Weiberg *et al.*, 2009). Esta adaptação pode ocorrer após exposição a diferentes formas de estresse crônico repetido, como manipulação, imobilização, sons etc., e depende de vários fatores, entre eles, intensidade do estresse e intervalo de tempo entre as sessões, ocorrendo também, variabilidade individual (Lachuer *et al.*, 1994).

A habituação representa um mecanismo compensatório que atenua os efeitos deletérios do estresse repetido e tenta manter a homeostase do organismo. Esta habilidade para adaptar-se ao estresse repetido e prolongado parece ocorrer nos eixos HHA e SA, os dois maiores sistemas envolvidos na resposta ao estresse (Mansi & Drolet, 1997; Ostrander *et al.*, 2006). Diferentes sistemas neurotransmissores têm sido sugeridos como tendo função no processo de adaptação ao estresse (Cancela *et al.*, 1995), podendo envolver mecanismos que incluem aumento na retroalimentação negativa dos GCs, diminuição da secreção hipotalâmica de CRH, exaustão da capacidade secretória de corticotróficos e diminuição de receptores da hipófise para reguladores de ACTH (Hauger *et al.*, 1988).

Animais cronicamente estressados não apresentam o mesmo padrão de comportamento e nem as mesmas respostas neuroquímicas e farmacológicas de animais estressados agudamente (Cancela *et al.*, 1995, Torres *et al.*, 2001a e b), estudos demonstram que a exposição repetida a essas situações, modifica a

resposta comportamental a opióides e a resposta fisiológica à administração de agentes colinérgicos (Filkestein *et al.*, 1985; Disalver *et al.*, 1986, Cancela *et al.*, 1995, Torres *et al.*, 2001b).

Em geral o estresse agudo não traz consequências deletérias, já o estresse crônico pode estar envolvido na gênese de transtornos (Chrousos, 2007) como ansiedade, alterações na formação de memórias, depressão e transtornos alimentares (Perreau-Lenz *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2008; Buynitsky & Mostofsky, 2009; Epel, 2009).

I.1.3. Estresse Crônico, Comportamento Alimentar e Obesidade.

O comportamento alimentar reflete uma interação entre o estado fisiológico do organismo e as condições ambientais, que incluem características relacionadas ao alimento, tais como paladar, textura, composição nutricional, temperatura, novidade e acessibilidade (Blundell & Hill, 1986). Centros hipotalâmicos que controlam o consumo alimentar e o ganho de peso fazem parte de um complexo de interações neuro-regulatórias que incluem o sistema periférico de saciedade (hormônios gastrintestinais e pancreáticos) e uma grande rede neural central (Peters *et al.*, 2004).

O controle alimentar é um mecanismo complexo que envolve apetite, motivação, e demandas energéticas do organismo. Estes aspectos podem ser modificados por diferentes fatores como disponibilidade de alimento e estresse (Ely *et al.*, 1997).

Estudos têm sugerido que alguns agentes podem exercer efeito sobre a ingestão de substâncias doces. Por exemplo, sabe-se que a ingestão de sacarose aumenta o metabolismo da dopamina no hipotálamo, e parece provável que os

mecanismos centrais da dopamina sejam necessários à resposta normal de alimentação ao estímulo do sabor doce. Peptídeos opióides também têm sido implicados nas respostas de prazer a alimentos, especialmente de sabor doce (Silveira *et al.*, 2008). A noradrenalina estimula o apetite, principalmente por alimentos ricos em carboidratos, por meio de receptores α_2 no NPV. Paralelamente, a serotonina interage com mecanismos noradrenérgicos facilitando a saciedade (Blundell & Hill, 1993). Os efeitos do estresse na ingestão têm sido bem estudados em animais utilizando modelos de compressão na cauda, imobilização ou exposição a um ambiente novo (Halmi, 1995).

Estudos prévios avaliaram o comportamento alimentar de ratos estressados cronicamente em dois modelos de estresse: por imobilização e estresse variável (luz piscante, natação, privação de água, privação de comida, isolamento, imobilização isolada ou associada ao frio) para consumo de alimento doce. Os animais estressados cronicamente por imobilização consomem mais alimento doce que os animais controle e este efeito é revertido pela administração de diazepam (Ely *et al.*, 1997). Por outro lado os animais submetidos a estresse crônico variável apresentam uma diminuição significativa no consumo de alimento doce (Gamaro, 1998) revertida pela administração de fluoxetina. Em ambos os modelos de estresse não houve variação no consumo de ração-padrão.

O estresse crônico está associado com transtornos metabólicos e alteração da homeostase energética (Bartolomucci *et al.*, 2009), elevação nas concentrações de GCs, como observado no estresse crônico, podem induzir comportamentos prazerosos e compulsivos como a ingestão de alimentos doces e gordurosos, os *comfort foods* e com isso aumentar os depósitos de gordura abdominal (Bjorntorp, 2001; Coccorello *et al.*, 2008), em acordo com estudos em humanos que

demonstram ligação entre a alteração do eixo HHA, obesidade e aumento do IMC (índice de massa corporal) (Rosmond *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2005). O estresse psicológico ao que os indivíduos são submetidos no trabalho, por exemplo, está associado com aumento da gordura abdominal (Kouvonen *et al.*, 2005; Brunner *et al.*, 2007). Estudos também demonstram atenuação das respostas ao estresse quando animais são submetidos a dietas hipercalóricas com alto teor de carboidratos (Pecoraro *et al.*, 2004).

Os GCs têm importante papel na regulação da glicose, dos ácidos graxos, no metabolismo de aminoácidos e na distribuição da gordura corporal (Walker, 2007). Na presença de insulina os GCs inibem a mobilização de lipídios dos adipócitos, levando ao acúmulo e retenção de triacilglicerol (TAG) e devido a alta densidade de receptores GR no tecido adiposo visceral ocorre acentuado acúmulo de gordura (Salehi *et al.*, 2005). O estresse crônico pode levar a resistência à insulina e promover o armazenamento de energia no tecido adiposo abdominal, a elevação concomitante de insulina e cortisol aumenta as reservas de gordura abdominal, conforme demonstra a figura 4 (Dallman *et al.*, 2004). Concentrações elevadas de GCs e insulina provocam aumento do armazenamento intra-abdominal, e sinaliza para a redução das respostas ao estresse crônico (Dallman *et al.*, 2003).

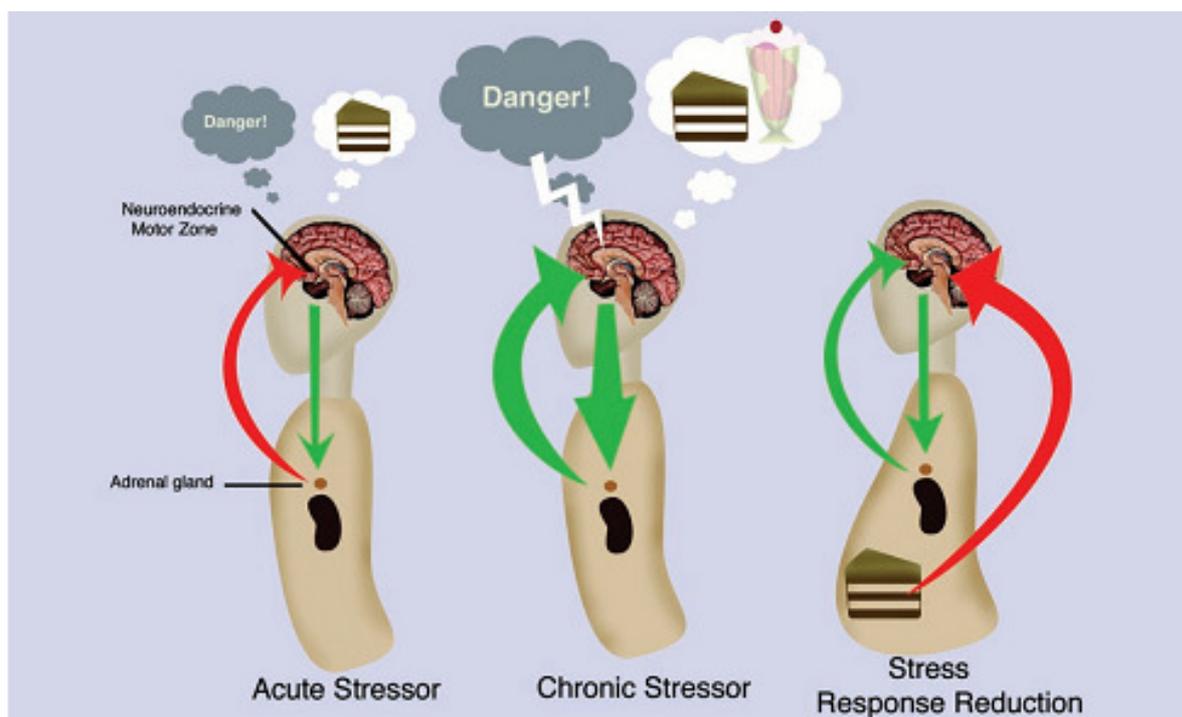


Figura 4. Estresse crônico e deposição de gordura visceral (Dallman *et al.*, 2004).

O cortisol/corticosterona pode ser produzido pela reciclagem de seus metabólitos (cortisona/11-dihydrocorticosterona) principalmente no tecido adiposo tendo importante papel no desenvolvimento de obesidade e resistência a insulina. A reciclagem de GCs no tecido adiposo é mediada pela enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 (11 β -HSD1), presente no fígado, tecido adiposo e cérebro (Masuzaki *et al.*, 2001; Desbrieri *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2010). Esta enzima tem atividade bidirecional convertendo cortisol em cortisona e vice versa (corticosterona em 11-dihydrocorticosterona em roedores), mas atua principalmente regenerando GCs (Figura 5), enquanto que a inativação dos GCs é feita pela 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2 (11 β -HSD2) e 5 α - e 5 β -redutase (Drake *et al.*, 2005; Stimson *et al.*, 2010).

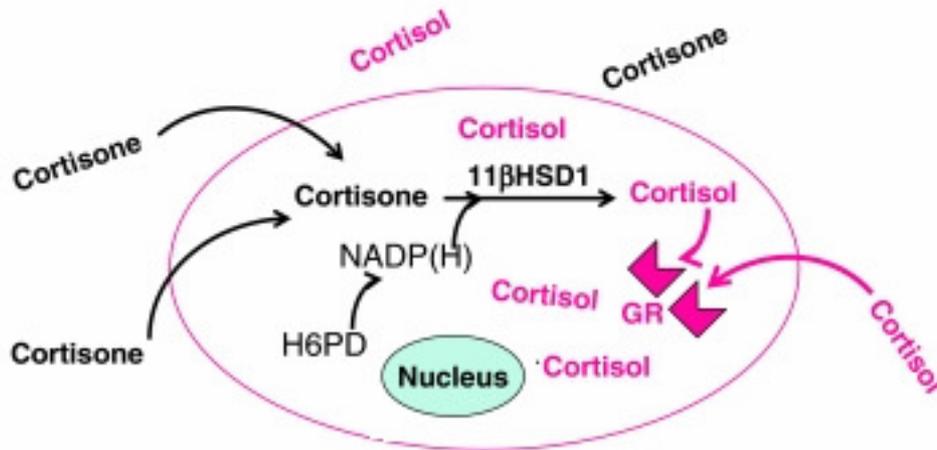


Figura 5. Conversão intracelular de cortisona em cortisol pela enzima 11βHSD-1 (Adaptado de Buckingham, 2006).

A interação entre o tecido adiposo, eixo HHA e atividade da adrenal tem importante papel no controle da ingestão alimentar, no metabolismo da glicose, na adipogênese e no balanço energético (Roberge *et al.*, 2007). No estresse crônico os níveis elevados de GCs redistribuem a gordura do tecido adiposo subcutâneo para o tecido adiposo visceral aumentando a obesidade abdominal, sendo estes níveis, capazes de estimular a ingestão alimentar (Després & Lemieux, 2006; Dallman *et al.*, 2004).

I.2. Estilo de Vida Atual e Alimentação

Intensas modificações no estilo de vida e nos hábitos nutricionais resultam em um número crescente de indivíduos com sobrepeso ou obesidade. Isto decorre, principalmente, de modificações na dieta com inserção de alimentos altamente calóricos, ricos em gorduras e açúcares e nutricionalmente deficitários, associadas

à inatividade física decorrente da natureza cada vez mais sedentária do trabalho, meios de transporte e facilidades fornecidas pela urbanização (WHO, 2006; Epel, 2009).

O termo transição nutricional tem sido utilizado para definir as alterações nos padrões alimentares e no *status* nutricional, as quais sofrem influência de fatores como a urbanização e o *marketing* da indústria de alimentos, tendo implicações na saúde em virtude de sua associação as crescentes taxas de obesidade (Amuna & Zotor, 2008; Kearney, 2010).

A facilidade de acesso a uma alimentação rápida, baseada em alimentos com altos teores calóricos que estão prontamente disponíveis em locais como franquias de *fast foods* e máquinas de refrigerante privilegia o consumo deste tipo de alimentação (Dallman *et al.*, 2004). Estudos demonstram que mesmo havendo disponibilidade de alimentos mais saudáveis como frutas e vegetais, a presença de alimentos semiprontos (congelados ou industrializados) leva ao consumo destes devido à praticidade na elaboração (Downs *et al.*, 2009).

Uma maior disponibilidade de locais que comercializam alimentos prontos próximo aos locais de trabalho ou mesmo em bairros residenciais facilita o acesso a uma alimentação de pobre teor nutricional e alto valor calórico (Wang *et al.*, 2007; Inagami *et al.*, 2006; Galvez *et al.*, 2009). Estudo realizado na Califórnia com 2.774 participantes, demonstrou que adolescentes que trazem seus lanches de casa consomem significativamente menos *fast foods* e refrigerantes, e mais frutas e vegetais comparados àqueles que compram lanches no ambiente escolar (Hastert & Babey, 2009).

Hábitos alimentares pouco saudáveis são observados especialmente entre os jovens pertencentes às classes econômicas mais favorecidas, que possuem

maior acesso aos alimentos e ao *marketing* da indústria alimentar (Sarlio-Lahteenkorva & Lahelma, 1999). Este fato induz a um maior consumo de dietas ricas em gorduras, açúcares e sódio, com pequena participação de frutas e hortaliças (Laraia *et al.*, 2004).

Estudo realizado com base em orçamentos familiares no Brasil revelou uma tendência ascendente da proporção de calorias na dieta do norte, nordeste, sudeste e sul, com consumo elevado de açúcar refinado, refrigerantes, biscoitos e de alimentos ricos em colesterol e gorduras *trans*. Em contrapartida uma redução do consumo de leguminosas, verduras, legumes, frutas e sucos naturais, configurando desse modo os traços mais marcantes e negativos da evolução do padrão alimentar observada nesse período (Levy-Costa *et al.*, 2005). Outro estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro em 2003, com uma amostra representativa de adolescentes de escolas públicas demonstrou baixo consumo de frutas e hortaliças e consumo frequente de refrigerantes, balas e doces (Castro *et al.*, 2008).

Estas intensas mudanças ocorridas no estilo de vida podem levar à interações genéticas e ambientais, conduzindo à epidemia de obesidade observada nos dias atuais (Johnson *et al.*, 2010). Em 1962, o antropologista James Neel, propôs que durante a evolução em virtude de alternância entre momentos de fartura de alimentos e períodos de fome, a seleção natural favoreceu indivíduos portadores de genes poupadores (*thrifty gens*) que promovem o armazenamento de gordura e energia para eventual falta de alimentos, e estes indivíduos teriam um risco aumentado para obesidade (Booth *et al.*, 2002; Myles *et al.*, 2011).

1.2.1. Controle da Ingestão Alimentar

O controle da ingestão de alimentos e a homeostase do organismo dependem de sinais periféricos que atuam centralmente e levam à respostas adaptativas apropriadas. Ambos são regulados pelo hipotálamo (Sainsbury *et al.*, 2002). Dentre outras moléculas, dois importantes hormônios, a leptina e a grelina, estão envolvidos no controle da ingestão. A leptina, secretada pelos adipócitos, tanto de roedores quanto em humanos atua regulando os sistemas imune, respiratório e reprodutivo, bem como no balanço energético via ação hipotalâmica (Eguchi *et al.*, 2008). Sua secreção é proporcional aos estoques de gordura corporais e sua função primária é sinalizar ao cérebro o aumento no estoque de gordura (Ahima & Flier, 2000; Fruhbeck *et al.*, 2001).

O mecanismo de ação da leptina depende de sua ligação ao seu receptor, após a ligação o receptor dimeriza e ocorre a fosforilação dos resíduos de tirosina catalisado pela janus quinase 2 (JAK2). Uma proteína ativadora de transcrição (STAT- *Signal Transduction And Transcription*) também sofre fosforilação, dimeriza e entra no núcleo onde desencadeia a transcrição de genes alvos e síntese proteica de moléculas envolvidas no comportamento alimentar e gasto energético conforme demonstrado na Figura 6 (Lehninger, 2006) este mecanismo é conhecido como efeito genômico da leptina (Schwartz, *et al.*, 2000).

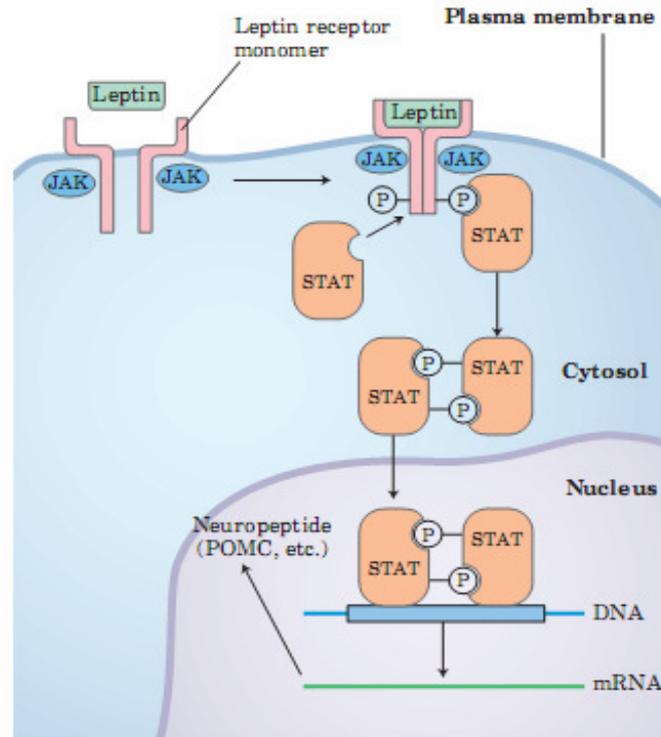


Figura 6. Mecanismo de ação intracelular da leptina no hipotálamo, pela JAK/STAT (Adaptado de Lehninger, 2006).

O apetite também é um fenômeno complexo composto de uma seqüência de interações entre mecanismos periféricos e centrais. No núcleo arqueado do hipotálamo, duas populações distintas de neuropeptídeos, interagem entre si e estão envolvidos nos processos orexígenos e anorexígenos. Os neuropeptídeos orexígenos, neuropeptídeo Y (NPY) e AgRP (*Agouti related peptide*), peptídeo associado ao NPY, estão envolvidos nos mecanismos responsáveis pelo aumento da ingestão alimentar e redução do gasto energético. Os neuropeptídeos anorexígenos são o hormônio alfa-melanócito estimulador (α -MSH) e o transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART) (Schwartz, 2000; Jéquier, 2002). Estas

duas populações de células recebem informações hormonais e enviam sinais ao músculo, tecido adiposo e fígado. Os peptídeos leptina, insulina e grelina estão envolvidos nesta sinalização, e são liberados do tecido adiposo, pâncreas e estômago respectivamente. A insulina e a leptina atuam nas células anorexígenas (α -MSH) produzindo sinais para diminuir a ingestão e aumentar o metabolismo de gorduras, atuando também em neurônios orexígenos inibindo a liberação de NPY, reduzindo assim a ingestão alimentar. A leptina relaciona-se com a colecistoquinina (CCK) liberada no intestino, capaz de reduzir o tamanho das refeições. A leptina age em neurônios no núcleo do trato solitário no hipotálamo, potencializando a ação da CCK para acelerar o término da refeição (Peters *et al.*, 2004). O peptídeo YY (PYY), sintetizado nas células endócrinas L do intestino em resposta ao alimento, inibe NPY/AgRP e estimula POMC/CART no núcleo arqueado do hipotálamo reduzindo a ingestão alimentar (Tovar *et al.*, 2004). Por outro lado, a grelina estimula o apetite por ativação do NPY (Figura 7) (Lehninger, 2006). O α -MSH regula o comportamento alimentar ligando-se diretamente ao receptor 4 de melanocortina (MC4R), e indiretamente ao receptor 3 de melanocortina (MC3R) controlando os estoques de tecido adiposo e o gasto energético. O AgRP que é um potente antagonista de MC4R e MC3R, sofre *up regulation* em animais e humanos obesos (Ollmann *et al.*, 1997; Graham *et al.*, 1997; Katsuki *et al.*, 2001; Seeley *et al.*, 2004). A concentração circulante de leptina, assim como a expressão do RNAm (ácido ribonucleico mensageiro/*messenger ribonucleic acid*) nos adipócitos, pode ser influenciada por ingestão alimentar, variações da massa corporal, atividade física, níveis de insulina e de GCs (Eguchi *et al.*, 2008). Em indivíduos obesos observa-se hiperleptinemia, fenômeno denominado resistência à leptina que pode ser atribuído a alterações no receptor de leptina ou a deficiência em seu sistema de

transporte na barreira hematoencefálica (Romero *et al.*, 2006). A deficiência de leptina em animais e humanos obesos pode ser revertida por tratamento com leptina exógena resultando em importante perda de peso (Knight *et al.*, 2010).

A grelina, produzida principalmente pelo estômago, estimula a secreção do hormônio do crescimento (GH) e aumenta a adiposidade. Na regulação do balanço energético, aumenta a ingestão alimentar e diminui o gasto energético realizando a ligação entre o trato gastrointestinal e o SNC (Van der Lely *et al.*, 2004).

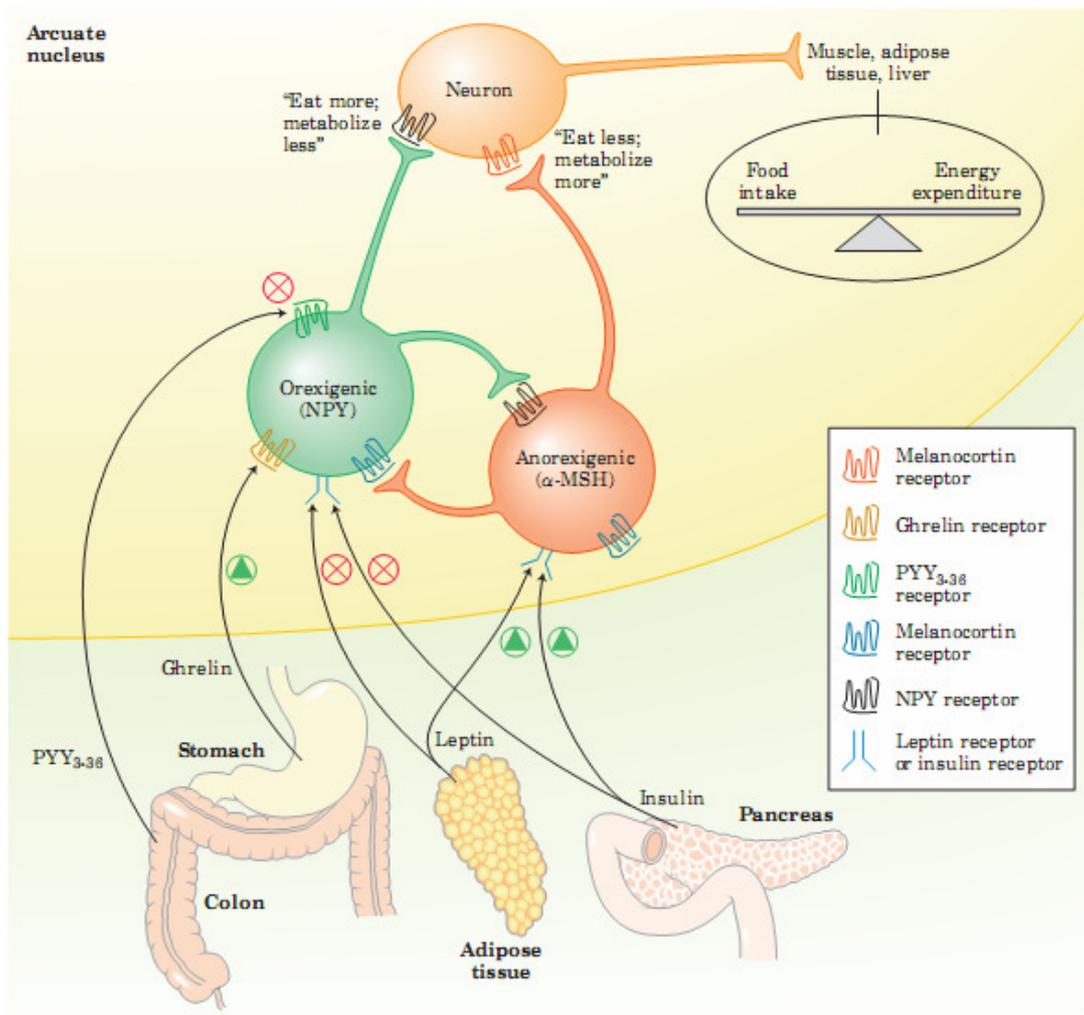


Figura 7. Controle do apetite e da ingestão alimentar (Lehninger, 2006).

Em períodos de restrição alimentar, mecanismos orexígenos são estimulados e a taxa metabólica fica reduzida. O controle neuro-humoral da homeostase energética é mais tolerante ao aumento da massa corporal do que a redução, este mecanismo protetivo explica parcialmente a dificuldade para perda de peso em indivíduos obesos (Schwartz *et al.*, 2003).

I.2.2. Dietas hipercalóricas em modelos animais

Estudos referentes à obesidade e aos distúrbios metabólicos em humanos apresentam limitações éticas, o que leva pesquisadores a testarem modelos animais (Gajda *et al.*, 2007; Oron-Hermann *et al.*, 2008; Nascimento *et al.*, 2008).

Dietas hipercalóricas, com altas composições de carboidratos ou lipídios, são amplamente utilizadas para a reprodução de modelos experimentais de obesidade (Estadella *et al.*, 2004; Prada *et al.*, 2005). Estudos demonstram que estas dietas levam ao aumento da deposição de tecido adiposo abdominal e alterações no perfil lipídico e insulínico dos animais (Bartolomucci *et al.*, 2009).

A dieta de cafeteria é um exemplo de dieta hipercalórica, apresentando altos teores de lipídios e carboidratos em sua composição (Bartolomucci *et al.*, 2009; Dietrich *et al.*, 2007). Esta dieta é altamente palatável e mimetiza os *fast foods*, e constituída de alimentos de consumo humano enriquecidos com açúcares refinados e ácidos graxos saturados, ambos em proporções acima da composição da ração padrão normalmente dispensada a animais de laboratório (Dietrich *et al.*, 2007; Nascimento *et al.*, 2008; Lindqvist *et al.*, 2008).

Segundo Boqué e col. (2009) animais tratados com dieta de cafeteria, quando comparados aos que recebem dieta padrão, apresentam significativo aumento no consumo alimentar, no ganho de peso e estoque de tecido adiposo,

além de poderem apresentar hiperleptinemia, hiperglicemia e hiperinsulinemia (Boqué *et al.*, 2009).

I.3. Sobrepeso e Obesidade

Sobrepeso e obesidade são definidos pela Organização Mundial de Saúde – OMS como acúmulo excessivo de gordura resultando no desequilíbrio energético entre calorias consumidas e calorias gastas (Figura 8), podendo promover conseqüências graves à saúde (WHO 2006).

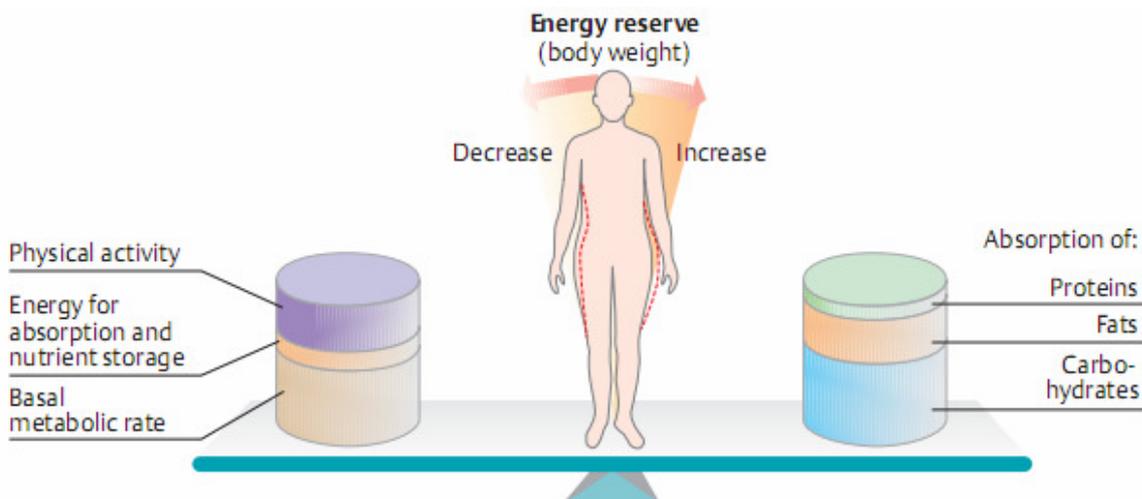


Figura 8. Balanço da homeostase energética.

A obesidade é considerada uma doença crônica, de etiologia multifatorial, estando o excesso de adiposidade relacionado à predisposição genética, a fatores ambientais, ao estilo de vida e a fatores emocionais. O sistema aferente que envolve o hormônio leptina e outros sinalizadores da saciedade e do apetite, associados aos locais de processamento no sistema nervoso central, estão incluídos entre os sistemas neuroendócrinos envolvidos com a obesidade (DBO-

Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010; Ring & Zeltser, 2010; Després *et al.*, 2008).

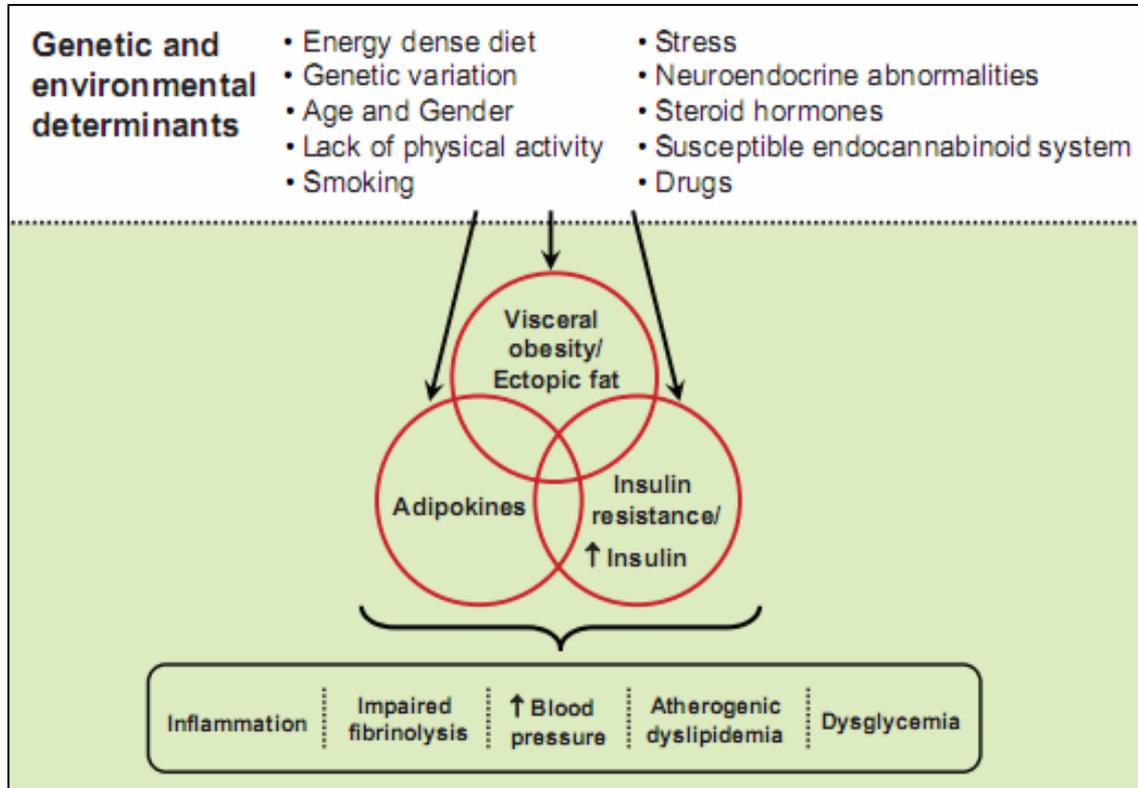


Figura 9. Relação entre a predisposição genética e o ambiente no desenvolvimento de obesidade e algumas das suas conseqüências (Adaptado de Després *et al.*, 2008).

Nas últimas décadas o aumento de sobrepeso e obesidade em crianças, adolescentes e adultos têm se tornado um sério problema de saúde pública mundial, estudos demonstram que em 2005 cerca de 1,6 bilhões de adultos estavam acima do peso e pelo menos 400 milhões de adultos eram obesos no planeta. Estima-se que até 2015, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos. Pelo menos 20 milhões de crianças no mundo, menores de cinco anos têm excesso de peso (WHO, 2006). Inquéritos populacionais realizados nos Estados Unidos da América, entre 1971-1994, demonstram um aumento de 15,4% para 25,6% na ocorrência de obesidade,

na faixa etária entre 6 e 18 anos, com um crescimento relativo de 66,2% na sua prevalência. Na China, entre 1991-1997, esse aumento foi da ordem de 20,3% em crianças e adolescentes, enquanto, na Inglaterra, esse acréscimo de sobrepeso foi de 44,2%, entre crianças de 4-11 anos, no período de 1974-1994 (Chinn *et al.*, 2001).

Definida como um excesso de tecido adiposo, a obesidade é quantificada pelo índice de massa corpórea (IMC), conforme a classificação adaptada pela OMS, baseada em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus (Figura 1 – DBO-Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010).

Classificação	IMC (Kg/m²)	Risco de comorbidades
Baixo peso	< 18,5	Baixo
Peso Normal	18,5 – 24,9	Médio
Sobrepeso	≥ 25	-
Pré-obeso	25,0 a 29,9	Aumentado
Obeso I	30,0 a 34,9	Moderado
Obeso II	35,0 a 39,9	Grave
Obeso III	≥ 40,0	Muito grave

Tabela 4 – Classificação do peso pelo IMC e os riscos de comorbidades. (Adaptado de WHO, 2006).

O IMC representa a razão entre o peso em quilogramas dividido pelo quadrado da altura em metros ($IMC = \text{peso kg} / \text{altura m}^2$) sendo amplamente utilizado, apesar das inúmeras restrições teóricas ao uso, pois não é capaz de fornecer informações sobre a composição corporal e distribuição da gordura no corpo (Yao *et al.*, 2002). É possível que diferenças sexuais, étnicas e nos níveis de atividade física e adiposidade contribuam para algumas das limitações do IMC na avaliação da obesidade (Gallagher *et al.*, 2000), porém a antropometria é considerado o método mais útil para rastrear a obesidade, por ser de baixo custo,

não-invasiva, universalmente aplicável, e com boa aceitação pela população (Ho *et al.*, 2001). Em modelos animais utilizando ratos pode ser utilizado o Índice de Lee, que é a razão da raiz cúbica do peso corporal (g), sobre o comprimento naso-anal (CNA) (cm), para avaliação da massa corporal (pode ser multiplicado por 100 para porcentagem ou por 1000 para trabalhar com valores maiores) (Figura 10) (Leme *et al.*, 2008; Moura *et al.*, 2008).

A obesidade excessiva está intimamente associada a doenças cardiovasculares, esteatose hepática, dislipidemia, hipertensão arterial, infarto do miocárdio, além de outros distúrbios endócrinos (DBO-Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010; Hurt *et al.*, 2010), especialmente quando associada à deposição visceral de gordura (Voltera *et al.*, 2008; Després *et al.*, 2008).

$$\frac{\sqrt[3]{\text{massa corporal (g)}}}{\text{Comprimento naso-anal (cm)}}$$

Figura 10. Índice de Lee (Adaptado de Moura *et al.*, 2008).

1.3.1. Tecido Adiposo e Obesidade Abdominal

O tecido adiposo foi considerado por muitos anos como um órgão de armazenamento de energia do organismo, onde o excesso de energia consumida é convertido em moléculas de TAG depositados nos adipócitos por ação da insulina. Em situações de restrição energética ocorre mobilização destes estoques por ação de catecolaminas e outros hormônios lipolíticos (Havel, 2004; Hauner, 2004). O

tecido adiposo responde a diversos sinais, como a insulina, cortisol e catecolaminas, secretando uma grande variedade de substâncias que atuam tanto local como sistemicamente, e com isso participa da regulação de diversos processos como a função endotelial, aterogênese, sensibilidade à insulina e regulação do balanço energético (Giorgino *et al.*, 2005). Além disto, tem função endócrina, é fonte de adipocinas como adiponectina, leptina, resistina entre outras, e de citocinas inflamatórias como Interleucina 6 (IL6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Contribuindo desta forma para resistência à insulina e para estados pró-inflamatórios, trombóticos e hipertensivos da obesidade visceral (Figura 11) (Després *et al.*, 2008).

Em situação de obesidade, onde os depósitos de gordura corporal estão aumentados, ocorre simultaneamente o aumento da síntese e liberação das adipocinas e citocinas, proporcional ao aumento do volume das células adiposas (Rexrode *et al.*, 2003). O tecido adiposo visceral é considerado o mais ativo e o mais sensível à lipólise ativada por catecolaminas, porque possui grande densidade de receptores β -adrenérgicos, por isso libera maior concentração de ácidos graxos livres na veia porta (Arner *et al.*, 2003; Kelley *et al.*, 2000).

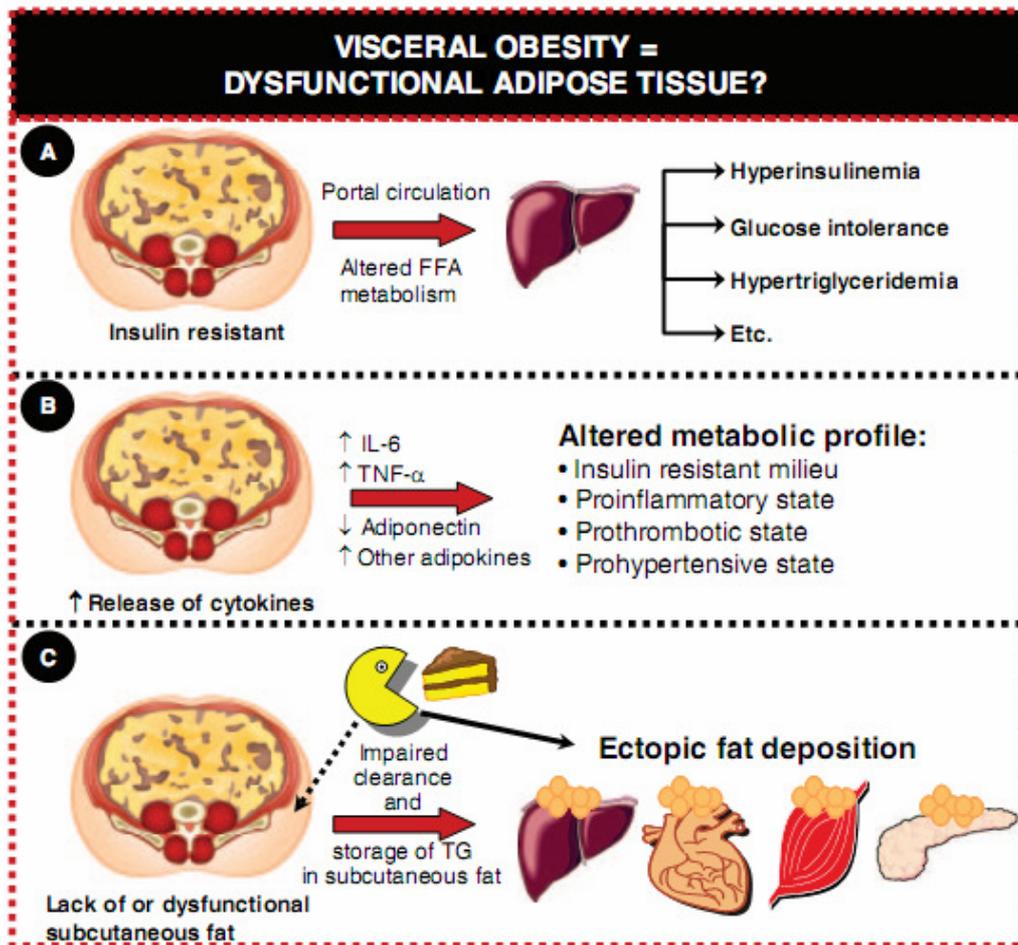


Figura 11. Mecanismo proposto para obesidade abdominal e suas implicações. A) Resistência à insulina B) Liberação de citocinas C) Disfunção do tecido adiposo (Després *et al.*, 2008).

II. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

III. HIPÓTESE

II. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A exposição ao estresse leva à ativação do eixo HHA, desencadeando uma cascata de eventos que finaliza com a elevação de GCs circulantes, que por sua vez contribuem com a deposição de gordura centro-visceral, criando uma situação propícia para desenvolvimento de sobrepeso e obesidade. A obesidade é definida como acúmulo excessivo de gordura resultando em desequilíbrio energético entre calorias consumidas e calorias gastas podendo promover danos à saúde. Nas últimas décadas o aumento de sobrepeso e da obesidade em crianças, adolescentes e adultos tem se tornado um sério problema de saúde pública mundial, o drástico aumento no número de indivíduos com sobrepeso e obesidade em diversas partes do mundo faz com a obesidade torne-se uma epidemia. Os números revelados por diversos estudos são alarmantes e estimam que até 2015, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos (WHO, 2006). O estresse crônico está associado com transtornos metabólicos e alterações da homeostase energética. Elevadas concentrações de GCs, como observadas no estresse crônico, podem induzir comportamentos prazerosos e compulsivos como a ingestão de alimentos doces e gordurosos, os *comfort foods* e com isso aumentar os depósitos de gordura abdominal (Bjorntorp, 2001, Coccurello *et al.*, 2008), de acordo com estudos com humanos que demonstram ligação entre a alteração do eixo HHA, obesidade e aumento do IMC (Rosmond *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2005). Outros estudos também demonstram atenuação das respostas ao estresse quando animais são submetidos a dietas hipercalóricas com alto teor de carboidratos, o que indica inter-relação neuroendócrina. Considerando a relevância do tema esta dissertação teve como objetivo avaliar parâmetros bioquímicos e ponderais em ratos Wistar submetidos à

exposição a estresse crônico e à dieta hipercalórica. Procurando contribuir com a elucidação de mecanismos fisiológicos e bioquímicos do desenvolvimento de obesidade associada ou não ao estresse crônico e com o desenvolvimento de abordagens úteis na prevenção e/ou no tratamento das complicações da obesidade.

III. HIPÓTESE

Associação da exposição ao estresse repetido e uma alimentação hipercalórica altera parâmetros ponderais e bioquímicos em ratos Wistar.

IV. OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS

IV.1. Objetivo geral

Avaliar parâmetros ponderais e bioquímicos em ratos Wistar submetidos à exposição a estresse crônico e à dieta hipercalórica.

IV.2. Objetivos específicos

IV.2.1. Aferir semanalmente o peso dos animais.

IV.2.2. Monitorar o consumo alimentar, líquido bruto e calórico.

IV.2.4. Determinar o peso absoluto e relativo do tecido adiposo visceral, das adrenais e do fígado.

IV.2.5. Dosar os níveis séricos de corticosterona, leptina, glicemia, triacilglicerol e o colesterol total, HDL.

IV.2.6. Calcular o índice de Lee e a eficiência alimentar.

IV.2.7. Calcular o LDL, VLDL e o total de lipoproteínas.

V. MATERIAIS E MÉTODOS

V. MATERIAIS E MÉTODOS

V.1. Animais experimentais

Foram utilizados 38 ratos *Wistar* adultos machos, com peso entre 200-250g, provenientes do CREAL - Centro de Reprodução e Experimentação Animal do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram mantidos no ratário do Departamento de Farmacologia, em caixas-moradia, confeccionadas em *plexiglass*, medindo 65 x 25 x 15 cm, com assoalho recoberto de serragem, 4 animais por caixa. Os animais foram submetidos a ciclo normal claro/escuro (luzes acesas das 7 às 19h), alimentados com ração padrão de laboratório, dieta de cafeteria, água e refrigerante *ad libitum* (conforme desenho experimental). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob nº 09.231.

V.2. Desenho experimental

Os animais foram randomizados e divididos em quatro grupos. Grupo controle total (CT), que recebeu ração padrão sem o modelo de estresse crônico por restrição; grupo estresse (E) que recebeu ração padrão e foi submetido ao modelo de estresse por restrição; grupo dieta (D) que recebeu dieta de cafeteria sem modelo de estresse crônico por restrição e grupo dieta e estresse (DE) que recebeu dieta de cafeteria e foi submetido ao modelo de estresse crônico por restrição. Os animais foram submetidos ao modelo de estresse crônico por restrição (Torres *et al.*, 2001). O estresse por restrição foi realizado utilizando um tubo plástico (25 x 7cm) limitando os movimentos do animal, com a parte frontal aberta

permitindo a respiração. Os animais foram submetidos ao estresse crônico por restrição pela manhã (entre 9h e 12h), 1 hora por dia, 5 dias na semana, durante 40 dias (Figura 12) (Torres *et al*, 2001).

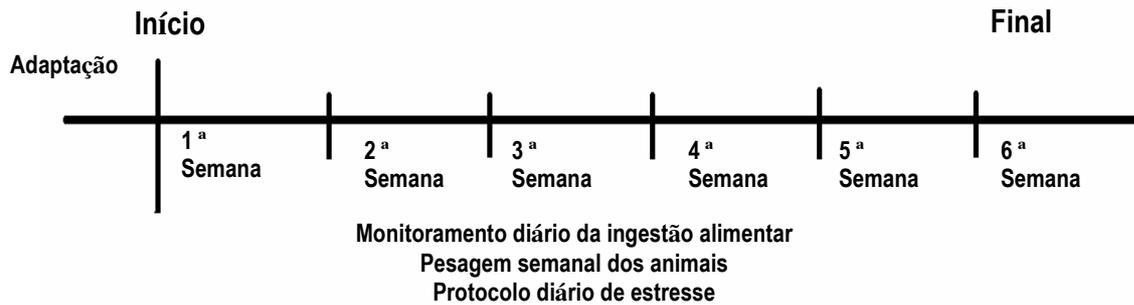


Figura 12. Desenho Experimental.

V.3. Dietas experimentais - Dieta padrão de laboratório e Dieta de Cafeteria

A dieta padrão Nuvilab CR-1(NUVITAL®) é composta de 55% de carboidratos, 22% de proteínas, 4,5% de lipídios, entre outros constituintes (fibras e vitaminas), e perfaz um total de 2,93 Kcal/g (informações prestadas pelo fabricante). A dieta palatável hipercalórica (dieta de cafeteria) é composta de aproximadamente 60% carboidratos, 20% de lipídios, 15% de proteínas e 5% de outros constituintes (sódio, cálcio, vitaminas, conservantes, minerais entre outros) . Os alimentos oferecidos aos animais e o conteúdo calórico de cada alimento encontram-se nas tabelas 5 e 6 (cálculo com base nas informações prestadas pelo fabricante no rótulo

das embalagens). Esta dieta foi adaptada de uma dieta hipercalórica conhecida como dieta de cafeteria ou dieta ocidental, previamente descrita por Estadella e colaboradores em 2004. Assim como a ração padrão, a dieta experimental foi substituída diariamente por alimentos frescos. O consumo alimentar dos animais foi aferido diariamente subtraindo-se o peso das sobras do peso do alimento dispensado.

Alimentos dispensados
Bolacha recheada (morango, chocolate)
Leite condensado
Salgadinho (queijo, presunto, milho)
Salsicha mista
Waffer (morango, chocolate)
Refrigerante

Tabela 5. Dieta de Cafeteria.

ALIMENTOS	Kcal/g/ml
Bolacha recheada	4,76
Leite condensado	3,20
Salgadinho	4,68
Salsicha mista	2,97
Waffer	5,32
Refrigerante	0,42

Tabela 6. Dieta de Cafeteria - composição calórica.

V.4. Eficiência alimentar dos animais

Objetivando avaliar a capacidade do animal em converter energia alimentar consumida em peso corporal, foi realizado o cálculo da eficiência alimentar (EA). Este cálculo foi obtido dividindo-se o ganho médio semanal de peso dos animais de cada caixa (g) pelo total de energia ingerida (Kcal), multiplicado por 100 (Mathis *et al.* 1996; Murray *et al.*, 1999). O cálculo da energia ingerida foi feita com base nos alimentos ingeridos separadamente multiplicados pelos seus respectivos conteúdos calóricos.

V.5. Métodos para aferição das variáveis em estudo

V.5.1. Medidas antropométricas:

O peso total dos animais foi aferido semanalmente. Ao final do experimento foi aferido o comprimento naso-anal (cm) para posterior determinação do Índice de Lee. O tecido adiposo das regiões subcutânea, mesentérica e visceral, o fígado e as glândulas adrenais foram removidos para pesagem em balança eletrônica, de acordo com a descrição de Cinti, 2005. Os dados foram expressos em g de tecido por 100 g de peso corporal. Todo material coletado foi devidamente lavado em água corrente para retirada de resíduos. Os animais foram medidos para posterior cálculo de Índice de Lee, e os dados foram expressos em cm.

V.5.2. Coleta de soro

Após 12 h de jejum e 24h da última sessão de estresse, os animais foram mortos por decapitação, o sangue troncular retirado para centrifugação em tubos plásticos, centrifugados por 5 minutos em 5000rpm a temperatura ambiente, e o soro armazenado em freezer -70°C.

V.5.3. Dosagens bioquímicas

A concentração de glicose, colesterol total, TAG e HDL foi dosada com Kits Bioliquid por espectrofotometria e expressa em mg/dL, enquanto o valor de LDL e

VLDL foi calculado pela equação de Friedelwald ($VLDL = TAG / 5$, LDL= Colesterol total – (HDL-VLDL) (Friedewald *et al.*, 1972). As lipoproteínas foram somadas

objetivando obter seu valor total, simulando o que se considera colesterol total em humanos.

A dosagem de corticosterona foi feita por Elisa com kit da Assay Designs 900-097 e expressa em ng/mL. A determinação de leptina foi feita com Kit da Linco Elisa, 00EZRL-83 e expressa em ng/dL.

V.6. Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm Erro Padrão da Média (EPM). Foi utilizada ANOVA de medidas repetidas para peso, ingestão calórica e consumo de líquidos ao longo do tempo de tratamento, e ANOVA de uma via para os demais parâmetros, seguidas do teste de Student-Newman-Keuls (SNK). Dados foram considerados significativamente diferentes com $P < 0,05$.

VI. RESULTADOS

VI. RESULTADOS

VI.1. Peso corporal (g)

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao peso inicial dos animais (CT: 298,12±15,73; E: 309,25±10,43; D: 297±8,06, DE: 293,50±12,02 - ANOVA de uma via, $P > 0,05$, $n=8$ animais por grupo).

A ANOVA de medidas repetidas nos mostra que há diferença entre os grupos no ganho de peso no decorrer das 6 semanas de experimento (CT: 333,16±10,45; E: 334,37±11,75; 331,34±13,17; 373,55±12,22 - ANOVA de medidas repetidas/SNK, $P < 0,05$, $n=8$). Há interação tempo/grupo (ANOVA de medidas repetidas, $P < 0,05$; ($F_{(3, 30)} = 6,015$, $n = 8$).

Quando analisamos o ganho de peso por grupo a cada semana utilizando ANOVA de uma via observamos que na primeira semana os grupos não diferiram no peso (CT: 316,75±15,27; E: 317,37±12,01; D: 317,87±11,74; DE: 297,75±13,89 - ANOVA de uma via, $P > 0,05$, $n=8$). Na 2ª semana o grupo D apresentou maior peso em relação ao grupo DE (CT: 326,75±13,71; E: 321,25±11,6; D: 363,00±14,05; DE: 305,37±13,52 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$). Na terceira semana não houve diferença entre os grupos (CT: 344,12±11,79, E: 348,25±13,89; D: 393,25±14,98, DE: 339±15,59 - ANOVA de uma via, $P > 0,05$, $n=8$), no entanto observa-se tendência ao aumento do peso dos animais do grupo D em relação aos demais grupos (ANOVA de uma via $P=0,052$, $n=8$). Na quarta semana o grupo D apresentou um maior peso comparado ao grupo E (CT: 355,62±12,02; E: 335± 17,26; D: 364,50±14,37 - ANOVA

de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n = 8$) mantendo a tendência em diferir dos demais grupos (ANOVA de uma via, $P = 0,052$, $n = 8$). Na quinta e sexta semana (peso final) o grupo D diferiu dos demais grupos em relação ao peso (5ª semana: CT: $348,37 \pm 8,46$; E: $357,25 \pm 14,08$; D: $415,75 \pm 13,38$; DE: $359,25 \pm 15,95$; Final: CT: $342,37 \pm 9,54$; E: $339,75 \pm 15,35$; D: $423 \pm 15,42$; DE: $360 \pm 15,25$ - ANOVA de uma via, $P < 0,05$ para ambas as semanas, $n = 8$, Figura 13).

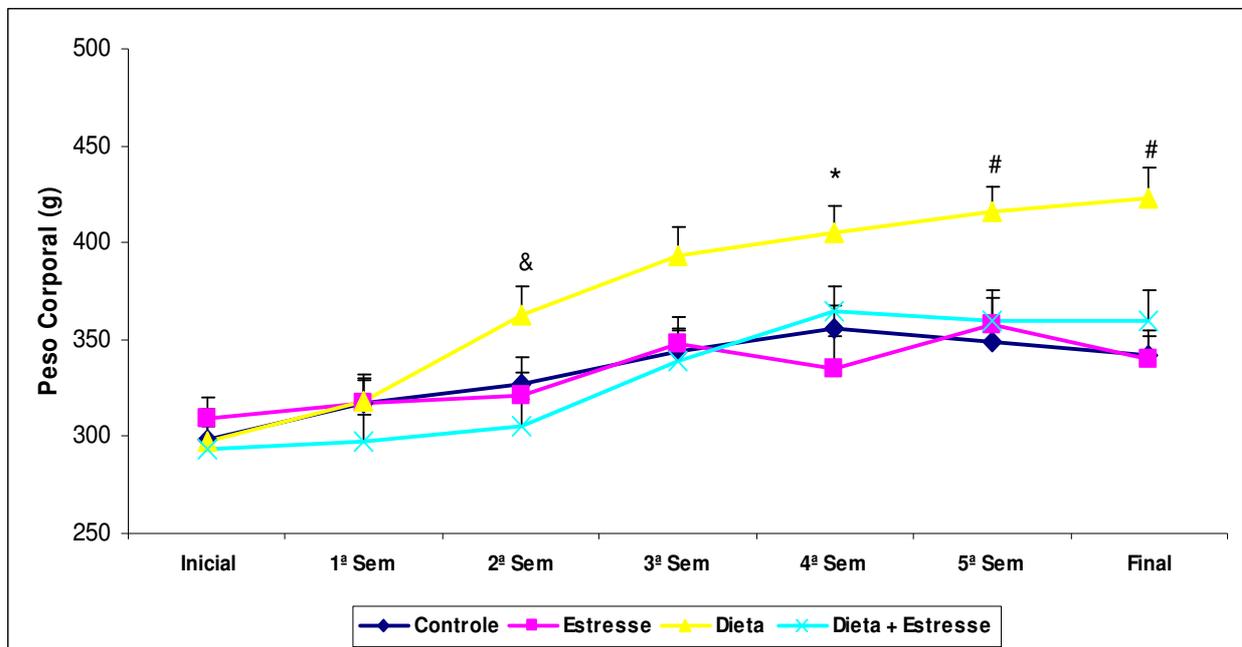


Figura 13. Avaliação do ganho de peso dos grupos experimentais no decorrer das seis semanas de experimento (ANOVA de medidas repetidas/SNK) e comparação entre o peso dos grupos a cada semana (ANOVA de uma via/SNK). Dados apresentados em g e expressos como média \pm EPM. Há interação tempo/grupo (ANOVA de medidas repetidas, $P < 0,05$; $(F_{(3, 30)} = 6,015, n = 8$ animais por grupo).

* Diferença significativa do grupo E (ANOVA de uma via, $P < 0,05$, $n = 8$).

& Diferença significativa do grupo DE (ANOVA de uma via, $P < 0,05$, $n = 8$).

Diferença significativa dos demais grupos (ANOVA de uma via, $P < 0,05$, $n = 8$).

VI.2. Delta do peso(g)

Analisando a variação entre o peso inicial e o peso final expressos em gramas (delta/g) os animais do grupo D apresentaram aumento significativo em relação aos demais grupos (CT: 44,25±17,83; E: 30,50±14,72; D: 126,00±11,68; DE: 66,50±7,76 - ANOVA de uma via/SNK ($P<0,05$); $n = 8$ animais por grupo, Figura 14).

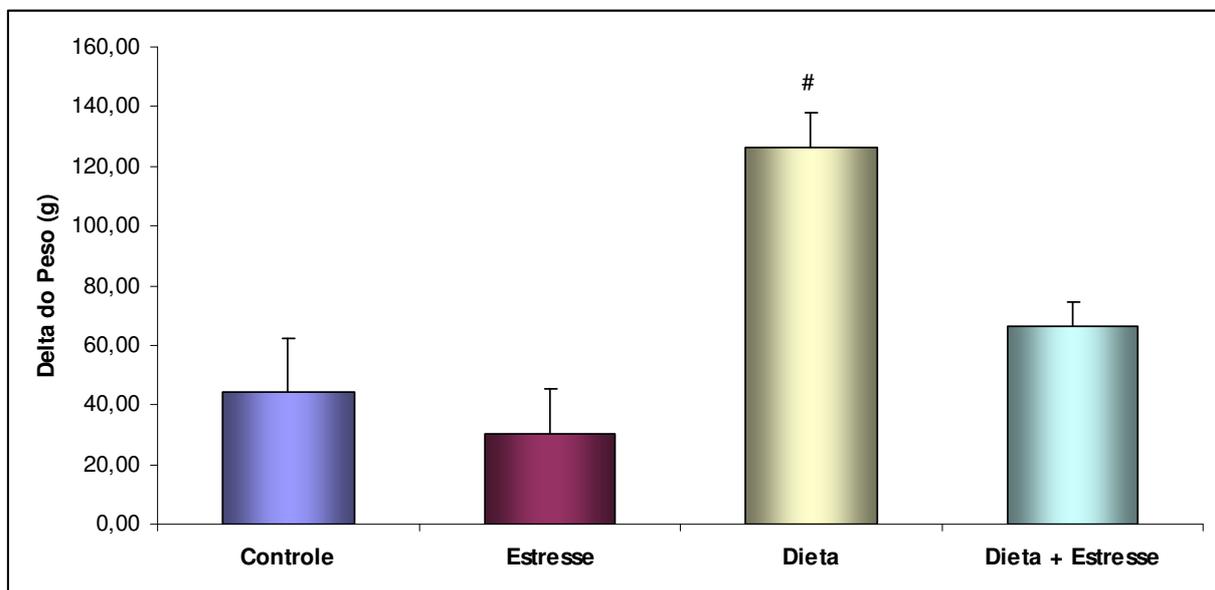


Figura 14. Avaliação do delta de peso considerando peso inicial e final dos grupos. Dados apresentados em g e expressos como média ± EPM.

Diferença significativa dos demais grupos (ANOVA de uma via/SNK $P<0,05$; $n=8$ animais por grupo).

VI.3. Índice de Lee (g/cm)

Os animais do grupo que receberam dieta hipercalórica (D) apresentaram aumento significativo do índice de Lee, que corresponde à relação entre o peso e o comprimento naso-anal dos animais, comparado aos demais grupos. (CT: 3,24±0,045; E: 3,33±0,051; D: 3,53±0,40; DE: 3,39±0,07 - ANOVA de uma via/SNK ($P<0,05$); $n = 8$ animais por grupo, Figura 15).

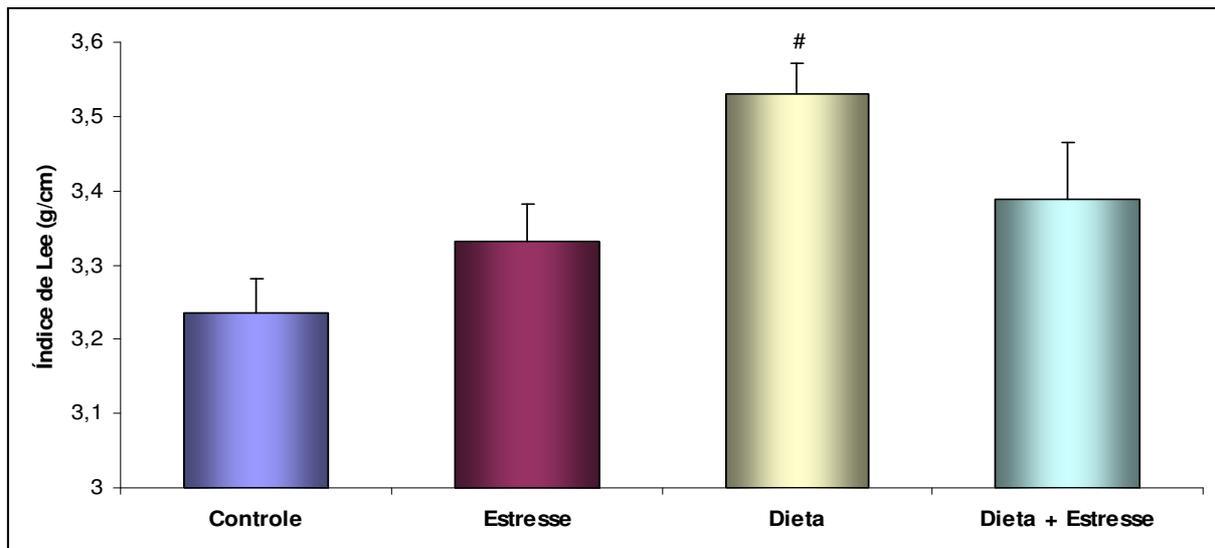


Figura 15. Avaliação do índice de Lee. Dados apresentados em g/cm e expressos como média \pm EPM.

Diferente dos demais grupos (ANOVA de uma via/SNK $P < 0,05$, $n=8$).

VI.4. Ingestão calórica (Kcal)

A ingestão calórica foi avaliada por caixa e analisada pelo teste de ANOVA de medidas repetidas que demonstrou que há diferença entre os grupos no decorrer das seis semanas de experimento. Os grupos D e E foram diferentes dos demais grupos, o grupo D apresentou maior ingestão calórica e o grupo E apresentou uma menor ingestão calórica (ANOVA de medida repetida $P < 0,05$, $n=8$). Observou-se interação entre tempo/grupo (ANOVA de medida repetida $P < 0,05$ $F_{(3, 30)} = 2,401$, $n = 8$ animais por grupo).

Quando aplicamos o teste ANOVA de uma via para comparar a ingestão de calorias a cada semana, observamos que na primeira semana o grupo D ingeriu maior quantidade de calorias que os demais grupos (CT: $2057,06 \pm 37,88$; E: $1658,59 \pm 245,90$; D: $3333,5 \pm 25,5$; DE: 2165 ± 120 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$,

$n=8$). Na segunda semana o grupo D ingeriu mais calorias que o grupo E (CT: 2207,72±104,63; E: 1962,58±430,01; D: 3308,49±54,29; DE: 2161,12±131,5 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n=8$). Durante a terceira semana não houve diferença na ingestão calórica entre os grupos (CT: 2293,16±312,48; E: 2161,02±31,5; D: 2608,72±96,04; DE: 1841,25±174,10 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n=8$). A partir da quarta semana o grupo D apresentou diferença em relação aos demais grupos experimentais, ingerindo mais calorias (4ª semana: CT: 1881,93±93,17; E: 1867,43±66,66; D: 2334,24±26,51; DE: 1829,97±66,36; 5ª semana: CT: 1859,08±12,01; E: 1857,17±69,29; D: 2312,5±68,57; DE: 1759,95±121,13; 6ª semana: CT: 1848,29±21,96; E: 1855,13±84,98; D:2440,29±120; DE: 1823,12±96,93 -ANOVA de uma via/SNK, $P<0,05$, $n = 8$, Figura 16).

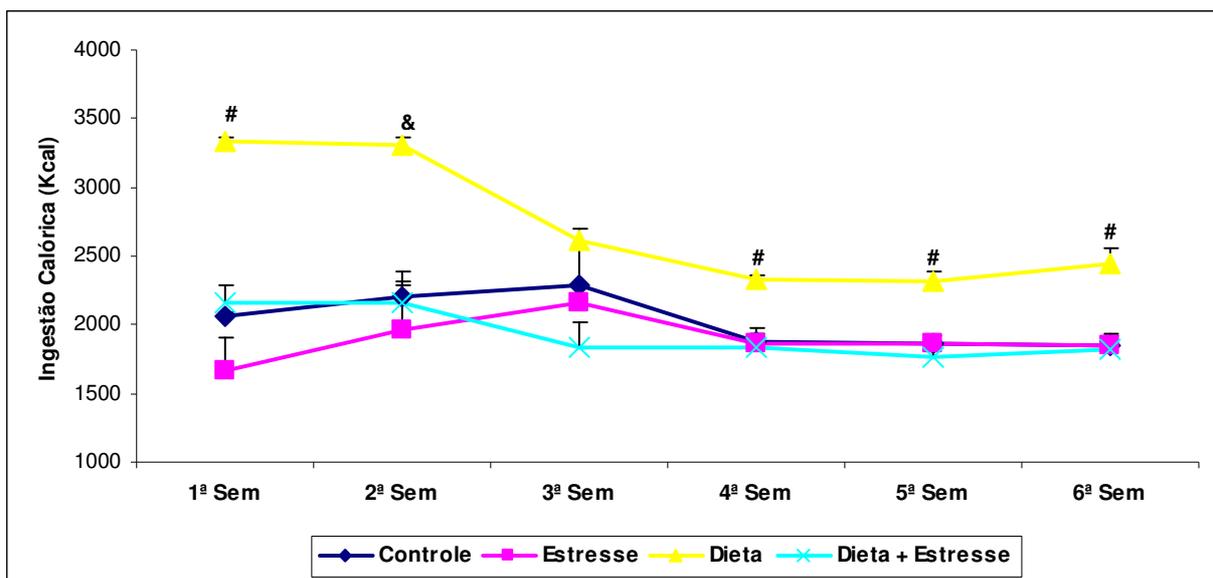


Figura 16. Ingestão calórica ao longo do tempo (ANOVA de medidas repetidas/SNK) e comparação entre a ingestão calórica dos grupos a cada semana (ANOVA de uma via/SNK). Há interação tempo/grupo (ANOVA de medida repetida $P<0,05$ $F_{(3, 30)} = 2,401$, $n = 8$ animais por grupo). Dados apresentados em g e expressos como média ± EPM.

Diferença significativa dos demais grupos (ANOVA de uma via/SNK $P<0,05$; $n=8$).

& Diferença significativa do grupo E (ANOVA de uma via/SNK $P<0,05$; $n=8$).

VI.5. Consumo de Líquidos (mL)

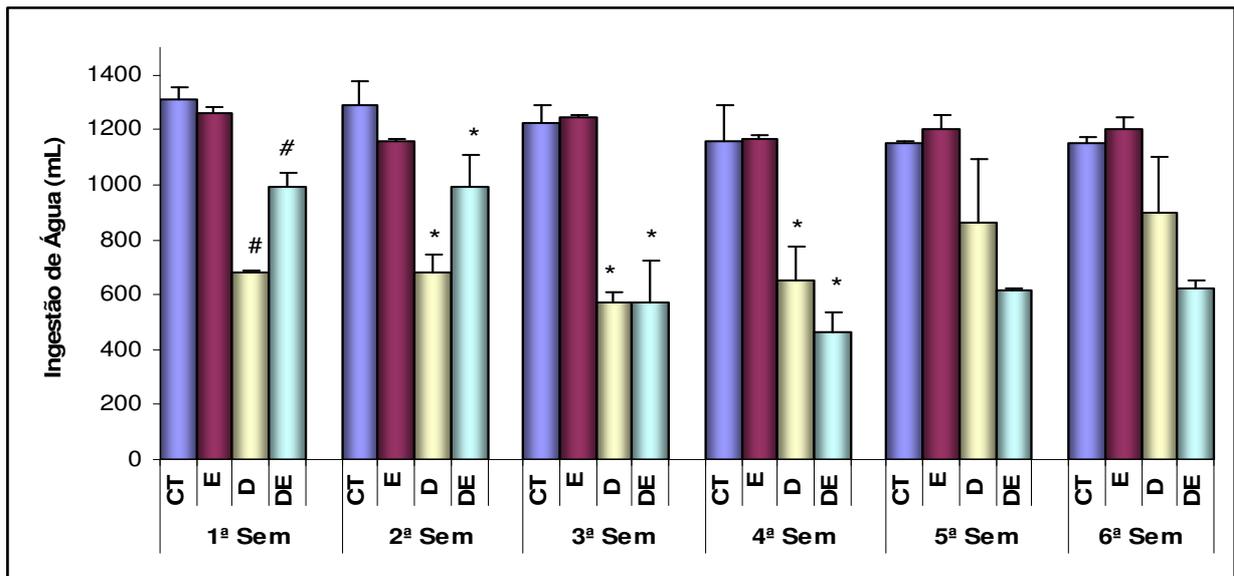
O consumo líquido foi avaliado por caixa e analisado pelo teste de ANOVA de medidas repetidas que demonstrou que há diferença entre os grupos em relação ao consumo de água no decorrer das seis semanas de experimento. Os grupos DE e D foram diferentes dos demais grupos (CT: 7303±169; E: 7245±66; DE: 3750±299; D: 4237±614 - ANOVA de medida repetida $P < 0,05$, $n=8$ animais por grupo). Observou-se interação entre tempo/grupo (ANOVA de medida repetida $P < 0,05$). Em relação ao consumo de refrigerante os grupos DE e D, diferiram entre si (DE: 4394±118; D: 6241±531 - ANOVA de medida repetida $P < 0,05$, $n=8$).

Quando aplicamos o teste ANOVA de uma via para comparar o consumo de água dos grupos a cada semana observamos que na primeira semana os grupos DE e D consumiram significativamente menos água que os demais grupos (CT: 1315±40; E: 1263±17,5; DE: 955±49; D: 682±3 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n=8$). Na segunda, terceira e quarta semanas os grupos DE e D consumiram menos água que os grupos CT e E (2ª semana: CT: 1292±83; E: 1157,5±12,5; DE: 51,95±112; D: 566±62,5; 3ª semana: CT: 1227±62; E: 1247±8; DE: 572,5±152,5; D: 570±39; 4ª semana: CT: 1163,5; E: 1167±12; DE: 465,5±70; D: 654,5±117,5 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n=8$). A partir da quinta semana não houve diferença significativa no consumo de água entre os grupos (5ª semana: CT: 1151±7,5; 1205±50; DE: 612,5±12,5; D: 864±430; 6ª semana: CT: 1154±18; E: 1205±42; DE: 625±25; D: 912±403 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n = 8$, Figura 17A).

Em relação ao consumo semanal de refrigerante o grupo D consumiu significativamente mais que o grupo DE na primeira, terceira, quinta e sexta semana (1ª semana: D: 962±52; DE: 780±0; 3ª semana: D: 1084,5±119,5; DE: 760±34; 5ª

semana: D:1090±70; DE: 650±50; 6ª semana: D:1125±25; DE: 700±50 - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n = 8$), mas não apresentou diferença significativa na segunda e quarta semana (2ª semana: D: 934,5±174,5; DE: 628±17; 4ª semana: D: 1045±90; DE: 876±50 ANOVA de uma via/SNK, $P > 0,05$, $n = 8$, Figura 17B).

A



B

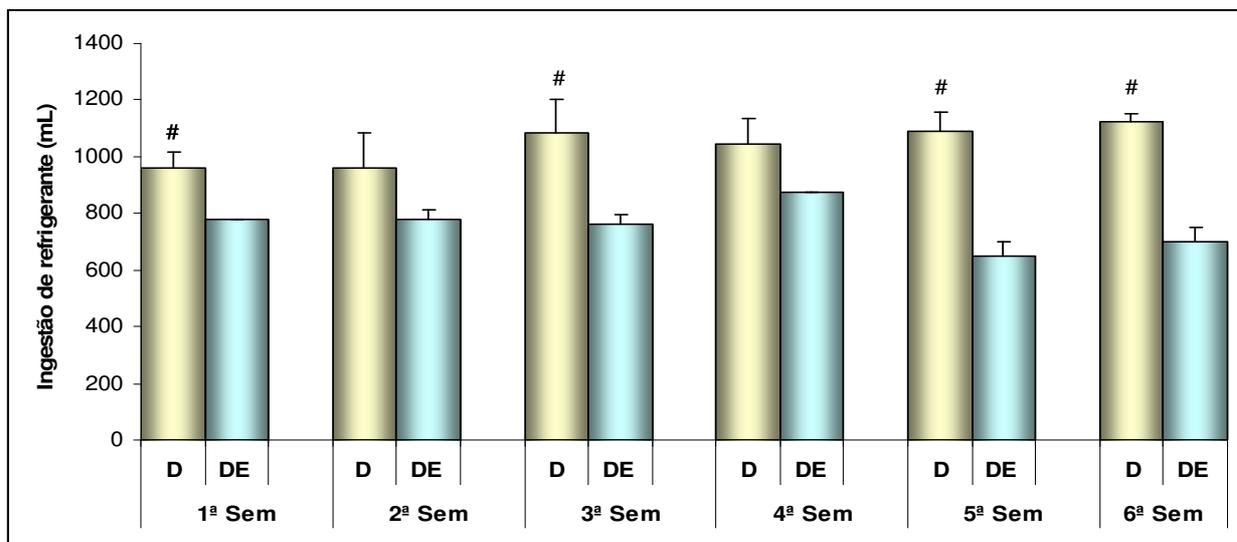


Figura 17A E 17B. Ingestão de líquidos (água ou refrigerante) ao longo do tempo (ANOVA de medidas repetidas) e a comparação do consumo líquido (água ou refrigerante) a cada semana (ANOVA de uma via). Há interação tempo/grupo (ANOVA de medida repetida $P < 0,05$, $n = 8$). Dados apresentados em g e expressos como média \pm EPM.

Diferença significativa dos demais grupos (ANOVA de medidas repetidas/SNK $P < 0,05$; $n=8$).

* Diferença significativa dos grupos CT e E (ANOVA de uma via/SNK $P < 0,05$; $n=8$).

VI.6. Eficiência Alimentar

Ao avaliarmos a eficiência alimentar dos grupos experimentais, por caixa, pelo teste de ANOVA de uma via, foi observada diferença significativa do grupo DE em relação aos demais na terceira semana de experimento (ANOVA de uma via $P < 0,05$ - 3ª semana: CT: $0,72 \pm 0,21$; E: $1,24 \pm 0,18$; D: $1,15 \pm 0,06$, $n=8$ animais por grupo). O teste de SNK mostrou, na primeira semana, diminuição significativa da eficiência alimentar do DE em relação ao CT (SNK $P < 0,05$), na segunda semana houve uma forte tendência ao aumento da eficiência alimentar do grupo dieta em relação aos demais grupos (CT: $0,46 \pm 0,23$; E: $0,23 \pm 0,15$; D: $1,36 \pm 0,28$; DE: $0,35 \pm 0,004$; SNK $P = 0,053$, Figura 18).

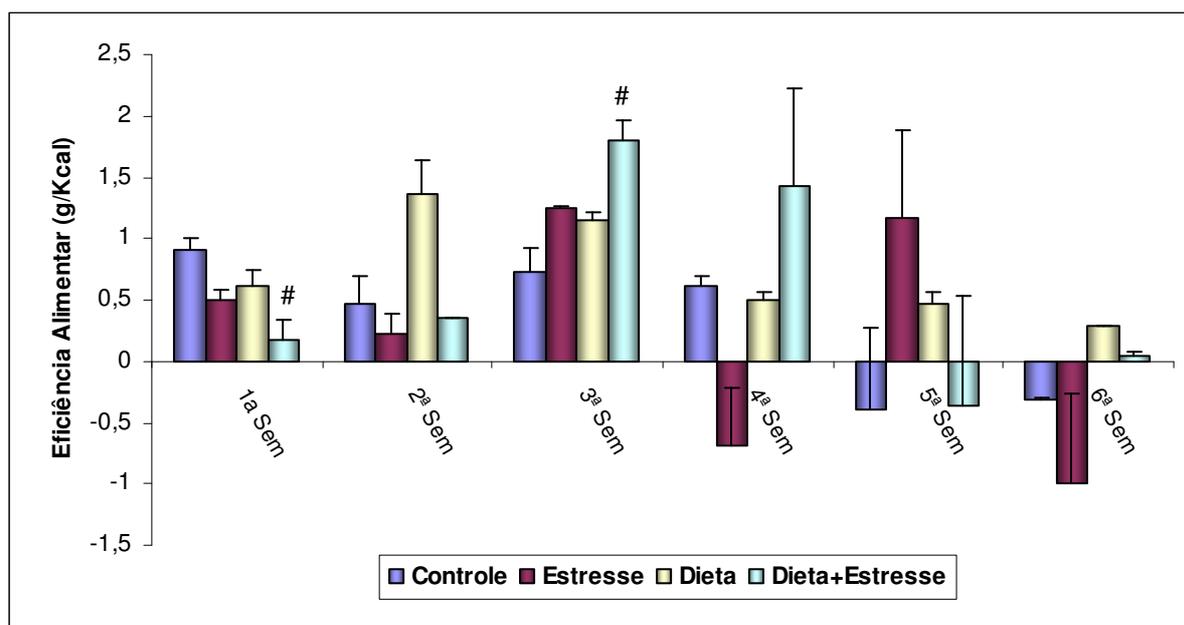


Figura 18. Eficiência alimentar a cada semana. Dados apresentados em g e expressos como média \pm EPM.

Diferença significativa do grupo controle (ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$; $n = 8$).

VI.7. Peso do Fígado (g/100g)

O peso do fígado corrigido para o peso total do animal não apresentou diferença significativa entre os grupos analisados. (CT: $0,030 \pm 0,0023$; E: $0,026 \pm 0,0018$; D: $0,026 \pm 0,004$; DE: $0,028 \pm 0,0014$) (ANOVA de uma via/SNK ($P > 0,05$); $n = 8$ animais por grupo, Figura 19).

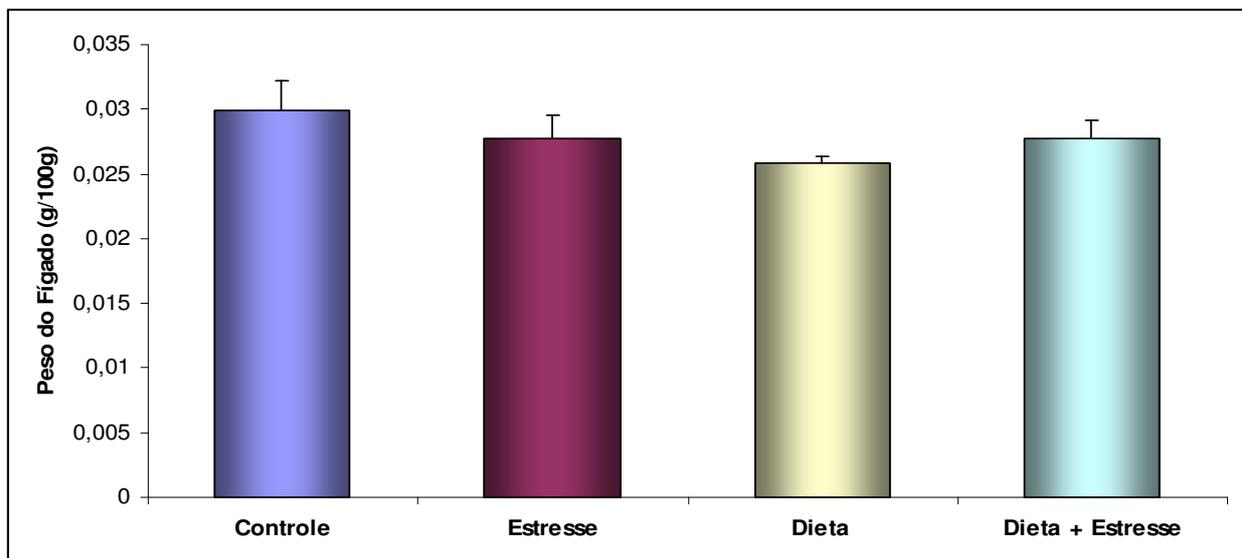


Figura 19. Peso relativo do fígado corrigido, em relação ao peso corporal total. Dados apresentados em g/100g e expressos como média \pm EPM. Não foi observada diferença significativa entre os grupos (ANOVA de uma via, $P > 0,05$; $n = 8$).

VI.8. Peso do Tecido adiposo (g/100g)

O peso tecido adiposo foi corrigido para o peso total do animal e foram encontradas diferenças significativas entre os grupos analisados. Os grupos dieta DE

e D apresentaram maior peso de tecido adiposo visceral total em relação aos grupos CT e E (CT: $0,055 \pm 0,006$; E: $0,04 \pm 0,005$; D: $0,09 \pm 0,005$; DE: $0,08 \pm 0,008$ - ANOVA de uma via/SNK ($P < 0,05$); $n = 8$ animais por grupo, Figura 20).

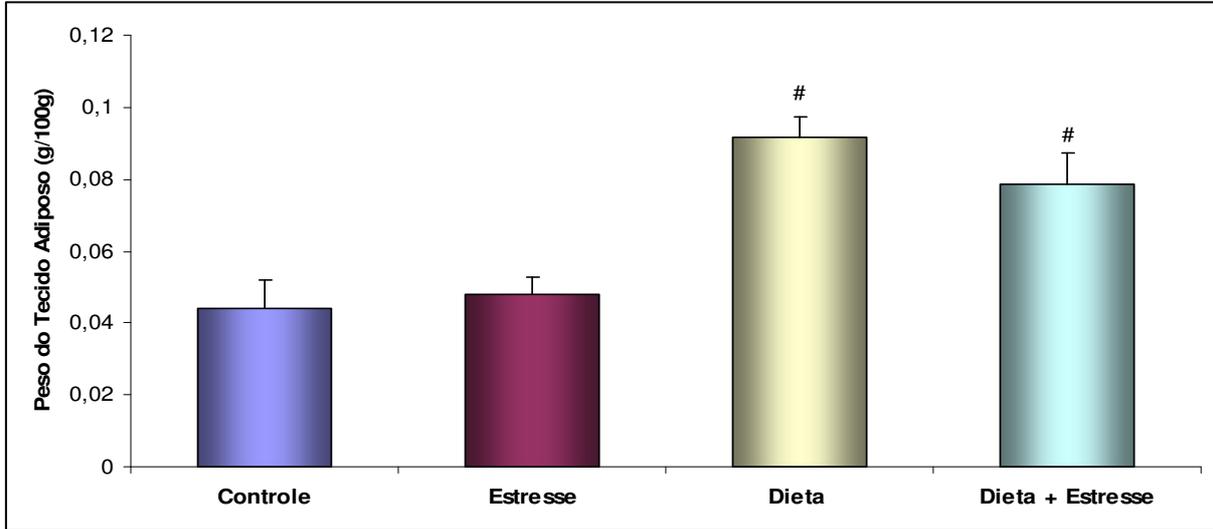


Figura 20. Peso relativo do tecido adiposo visceral total, corrigido em relação ao peso corporal total. Dados apresentados em g/100g e expressos como média \pm EPM.

Diferença significativa dos grupos CT e E (ANOVA de uma via/SNK $P < 0,05$, $n=8$).

VI.9. Peso das Adrenais – Peso bruto (g) e Relativo (g/100g)

O peso bruto das adrenais não apresentou diferença significativa entre os grupos (CT: $0,035 \pm 0,00428$; E: $0,040 \pm 0,00389$; D: $0,052 \pm 0,00522$; DE: $0,045 \pm 0,00681$ - ANOVA de uma via/SNK, $P > 0,05$); $n = 8-10$, Figura 21). A correção do peso das adrenais para o peso corporal total dos animais demonstrou maior peso das glândulas adrenais do grupo E, em relação aos demais grupos analisados (CT: $0,0106 \pm 0,0012$; E: $0,0176 \pm 0,0012$; DE: $0,011 \pm 0,0018$; D: $0,0120 \pm 0,0013$ - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$, $n = 8-10$ animais por grupo, Figura 21).

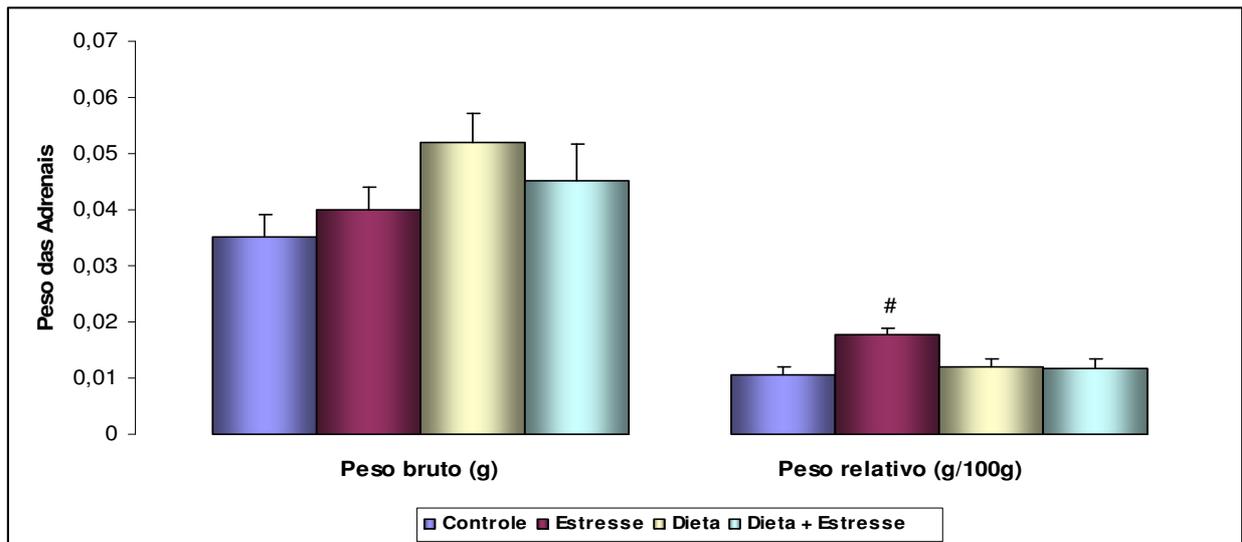


Figura 21. Peso bruto em gramas, e peso relativo das glândulas adrenais, corrigido em relação ao peso corporal total. Dados apresentados em g para peso bruto e em g/100g para peso relativo) e expressos como média \pm EPM

Não foi observada diferença significativa entre os grupos para peso bruto (ANOVA de uma via, $P > 0,05$; $n = 8$)

Diferença significativa dos demais grupos (ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$; $n = 8$).

VI.10. Dosagem de Leptina (ng/mL)

A concentração circulante de leptina 24h após a última sessão de estresse demonstra que os grupos que receberam dieta de cafeteria (D e DE) apresentaram aumento significativo na concentração de leptina quando comparados aos grupos demais grupos que receberam dieta padrão (CT: $4,09 \pm 0,92$; E: $2,58 \pm 0,71$; D: $9,18 \pm 1,16$; DE: $13,47 \pm 1,48$ - ANOVA de uma via/SNK, $P < 0,05$); $n = 7$ Figura 22).

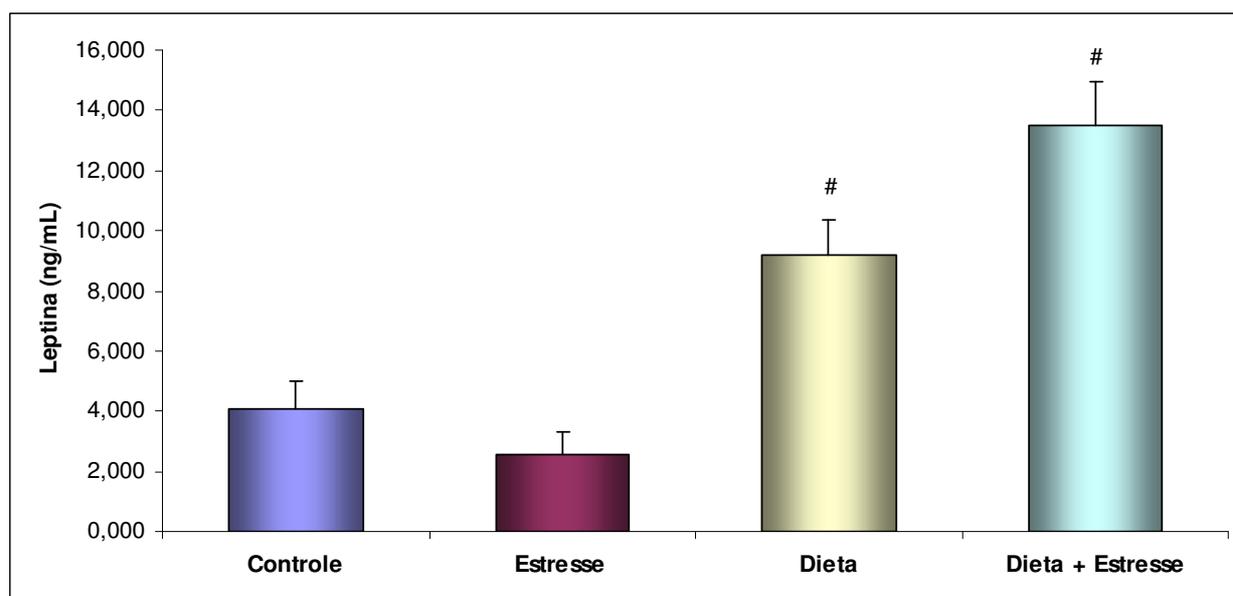


Figura 22. Níveis de leptina sérica 24h após a última sessão de estresse. Dados apresentados em ng/mL e expressos como média \pm EPM (ANOVA de uma via/SNK $P < 0,05$).

Diferente de todos os demais (ANOVA de uma via/SNK $P < 0,05$; $n = 7$).

VI.11. Dosagem de Corticosterona (ng/mL)

Os níveis séricos de corticosterona dosados 24h após a última sessão de estresse, não foram significativamente diferentes entre os grupos analisados (CT: $387,38 \pm 0,71$; E: $385,09 \pm 1,39$; D: $386,72 \pm 0,94$; DE: $386,24 \pm 1,16$ - ANOVA de uma via $P > 0,05$; $n = 7$, Figura 23).

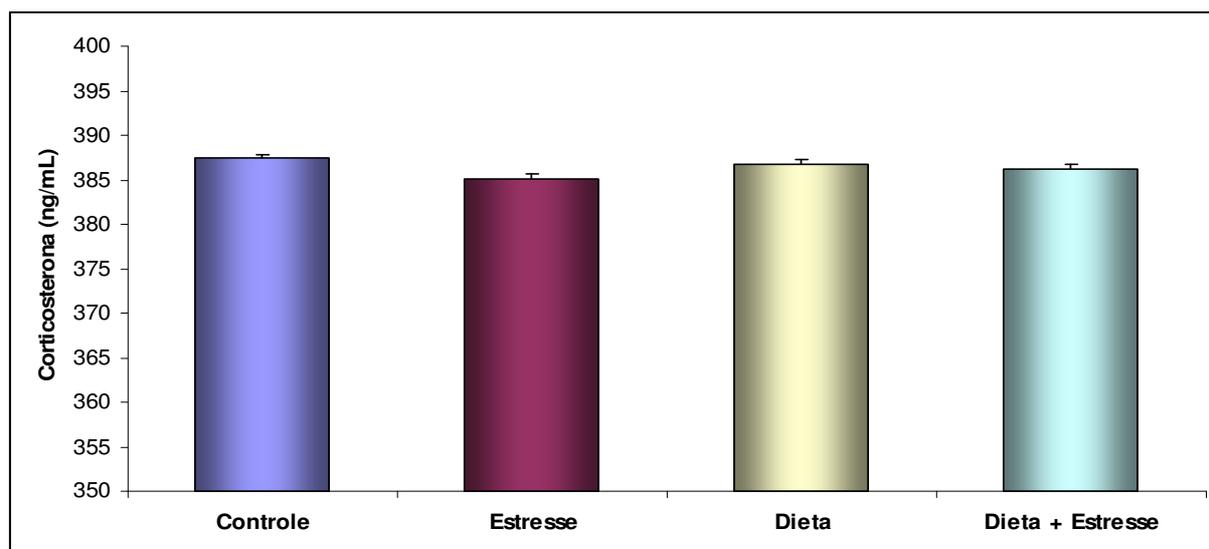


Figura 23. Níveis de corticosterona sérica analisados 24h após a última sessão de estresse. Dados apresentados em ng/ml e expressos como média \pm EPM. Não foi observada diferença significativa entre os grupos analisados (ANOVA de uma via $P > 0,05$; $n = 7$ animais por grupo).

VI.12. Dosagem de Glicose (mg/dL)

Os níveis séricos de glicose dosados em animais submetidos ao jejum de 12h e analisados 24h após a última sessão de estresse, não foram significativamente diferentes entre os grupos analisados (CT: $67,92 \pm 5,04$; E: $74,42 \pm 4,29$; D: $71,40 \pm 8,99$; DE: $71,32 \pm 8,37$ - ANOVA de uma via $P > 0,05$; $n = 8$ animais por grupo, Figura 24).

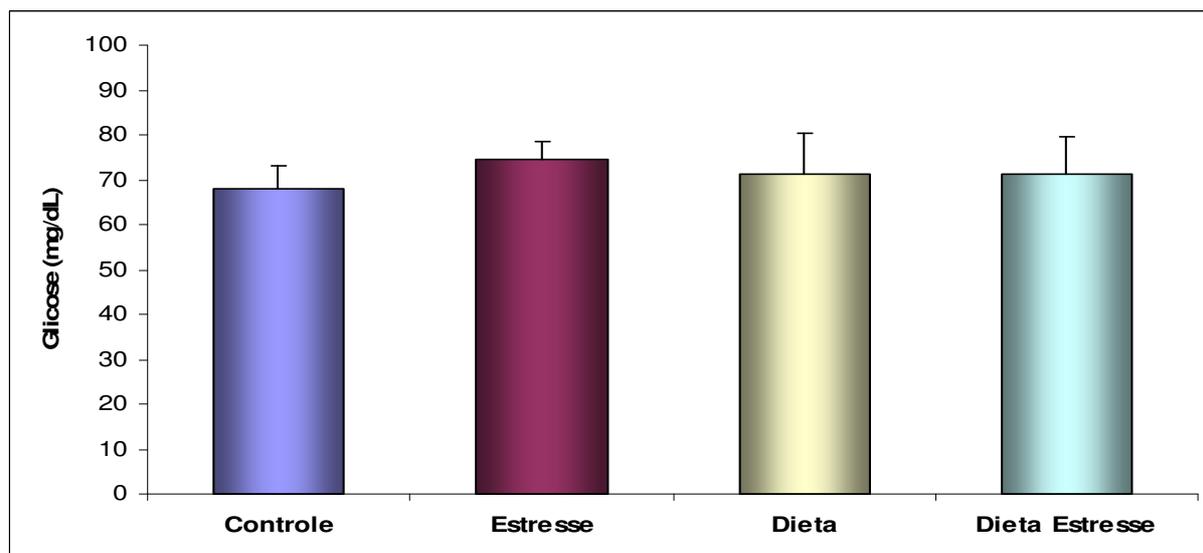


Figura 24. Níveis de glicemia com jejum de 12h e analisados 24h após a última sessão de estresse. Dados apresentados em mg/dl e expressos como média \pm EPM. Não foi observada diferença significativa entre os grupos analisados (ANOVA de uma via $P > 0,05$; $n = 8$ animais por grupo).

VI.13. Perfil Lipídico

VI.13.1. Dosagem de Triacilglicerol

A análise 24h após a última sessão de estresse dos níveis plasmáticos do TAG dosados após jejum de 12h mostrou que o grupo E apresentou níveis de TAG menores que os demais grupos. Por outro lado, o grupo D apresentou níveis aumentados de TAG com relação aos demais grupos. (CT: $49,54 \pm 6,50$; E: $37,26 \pm 2,13$; DE: $53,17 \pm 4,73$; D: $57,83 \pm 0,14$ - ANOVA de uma via $P < 0,05$; $n = 8$; Figura 25).

VI.13.2. Dosagem do Colesterol Total (mg/dL)

A análise, 24h após a última sessão de estresse, dos níveis séricos de colesterol total após jejum de 12h não mostrou diferença significativa entre os grupos (CT: 65,42849,26±3,20; E: 46,55±1,82; D:47,06±1,68 e DE: 53,08±1,75 - ANOVA de uma via/SNK $P>0,05$, $n=8$ animais por grupo, Figura 25). Observou-se uma forte tendência do grupo D em diferir dos demais grupos (ANOVA de uma via, $P=0,59$, $n=8$, Figura 25).

VI.13.3 Dosagem de HDL (mg/dL)

Os níveis séricos de HDL após 12 horas de jejum e dosado 24h após a última sessão de estresse não mostraram diferença significativa entre os grupos analisados (CT: 36,54±1,79; E: 35,08±1,98; DE: 45,07±5,85; D: 38,25±3,76 - ANOVA de uma via $P>0,05$, $n = 8$ animais por grupo; Figura 25).

VI.13.4. LDL e VLDL (mg/dL)

O LDL e o VLDL foram calculados pela equação de Friedewald, e expressos em mg/dL. O grupo E apresentou valores de LDL significativamente menores em relação aos demais grupos (CT: 9,29±1,77; E: 7,42±0,66; D:13,27±0,69; DE:11,90±1,37 - ANOVA de uma via $P<0,05$; $n = 3-4$ animais por grupo, Figura 27). Os níveis de VLDL calculado não apresentaram diferença significativa entre os grupos analisados (CT: 19,59±3,24; E: 21,20±2,54; DE: 31,19±2,25; 23,65±5,13 - ANOVA de uma via $P>0,05$; $n = 8$ animais por grupo; Figura 25).

VI.13.5. Somatório das Lipoproteínas (mg/mL)

Os grupos D e DE apresentam aumento significativo em relação aos demais grupos quando as lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL) são somadas (CT: 65,43±2,44; E: 63,71±1,6; 75,18±3,34; DE: 83,72±1,14 – ANOVA de uma via $P<0,05$; $n = 3-4$; Figura 25).

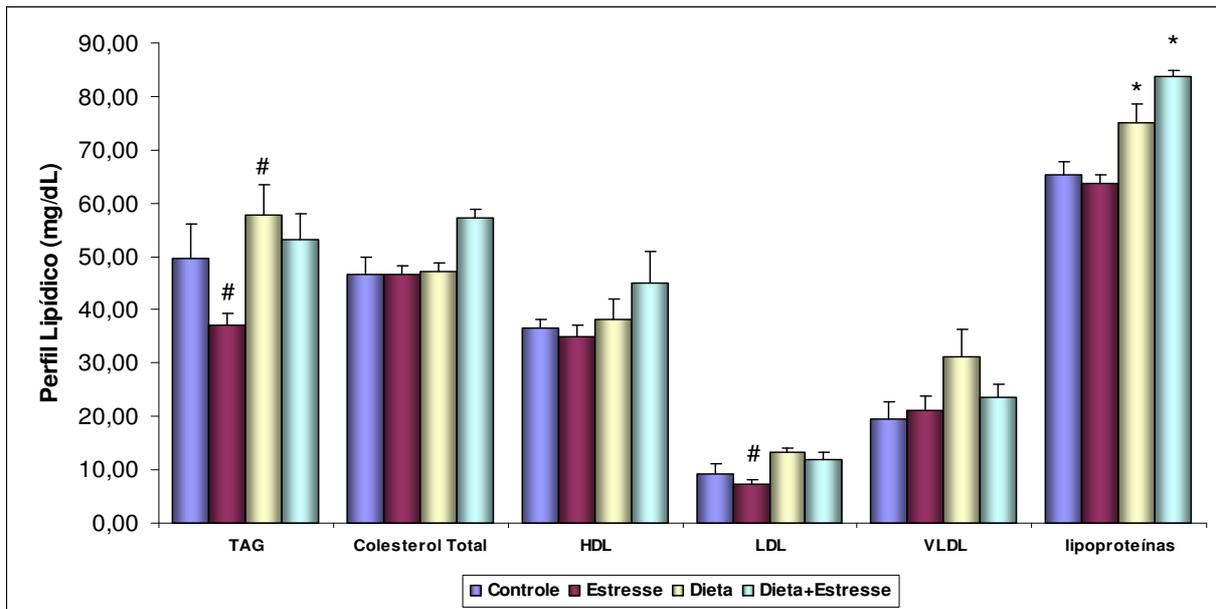


Figura 25. Perfil lipídico com jejum de 12h e analisados 24h após a última sessão de estresse. Dados apresentados em mg/dL e expressos como média ± EPM. Não foi observada diferença significativa entre os grupos para as medidas de colesterol total, HDL, VLDL (ANOVA de uma via $P>0,05$, $n=3-8$).

Diferença significativa dos demais grupos (ANOVA de uma via/SNK $P<0,05$, $n=3-8$).

* Diferença significativa dos grupos CT e E (ANOVA de uma via/SNK $P<0,05$, $n=3-8$).

VII.DISSCUSSÃO

VII. DISCUSSÃO

Os dados desta dissertação, considerando somente a exposição ao estresse crônico por imobilização (animais estressados cronicamente e utilizando dieta padrão), mostraram aumento no peso relativo das glândulas adrenais e diminuição nos níveis de TAG e LDL séricos. O aumento do peso das adrenais observado neste estudo concorda com estudos prévios que descrevem que sob condições de estresse crônico há estimulação contínua das adrenais pelo ACTH levando a hipertrofia destas glândulas (Wellman, 2001; Bloss *et al.*, 2010). No entanto, ao final de seis semanas de exposição a estresse repetido, não foi observado aumento nos níveis séricos de corticosterona, corroborando estudos prévios (Torres *et al.*, 2001, Campeau *et al.*, 2002; Chrousos, 2007), sugerindo habituação do eixo HPA.

Assim como a exposição ao estresse, a dieta não provocou alterações significativas em relação aos níveis de corticosterona, corroborando dados da literatura, que propõem mecanismos adaptativos e compensatórios deste hormônio, como fator de proteção da homeostase. Estudos recentes em animais utilizando diferentes protocolos de estresse repetido por seis semanas, como o proposto nesta dissertação, demonstram habituação ao estresse, e níveis de corticosterona similares aos animais controle (Torres *et al.*, 2001; Sasse *et al.*, 2008; Shin *et al.*, 2010). Uma disfunção na adaptação do HHA ao estresse pode resultar em níveis elevados de GCs circulantes, contribuindo para o desenvolvimento ou exacerbação de vários distúrbios relacionados ao estresse (Sasse *et al.*, 2008). Os eixos HHA e SA parecem estar envolvidos na adaptação ao estresse (Mansi & Drolet, 1997; Ostrander *et al.*, 2006). O aumento na retroalimentação negativa dos GCs,

diminuição da secreção hipotalâmica de CRH, exaustão da capacidade secretória de corticotrofos e diminuição de receptores da hipófise para reguladores de ACTH, são alguns mecanismos propostos nesta adaptação (Hauger *et al.*, 1988).

Considerando a exposição à dieta hipercalórica nosso resultado contraria outros autores que relatam que dietas hipercalóricas são situações de estresse por ativarem o eixo HHA (Shin *et al.*, 2010) e que relacionam estresse crônico por restrição à preferência por alimentos hipercalóricos (*comfort foods*) que reduziram a atividade do eixo HHA (Pecoraro *et al.* 2004). Uma vez que, neste estudo, observamos que o grupo DE não difere em relação à ingestão calórica nos grupos que receberam dieta padrão (CT e E), porém apresenta significativa diminuição em relação ao grupo dieta (D). Saliendo que estes diferentes resultados entre os estudos podem ser decorrentes de uso de diferentes modelos de estresse crônico, assim como de diferentes composições de dieta.

Os animais expostos à dieta hipercalórica (grupo D) apresentaram maior ingestão calórica em relação aos demais grupos, mas não apresentaram uma maior eficiência alimentar. No entanto os animais do grupo DE apresentaram diminuição na eficiência alimentar no início do tratamento sugerindo uma resposta negativa ao alimento novo associado à exposição ao estressor. Na terceira semana o grupo DE mostrou maior eficiência calórica em relação ao grupo controle o que pode ser devido a uma habituação ao estressor.

Em relação ao consumo de líquidos os animais do grupo E consumiram significativamente mais água, porém ao avaliarmos o consumo total de líquidos, este foi inferior aos grupos D e DE aos quais foram oferecidos água e refrigerante. Entre os grupos que receberam dieta, observamos que os animais sem estresse (D) consumiram significativamente maior volume de refrigerante que o grupo com

estresse (DE). O que nos leva a constatar que a associação do estresse à dieta produz uma diminuição no consumo da bebida calórica, mas não altera o consumo hídrico total, pois este foi igual aos grupos CT e E. O que nos leva novamente a contrariar a relação de estresse crônico por restrição à preferência por alimentos mais calóricos (Pecoraro *et al.* 2004).

É interessante salientar, que o ganho de peso dos animais do grupo E, no decorrer do tratamento, foi significativamente menor somente em relação ao grupo D. Este resultado é corroborado pelos cálculos do delta do peso e do índice de Lee que também se mostraram menores no grupo estressado. O menor ganho de peso e o aumento no peso da glândula adrenal dos animais estressados são parâmetros considerados marcadores de estresse (Lana *et al.* 2006; Santhiago *et al.*, 2008). Considerando o peso de tecido adiposo, podemos sugerir que o menor ganho de peso corporal observado nos animais estressados que receberam dieta padrão (grupo E) em relação aos animais que receberam dieta hipercalórica (grupo D) possa ser consequência do menor peso do tecido adiposo no grupo E. Sendo também refletido na menor ingestão calórica e nos menores níveis séricos de triacilglicerol e leptina observados nos animais estressados em relação ao grupo D.

A associação de estresse crônico bloqueou o ganho de peso induzido pela dieta (grupo DE) mesmo não havendo alterado a ingestão calórica em relação aos grupos CT, porém este grupo apresentou significativo aumento do peso de tecido adiposo e dos níveis de leptina em relação aos animais que receberam dieta padrão com ou sem estresse (grupos CT e E). Isto nos leva a sugerir que o maior peso encontrado nos animais do grupo D em relação aos demais grupos resulte da quantidade de tecido adiposo. Tem sido relatado que a ativação constante do eixo HHA decorrente da exposição a estresse crônico liberando níveis elevados de

cortisol aumenta a deposição de adiposidade visceral e diminui a massa magra (Bjorntorp, 2001), porém em nosso estudo 40 dias de exposição diária a estresse não foi capaz de promover o aumento dos níveis de corticosterona, por outro lado, a exposição ao estresse repetido associado a uma dieta hipercalórica promoveu o aumento da adiposidade visceral.

Nossos resultados estão de acordo com estudos que mostram que apesar do cortisol secretado durante períodos de estresse estar relacionado à obesidade, muitos indivíduos obesos não apresentam hipercortisolemia (Dallman *et al.*, 2003; Seckl *et al.*, 2004). Em contrapartida indivíduos obesos possuem elevado *clearance* de cortisol, diminuição da globulina ligadora de glicocorticóides e alta densidade de receptores de glicocorticóides (GR) no tecido adiposo (Bronnegard *et al.*, 1990; Salehi *et al.*, 2005; Pasquali *et al.*, 2006), estes fatores favorecem a metabolização do cortisol (Rebuffe-Scrive *et al.*, 1990; Pasquali *et al.*, 2006). O *clearance* de cortisol aumenta na proporção em que aumenta a gordura visceral, o que resulta na redução dos seus níveis plasmáticos e maior estímulo do HHA (Lottenberg *et al.*, 1998). Com isso os níveis plasmáticos de cortisol tendem a ficar normalizados. Em nosso estudo, a exposição a estresse não apresenta aumento nos níveis séricos de cortisol pode estar ocorrendo aumento da atividade dos GCs na gordura abdominal devido à atividade local aumentada da enzima 11 β HSD-1, que converte cortisol em cortisona (corticosterona em 11-dihidrocorticosterona em roedores), em seus metabólitos inativos, e vice versa (Livingstone *et al.*, 2005; Stimson *et al.*, 2010).

Adicionalmente, o estresse crônico, combinado a uma dieta hipercalórica, tem sido relacionado à obesidade abdominal pela liberação de NPY e ativação de seus receptores no tecido adiposo (Kuo *et al.*, 2008). Em situações de estresse intenso e prolongado, NPY é liberado pela inervação simpática, e atua na

proliferação e diferenciação de pré-adipócitos (Dallman *et al.*, 2003; Mashiko *et al.*, 2003; Kuo *et al.*, 2008). Estudos demonstram que o NPY estimula e amplifica a adipogênese, e pode levar a um crescimento da gordura visceral em 50% em duas semanas (Dallman, 2003). Em nosso estudo observamos que a associação estresse/dieta promoveu aumento do tecido adiposo, portanto, não podemos descartar o envolvimento do NPY neste resultado.

Com relação a perfil lipídico e estresse crônico observamos uma diminuição nos níveis plasmáticos de triglicerídeos em relação aos demais grupos, associado à diminuição do tecido adiposo em relação aos grupos estresse/dieta e dieta. Estudos têm demonstrado que o ACTH, hormônio liberador associado ao eixo HHA e conseqüentemente, ao estresse, tem efeitos benéficos sobre o perfil lipídico, diminuindo, TAG, VLDL e LDL (Berg *et al.*, 1996; Arnadottir *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2007; Skoog *et al.*, 2010). Tem sido considerado que a diminuição dos TAG plasmáticos na exposição ao estresse crônico por imobilização se reflete na fração VLDL, que é o principal transportador de TAG, enquanto que alterações plasmáticas nos níveis de colesterol total são refletidas na fração HDL, a principal lipoproteína de transporte para o colesterol em ratos. Estudo prévio demonstrou diminuição no teor da fração do VLDL-colesterol com exposição a estresse agudo, provavelmente devido a aumento na metabolização das lipoproteínas, reduzindo o número de partículas na fração TAG/HDL, sem serem observadas alterações significativas nos níveis de LDL-colesterol (Ruiz de Gordo *et al.*, 1994). Em nosso estudo, onde utilizamos um modelo de estresse crônico, encontramos apenas diminuição no colesterol LDL sem alteração no colesterol VLDL ou HDL. No entanto quando o estresse repetido foi associado à dieta hipercalórica observou-se um efeito antagônico da dieta revertendo este efeito. A diminuição nos níveis plasmáticos de

TAG observada após a exposição ao estresse crônico tem sido descrita em outros estudos (Starzec *et al.*, 1981; Robertson & Smith, 1976). No entanto, há resultados contraditórios, que vão desde situações que não apresentam variação (Rebuffe-Scrive *et al.*, 1992), ao aumento nos níveis séricos (Hershock & Vogel, 1989) que em alguns estudos estão associados a uma dieta rica em lipídios o que pode condicionar os resultados. Podemos sugerir que os baixos níveis de TAG associados ao estresse observados neste estudo podem ser devido a um aumento em sua hidrólise e sua degradação em alguns tecidos periféricos em resposta ao aumento da atividade da lipoproteína lipase (LPL), presente na parede dos vasos que hidrolisa TAG e regula a entrada de lipoproteínas nos tecidos (Rogers & Robinson, 1974; Preiss-Landi *et al.*, 2002; Lim *et al.*, 2009).

Em nosso estudo não observamos alteração significativa no colesterol plasmático nos grupos analisados. Em humanos, o estresse crônico tem sido relacionado a aumento dos níveis de colesterol plasmático (Muldoon *et al.* 1992; Rosmond *et al.*, 2005), mas em animais, esta resposta é variável, e os principais efeitos são encontrados no estresse crônico, com aumento (Berger *et al.*, 1980), redução (Hershock & Vogel, 1989), ou sem alterações significativas (Harada *et al.*, 2003). Nestes estudos, foi utilizada dieta rica em colesterol e diferentes modelos de estresse e, em nosso estudo, utilizando o modelo de estresse por imobilização e uma dieta hipercalórica, não foi observada alteração nos níveis plasmáticos de colesterol total. Cabe salientar que os animais estressados (grupos E e DE) assim como o grupo CT, apresentaram uma menor ingestão calórica em relação ao grupo dieta (D), no entanto observamos uma forte tendência a aumento nos níveis de colesterol total no grupo em que a dieta foi associada ao estresse (DE) (ANOVA de uma via, $P=0,059$), sugerindo um efeito sinérgico da dieta hipercalórica e estresse

em relação a este parâmetro, efeito que poderia ser confirmado com o aumento no tempo de tratamento ou no número de animais analisados.

Os níveis plasmáticos de glicose apresentaram-se normais nos animais cronicamente estressados. Destaca-se que as medidas foram realizadas 24h após a última sessão de estresse corroborando estudo prévio que demonstra que o aumento dos níveis de glicose após a sessão de estresse se mantém por pelo menos 2 horas após a sessão de estresse (Ely *et al.*, 1997). Não podemos descartar, na análise deste parâmetro, o envolvimento do processo adaptativo decorrente da exposição repetida ao estresse (habituação ou tolerância metabólica) (Ely *et al.*, 1997).

A dieta hipercalórica isoladamente (grupo D) promoveu aumento significativo no ganho de peso dos animais ao longo das seis semanas, dado este corroborado pelo aumento do delta de peso destes animais (peso final-peso inicial) e do índice de Lee que corresponde ao IMC utilizado em humanos (Leme *et al.*, 2008). Além disto, a dieta promoveu isoladamente aumento significativo do tecido adiposo, aumento dos níveis de leptina e TAG em relações aos demais grupos. Com base nestes resultados podemos afirmar que os animais que receberam dieta de cafeteria sem a exposição a estresse tornaram-se obesos quando comparados aos demais grupos no período de seis semanas. Estes resultados estão em acordo com estudos que utilizam dietas hipercalóricas, por tempo aproximado ou inferior ao nosso protocolo (Widdowson *et al.*, 1997; Harada *et al.* 2003; Swezea *et al.*, 2010).

O significativo aumento da ingestão calórica observada nos animais do grupo D, não se refletiu em um aumento na eficiência alimentar, apesar de observarmos uma forte tendência a aumento na segunda semana de tratamento (SNK, $P=0,053$). Além disto, a dieta de cafeteria promoveu um acúmulo significativo

do tecido adiposo visceral total (mesentérico, epididimal e retroperitoneal). Outros trabalhos utilizando animais tratados com dieta de cafeteria demonstraram significativo aumento no consumo alimentar o que conseqüentemente leva ao ganho de peso e a aumento dos coxins adiposos (Boqué *et al.*, 2009, Foster *et al.*, 2009; Lomba *et al.*, 2010).

A elevação dos níveis de TAG em animais alimentados com dietas hipercalóricas, também encontrada neste trabalho, é um achado recorrente em diversos estudos relacionados a modelos de obesidade, que associam o aumento da adiposidade ao aumento nos níveis de TAG (Kelley *et al.*, 2004; Oron-Herman *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2007; Lomba *et al.*, 2010). É importante salientar que os níveis plasmáticos de TAG mostraram-se opostos nos grupos E (diminuídos) e D (aumentado). No entanto no grupo DE houve uma compensação entre os efeitos mantendo os níveis plasmáticos de triglicérides iguais ao grupo CT. Portanto neste parâmetro o efeito do estresse antagonizou o efeito da dieta. Podemos sugerir que o aumento nos níveis de TAG observado no grupo D possa ser decorrente da lipólise, que aumenta a liberação de ácidos graxos livres na circulação porta, a síntese de TAG pelo fígado e inibe a lipólise de quilomícrons remanescentes e VLDL por inibir LPL (Lann & LeRoith, 2007). Adicionalmente, tem sido descrito que o acúmulo de tecido adiposo, principalmente na região abdominal leva a um acentuado aumento no fluxo de ácidos graxos livres para o fígado, estimulando a síntese de TAG (Lewis, 1997).

Os níveis circulantes de colesterol total, HDL e VLDL não foram significativamente alterados em nosso estudo. Surpreendentemente, os animais submetidos somente ao modelo de estresse (grupo E) apresentaram uma diminuição no colesterol-LDL. O grupo DE apresentou uma forte tendência a

aumento do colesterol total em relação aos demais grupos (ANOVA de uma via/SNK $P=0,059$), sugerindo um efeito sinérgico da exposição ao estresse e da dieta hipercalórica. Diversos estudos demonstram que a utilização de dietas hipercalóricas leva a um aumento da adiposidade visceral e central, na taxa de lipogênese, e na concentração de colesterol sérico (Schrauwen & Westerterp, 2000; Gauthier *et al.*, 2003; Estadella *et al.*, 2004; Burneiko *et al.*, 2006; Sene-Fiorese *et al.*, 2008). Outros estudos demonstram aumento nos lipídios séricos associado a dietas hipercalóricas (Lomba *et al.*, 2010) enquanto outros não mostram alteração nestes parâmetros (de Kloet *et al.*, 1993; Thomas-Moya *et al.*, 2007; Eu *et al.*, 2010). Esta diversidade de resultados pode ser resultante da utilização de diferentes protocolos de dieta variando o tempo de aplicação ou a composição das dietas ou ambos.

Observamos que animais estressados cronicamente apresentam uma diminuição no colesterol LDL. O que não é um resultado esperado, pois é sabido que a exposição a estresse crônico é um fator de risco para doença arterial coronariana com aumento de LDL (Krantz & Manuck, 1984; Jiang *et al.*, 1996; Bunker *et al.*, 2003, Jin *et al.*, 2010), podemos sugerir que pelo fato de termos calculado LDL este resultado pode não refletir a realidade, estudos demonstram que a fórmula de *Friedewald* não apresenta um desempenho homogêneo para estimar LDL em amostras com diferentes níveis de TAG, quando comparado ao método de dosagem direta de LDL (Cordova *et al.*, 2004; Piva & Fernandes, 2008).

O perfil lipídico é composto por um grupo de dosagens bioquímicas utilizadas no diagnóstico de distúrbios lipêmicos de interesse clínico por constituírem fatores de risco para doenças cardiovasculares (Goldeberg, 1981; Brites *et al.*, 1998; Burtis & Ashwood, 1996). A forte relação entre a concentração de lipídeos séricos

(colesterol total- (HDL-C, LDL-C, VLDL-C e triacilglicerol) com a ocorrência de aterosclerose já está bem estabelecida (Castelli , 1998; Cummings , 2003; Igweh *et al.*, 2005). Vários "índices aterogênicos" foram definidos, com base em valores conhecidos de LDL, HDL, apolipoproteínas, triglicerídeos e colesterol. São amplamente usados como indicadores de risco para doença cardiovascular, com maior valor preditivo do que parâmetros isolados usados de forma independente. Entre eles podemos citar a relação entre Colesterol total/HDL, a relação entre LDL/HDL, relação entre apolipoproteína A/apoproteína B, o logaritmo da relação TAG/HDL (Millan *et al.*, 2009). No entanto, em nosso estudo, calculamos alguns índices de risco (colesterol total/HDL, LDL/HDL, TGA/HDL, dados não mostrados) e não observamos diferença significativa entre os grupos (ANOVA de uma via $P>0,05$).

Nossos resultados demonstram que os animais do grupo submetidos à dieta de cafeteria apresentaram níveis de leptina e de TAG circulantes, significativamente superiores comparados ao grupo controle. Salientando que, quando a dieta hipercalórica foi associada ao estresse crônico (grupo DE), observamos níveis de leptina ainda maiores que o grupo D, sugerindo que há um efeito sinérgico entre estresse e dieta para este parâmetro.

A hiperleptinemia pode ser associada ao significativo aumento do peso de tecido adiposo. O tecido adiposo tem a capacidade de regenerar GCs através da enzima 11 β HSD-1, e como a leptina é sintetizada principalmente nestes tecidos os GCs intra-tissulares poderiam estar induzindo aumento nos níveis de leptina circulantes. Os GCs por sua vez, levam ao aumento da deposição de gordura visceral e a consequente aumento da resistência à insulina (Chrousos, 2007), e a exposição ao estresse poderia estar potencializando este efeito.

Associado ao aumento do peso de tecido adiposo e a hiperleptinemia, os animais dos grupos D e DE apresentaram uma maior ingestão calórica. Sabe-se que existe uma relação entre o aumento na ingestão calórica, adiposidade e maior secreção de leptina, sendo o tecido adiposo apontado como fator direto no aumento da secreção de leptina, e ambos relacionados com aumentos do índice de massa corporal (IMC) (Banks & Lebel, 2002). Os níveis de leptina tornam-se elevados em presença de dieta hipercalórica a partir de uma semana de administração (Foster *et al.*, 2009). A leptina, assim como a insulina, é um modulador lipostático que regula a ingestão e o gasto energético em relação ao estoque de gordura corporal (Sato *et al.*, 2003). Como a leptina age inibindo a ingestão (Dubey *et al.*, 2008) em situação de normalidade de peso altos níveis de leptina reduzem a ingestão alimentar e baixos níveis induzem hiperfagia (Zhang *et al.*, 1994). Em nosso estudo observamos a leptina aumentada nos animais que receberam dieta de cafeteria em acordo com o aumento da ingestão calórica e do tecido adiposo, mas este aumento nos níveis de leptina não resultaram em inibição da ingestão alimentar o que pode sugerir a presença de resistência a leptina nestes animais. Estudos prévios indicam que indivíduos obesos apresentam altos níveis plasmáticos de leptina (Fleisch *et al.*, 2009), fenômeno conhecido como resistência a leptina, que se assemelha à resistência a insulina. Esta alteração pode estar relacionada aos receptores de leptina ou ainda ao seu sistema de transporte através da barreira hematoencefálica (Valle *et al.*, 2003; Romero *et al.*, 2006), no entanto os mecanismos pelo qual se desenvolve a resistência a leptina ainda não estão totalmente estabelecidos.

Diversas substâncias podem interferir no aumento da expressão da leptina, entre elas a insulina e os GCs. Estudos demonstram uma correlação positiva entre os níveis de leptina e GCs, associados a um balanço energético favorável levam ao aumento do tecido adiposo e conseqüente aumento nos níveis de leptina, enquanto que na presença de catecolaminas ativando receptores β -adrenérgicos ocorre diminuição dos níveis de leptina (Fried *et al.*, 2000; Rayner *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2002). Nos animais estressados observamos diminuição dos níveis de leptina, sem alteração nos níveis de corticosterona, podemos sugerir que o efeito observado seja devido à alteração nos níveis de catecolaminas, parâmetro que não foi contemplado nesta dissertação,

Outro mecanismo envolvido na hiperleptinemia destes animais poderia ser a presença de insulina aumentada, pois estudos sugerem que esse hormônio, aliado aos GCs, são importantes reguladores dos níveis de leptina em humanos (Fried *et al.*, 2000; Rayner *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2007). Estudos demonstram também que a partir de quatro semanas de indução de obesidade com dietas hipercalóricas, já é possível observar resistência à insulina (Chun *et al.*, 2010). Em nossos experimentos não avaliamos os níveis de insulina, mas podemos sugerir aumento nos níveis deste hormônio devido à normoglicemia de jejum encontrada nos grupos que receberam dieta hipercalórica. Corroborando estudos que demonstram que animais obesos não apresentam aumento da glicemia, por um mecanismo compensatório aumentando os níveis circulantes de insulina para compensar sua ação reduzida e manter a normoglicemia (Dean, 1998; Prada *et al.*; Foster *et al.*, 2009). Este tipo de compensação ocorre também com humanos resistentes a insulina e obesos, envolve grande plasticidade das células β pancreáticas que aumentam a secreção de insulina (Prentki & Nolan, 2006; Henquin *et al.*, 2008).

Não podemos descartar que a normoglicemia observada nos grupos expostos a dieta hipercalórica seja decorrente ao tempo de exposição a dieta não ter sido suficiente para provocar alteração nos níveis glicêmicos destes animais, considerando estudos prévios que obtiveram hiperglicemia utilizando período mais prolongados de tratamento (Brandt *et al.*, 2010; Sampey *et al.*, 2011).

Os resultados obtidos neste trabalho nos levam a concluir que a presença de dieta hipercalórica é preponderante em relação ao estresse na determinação de parâmetros como ganho de peso total, tecido adiposo e níveis leptina. Além disto, é possível concluir que a exposição da dieta hipercalórica por 40 dias foi capaz de tornar os animais obesos e de alterar importantes parâmetros que podem levar ao estabelecimento de síndrome metabólica, como aumento do peso, do tecido adiposo visceral, do índice de Lee (que corresponde ao IMC em humanos) e dos níveis de triacilglicerol. O estresse crônico associado à dieta hipercalórica mostrou forte tendência em aumentar o nível de colesterol total, o que provavelmente teria ocorrido com um maior tempo de exposição aos tratamentos, corroborando dados da literatura que indicam como fatores de risco para doenças cardiovasculares a associação de estresse crônico e dietas hipercalóricas (DBO-Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010; Hurt *et al.*, 2010).

VIII. CONCLUSÃO

VIII. CONCLUSÃO

O conjunto de alterações observadas nos ratos com dieta hipercalórica por 40 dias, apresenta algumas características da síndrome metabólica humana, como aumento do peso, do índice de Lee (que corresponde ao IMC para humanos), da adiposidade visceral e da concentração sérica de triacilglicerol. A associação de um protocolo de estresse crônico a um modelo de dieta hipercalórica conhecida como dieta de cafeteria demonstra que a dieta teve predomínio em relação ao estresse em alguns parâmetros como ganho de peso de tecido adiposo e níveis de leptina. Por outro lado, o estresse se sobrepôs diminuindo alguns parâmetros em relação ao grupo dieta, como o ganho de peso corporal, ingesta calórica, ingesta de refrigerante e consumo hídrico total, associados a um maior aumento nos níveis de leptina e uma tendência a aumento nos níveis séricos de colesterol total.

Portanto, podemos concluir que estresse crônico e dieta hipercalórica associados ou individualmente estão envolvidos com alterações ponderais e bioquímicas, sendo importantes fatores de risco à saúde.

IX. PERSPECTIVAS

IX. PERSPECTIVAS

Para melhor entendimento dos mecanismos propostos no aumento da obesidade em relação ao estresse e a dieta de cafeteria, torna-se necessário a realização da dosagem de outros marcadores como NPY, que atua na proliferação e diferenciação de pré-adipócitos; de catecolaminas, por atuarem em receptores β -adrenérgicos e levarem a diminuição dos níveis de leptina; de insulina, devido sua capacidade de interferir na expressão da leptina. E também a avaliação quantitativa e qualitativa do tecido adiposo (mesentérico, epididimal e retroperitoneal) relacionando ao tecido adiposo visceral total, é útil para avaliar o risco apresentado por estes diferentes locais de adipogênese.

X. REFERÊNCIAS

X. REFERÊNCIAS

Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol*, 2000; 62: 413–437.

Amuna P, Zotor FB. Epidemiological and nutrition transition in developing countries: impacto in human health and developments. *Proc Nutr Soc*, 2008; 67(1): 82-90.

Arnadottir M, Berg AL, Dallongeville J, Fruchart JC, Nilsson-Ehle P. Adrenocorticotrophic hormone lowers serum Lp(a) and LDL cholesterol concentrations in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 1997; 52(6):1651–1655.

Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab*, 2003; 14(3): 137-45.

Banks WA, Lebel CR. Strategies for the delivery of leptin to the CNS. *J Drug Target*. 2002; 10(4): 297-308.

Bartolomucci A, Cabassi A, Govoni P, Ceresini G, Cero C *et al*. Metabolic consequences and vulnerability to diet-induced obesity in male mice under chronic social stress. *Plos ONE* 4(1): Issue1:e4331, 2009.

Berg AL, Nilsson-Ehle P. ACTH lowers serum lipids in steroid-treated hyperlipemic patients with kidney disease. *Kidney International* 50: 538-542, 1996.

Berne RM e Levy ML. Fisiologia. 5ª edição. *Elsevier*, 2004.

Bjorntorp P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obs Rev*, 2001; 2: 73-86.

Bloss EB, Janssen WG, McEwen BS, Morrison JH. Interactive effects of stress and aging on structural plasticity in the prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2010 May 12;30(19):6726-31.

Blundell JE, Hill, AJ. Behavioural pharmacology of feeding: relevance of animal experiments for studies in man. In M.O. Carruba & J.E. Blundell (Eds.)

Pharmacology of Eating Disorders: Theoretical and Clinical Advances, 1986; pp.51-70.

Booth FW, Chakravarthy MV, Spangenburg EE. Exercise and gene expression: Physiological regulation of the human genome through physical activity. *J Physiol*, 2002; 543: 399-411.

Boqué N, Campión J, Milagro FI, Moreno-Aliaga MJ, Martinez JA. Some cyclin-dependent kinase inhibitors-related genes are regulated vitamin C in a model os diet-induced obesity. *Biol Pharm Bull*, 2009; 32(8): 1462-68.

Bowers SL, Bilbo SD, Dhabhar FS, Nelson RJ. Stressor-Specific Alterations in Corticosterone and Imune Responses in Mice. *Brain Behav Immun*, 2008; 22(1): 105-113.

Brandt N, De Bock K, Richter EA, Hespel P. Cafeteria diet-induced insulin resistance is not associated with decreased insulin signaling or AMPK activity and is alleviated by physical training in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010 Aug;299(2):E215-24.

Bright GM. Corticosteroid-binding globulin influences kinetic parameters of plasma cortisol transport and clearance. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995 80:770–775.

Bronnegard M, Arner P, Hellstrom L, Akner G, Gustafsson JA. Glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid in different regions of human adipose tissue. *Endocrinology*, 1990; 127: 1689-96.

Brunner EJ, Chandola T, Marmot MG, 2007 Prospective effect of job strain on general and central obesity in the Whitehall II Study. *Am J Epidemiol* 165: 828-837.

Buckingham JC. Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *British Journal of Pharmacology*, 2006; 147: S258-S268.

Bunker SJ, Colquhoun DM, Esler Md, Hickie IB, Hunt D, Jelinek VM, et al. Stress and coronary heart disease: psychosocial risk factors. *MJA*, 2003; 178:272-6.

Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM *et al.* Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1167–1172.

Buynitsky T and Mostofsky. Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2009; 33: 1089-98.

Campeau S, Dolan D, Akil H, Watson SJ. c-fos mRNA induction in acute and chronic audiogenic stress: Possible role of the orbitofrontal cortex in habituation. *Stress*, 2002; 5(2):121–130.

Cancela, L. M.; Bregonzio, C.; Molina, V. A. Anxiolytic-like effect induced by chronic stress is reversed by naloxone pretreatment. *Brain Research Bulletin*, 1995 v.36, p. 209-213.

Castro IRR, Cardoso LO, Egstrom EM, Levy RB, Monteiro CA. Vigilância de fatores de risco para doenças não transmissíveis entre adolescentes: a experiência da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2008; 24(10):2279-2288.

Chinn S, Rona RJ. Prevalence and trends in overweight and obesity in three cross sectional studies of British children, 1974-94. *BMJ* 2001; 322:24-6.

Chrousos DP, MD. Organization and integration of the endocrine system. National Institute of Health. *Sleep Med Clin*, 2007; 2(2): 125-145, Review.

Cinti S. The adipose organ. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 2005;73:9-15.

Coccorello R, D'Amato FR, Moles A. Chronic social stress, hedonism and vulnerability to obesity: Lessons of rodents. *Neuroscience Biobehav Rev In press*, 2008.

Cordova CMM, Schneider CR, Juttel ID, Cordova MM. Avaliação da dosagem direta de Colesterol-LDL em amostras de sangue de 10.664 pacientes em comparação com o uso da fórmula de Friedewald. *Arq Bras de cardiol*, 2004; 83:nº 6.

Dallman MF, La Fleur SE, Pecoraro NC, Gomez F, Houshyar H, Akana SF. Minireview. Glucocorticoids food intake, abdominal obesity, and wealthy nations in 2004. *Endocrinology*, 2004; 145: 2633–2638.

Dallman MF, Pecoraro N, Akana SF, La Fleur SE, Gomez F, Houshyar H, Bell ME, Bhatnagar S, Laugero KD, Manalo S. Chronic stress and obesity: a new view of “comfort food.”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100.

DBO - Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010/ABESO – Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. 3ª Ed. – Itapevi SP: AC Farmacêutica, 2009.

Dean HJ. Diagnostic criteria for non insulin dependent diabetes in youth (NIDDM-Y). *Clin Pediatr*, 1998; 37:67-72.

Desbrieri R, Vuaroqueaux v, Achard V, Boullou-Ciocca S, Lebuhn M, Dutour A, Grino M. 11 beta-hidroxisteroid dhydrogenase type 1 mRNA is increased in both visceral and subcutaneous adipose tissues of obese patients. *Endocrinology & Metabolism; Nutrition & Dietetics* 2006; Vol 14, Issue: 5:794-798.

Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 2006 ; 444: 881–887.

Després J-P, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E. *et al.* Abdominal Obesity and the Metabolic Syndrome : Contribution to Global Cardiometabolic Risk. *Atheroscl Trom Vasc Biol*, 2008; 28: e 151; 1039-49.

de Kloet ER, Sutanto W, Van den Berg DT, Carey MP, van Haarst AD, Hornsby CD, Meijer OC, Rots NY, Oitzl MS. Brain mineralocorticoid receptor diversity: functional implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1993; 47(1-6):183-90. Review.

Dietrich MO, Muller A, Bolos M, Carro E, Perry MI, Portela LV, Souza DO, Torres-Aleman I. Western style diet impairs entrance of blood-borne insulin-like growth factor-1 into the brain. *Neuromol Med*, 2007; 9:324-30.

Disalver SC, Snider RM, Alessi NE. Stress induced supersensitivity of a cholinergic system in rats. *Biology Psychiatric*, v. 21, p.1093-1106, 1986.

Dotz C. Sympathetic control of white adipose tissue in lean and obese humans. *Acta Physiol Scand*, 2003; 177: 351-357.

Downs SM, Arnold A, Marshall D, McCargar LJ, Reine KD, Willows ND. Association among the food environment, diet quality and weight status in Cree children in Quebec. *Public Health Nutrition*, 2009; 12(9); 1504-1511.

Drake AJ, Livingstone DE, Andrew R, Seckl JR, Morton NM, Walker BR. Reduced adipose glucocorticoid reactivation and increased hepatic glucocorticoid clearance as an early adaptation to high-fat feeding in Wistar rats. *Endocrinology*, 2005; 146:913–919.

Eguchi R, Cheik NC, Oyama L M, Nascimento CMO, Mello MT, Tufik S, Dâmaso A. Efeitos do exercício crônico sobre a concentração circulante da leptina e grelina em ratos com obesidade induzida por dieta. *Rev Bras Med Esporte*, 2008, vol.14, no.3, p.182-187.

Eikelis N, Schlaich M, Aggarwal A, Kaye D, Elser M. Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system. *Hypertension*, 2003; 41(5): 1072-9.

Einarsson S, Brandt Y, Lundeheim N, Madej a. Stress and its influence on reproduction in pigs: a review. *Acta Vet Scand*; 50:48, 2008.

Ely DR, Dapper V, Marasca J, Corrêa JB, Gamaro GD, Xavier MH, *et al.* Effect of restraint stress and feeding behavior of rats. *Physiol Behav*, 1997; 61: 395-8.

Epel ES. Psychological and metabolic stress: A recipe for accelerated cellular aging? *Hormones*, 2009; 8(1):7-22. Review.

Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect palatable hiperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercise rats. *Nutrition*, 2004; 20(2): 218-24.

Eu CHA, Lim WYA, Ton SH, Kadis KA. Glycyrric acid improved lipoprotein expression, insulin sensitivity, serum lipid and lipid deposition in high fat induced obese rats. *Lipids in health and disease*, 2010; 9:81.

Filkestein Y, Koffler B, Rabey JM, Gilad GM. Dynamics of cholinergic synaptic mechanisms in hippocampus after stress. *Brain Research*, v. 343, p. 314-319, 1985.

Foster TM, Warne JP, Ginsberg AB, Hornemann HF, Pecoraro NC, Akana SF, Dallman MF. *Endocrinology*, 2009; 150(5); 2325-2333.

Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrere B. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr* 130: 3127S–3131S, 2000.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972;18:499-502.

Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001; 280: E827–E847.

Gajda MA, Pellizon MA, Ricci M, Uhlman E. A discussion of how diets made from purified ingredients influence the phenotypes of the MS in commonly used rodent models. *Research Diets*, 2007.

Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr*, 2000; 3: 694-701.

Galon J, Franchimont D, Hiroi N *et al.* Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *FASEB J*, 2002;16:61-71.

Galvez MP, Hong L, Choi E, Liao L, Godbold J, Brenner B. Childhood Obesity and Neighborhood Food Store Availability in an Inner City Community. *Acad Pediatr*, 2009; 9(5): 339-343.

Gamaro GD. Estresse crônico variável: estudo de alguns parâmetros bioquímicos e comportamentais. Porto Alegre, UFRGS, 1998. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Bioquímica), Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, com ênfase em Bioquímica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 123 pp.

Gauthier MS, Couturier K, Latour JG, Lavoie JM. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. *J Appl Physiol* 2003; 94:2127–2134.

Giorgino F, Laviola L, Eriksson JW. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from *in vivo* and *in vitro* studies. *Acta Physiol Scand*, 2005;183:13–30.

Goldstein, DS. Adrenal Responses to Stress. *Cell Moll Neurobiology*, 2010;9606-09.

Graeff FG. Ansiedade, pânico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. *Rev. Bras. Psiquiatr*,2007; 29 (suppl.1).

Graeff FG. Biological basis of posttraumatic stress disorder. *Rev Bras Psiquiatr*, 2003; 25(Supl 1): 21-4.

Graham M, Shutter JR, Sarmiento U, Sarosi I, Stark KL. Overexpression of AgrP leads to obesity in transgenic mice. *Nat Genet*, 1997;17: 273–274.

Hastert TA e Babey SH. School Lunch Souce and Adolescent Dietary Behavior. Centers for Disease Control Prevention. *Preventing Chronic Disease*, 2009; 6(4).

Havel PJ. Update on adipocyne hormones regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes*, 2004; 53:1; 143-51.

Harada K, Shen WJ, Potel S, Natu V, Wang J, Osuga J, *et al.* Resistance to hight-fat dieta induced obesity and altered expression of adipose-specific genes in HSL-deficiente mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003; 285: E1182-E1195.

Hauger RL, Millan MA, Lorang M, Harwood JP, Aguilera G. Corticotropin-releasing factor receptors and pituitary adrenal responses during immobilization stress. *Endocrinology*, 1988, v. 123, p. 396-405.

Hauer H, Schmid P, Pfeiffer EF. Glucocorticoids and insulin promote the differentiation of human adipocyte precursor cells into fat cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 1987;64:832–835.

Hauner H. The new concept of adipose tissue function. *Physiol Behav*, 2004; 83(4); 653-8.

Henquin JC, Cerasi E, Efendic S, Steiner DF, Boitard C. Pancreatic beta-cell mass or beta-cell function? *That is the question! Diabetes Obes Metab* 2008;10:Suppl.4:1–4.

Hill MN, Carrier EJ, HO WS, Shi I, Patel S, Gorzalka BB, Hilard CJ. Prolonged glucocorticoid treatment decrease cannabinoid CB1 receptor density in the hippocampus. *Hippocampus*, 2008; 18: 221-226.

Ho SC, Chen YM, Woo JL, Leung SS, Lam TH, Janus ED. Association between simple anthropometric indices and cardiovascular risk factors. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25:1689-97.

Hoffmann, BB, Taylor, P. Neurotransmission. The autonomic and somatic motor nervous system. In: Hardman, JG, Limbird, LE, Gilman, AG (eds). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10^a edição, 2006, McGraw-Hill; São Paulo.

Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor to cardio vascular disease independent of high density lipoprotein cholesterol level: a meta analysis of population based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*, 1996; 3:213–219).

Holm C. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans*, 2003; 31(6): 1120-1124.

Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm E, Colditz GA, et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med*. 1997;337(21):1491-1499.

Hurt RT, Kulisek C, Buchanan LA, McClave SA. The obesity epidemic: challenges, health initiatives, and implications for gastroenterologists. *Gastroenterol Hepatol (NY)*, 2010; 6(12):780-92.

Igweh JC, Nwagha IU, Okaro JM. The Effects of Menopause on the Serum lipid profile of Normal Females of South East Nigeria. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*. 2005; 20(1–2):48–53.

Inagami S, Cohen DA, Finch BK, Asch SM. You are where you shop: grocery store locations, weight, and neighborhoods. *Am J Prev Med*, 2006; 31(1):10–17.

Jéquier E. Leptin Signaling, Adiposity, and energy Balance. *Ann N.Y. Acad Sci*, 2002; 967: 378-388.

Jiang W, Babyak M, Krantz DS, et al. Mental stress induced myocardial ischemia and cardiac events. *JAMA*, 1996; 275: 1651-6.

Jin Z, Wu JZ¹, Oh SY^b, Kim KW^c and Shin BS, The effect of stress on stroke recovery in a photothrombotic stroke animal model. *Brain Research* 2010; 1363: 191-197.

Johnson RJ, Andrews P, Benner SA, Oliver W.Theodore E. Woodward award. The evolution of obesity: insights from the mid-Miocene. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2010; 121:295-305.

Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Tanaka T, Furuta M, Araki-Sasaki R, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y. Plasma levels of agouti-related protein are increased in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86: 1921–1924.

Kearney, J. Food consumption trends and drivers. *Phil Trans R Soc B*, 2010; 365: 2793-2807.

Kelley GL, Allan G, Azhar S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinol*, 2004;145:548-55.

Kelley DE, Thaete FL, Toost F, Huwe T, Goodpaster BH. Subdivisions of subcutaneous, abdominal adipose tissue, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2000; 278: E941-E948.

Knight ZA, Hannan KS, Greenberg ML, Friedman JM. Hyperleptinemia Is Required for the Development of Leptin Resistance. *Plos One*, 2010 5(6): e11376.

Krantz DS, Manuck SB. Acute psychophysiologic reactivity and risk of cardiovascular disease: A review and methodologic critique. *Psychol Bull*, 1984; 96: 435-64.

Kouvonen A, Kivimaki M, Cox SJ, Cox T, Vahtera J. Relationship between work stress and body mass index among 45,810 female and male employees. *Psychosom Med*, 2005; 67: 577-583.

Kuo LE, Czarnecka M, Kitlinska JB, Tilan JU, Kvetnasky R, Zukowska Z. Chronic stress, combined with a high-fat/high-sugar diet, shifts sympathetic signaling toward neuropeptide Y and leads to obesity and the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 2008; 1148: 232-237.

Kvetnasky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic Systems in Stress: Structural and Molecular Genetic Approaches. *Physiol. Rev*, 2009; 89: 535-606.

Lachuer J, Delton I, Buda M, Tappaz M. The habituation of brainstem catecholaminergic groups to chronic daily restraint stress specific like that of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Brain Research*, 1994. v. 638, p. 196-202.

Lana AC, Paulino CA, Gonçalves ID. Influencia de los ejercicios físicos de baja y alta intensidad sobre el límite de hipernocicepción y otros parámetros en ratones *Rev Bras Med Esporte*, 2006, vol.12 no.5.

Laraia B A, Siega - Riz A M, Kaufman J S. *et al* Proximity of supermarkets is positively associated with diet quality index for pregnancy. *Prev Med*, 2004; 869–875.

Lee MJ, Wang Y, Ricci MR, Sullivan S, Russell CD, Fried SK. Acute and chronic regulation of leptin synthesis, storage, and secretion by insulin and dexamethasone in human adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007; 292: E858–E864.

Lehninger AL. *Princípios de Bioquímica*. 4ª Edição, Ed Sarvier, 2006; São Paulo.

Leme ACA, Silveira RF, Manchado-Gobatto FB, Almeida CC, Mello MAR, Luciane E. Efeitos do exercício físico e do tratamento com metformina sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos obesos de ambos os sexos. <http://www.efdeportes.com>. ver digital, Buenos Aires, 2008; Año 13, nº 121. Acesso em 17/12/2010.

Levy-Costa RB, Sichieri R, Pontes NS, Monteiro CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: Distribuição e evolução (1974 -2003). *Rev Saúde Pública* 2005; 39(4): 530-540.

Li S, Wang C, Wang W, Dong H, Hou P, Tang Y. Chronic mild stress impairs cognition in mice: from brain homeostasis to behavior. *Life Sciences*, 2008; 82: 934-42.

Lim WY, Chia YY, Liong SY, Ton SH, Kadir KA, Husain SN. Lipoprotein lipase expression, serum lipid and tissue lipid deposition in orally-administered glycyrrhizic acid-treated rats. *Lipids Health Dis*; 2009 Jul 29;8:31.

Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of Sucrose, Glucose and Fructose on Peripheral and Central Appetite Signals. *Regulatory Peptides*, 2008; 150:26-32.

Livingstone DE, McInnes KJ, Walker BR, Andrew R. Increased A-ring reduction of glucocorticoids in obese Zucker rats: effects of insulin sensitization. *Obes Res*, 2005; 13(9):1523–1526.

Lottenberg SA, Gianella-Neto D, Derendorf H, Rocha M, Bosco A, Carvalho SV, et al. Effect of fat distribution on the pharmacokinetics of cortisol in obesity. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 1998; 36(9): 501-5.

Ludwig DS. Novel treatments for obesity. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2003; 12 Suppl: S8.

Mansi JA, Drolet G. Chronic stress induces sensitization in sympathoadrenal responses to stress in borderline hypertensive rats. *American Physiology Society*, 1997; v. 363, p. R813-R819.

Mariniello B, Ronconi V, Rilli S, Bernante P, Boscaro M, Mantero F & Giacchetti G Adipose tissue 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in obesity and Cushing's syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 2006;155 435–441.

Mashiko S, Ishihara A, Iwaasa H, Sano H, Oda Z, Ito J, Yumoto M, Okawa M, Suzuki J, Fukuroda T, Jitsuoka M, Morin NR, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Ihara M, Fukami T, Kanatani A.Characterization of neuropeptide Y (NPY) Y5 receptor-mediated obesity in mice: chronic intracerebroventricular infusion of D-Trp(34)NPY. *Endocrinology*, 2003; 144(5):1793-801.

Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Seckl JR, Flier JS A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science*, 2001; 94:2166–2170.

Mathis CE, Johnson DF, Collier G. Food and water intake as functions of resource consumption costs in a closed economy. *J Exp Anal Behav*, 1996; 65(3):527-47.

Moura RF, Cambri LT, Quadros Jr AC, Nascimento CMC, Arantes LM, et al. Capacidade aeróbia de ratos alimentados com dieta rica em frutose. *Rev Bras Méd Esporte*, 2008; 14:5.

Murray I, Sniderman AD, Havel PJ, Cianflone K.Acylating stimulating protein (ASP) deficiency alters postprandial and adipose tissue metabolism in male mice. *J Biol Chem*,1999; 17; 274(51):36219-25.

Myles S, Lea RA, Ohashi J, Chambers GK, Weiss JG, Hardouin E, Engelken J, Macartney-Coxson DP, et al..Testing the thrifty gene hypothesis: the Gly482Ser variant in PPARGC1A is associated with BMI in Tongans. *BMC Med Genet*, 2011; 18;12:10.

Nascimento AF, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Livizotto RAM, Nogueira CR, Cicogna AC. A hipercloric pellet-diet cycle induces obesity and comorbidities in wistar rats. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2008; 52(6):968-974.

Neel JV. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? *American Journal of Human Genetics*, 1962;14:353–62.

Nwagha UI, Igweh JC. Atherogenic Index of Plasma: A significant indicator for the onset of Atherosclerosis during menopause in hypertensive females of South East Nigeria. *Journal of College of Medicine*, 2005; 10(2):67–71.

Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 278: 135–138, 1997.

Oron-Herman M, Kamari Y, Yeger G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A, Sharabi Y. Metabolic Syndrome: Compararison of the two commonly used animal models. *Am J Hypertension*, 2008; 21(9): 1018-22.

Oron-Herman M, Rosenthal T, Mirelman D, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, et al. The effects of S allylmercaptocaptopril, the synthetic product of allicin and captopril, on cardiovascular risk factors associated with the metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 2005; 183:238-43.

Ostrander MM, Ulrich-Lai YM, Choi DC, Richtand NM, Hermann JP. Hypoatividade of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis during recovery from cronic variable stress. *Endocrinology*, 2006 April; 147(4): 2008-2017.

Pasquali R, Vicennati V, Cacciari M, Pagotto U. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obesity and the metabolic syndrome. *Ann NY Acad Sci*, 2006; 1083:111–128

Paulsen SK, Pedersen SB, Fisker S, Richelsen B. 11Beta-HSD type 1 expression in human adipose tissue: impact of gender, obesity, and fat localization. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15(8):1954–1960.

Pecoraro N, Gomez F, Bhargava A, Dallman MF. Chronic stress promotes palatable feeding, wich reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology*, 2004; 145: 3754-62.

Pecoraro N, Gomez GD, Laugero K, Dallman MF. Brief acess to sucrose engages food-entrainable rhytms in food-deprived rats. *Behav Neurosci*, 2002; 116:757-776.

Penicaud L, Cousin B, Leloup C, Lorsignol A, Casteilla L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. *Nutrition* 2000; 16:903-8.

Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Garidou ML, Wortel J, van der Vliet J, van Heijningen C, Simonneaux V, Pévet P, Buijs RM. Suprachiasmatic control of melatonin synthesis in rats: inhibitory and stimulatory mechanisms. *Eur J Neurosci*, 2003;17(2):221-8.

Peters JH, Karpel AB, Ritter RC, Simasko SM. Cooperative activation of cultured vagal afferent neurons by leptin and cholecystokinin. *Endocrinology*, 2004; 145(8):3652-7.

Pillariseti S, Saxena U: Lipoprotein lipase as a therapeutic target for dyslipidemia. *Front Biosci*, 2003, 8:d238-241.

Piva JPJ, Fernandes TR. Analytical comparison of values of LDL-cholesterol using the direct dosage and the calculation through the fórmula of Friedewald. *RBAC*, 2008; vol. 40(4): 279-283.

Prada PO, Zechin HG, Gasparetti AL, Torsoni MA, Ueno M, Hirata AE, *et al.* Western diet modulates insulin signaling, activity and IRS-1 ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. *Endocrinology*, 2005; 146(3): 1576-87.

Prasad SS, Prashanth A, Kumar CP, Reddy SJ, Giridharan NV, Vajreswari A. A novel genetically-obese rat model with elevated 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in subcutaneous adipose tissue. *Lipids Health Dis*, 2010; 17;9:132.

Preiss-Landi K, Zimmermann R, Hammerle G, Zechner R: Lipoprotein lipase: the regulation of tissue specific expression and its role in lipid and energy metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2002, 13(5):471-481.

Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 2006;116:1802-1812.

Rayner DV, Trayhurn P. Regulation of leptin production: sympathetic nervous system interactions. *J Mol Med*, 2000; 79: 8–20.

Rebuffe-Scrive M, Bronnegard M, Nilsson A, Eldth J, Gustafsson JA, Bjorntorp P. Steroid hormone receptor in human adipose tissues. *J Clin Endocrinol Metab*, 1990; 71:1215-9.

Ring LE, Zeltser LM. Disruption of hypothalamic leptin signaling in mice leads to early-onset obesity, but physiological adaptations in mature animals stabilize adiposity levels. *J Clin Invest*. 2010; 120(8):2931-41.

Rexrode KM, Pradhan A, Manson JE, Buring JE, Ridker PM. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Ann Epidemiol*, 2003; 13: 1-9.

Roberge C, Carpentier AC, Langlois MF, Baillargeon JP, Ardilouze JL, Matheux P, Gallo-Payet N. Adrenocortical dysregulation as a major player in insulin resistance and onset of obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007; 293: E1465-E1478.

Rogers MP, Robinson DS. Effects of cold exposure on heart clearing factor lipase and triglicéride utilization in the rat. *J Lipid Res*, 1974; 15: 263-272.

Romero CEM, Zanesco A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. *Rev. Nutr.*, Fev 2006, vol.19, no.1, p.85-91.

Rosmond R, Dallman MF, Bjorntorp P. Stress-related cortisol secretion in men: relationship with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83: 1853-9.

Ruiz de Gordo UC, Santafé J, Segarra DJ, et al. Modifications of rat plasma lipoproteins induced by acute immobilization stress. *Psychosom Med*, 1994, 56: 486:492.

Sainsbury A, Cooney GJ, e Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2002; 16(4): 623-37.

Salehi M, Ferenczi A, Zumoff B. Obesity and cortisol status. *Horm Metab Res*, 2005; 37: 193–197.

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity (Silver Spring)*, 2011 Feb 17.

Santhiago V, Voltarelli FA, Silva ASR, Pauli JR, Romero CEM, et al. Respostas fisiológicas em ratos wistar submetidos ao estresse térmico durante treinamento aeróbico e natação. [http://www.efports.com/Revista digital](http://www.efports.com/Revista%20digital), 2008, n° 121. Acesso em 17/12/2010.

Sapolsky RM. Neuroendocrinology of the stress-response. In: Becker JB, Breedlove SM, Crews D, editors. *Behavioral endocrinology*. Cambridge, MA: MIT Press; 1992. pp. 287–324.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocr Rev*, 2000; 21(1):55-89.

Sarlio-Lahteenkorva S, Lahelma E. The association of body mass index with social and economic disadvantage in women and men. *Int J Epidemiol*, 1999; 28(3):445-449.

Sasse SK, Greenwood BN, Masini CV, Nyhius TJ, Fleshner M, Day HEW, Campeau S. Chronic voluntary wheel running facilitates corticosterone response habituation to repeated audiogenic stress exposure in male rats. *Stress*, 2008; 11(6): 425–437.

Sato T, Laviano A, Meguid MM, Chen C, Rossi-Fanelli F, Hatakeyama K. Involvement of plasma leptin, insulin and free tryptophan in cytokine-induced anorexia. *Clin Nutr*, 2003; 22(2):139-46.

Schrauwen P, Westerterp KR. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr* 2000; 84: 417–427.

Schwartz MV. Staying slim with insulin in mind. *Science*, 2000; 289:2066-7.

Schwartz MV, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RI. Is the homeostasis system inherent biased toward weight gain. *Diabetes*, 2003; 52: 232-8.

Seckl JR, Morton NM, Chapman KE & Walker BR 2004 Glucocorticoids and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in adipose tissue. *Recent Progress in Hormone Research*, 59 359–393.

Seeley RJ, Drazen DL, Clegg DJ. The critical role of the melanocortin system on the control of energy balance. *Annu Rev Nutr*, 2004; 24: 133–149.

Selye H. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, v. 138, p. 32-36, 1936.

Selye H. *Stress Without Distress*. New York: *New York American Library*. 1974.

Sene-Fiorese M, Duarte FO, Scarmagnani FR, Cheik NC, Manzoni MS, Nonaka KO, Rossi EA, de Oliveira Duarte AC, Dâmaso AR. Efficiency of intermittent exercise on adiposity and fatty liver in rats fed with high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*, 2008; 16(10):2217-22.

Shin AC, MohanKumar SM, Sirivelu MP, Claycombe KJ, Haywood JR, Fink GD, MohanKumar PS. Chronic exposure to a high-fat diet affects stress axis function differentially in diet-induced obese and diet-resistant rats. *Int J Obes (Lond)*, 2010;34(7):1218-26.

Silveira PP, Portella AK, Crema L, Correa M, Nieto FB, Diehl L, Lucion AB, Dalmaz C. Both infantile stimulation and exposure to sweet food lead to an increased sweet food ingestion in adult life. *Physiol and Behavior*, 2008 (93): 877-882.

Simonyte K, Rask E, Näslund I, Angelhed JE, Lönn L, Olsson T, Mattsson C. Obesity is accompanied by disturbances in peripheral glucocorticoid metabolism and changes in FA recycling. *Obesity (Silver Spring)*.2009;17(11):1982-7.

Smith AW, Baum A, Wing RR. Stress and weight gain in parents of cancer patients. *Int J Obes*, 2005; 29: 244-50.

Skoog M, Xu N, Berggren-Soderlund M, Lovegrove JA, Nilsson-Ehle P. ACTH reduces the rise in ApoB-48 levels after fat intake. *Atherosclerosis*. 2007; 191(2):433–439.

Skoog M, Berggren-Soderlund M, Nilsson-Ehle P, Xu N. Lipid synthesis and secretion in HepG2 cells is not affected by ACTH. *Lipids Health Dis.* 2010; 9: 48.

Spencer RL, McEwen BS. Adaptation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis to chronic ethanol stress. *Neuroendocrinology*, 1990; 52(5):481–489.

Starzec JJ, Berger DF, Mason EB, et al. The effects of differential psychological stress and infantile handling on plasma triglyceride and aortic cholesterol levels in rats. *Psychosom Med*, 1981; 6: 509:518.

Stimson RH, Lobley GE, Maraki I, Morton NM, Andrew R, Walker BR. Effects of proportions of dietary macronutrients on glucocorticoid metabolism in diet-induced obesity in rats. *PLoS One*, 2010; 5(1):e8779.

Swezea KL, Lekic M, Walker BR. Comparison of mechanisms involved in impaired vascular reactivity between high sucrose and high fat diets in rats. *Nutrition & metabolism*, 2010, 7:48.

Thomás-Moyà E, Gianotti M, Proenza AM, Lladó I. Paraoxonase 1 response to a high-fat diet: gender differences in the factors involved. *Mol Med*, 2007;13(3-4):203-9.

Tizabi Y, Aguilera G. Desensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis following prolonged administration of corticotropin-releasing hormone or vasopressin. *Neuroendocrinology*, 1992; v. 56, p. 611-618.

Torres ILS, Gamaro GD, Silveira-Cucco SN, Michalowski MB, Corrêa JB, Perry MLS, Dalmaz C. Effect os acute and repeated restraint stress on glucose oxidation to CO₂ in hippocampal and cerebral cortex slices. *Brazilian Journal of Medical an Biological Research*, 2001; 34:111-116.

Tovar SA, Seoane LM, Caminos JE, Nogueiras R, Casanueva FF, Diéguez C. Regulation of peptide YY levels by age, hormonal, and nutritional status. *Obes Res* 2004; 12(12):1944-50.

Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res*, 2002;53:865–871.

Van der Lely AJ, Tschop M, Heimann MI, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews*, 2004; 25: 426-57.

Voltera AF, Cesaretti MLR, Ginoza M, Kohlmann Jr O. Efeito da indução de obesidade neuroendócrina sobre a hemodinâmica sistêmica e a função ventricular esquerda de ratos normotensos. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2008; 52/1:47-54.

Walker BR. Extra-adrenal regeneration of glucocorticoids by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: physiological regulator and pharmacological target for energy partitioning. *Proc Nutr Soc*, 66: 1-8, 2007.

Wang MC, Kim S, Gonzalez AA, MacLeod KE, Winkleby MA. Socioeconomic and food-related physical characteristics of the neighbourhood environment are associated with body mass index. *JEpidemiol Community Health*, 2007; 61(6):491–498.

Weiberg MS, Bhatt AP, Girotti M, Masini CV, Day HE, *et al.* Repetead ferret odor exposure induces different temporal patterns of same-stressor habituation and novel-stressor sensitization in both hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and forebrain c-fos expression in the rat. *Endocrinology*, 2009; 150(2):749-61.

Wellman CL. Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. *J Neurobiol*, 2001 ;15;49(3):245-53.

Westerbacka J, Yki-Jarvinen H, Vehkavaara S, Hakkinen AM, Andrew R, *et al.* Body fat distribution and cortisol metabolism in healthy men: enhanced 5beta-reductase and lower cortisol/cortisone metabolite ratios in men with fatty liver. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003;88(10):4924–4931.

WHO Global InfoBase, 2006 World Health Organization Global InfoBase Online, September,2006.Factsheet,No.311.<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>.

Widdowson PS, Upton R, Buckingham R, Arch J, Williams G. Inhibition of food response to intracerebroventricular injection of leptin is attenuated in rats with diet-induced obesity. *Diabetes*, 1997; 46: 1782-5.

Yao M, Roberts SB, Ma G, Pan H, McCrory MA. Field methods for body composition assessment are valid in healthy Chinese adults. *J Nutr*, 2002; 2: 310-7.

Zhang Y, Matheny M, Zolotukhin S, Tumer N, Scarpace PJ. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochim Biophys Acta*, 2002; 1584: 115–122.

XI. ANEXOS

XI.1. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 09-231

Versão do Projeto: 22/06/2009

Pesquisadores:

IRACI LUCENA DA SILVA TORRES

LETICIA RAMALHO

ISABEL CRISTINA DE MACEDO

GIOVANA DANTAS DE ARAUJO

MARIA PAZ LOYZA HIDALGO

Título: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO EM RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE SÍNDROME METABÓLICA: PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, PONDERAIS E COMPORTAMENTAIS

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais. Os membros do CEP/HCPA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada imediatamente ao CEP/HCPA.

Porto Alegre, 15 de julho de 2009.


Prof. Nadine Clausell
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

XI.2– DIVULGAÇÕES

SILVA, SR ; MACEDO, I. C. ; ROZISKY, J. R. ; CIOATO, SG ; OLIVEIRA, C ; OLIVEIRA, CM ; TORRES, ILS . O Efeito da Exposição à Uma Dieta Hipercalórica Sobre Parâmetros Ponderais em Ratos Estressados Cronicamente. In: V JORNADA DE NUTRIÇÃO, VII SEMANA ACADÊMICA DO CURSO DE NUTRIÇÃO DA UFCSPA E II JORNADA DA EMPRESA JUNIOR NUTRIÇÃO. PORTO ALEGRE, SETEMBRO DE 2010.

SILVA, SR ; MACEDO, I. C. ; ROZISKY, J. R. ; MEDEIROS, L. ; CIOATO, SG ; OLIVEIRA, C ; HIDALGO, MPL ; TORRES, ILS . Exposição ao estresse crônico associado à dieta hipercalórica: parâmetros ponderais e níveis glicêmicos. In: 30ª Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2010, PORTO ALEGRE RS.

FRAGA, AP ; MACEDO, I. C. ; ROZISKY, J. R. ; MEDEIROS, L. ; CIOATO, SG ; OLIVEIRA, C ; HIDALGO, MPL ; TORRES, ILS . Avaliação dos níveis séricos de leptina em ratos estressados cronicamente submetidos à dieta hipercalórica.. In: 30ª Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 2010, PORTO ALEGRE RS.

FRAGA, AP ; MACEDO, I. C. ; ROZISKY, J. R. ; MEDEIROS, L. ; SANTOS, V. ; HIDALGO, MPL ; TORRES, ILS . Avaliação de parâmetros ponderais e nível glicêmico de ratos expostos a estresse crônico e a dieta hipercalórica. In: XXII Salão de Iniciação Científica UFRGS, 2010, PORTO ALEGRE RS.

SILVA, SR ; MACEDO, I. C. ; ROZISKY, J. R. ; MEDEIROS, L. ; SCARABELOT, VL ; SANTOS, V. ; TORRES, ILS Relação entre leptina e síndrome metabólica associada ao estresse crônico. In: XXII Salão de Iniciação Científica UFRGS, 2010, PORTO ALEGRE RS.

MACEDO, I. C. ; SOUZA, A. ; ROZISKY, J. R. ; MEDEIROS, L. ; SANTOS, V. ; SILVA, SR ; TORRES, ILS . Relação entre leptina e síndrome metabólica associada

a estresse crônico. In: XXV Reunião Anual de Sociedade de Biologia Experimental FeSBE, 2010, ÁGUAS DE LINDÓIA SP.

FRAGA, AP ; MACEDO, I. C. ; SILVA, SR ; CIOATO, SG ; OLIVEIRA, C ; OLIVEIRA, CM; TORRES, ILS . Níveis glicêmicos e parâmetros ponderais em ratos submetidos ao estresse crônico associado a uma dieta de cafeteria. In: I CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PÓS GRADUAÇÃO UDESC, 2010, FLORIANÓPOLIS SC, 2010.

MACEDO, I. C. ; SOUZA, A. ; ROZISKY, J. R. ; MEDEIROS, L., SCARABELOT, VL. Efeito do estresse crônico e dieta hipercalórica sobre parâmetros ponderais e bioquímicos de ratos wistar. In: I SALÃO DE PÓS GRADUAÇÃO DA UFRGS, PORTO ALEGRE, 2010.

MACEDO ICD. Níveis glicêmicos e parâmetros ponderais em ratos submetidos a um modelo de síndrome metabólica e estresse crônico. In. I SIMPÓSIO DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFCSPA E I MOSTRA CIENTÍFICA DOS PROGRAMAS DE PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE.

SILVA F.R.; MACEDO I.C.; SOUZA A. ROZISKY J.R.;MEDEIROS L.F.; SCARABELOT V.L.; OLIVEIRA C.; OLIVEIRA C.M.; TORRES ILS. Parâmetros ponderais e níveis glicêmicos avaliados em animais submetidos a uma dieta de cafeteria. In: SEMANA CIENTÍFICA DA UFCSPA, 2010, PORTO ALEGRE RS

JACOVAS V.C.; MACEDO I.C.; SILVA F.R. MEDEIROS L.F.; SANTOS V.S.; SOUZA A; OLIVEIRA C.; OLIVEIRA C.M.; TORRES ILS. Estresse Crônico associado a dieta de cafeteria e seus efeitos glicêmicos e parâmetros ponderais. In: VI Oficina de Neurociências, Garibaldi, outubro de 2010.

SILVA F.R.; MACEDO I.C.; MEDEIROS L.F.; ROZISKY J.R.; CIOATO, SG SOUZA A; OLIVEIRA C.; OLIVEIRA C.M.; TORRES ILS.Níveis de leptina em um modelo de Síndrome metabólica em ratos submetidos a um modelo de estresse crônico. In: VI Oficina de Neurociências, Garibaldi, outubro de 2010.