



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS FLORIANÓPOLIS
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Sara Pereira Braga

REVERSÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E COMPORTAMENTAIS
INDUZIDAS POR DIETA HIPERLIPÍDICA EM CAMUNDONGOS POR MEIO DE
SUBSTITUIÇÃO DA DIETA

FLORIANÓPOLIS

2020

SARA PEREIRA BRAGA

**REVERSÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E
COMPORTAMENTAIS INDUZIDAS POR DIETA
HIPERLIPÍDICA EM CAMUNDONGOS POR MEIO DE
SUBSTITUIÇÃO DA DIETA**

Dissertação submetida ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira.

FLORIANÓPOLIS

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Braga, Sara Pereira
Reversão das alterações metabólicas e comportamentais
induzidas por dieta hiperlipídica em camundongos por meio
de substituição da dieta. / Sara Pereira Braga ;
orientador, Eduardo Luiz Gasnhar Moreira Gasnhar Moreira
, 2020.
61 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas,
Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Ciências Fisiológicas. I. Gasnhar Moreira , Eduardo
Luiz Gasnhar Moreira . II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em
Ciências Fisiológicas. III. Título.

Sara Pereira Braga

Título: Reversão das alterações metabólicas e comportamentais induzidas por dieta hiperlipídica em camundongos por meio de substituição da dieta.

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Morgana Moretti
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Jade de Oliveira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (videoconferência)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Ciências Fisiológicas.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira
Orientador

Florianópolis, 2020.

AGRADECIMENTOS

Durante esse período de trabalho tive a oportunidade de crescimento tanto pessoal quando profissional, e por isso sou grata. A conclusão desse trabalho vem acompanhada de pessoas que me auxiliaram durante sua realização.

Agradeço em primeiro lugar a Deus, de quem provem todo amor, sustento, cuidado, sabedoria, e todas as outras coisas que foram necessárias para que eu chegasse até aqui. Agradeço a minha mãe, meu pai, tia Sheila e meus irmãos Lucas, Thamara e Kayo por terem sido minha base, por não terem medido esforços para que eu atingisse meu objetivo e pelo apoio incondicional.

Minha gratidão ao Victor, por todo companheirismo, compreensão, amizade, incentivo, paciência e amor. Obrigada por sonhar junto comigo e apoiar minhas decisões. Agradeço também aos meus amigos Ruth, Jessyca, Priscila, Sarah, Ailton e Renato pelos momentos de diálogo, sorrisos, conselhos e apoio. Agradeço ao senhor Zeferino e senhora Ione pela amizade, cuidado e assistência que me prestam em Florianópolis.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira que me recebeu e acreditou no meu trabalho. Obrigada pela oportunidade, pelos ensinamentos, pela paciência, pela disponibilidade. Agradeço também aos meus colegas do Neuroscience Coworking Lab, Eslen, Wellington, Adriano, Izolene, Lucas, Peterson, Giovanna e André pela cooperação, amizade, compartilhamento de ideias e discussão. E meus colegas do Programa Multicêntrico, Tamires, Tais, Liana, Flaviano e Maciel pelas conversas descontraídas e companheirismo.

Por fim, agradeço aos órgãos de fomento CNPq e CAPES pelas bolsas de estudo e auxílio financeiro. E assim agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

A obesidade é fator de risco para diversas alterações metabólicas, cardiovasculares e comportamentais. Apesar de sua etiologia complexa, acredita-se que tal condição é resultado de um balanço energético positivo e a energia excedente é armazenada na forma de tecido adiposo. Nesse sentido, as dietas hiperlipídicas (HFD) são um fator ambiental que favorece o desenvolvimento da obesidade. Este estudo buscou avaliar a temporalidade do aparecimento e o grau das alterações metabólicas e comportamentais induzidas pela HFD ao longo de 12 semanas de exposição da dieta e investigar se a troca de uma HFD, após um período de exposição de doze semanas, para uma dieta padrão para roedores, por quatro semanas, é capaz de reverter as alterações metabólicas e comportamentais observadas em camundongos C57Bl/6 fêmeas de doze meses de idade. Observamos que após 4 semanas de exposição a HFD os animais já apresentam prejuízos metabólicos relacionados a glicose e aumento da locomoção espontânea, com 8 semanas aumento da massa corporal, da glicose basal e comportamento anedônico e com 12 semanas o agravo das alterações metabólicas é acompanhado de prejuízo na memória espacial. Após a substituição da HFD por dieta padrão por 4 semanas, identificamos a reversão das alterações metabólicas e ausência de alterações comportamentais induzidas pela dieta, e assim mostramos a importância de dietas mais equilibradas para a função cognitiva de roedores.

Palavras-chave: obesidade, tecido adiposo, intolerância a glicose, dieta hiperlipídica, alterações metabólicas, alterações comportamentais.

ABSTRACT

Obesity is a risk factor for several metabolic, cardiovascular and behavioral changes. Despite its complex etiology, it is believed that this condition is the result of a positive energy balance and the surplus energy is stored in the form of adipose tissue. In this sense, high-fat diets (HFD) are an environmental factor that favors obesity. This study sought to assess the timing of the appearance and degree of metabolic and behavioral changes induced by HFD over 12 weeks of diet exposure and to investigate whether to switch from an HFD, after a 12-week exposure period, to a standard diet for rodents, for four weeks, are able to reverse the metabolic and behavioral changes observed in twelve-month-old female C57Bl / 6 mice. We observed that after 4 weeks of exposure to HFD the animals already show metabolic losses related to glucose and increased spontaneous locomotion, with 8 weeks increase in body mass, basal glucose and anhedonic behavior and with 12 weeks the aggravation of metabolic changes is accompanied by impairment in spatial memory. After replacing HFD with a standard diet for 4 weeks, we identified the reversal of metabolic and behavioral changes induced by the diet, and thus showed the importance of more balanced diets for the cognitive function of rodents.

Keywords: obesity, adipose tissue, glucose intolerance, high-fat diet, metabolic changes, behavioral changes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Características do tecido adiposo.	12
Figura 2: Sinalização da insulina no contexto de obesidade.	15
Figura 3: Obesidade induzida por dieta e possíveis repercussões metabólicas e comportamentais.	19
Figura 4: Delineamento experimental.	24
Figura 5: Efeito da HFD em parâmetros metabólicos após 4 semanas de exposição à dieta.	30
Figura 6: Efeito da HFD memória espacial de curto prazo após 4 semanas de exposição, testado no labirinto em T.	31
Figura 7: Efeito da HFD no comportamento frente a estresse agudo inescapável no teste de suspensão pela cauda, após 4 semanas de exposição à dieta.	31
Figura 8: Efeito da HFD em parâmetros metabólicos após 8 semanas de exposição à dieta.	32
Figura 9: Efeito da HFD na locomoção espontânea e na memória de reconhecimento após 8 semanas de exposição.	33
Figura 10: Efeito da HFD no autocuidado e comportamento anedônico no teste de borrifagem de sacarose, após 8 semanas de exposição.	34
Figura 11: Efeito da HFD em parâmetros metabólicos após 12 semanas de exposição à dieta.	35
Figura 12: Efeito da HFD na locomoção espontânea e na memória espacial de curto prazo após 12 semanas de exposição.	36
Figura 13: Efeito da alteração da HFD por dieta padrão por 4 semanas nos parâmetros metabólicos.	37
Figura 14: Efeito da alteração da HFD por dieta padrão por 4 semanas na locomoção espontânea e memória de trabalho.	38
Figura 15: Efeito da alteração da HFD por dieta padrão por 4 semanas no comportamento frente a estresse agudo.	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SNC - Sistema nervoso central

HFD - da sigla em inglês *High Fat Diet*

OMS/WHO - Organização Mundial da Saúde

IMC - Índice de Massa Corporal

TNF- α - Fator de necrose tumoral – α

IL-1 β - Interleucina 1 β

IL-6 - Interleucina-6

IR - Receptor de insulina

IRS - do inglês *Insulin Receptor Substrate*

PI3K - Fosfoinositídeo 3-quinase

Akt - Proteína quinase B

JNK - do termo inglês *c-Jun N-terminal kinases*

DAG - Diacilglicerol

ERO - Espécies reativas de oxigênio

DM2 - Diabetes tipo 2

VLDL - do inglês *Very Low Density Lipoprotein*)

HDL - do inglês *High Density Lipoprotein*

DSM-V - Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5ª edição

HPA - Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro

GTT - Teste de tolerância à glicose

LTP - Potencialização a longo prazo

TrkB - Receptor de tropomiosina quinase B

NMDA - N-metil D-Aspartato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Obesidade	12
1.2 Tecido adiposo.....	13
1.3 Obesidade induzida por dieta.....	15
1.4 Obesidade e alterações no metabolismo da glicose	16
1.5 Obesidade e alterações na emocionalidade.....	19
1.6 Obesidade e alterações cognitivas	20
2. JUSTIFICATIVA.....	24
3. OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo geral:	25
3.2 Objetivos específicos:.....	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Animais.....	25
4.2 Dieta.....	26
4.3 Delineamento experimental.....	26
4.4 Testes comportamentais.....	27
4.4.1 Labirinto em T	27
4.4.2 Labirinto em Y.....	28
4.4.3 Reconhecimento de objetos	28
4.4.4 Realocação de objetos.....	29
4.4.5 Suspensão pela cauda	30
4.4.6 Teste da borrifagem de sacarose.....	31
4.4.7 Nado forçado	31
4.5 Ensaios bioquímicos	32
4.6 Análise estatística	32
5. RESULTADOS	33
5.1 Bloco experimental 1 (4 semanas).....	33
5.2 Bloco experimental 2 (8 semanas).....	35
5.3 Bloco experimental 3 (12 semanas).....	37
5.4 Bloco experimental 4.....	39
6. DISCUSSÃO.....	42
7. CONCLUSÃO	52
8. REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

A obesidade, considerada como problema de saúde pública, é um importante fator de risco ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos, cardiovasculares e alterações no sistema nervoso central (SNC). O balanço energético positivo, resultado de uma hipernutrição e comportamentos sedentários, favorece o acúmulo excessivo de tecido adiposo. Estudos epidemiológicos têm sugerido uma relação entre obesidade na meia-idade (entre 40-45 anos de idade) com o desenvolvimento de demência e doença de Alzheimer décadas depois (Fitzpatrick, et al., 2009; Solomon, et al., 2009; Kivipelto et al., 2002). Evidências clínicas mostram que a dieta hiperlipídica (HFD da sigla em inglês *High Fat Diet*) promove uma diminuição no volume do hipocampo e prejudica a função cognitiva em humanos. Ainda, uma associação entre obesidade e depressão tem sido proposta (Luppino, 2010). Evidências prévias clínicas e não clínicas demonstraram que mudanças no padrão alimentar podem reverter as alterações metabólicas induzidas por HFD (Hatzidis, et al., 2017), porém, o quanto as alterações comportamentais e neuroquímicas induzidas por HFD são duradouras ou passíveis de reversão por meio de mudanças dietéticas ainda permanecem inconclusivas.

1.1 Obesidade

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade e sobrepeso como um acúmulo excessivo de tecido adiposo, que pode ser prejudicial à saúde. Um dos critérios utilizados para definir a obesidade é o Índice de Massa Corporal (IMC), que leva em consideração o peso (kg)/altura² (m²), sendo considerados indivíduos obesos àqueles com IMC igual ou superior a 30 e com sobrepeso IMC igual ou superior a 25 (WHO, 2000). Dados da OMS mostram que, até o ano de 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos no mundo estavam acima do peso, o que representa cerca de 40% da população mundial, sendo que 13% da população estava obesa (WHO, 2016). Ainda, dados epidemiológicos mostram que a prevalência de obesidade no mundo triplicou entre os anos de 1975 e 2016, sendo as taxas de sobrepeso mais altas entre os homens e de obesidade entre as mulheres (WHO, 2016; Ng et al., 2014).

No Brasil, segundo os dados do sistema de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico - Vigitel (2018), nas 27 cidades investigadas a frequência de sobrepeso foi de 55,7% da população adulta, sendo ligeiramente maior entre homens (57,8%) do que entre mulheres (53,9%), e a frequência de obesidade foi de 19,8%, sendo maior entre as mulheres (20,7%) do que entre os homens (18,7%). Além disso, o excesso de peso foi maior em pessoas da faixa etária de 44-64 anos e diminuiu com o

aumento da escolaridade. As cidades brasileiras que apresentam maiores índices de obesidade foram Cuiabá (23%) e Manaus (23%), e as com menores índices foram Curitiba (16%) e Palmas (16,3%).

O desenvolvimento da obesidade é caracterizado tanto pelo aumento no número de células de adipócitos, i.e., hiperplasia, quanto por aumento do tamanho dessas células do tecido adiposo (hipertrofia). Estes processos são regulados por fatores endócrinos, genéticos, metabólicos, neurológicos, farmacológicos, ambientais e nutricionais, dando à obesidade uma característica de etiologia multifatorial (WHO, 2014). Tanto a hiperplasia quanto a hipertrofia do tecido adiposo favorecem alteração na secreção de adipocinas, como o aumento da secreção de fator de necrose tumoral – α (TNF- α), IL-6 (interleucina-6), leptina e resistina e diminuição da adiponectina (Gregor e Hotamisgil, 2011).

A obesidade é resultado de um balanço energético positivo, i.e., quando a ingestão de energia excede o gasto e o excesso é armazenado no tecido adiposo (Andreson, 2015). O consumo de alimentos ricos em energia e alto teor de gorduras (Engin, 2017), somado ao estilo de vida sedentário devido a mudanças nas formas de trabalho, de locomoção e crescimento da urbanização (Moubarac et al., 2014; Poti et al., 2017), são importantes fatores ambientais que contribuem para o desenvolvimento desta condição (Goossens et al., 2017).

A obesidade e o sobrepeso são considerados problemas de saúde pública e estudos populacionais mostraram que indivíduos obesos tem maior risco de desenvolver inúmeras complicações de saúde (González-Muniesa et al. 2017; Cornier et al. 2011; WHO, 2000), sejam metabólicas como diabetes tipo 2, dislipidemias, doenças cardiovasculares, como hipertensão, aterosclerose, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, certas formas de câncer e alterações no SNC, como demência e depressão (Engin, 2017; Ashwell, 2014; Sack et al., 2017).

1.2 Tecido adiposo

O tecido adiposo é considerado um órgão endócrino responsável por diversas funções fisiológicas, sendo constituído por adipócitos, pré-adipócitos, matriz extracelular, macrófagos, células T, fibroblastos, vasos sanguíneos e capilares (Santos e Torrent, 2010). Em humanos, os dois principais tipos de tecido adiposo são o tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom.

Os adipócitos do tecido adiposo marrom contribuem para o gasto de energia via termogênese, auxiliando com a manutenção da temperatura corporal (Sacks e Symonds, 2013). Estes são mais abundantes em recém-nascidos e estão localizados nas regiões

interescapular, supraclavicular, nos rins, coração, aorta, pâncreas e traqueia. Os depósitos de tecido adiposo marrom diminuem com a idade, mas ainda podem ser encontrados em adultos (Santhanam et al., 2015), e seu papel na etiologia da obesidade é incerto (Prodhomme et al., 2016). Os adipócitos brancos são os mais abundantes nos seres humanos e inicialmente acreditava-se que sua função se limitava apenas ao armazenamento de energia. No entanto, estudos revelam que essas células secretam várias substâncias bioativas, as adipocitocinas ou adipocinas, capazes de atuar sobre diversos processos fisiológicos e fisiopatológicos (Matsuzawa, 2006; González-Muniesa et al. 2017).

Além da classificação morfofuncional, é possível classificar o tecido adiposo quanto a sua localização, podendo ser subcutâneo ou visceral (Fig. 1). O tecido adiposo subcutâneo são os depósitos de gordura localizados abaixo da pele nas regiões abdominal, glútea e femoral (Santos e Torrent, 2010). Já o tecido adiposo visceral é formado pelo tecido adiposo intra-abdominal, perirrenal e pericárdico, e em situação de excesso é frequentemente acompanhada por gordura em órgãos como fígado, coração, rins e músculo esquelético (González-Muniesa et al. 2017).

Para o armazenamento do excesso de lipídios pode haver hiperplasia ou hipertrofia dos adipócitos. A hiperplasia é o aumento do número de células que ocorre principalmente no organismo em desenvolvimento, tende a proteger os órgãos contra deposição de gordura ectópica e é mais comum no tecido adiposo subcutâneo. Já a hipertrofia é o aumento do tamanho das células, e nos adipócitos acontece até que essas células fiquem saturadas e não sejam mais capazes de se expandir, levando à ruptura e invasão de macrófagos e/ou aumento da liberação de adipocinas pró-inflamatórias e diminuição da liberação de adipocinas anti-inflamatórias. Esses fenômenos ocorrem principalmente no tecido adiposo visceral e contribuem para um ambiente pró-inflamatório (Bastard et al., 2006).

As adipocinas secretadas pelos adipócitos podem atuar como mediadores pró-inflamatórios ou anti-inflamatórios e participam de processos fisiológicos e fisiopatológicos. As principais adipocinas são a leptina, TNF- α , IL-6, resistina e adiponectina. Estas substâncias desempenham funções de forma autócrina, parácrina e endócrina (Bastard et al., 2006) e podem interferir no metabolismo de lipídios e glicose. Na obesidade há um desequilíbrio na produção dessas adipocinas devido ao excesso de tecido adiposo (González-Muniesa et al. 2017; Engin, 2017; Ashwell, 2014; Hiuge-Shimizu et al., 2012; Fig.1).

Figura 1: Características do tecido adiposo

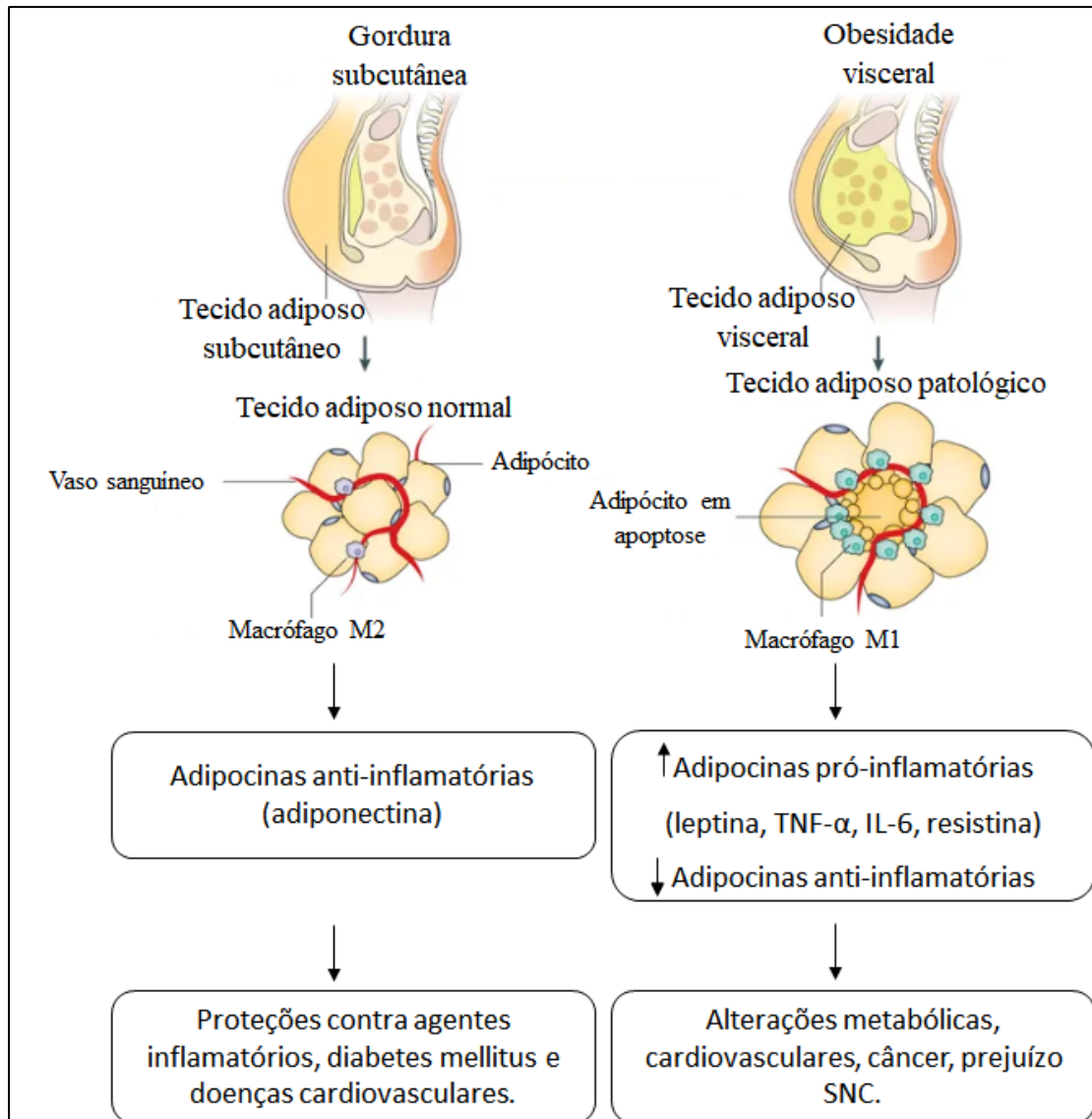


Figura 1. A figura mostra a classificação do tecido adiposo quanto a localização, ou seja, subcutâneo e visceral e possíveis repercussões na morfologia do tecido adiposo, secreção de substâncias e influência em outros sistemas (Adaptado de González-Muniesa et al. 2017).

1.3 Obesidade induzida por dieta

Estudos epidemiológicos mostram uma relação positiva entre a quantidade de gordura proveniente da dieta ingerida e o desenvolvimento de obesidade em humanos, e estudos clínicos apontam uma relação entre os níveis de gordura na dieta e o ganho de peso corporal, bem como entre a redução da gordura na dieta e a perda de peso (Hariri e Thibault, 2010; Solomon, et al., 2009; Hill, Melanson e Wyatt, 2000; Jéquier, 2002; Schrauwen e Westerterp, 2000).

Sabe-se que o consumo excessivo de HFD favorece o desenvolvimento de diversas alterações relacionadas à obesidade e sobrepeso, sejam de origem metabólicas como diabetes tipo 2, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, cardiovasculares, como hipertensão, aterosclerose, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico e certas formas de câncer (Engin, 2017; Ashwell, 2014). Mais recentemente, a ingestão de HFD também foi associada a efeitos desfavoráveis no SNC (Zhang et al., 2008; Sack et al., 2017).

Os distúrbios metabólicos manifestados em humanos após consumo crônico de HFD são, de modo semelhante, observados em roedores (Woods et al., 2003), sendo um modelo experimental apropriado para o estudo da obesidade (Hariri e Thibault, 2010). Animais que receberam HFD apresentaram diminuição na sensibilidade à insulina, aumento da concentração plasmática de colesterol e triglicerídeos e da massa corporal (Buettner et al., 2007), aumento na massa de tecido adiposo visceral e alterações que resultam em aumento de secreção de adipocitocinas (Xu, et al., 2003). Estudos induzem obesidade com dietas em diferentes proporções de gordura. Buettner e colaboradores (2012) revisaram estudos no período de 1997 a 2012 e concluíram que tanto gordura animal, como banha quanto óleos vegetais contendo $\omega - 6 / \omega - 9$ podem ser usados para gerar um fenótipo obeso e resistência à insulina em roedores. Por outro lado, animais alimentados com óleo de peixe não desenvolvem esses distúrbios, e mostraram que um método efetivo para indução de obesidade com dieta em modelos animais é com dieta purificada contendo cerca de 40% de gordura (Buettner et al., 2012).

Os efeitos da dieta não dependem apenas da composição da dieta, mas também do modelo animal utilizado. Ratos Wistar e Sprague-Dawley e camundongos C57BL/6J, AKR/J, e DBA/2J são linhagens mais susceptíveis a obesidade induzida por dieta (Buettner et al., 2012). Os camundongos C57BL/6J têm sido utilizados como modelo para o desenvolvimento de obesidade visceral, síndrome metabólica e secreção alterada de insulina. Sua propensão à obesidade foi explicada pelo aumento da resistência à leptina quando comparado aos camundongos A/J (Prpic et al., 2003; Takahashi et al., 2002).

1.4 Obesidade e alterações no metabolismo da glicose

O excesso de peso, principalmente o excesso de tecido adiposo visceral, é um importante fator de risco ambiental para o desenvolvimento de doenças ou desordens

metabólicas, como diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias e síndrome metabólica¹ (Barnes, 2011; Khan et al., 2006). A resistência à insulina é condição chave para o desenvolvimento de muitas dessas alterações (Samuel e Shulman, 2012).

A insulina é um hormônio produzido e secretado pelas células β do pâncreas, principalmente em resposta ao aumento dos níveis plasmáticos de glicose. A cascata de sinalização tem início quando esse hormônio interage com seu receptor (IR), que pertence à família dos receptores tirosina quinase (Patti e Kahn et al., 1998), localizado na membrana plasmática da célula. Após a ligação da insulina, ocorre uma autofosforilação do receptor em resíduos de tirosina e inicia uma cascata de sinalização intracelular, que envolve moléculas como IRS (do inglês *Insulin Receptor Substrate*), fosfoinosítideo 3-quinase (PI3K, do inglês *Phosphoinositide 3-Kinase*) e proteína quinase B (Akt, do inglês *Protein kinase B ou Akt*), sendo o resultado dessa resposta a regulação das concentrações de glicose (Pawson, 1995).

Disfunções na sinalização da insulina podem ocorrer por diversos fatores. Na obesidade há uma característica de inflamação crônica de baixo nível, que tem início principalmente no tecido adiposo e no fígado e está associada à infiltração de macrófagos e aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6 nesses tecidos e na circulação sistêmica (Ye, 2013; Burhans et al. 2011). Além disso, no contexto da obesidade, vias inflamatórias como IKK β e JNK (do termo inglês *c-Jun N-terminal kinases*) estão ativadas por adipocinas, ácidos graxos livres, diacilglicerol (DAG), ceramida, espécies reativas de oxigênio (ERO) e hipóxia. A ativação do IKK β e JNK favorece a fosforilação dos receptores de insulina em resíduos de serina (Ser³⁰⁷, Ser⁶¹⁶ e Ser²⁷⁰) e diminuição da ativação do receptor e da cascata de sinalização intracelular da insulina (Gao et al., 2002; Zhang et al., 2008; Ye, 2013; Burhans et al. 2011), favorecendo o processo de resistência à insulina (Fig. 2).

No contexto de obesidade e resistência à insulina, ocorre uma adaptação das células β do pâncreas promovendo um aumento da liberação de insulina, com a finalidade de tentar superar a diminuição da eficiência do hormônio, isso tende a manter níveis glicêmicos e tolerância à glicose normais. Porém, quando a função das células β entram em declínio devido à sobrecarga mantida, se tornam incapazes de compensar a diminuição da sensibilidade à insulina. A consequência é alteração na tolerância e nos níveis de glicose, e a possibilidade do

¹ A Federação Internacional de Diabetes define síndrome metabólica como obesidade central (≥ 94 cm nos homens e ≥ 80 cm nas mulheres), somada a dois dos seguintes fatores: concentrações elevadas de triglicérides (TG; ≥ 150 mg/dL), concentrações baixas de colesterol de alta densidade (HDL; < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres), hipertensão (sistólica de ≥ 130 mmHg e diastólica de ≥ 85 mmHg) e glicemia elevada em jejum (≥ 100 mg/dL). (Martínez et al., 2017).

estabelecimento de diabetes tipo 2 (DM2; Perley e Kipnis, 1996; Kahn, 2001; Kahn, 2006), um distúrbio metabólico complexo caracterizado por um estado de hiperglicemia crônica e resistência à insulina, que leva a complicações graves e diversas comorbidades. A obesidade e DM2 são consideradas uma epidemia global, sendo a obesidade o principal fator de risco para DM2 (Barnes, 2011).

Indivíduos obesos e diabéticos também apresentam quadros de dislipidemia, com aumento da secreção hepática de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL do inglês *Very Low Density Lipoprotein*) e diminuição de lipoproteína de alta densidade (HDL do inglês *High Density Lipoprotein*), possivelmente devido às alterações nos níveis lipídicos que tais quadros possuem (Stanhope et al., 2009). A resistência à insulina por sua vez, também pode ser mediada pelo aumento de lipídios e ácidos graxos na circulação, pois essas moléculas também podem interagir com o IR favorecendo sua fosforilação em resíduos de serina e por consequência o comprometimento da cascata de sinalização da insulina (Gray e Kim, 2011).

Figura 2: Sinalização da insulina no contexto de obesidade

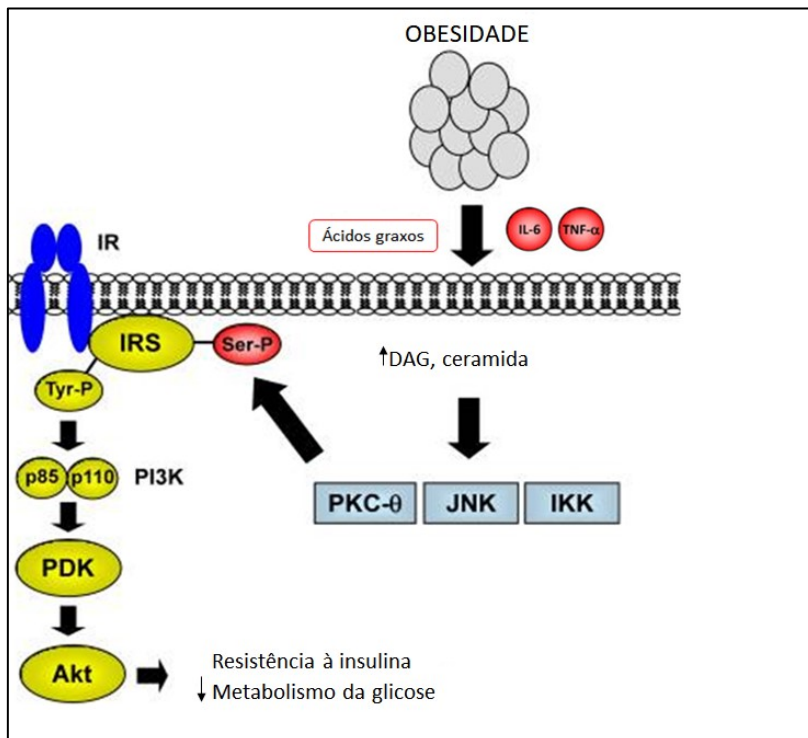


Figura 2. Na obesidade as substâncias liberadas pelo tecido adiposo, como ácidos graxos, TNF- α e IL-6, podem ativar cinases como JNK, IKK e PKC (proteína cinase C), que fazem a fosforilação do substrato do receptor insulina (IRS) em resíduos de serina e diminui a fosforilação em resíduos de tirosina, e assim atenua a via intracelular de sinalização da insulina, gera prejuízos na metabolização da glicose e favorece o quadro de resistência à insulina (Adaptado de Gray e Kim, 2011).

1.5 Obesidade e alterações na emocionalidade

A depressão é um transtorno psiquiátrico que tem como principais sintomas o humor deprimido e anedonia, que podem estar associados a outros achados, como mudança no apetite, alterações na massa corporal e sono, ativação ou atraso psicomotor, fadiga e letargia, sentimentos de desesperança, culpa, diminuição na capacidade de raciocínio e de concentração. Segundo o DSM-V, para o diagnóstico é necessário que pelo menos cinco desses sinais estejam presentes por no mínimo duas semanas (American Psychiatric Association, 2013). Estudos mostram que, assim como a obesidade, a depressão aumenta o risco para o desenvolvimento de patologias, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, acidente vascular encefálico e o aumento da mortalidade (Hunot et al., 2010; Clarke et al., 2009).

Uma meta-análise de estudos longitudinais, publicada em 2010, avaliou 15 artigos e buscou analisar a relação entre obesidade, sobrepeso e depressão. O trabalho mostrou que existe uma relação bidirecional entre obesidade e depressão, sendo que pessoas obesas possuem um risco 55% maior de desenvolver depressão quando comparadas a pessoas não obesas, e que pessoas com depressão possuem um risco 58% maior de se tornarem obesas. Este estudo mostrou, também, que a associação entre obesidade e depressão era mais forte que sobrepeso e depressão (Luppino, 2010).

O estado de humor deprimido pode afetar a escolha de alimentos e o metabolismo energético. Indivíduos que sofrem de humor deprimido mostram preferência e consumo de “comidas confortáveis” e relatam o uso desses alimentos como forma de aliviar sentimentos negativos (Macht, 2008). Embora o consumo em curto prazo de alimentos palatáveis possa aliviar emoções negativas e estados de humor, o consumo crônico de alimentos ricos em calorias e aumentos subsequentes na adiposidade podem promover vulnerabilidade à depressão e à ansiedade (Sharma e Fulton, 2013). Sharma e Fulton (2013) mostram que camundongos que alimentados com HFD por 12 semanas apresentam maior imobilidade no teste do nado forçado e comportamento exploratório reduzido em testes de labirinto elevado e campo aberto, sendo que tais alterações comportamentais foram acompanhadas por elevada atividade basal do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) em resposta ao estresse.

Evidências sugerem que o consumo de HFD contribui para a patogênese dos transtornos do humor e metabólicos relacionados à obesidade, como aumento da incidência de depressão, enquanto dietas contendo principalmente gorduras insaturadas, como a dieta mediterrânea, parecem reduzir o risco de depressão (Sanchez- Villegas et al., 2013; Estruch et al., 2013; Nazare et al., 2013). Ainda, a ingestão de HFD aumenta as concentrações de ácidos

graxos circulantes, como o palmitato, e ocasiona prejuízos às funções neurais, como na transdução de sinal de leptina e receptor de insulina no hipotálamo, favorecendo o ganho de massa corporal (Hryhorczuk, Sharma e Fulton, 2013).

A neuroinflamação é uma condição relacionada a distúrbios cerebrais e pode ser decorrente de alterações metabólicas causadas pela obesidade induzida pelo consumo de HFD. Evidências mostraram a presença de neuroinflamação na amígdala, hipocampo, hipotálamo, córtex e cerebelo durante a obesidade (Guillemot-Legrís e Muccioli, 2017). Dutheil et al. (2016) mostraram que, além das alterações metabólicas, roedores alimentados com HFD (60% de gordura) por 16 semanas apresentaram comportamento anedônico, diminuição da sinalização de insulina e aumento dos níveis de citocinas como IL-6, IL-1 β (interleucina 1 β) e TNF- α no hipocampo. Além disso, já foi mostrado que indivíduos com transtorno do humor possuem elevados níveis plasmáticos de citocinas e expressão aumentada de marcadores inflamatórios na circulação sistêmica (Mechawar e Savitz, 2016; Melo, Santos e Ferreira, 2019).

1.6 Obesidade e alterações cognitivas

Estudos clínicos e pré-clínicos também apresentaram evidências de que a obesidade induzida por dieta, por exemplo, HFD, prejudica os processos de aprendizagem e memória e pode resultar em comprometimento cognitivo leve e demência (Spencer et al., 2017; Luppino et al., 2010; Stranahan, et al., 2008; Moreira, et al., 2014; Cordner e Tamashiro, 2015; Fig. 3).

Demência se trata de uma condição neurodegenerativa em que há alteração global da saúde mental, com perda progressiva das funções cognitivas e prejuízo na autonomia do indivíduo (Livingston et al., 2017; Petrault et al., 2019). À medida que a população envelhece, distúrbios cognitivos, incluindo demências, tornam-se mais comuns. A doença de Alzheimer é a forma mais comum de demência, representando cerca 50% a 70% de todas as demências (Miller e Spencer, 2014).

Evidências clínicas e pré-clínicas apontam para uma conexão entre desregulação metabólica e declínio da função cerebral. Estudos mostram que o diabetes tipo 2, uma das possíveis consequências metabólicas do excesso de peso, é considerado um importante fator de risco para incidência e gravidade de comprometimento cognitivo (Haan, 2006; Cukierman et al., 2005) e que a glicemia aumentada correlaciona-se com diminuição da capacidade cognitiva e alterações na microestrutura do hipocampo de mulheres aparentemente saudáveis (Kerti et al., 2013). Ainda, o estudo de Crane e colaboradores, que acompanhou 2067 voluntários mostrou que a chance de desenvolver demência ao longo do tempo era maior nos

indivíduos com glicemia aumentada, independente de terem diabetes ou não (Crane et al., 2013).

Outros trabalhos mostraram que o consumo de HFD pode desencadear alterações no metabolismo lipídico, como hipercolesterolemia e tais condições também estão associadas a comprometimento cognitivo. De Souza e colaboradores (2019) mostraram que camundongos Swiss machos com 3 meses de idade, alimentados com HFD (20% de gordura e 1,5% de colesterol) por oito semanas apresentaram prejuízo na memória espacial de curto prazo e na memória de reconhecimento. Ainda, Machado e colaboradores (2018) evidenciaram que camundongos C57Bl fêmeas de 24 meses tratadas com HFD (20% de gordura e 1,5% de colesterol) por 4 semanas apresentam prejuízo na memória de medo condicionada ao contexto.

A neuroinflamação induzida pela obesidade afeta negativamente a cognição (Guillemot-Legrís e Muccioli, 2017; Fig. 3). O consumo de HFD ou dieta com alto teor de açúcares por curto prazo ou cronicamente desencadeia processos neuroinflamatórios com de aumento de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α (Beilharz et al., 2014) e prejudicam a memória dependente de hipocampo (Abbott et al., 2019) tanto em modelos animais com roedores quanto em humanos (Spencer et al., 2017; Beilharz, Maniam e Morris, 2016; Thaler, 2012).

Outro mecanismo que parece estar envolvido no déficit cognitivo relacionado à obesidade induzida por HFD é a redução da neuroplasticidade (Morin et al., 2017). Estudos relatam que nesse cenário ocorre redução na expressão de substâncias como RNAm para sinapsina-1, proteínas presentes nos terminais pré-sinápticos e que contribuem para a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica, e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e RNAm para BDNF (Che et al., 2018; Abbott et al., 2019; De Souza et al., 2019).

Outros mecanismos biológicos também têm sido propostos para explicar o surgimento de condições neurodegenerativas decorrentes da obesidade, como disfunção mitocondrial (de Oliveira et al., 2011), dano oxidativo (Wu et al., 2004), processos inflamatórios (Thirumangalakudi et al., 2008; Guillemot-Legrís e Muccioli, 2017), disfunção vascular (Li et al., 2010), perda de integridade dendrítica (Stranahan et al., 2008; Morin et al., 2017), alteração da sinalização da insulina no hipocampo (Xu et al., 2018) e disfunções na barreira hematoencefálica (Hsu e Kanoski, 2014).

Figura 3: Obesidade induzida por dieta e possíveis repercussões metabólicas e comportamentais

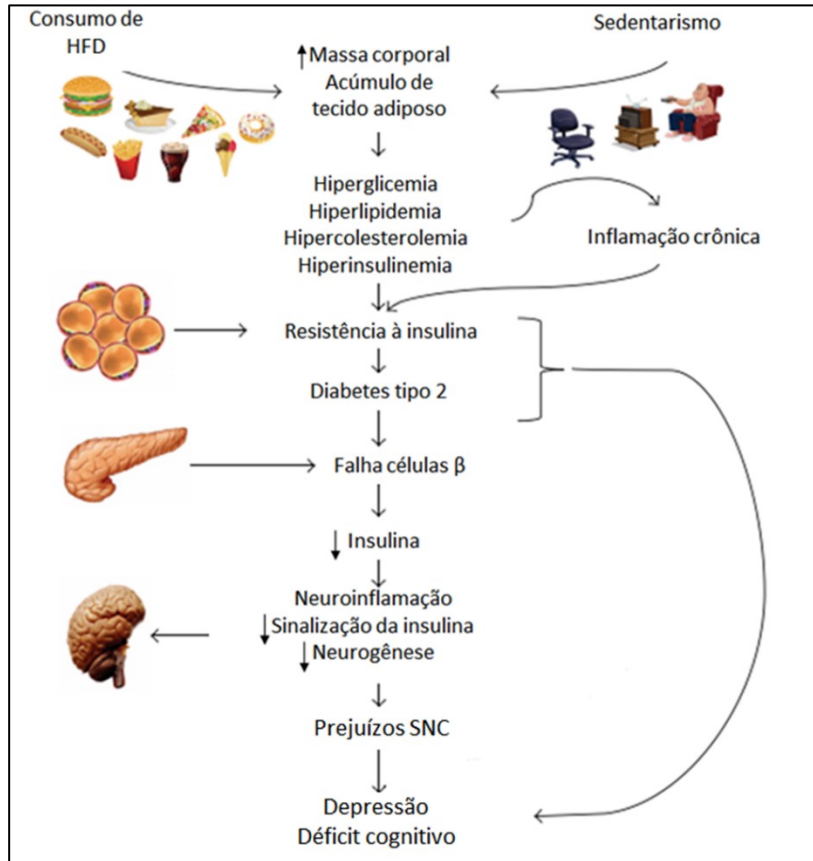


Figura 3. Representação esquemática de como obesidade induzida pelo consumo excessivo de HFD pode favorecer o surgindo de alterações metabólicas e no SNC (Adaptado Verdile et al., 2015).

1.7 Obesidade e seus manejos

O tratamento da obesidade é complexo e visa à perda de massa corporal. Pode envolver abordagens farmacológicas como uso de medicamentos antiobesidade, não farmacológica com abordagem nutricional, práticas de atividade física, ou cirurgia bariátrica (Fandiño et al., 2004; WHO, 2014).

O uso de medicamentos no tratamento de obesidade representa uma abordagem útil, principalmente quando associada a dieta balanceada e atividade física. O uso desses medicamentos deve ser reservado a pacientes com obesidade de risco moderado ou alto ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ ou $IMC > 27 \text{ kg/m}^2$ se houver comorbidades). Outra abordagem para tratamento da obesidade é a cirurgia bariátrica, também conhecida como cirurgia metabólica. É indicada para tratamento de obesidade grave e o advento de procedimentos laparoscópicos diminuiu seus riscos. Os critérios para indicação desse tipo de tratamento incluem $IMC > 40$

kg/m² ou IMC > 35 kg/m² com comorbidades associadas, como hipertensão ou dislipidemia (WHO, 2014; González-Muniesa et al. 2017).

Em se tratando de abordagem nutricional, estudos mostram que mudanças no padrão alimentar podem apresentar benefícios importantes, como diminuição da resistência à insulina e leptina, melhora na tolerância à glicose e diminuição da adiposidade em roedores (Hatzidis, et al., 2017). Dietas para o controle do peso corporal passaram a ser rigorosamente testadas em ensaios clínicos randomizados nos últimos 20 anos (Bray e Siri-Tarino, 2016). O balanço energético negativo através da diminuição da ingestão de calorias é usado para produzir perda de peso com as dietas, e todas as dietas, em média, induzem esse efeito. Com relação aos parâmetros comportamentais, McLean e colegas (2018) mostraram que os déficits de memória foram revertidos após a alteração de HFD por uma dieta com baixo teor de gordura, no entanto, em seu estudo, os camundongos receberam HFD por apenas uma semana e depois voltaram para a dieta padrão para roedores. Até onde sabemos, não há relatos de que as alterações comportamentais (ou seja, memória e comportamento depressivo) induzidas por consumo crônico de HFD (por exemplo, meses) poderiam ser revertidas após a substituição por dieta padrão.

2. JUSTIFICATIVA

A obesidade é considerada por muitos como uma epidemia do século XXI, sendo definida como um acúmulo excessivo de tecido adiposo que geralmente é acompanhado por inflamação sistêmica, leve e crônica. Atualmente, cerca 40% da população mundial está obesa ou com sobrepeso, apesar de esforços para retardar o progresso da epidemia. A prevalência de obesidade é de 10,8% entre homens adultos e 14,9% entre mulheres adultas. Esses dados indicariam que o sexo feminino está associado a maior risco de obesidade (González-Muniesa et al. 2017).

Com a crescente expansão no consumo de dietas hiperlipídicas e dos problemas de saúde relacionados à obesidade e.g., dislipidemia, resistência à insulina e prejuízos cognitivos, se torna necessário o desenvolvimento de estratégias terapêuticas eficazes. Neste sentido, abordagens farmacológicas e não farmacológicas vêm sendo utilizadas com relativo sucesso no manejo da obesidade e doenças relacionadas. Existe um grande interesse em formas efetivas de intervenção não farmacológica para tratamento de doenças, e.g., exercício físico, dieta ou estimulação cognitiva, visando não apenas benefícios para saúde geral e mental, mas também ao bem-estar e a qualidade de vida. Diante do exposto, o presente estudo buscou investigar se a substituição de uma dieta hiperlipídica, por uma dieta mais saudável, promoveria melhorias nas alterações metabólicas e comportamentais induzidas pela dieta hiperlipídica em camundongos. Levando-se em consideração os (i) estudos clínicos que demonstraram que as dislipidemias na meia-idade são fatores de risco ao desenvolvimento de demências (Solomon, et al., 2009) e (ii) estudos pré-clínicos que demonstraram que camundongos de meia-idade são mais susceptíveis às alterações comportamentais induzidas por dieta hiperlipídicas (Machado, et al., 2018), o presente estudo utilizou camundongos de meia-idade (i.e., doze meses de idade ao início dos experimentos).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Este estudo buscou avaliar a temporalidade do aparecimento e o grau das alterações metabólicas e comportamentais induzidas por dieta hiperlipídica (HFD), ao longo de 12 semanas de exposição, em camundongos C57Bl/6 fêmeas de doze meses de idade. Ademais, teve como objetivo investigar se a troca de uma HFD, após um período de exposição de doze semanas, para uma dieta padrão para roedores, por quatro semanas, é capaz de reverter tais alterações metabólicas e comportamentais.

3.2 Objetivos específicos:

1. Avaliação de parâmetros metabólicos:

- a. Acompanhamento semanal de massa corporal;
- b. Avaliação parâmetros metabólicos envolvidos na homeostase glicêmica (glicemia basal e tolerância à glicose).

2. Avaliação de parâmetros comportamentais:

- a. Memória operacional (de trabalho);
- b. Memória espacial de curto prazo;
- c. Memória de reconhecimento;
- d. Resposta comportamental frente à estresse agudo inescapável;
- e. Comportamento anedônico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Os animais, oriundos de colônia própria do laboratório, foram mantidos no Biotério do Laboratório de Neurociências e Comportamento, localizado no Departamento de Ciências Fisiológicas CCB/UFSC, coordenado pelo Prof. Dr. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira. Foram utilizados 21 camundongos adultos fêmeas (11 e 12 meses) da linhagem C57Bl/6 pesando entre 22-27 g. Os animais ficaram alojados em gaiolas plásticas (42 x 34 x 17 cm), com condição controlada de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas, fase clara das 06:00 às 18:00 h), e com livre acesso a água e comida. Foram mantidos no máximo seis animais por gaiola-moradia, de acordo recomendações do Guia Brasileiro de Criação e Utilização de Animais para Atividades de Ensino e Pesquisa Científica do

CONCEA (Resolução Normativa 13, 2013), projeto aprovado na CEUA/UFSC (1793080916).

4.2 Dieta

Ração padrão para roedores (Nuvilab CR1, Nuvital; Quimtia Nutrientes, Colombo, PR, Brasil) e ração hiperlipídica [dieta AIN 93, *high-fat* purificada, constituída por proteínas (12 kJ%), carboidratos (27 kJ%) e lipídeos (61 kJ%), Pragsoluções, Jaú, São Paulo, Brasil].

4.3 Delineamento experimental

O protocolo experimental utilizou camundongos fêmeas da linhagem C57Bl/6 com doze meses de idade ao início dos experimentos, as quais foram divididas em dois grupos experimentais. Os animais do grupo experimental receberam, por 12 semanas, dieta hiperlipídica e os animais do grupo controle dieta padrão para roedores, *ad libitum*. Durante todo esse período foi mensurado, semanalmente, a massa corporal dos animais. Como um dos objetivos foi a avaliação da temporalidade das alterações comportamentais (i.e., aprendizagem e memória e alterações na emocionalidade) induzidas pela dieta ao longo do tempo de 12 semanas, fez-se necessário a utilização de diferentes testes comportamentais, de modo a não repetir nenhum teste, com o intuito de evitar habituação dos animais aos testes e consequente comprometimento das respostas apresentadas.

Após o período de 4 semanas sobre influência das respectivas dietas, os animais foram submetidos a uma bateria de testes comportamentais (alternância forçada no labirinto em T e teste da suspensão pela cauda), sendo os testes realizados em dias distintos. Um dia após o último teste comportamental, os animais, em jejum calórico de seis horas no período do ciclo claro, foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (GTT). Os animais continuaram por um período de mais 4 semanas recebendo os mesmos tratamentos (dietas). Após este período, ainda sobre influência dos tratamentos acima mencionados, os animais foram submetidos à outra bateria de testes comportamentais (campo aberto, teste de reconhecimento de objetos e teste da borrifagem de sacarose). Um dia após o último teste comportamental, os animais, em jejum calórico de seis horas, foram submetidos ao GTT. Ainda, após 12 semanas sobre as dietas, os animais foram novamente testados (campo aberto, realocação de objetos e GTT).

Após permanecerem 12 semanas recebendo HFD, essa foi substituída por dieta padrão e ambos os grupos de animais passaram a ser alimentados com dieta padrão para roedores por quatro semanas e ao final deste período, os animais foram submetidos a testes comportamentais (campo aberto, teste de memória espacial no labirinto em Y e teste do nado

forçado). Um dia após o último teste comportamental, os animais, em jejum calórico de seis horas, foram submetidos ao GTT. Um dia após o último teste de tolerância a glicose, procedeu-se a eutanásia (Fig. 4).

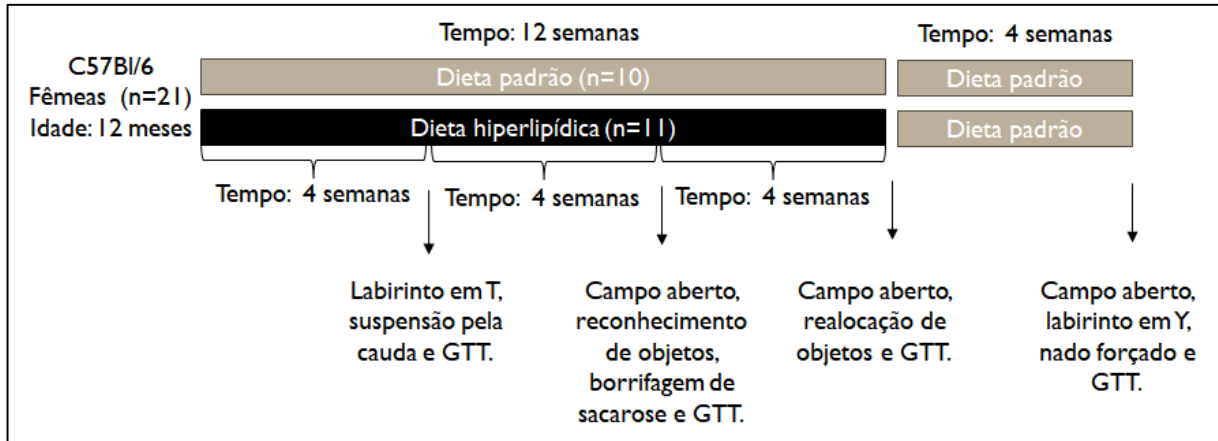


Figura 4. Delineamento experimental.

4.4 Testes comportamentais

Todos os testes comportamentais foram realizados durante a fase clara (8h:00min - 12h:00min), em uma sala com temperatura controlada (23 ° C, umidade entre 40% e 60%), com baixa intensidade de luz (12 lx), e foram gravados (webcam Microsoft VX 3000). Para minimizar a presença de pistas olfativas, os aparatos utilizados foram cuidadosamente higienizados com etanol a 10% antes de se iniciar cada protocolo experimental e a cada troca de animal ou tentativa.

4.4.1 Labirinto em T

Relevância do modelo: O protocolo de alternância forçada foi adaptado de Wolf e colaboradores (2016) e avalia memória espacial de curto prazo em roedores. Baseando-se na premissa que roedores possuem um comportamento natural de exploração diante da novidade, de modo que o animal permaneça mais tempo no braço novo quando comparado aos demais braços já explorados.

Protocolo experimental: O teste de alternância forçada foi conduzido usando um labirinto simétrico de acrílico preto. Cada braço do labirinto em T tinha 30 cm de comprimento, 9 cm de largura e 12 cm de altura, e a parede no final de cada braço estava marcada com um padrão preto e branco diferente. O teste consistiu em uma sessão de treinamento de 5 minutos (T1) seguido de uma sessão de teste de 5 minutos (T2). Em T1, os animais foram colocados no final do braço inicial, de frente para a parede e longe do centro, e tiveram a oportunidade de

explorar dois braços do labirinto em T, enquanto a entrada no terceiro braço foi bloqueada. Após a sessão de treinamento, o camundongo retornou à sua gaiola por um intervalo de 30 minutos entre as sessões. Em T2, o braço 3 foi liberado e os animais foram novamente colocados no braço inicial e, em seguida, permitido o acesso aos três braços do labirinto. O número de entradas (definido pela colocação das quatro patas em um braço) e o tempo gasto em cada braço foram registrados. O tempo no braço novo [%] foi definido como o tempo gasto no braço novo dividido pelo tempo gasto em todos os braços durante o teste T2.

4.4.2 Labirinto em Y

Relevância do modelo: O labirinto em Y avalia memória de trabalho ou operacional em roedores. Os braços podem conter estímulos discriminativos (sugestões) que favorece os animais obterem uma memória espacial de referência, isto é, se a primeira escolha do animal foi o braço 'a', na segunda ele tenderá a preferir o braço 'b' (não visitado). Esse movimento é denominado alternância espontânea e danos em estruturas encefálicas, como o hipocampo podem prejudicá-lo (Deacon e Rawlins, 2006).

Protocolo experimental: A alternância espontânea foi testada como descrito por Holcomb et al., 1998. O labirinto simétrico em Y, feito de acrílico, consiste em três braços separados por 120 graus. Cada braço tem 40 cm de comprimento, 17 cm de altura, 4 cm de largura na parte inferior e 13 cm de largura na parte superior. Cada camundongo foi colocado no centro do labirinto Y e foi permitido explorar livremente através do labirinto durante uma sessão de 5 minutos. A sequência e o número total de entradas em cada braço do labirinto foram registrados. Foi considerado como entrada no braço quando as patas traseiras do camundongo foram completamente colocadas no braço. Alternância percentual foi calculada com base na fórmula que leva em consideração o número de entradas nos três braços, dividido pelo número de alternâncias $(\text{o número total entradas nos braços} - 2) / \text{número de alternância} \times 100$ (Miedel adaptado, 2017).

4.4.3 Reconhecimento de objetos

Relevância do modelo: A tarefa de reconhecimento de objetos avalia a habilidade de roedores em reconhecer um novo objeto no ambiente. Basicamente, neste teste, não há reforços positivos ou negativos, e esta metodologia afere a preferência natural por novos objetos exibida por roedores. O procedimento experimental consiste em três fases: habituação, familiarização e a fase de teste. Ressalta-se que a tarefa de reconhecimento de objetos é

particularmente atrativa porque não requer motivação externa, recompensa ou punição – apenas um pouco de treinamento e habituação é requerido – sendo que a tarefa pode ser completada em um período relativamente curto de tempo. Os resultados deste paradigma são influenciados tanto por lesões hipocâmpais quanto corticais (Buckmaster et al., 2004).

Protocolo experimental: O aparato utilizado foi um campo aberto. O procedimento consistiu em três sessões de habituação ao campo aberto com duração de 5 minutos por 3 dias seguidos, na qual o animal foi colocado no aparato para livre exploração. Este modelo é empregado para avaliar a atividade exploratória dos animais (Prut e Belzung, 2003). Após 24 horas do último dia de habituação, os animais foram reexpostos ao campo aberto por 5 minutos, contudo nesta apresentação (treino) dois objetos idênticos eram apresentados aos animais. Neste momento, foi registrado o tempo de exploração de cada um dos objetos colocados na caixa. Depois do treino os animais retornaram à sua caixa moradia e aguardaram até o momento do teste, 30 minutos após o treino. No momento do teste, porém, um dos objetos foi trocado e registrado o tempo de exploração de cada um dos objetos. Os seguintes comportamentos foram considerados como exploração do objeto: cheirar, tocar ou observar o objeto a menos de 1 cm de distância. Este tempo de exploração dos objetos foi utilizado para o cálculo do índice de localização de objetos, utilizado como parâmetro de memória (Leger et al., 2013).

4.4.4 Realocação de objetos

Relevância do modelo: A memória espacial de curto prazo dos camundongos foi avaliada no teste de realocação de objeto. Este teste, baseado na tendência espontânea de roedores, previamente expostos a dois objetos idênticos, a posteriormente, explorar um dos objetos (realocado para uma nova localização espacial) por um tempo maior que o objeto não deslocado, tem sido utilizado na avaliação de memórias dependentes do hipocampo (Assini et al., 2009).

Protocolo experimental: O aparelho que necessário para o teste da realocação de objeto é o campo aberto, ao qual o animal foi habituado. Foram utilizados dois retângulos plásticos idênticos (3 cm lado X 4,5 cm lado X 4,5 cm altura) colados ao chão de maneira equidistante 7 cm de dois lados da caixa. O procedimento consistiu em uma sessão de habituação ao campo aberto com duração de 5 minutos, na qual o animal é colocado na caixa e explora livremente. Após 24 horas, os animais foram reexpostos ao campo aberto por 5 minutos, contudo nesta apresentação (treino) dois objetos idênticos foram apresentados aos animais.

Neste momento, foi registrado o tempo de exploração de cada um dos objetos colocados na caixa. Depois do treino os animais retornaram a sua caixa moradia e aguardavam até o momento do teste, 30 minutos após o treino. No momento do teste, porém, um dos objetos foi mudado de lugar no campo aberto. Neste momento registra-se, novamente, o tempo de exploração de cada um dos objetos. Os seguintes comportamentos são considerados como exploração do objeto: cheirar, tocar ou observar o objeto a menos de 1 cm de distância. Este tempo de exploração dos objetos é utilizado para o cálculo do índice de localização de objetos, o qual foi utilizado como parâmetro de memória (Assini et al., 2009).

4.4.5 Suspensão pela cauda

Relevância do modelo: O diagnóstico clínico da depressão requer a presença de diversos sintomas centrais (e.g., humor deprimido, prazer diminuído) normalmente acompanhados de sintomas variados como irritabilidade, mudanças de peso, distúrbios no sono, sentimento de culpa, baixa concentração, pensamentos de morte, suicídio etc. De modo claro, não é possível reproduzir em animais todos os sintomas observados clinicamente. Neste sentido, medidas relacionadas à resignação (comumente denominado “desamparo aprendido” ou “desespero comportamental”) são utilizadas como o principal parâmetro comportamental nos testes de screening de atividade antidepressiva em camundongos, como o teste da suspensão pela cauda. O teste da suspensão pela cauda foi desenvolvido por Steru e colaboradores (1985) baseado na premissa que um animal submetido a uma situação estressante e inescapável apresenta dois tipos de comportamentos alternados, a agitação, característica da tentativa de escape da situação de estresse, e a imobilidade. Este padrão de comportamento também pode ser chamado de “searching-behavior”, caracterizado pela alternância de intensa atividade motora e gasto de energia com a imobilidade (Steru et al., 1985). Neste sentido, fármacos antidepressivos comumente utilizados na clínica são capazes de reduzir o tempo de imobilidade de animais submetidos ao teste da suspensão pela cauda (Steru et al., 1985; Cryan e Holmes, 2005).

Protocolo experimental: Os animais foram colocados em uma sala, com controle de ruídos, onde foram suspensos à 30 cm acima do chão por meio de uma fita adesiva presa na ponta da cauda e em uma superfície plana. É importante ressaltar que os animais não tiveram acesso a nenhuma parede ou compartimento que possa favorecer a subida. O teste foi registrado, com o auxílio de uma câmera de vídeo, durante um período de 6 min. O tempo de imobilidade será analisado de forma que serão considerados imóveis os animais que não apresentarem

movimentos ativos ou qualquer movimento corporal. Foram observados o tempo para a primeira imobilidade (latência) e o tempo de imobilidade.

4.4.6 Teste da borrifagem de sacarose

Relevância do modelo: A autolimpeza é um comportamento inato e importante no repertório comportamental de roedores, sendo que hormônios, neuromoduladores e várias regiões do encéfalo envolvidas nesse comportamento (Kalueff e Tuohimaa, 2004). Alterações comportamentais indicativas de depressão incluem uma diminuição de cuidados com higiene, modificação no consumo de alimentos, consumo de sacarose e exploração social ou ambiental, e esses comportamentos podem ser observados em roedores. Este teste seguiu o protocolo descrito por Isingrini et al., (2010), com modificações. Os indícios de falta de autocuidado e comportamento motivacional são considerados como comportamentos do tipo depressivo (Moretti et al., 2012).

Protocolo experimental: Os animais foram colocados individualmente em uma em uma caixa acrílico (30 x 30 x 20 cm) e borrifado 1mL de solução de 10% de sacarose no dorso do animal. Devido à sua viscosidade, a solução contendo sacarose induz um comportamento de autolimpeza (grooming) do mesmo. Depois de aplicar a solução de sacarose, é realizado o registro do tempo (duração) e latência para o início do comportamento de autolimpeza por um período de 5 minutos, como indicativos de autocuidado e comportamento motivacional.

4.4.7 Nado forçado

Relevância do modelo: O teste do nado forçado é um teste que mede a estratégia de enfrentamento diante de um estresse agudo inescapável (Porsolt et al., 1977) e, portanto, oferece um panorama da resposta neural ao estresse. O estresse é um fator que contribui para a depressão em humanos e está associada à resposta alterada ao estresse. Em modelos animais, medicamentos utilizados para tratamento de depressão em humanos resultam em uma melhora na estratégia de enfrentamento no teste do nado forçado (Commons et al., 2017).

Protocolo experimental: O aparato consiste em um tubo plástico (diâmetro 10 cm, altura 25 cm), preenchido com água a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ até 19 cm. Cada camundongo foi forçado a nadar no tubo por 6 min. Os comportamentos analisados foram o tempo de imobilidade, definido pela ausência de nado ativo, quando o animal faz apenas os movimentos necessários para manter a cabeça sobre a água e a latência para o início da imobilidade.

4.5 Ensaio bioquímico

O teste intraperitoneal de tolerância à glicose foi realizado após 6h de jejum calórico e da coleta da glicemia de jejum (tempo 0) na cauda dos animais com glicosímetro (Accu-Chek Performa®). Após a primeira coleta, foi feita uma aplicação via i.p. de D-(+)-glicose (Sigma Aldrich, St Louis, MO) na concentração de 2g/kg de peso corporal e a concentração de glicose no sangue aferida nos tempos 15, 30, 60 e 120 min após a aplicação. Os resultados foram expressos em mg/dl.

4.6 Análise estatística

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). As análises estatísticas foram realizadas usando teste t não pareado, teste t contra valores hipotéticos, como no teste do labirinto em T (33%), reconhecimento e realocação de objetos (50%). Análise de variância (ANOVA), com medidas repetidas quando apropriado seguido do post hoc Newman Keul. Valores de p menores que 0,05 ($P < 0,05$) foram considerados indicativos de significância. Todos os testes foram realizados usando o pacote de software STATISTICA® (StatSoft Inc, Tulsa, OK, EUA).

5. RESULTADOS

5.1 Bloco experimental 1 (4 semanas)

Após o período de 4 semanas recebendo a HFD ou dieta padrão, os animais foram submetidos aos testes de alternância forçada no labirinto em T e teste da suspensão pela cauda e um dia após o último teste comportamental, os animais, em jejum calórico de seis horas, foram submetidos ao GTT.

Observamos que 4 semanas de HFD não foi suficiente para promover alterações significativas entre os grupos na variação da massa corporal (Δ =massa final- inicial; $t=1,814$; $df=19$; $p>0,05$; Fig. 5 A) e na concentração de glicose basal ($t=1,733$; $df=19$; $p>0,05$; Fig. 5 B), porém parece ser suficiente para desencadear distúrbios metabólicos relacionados ao metabolismo de glicose evidenciado no minuto 60 no GTT ($p<0,05$; Fig. 5 C) sem mostrar diferença na área sob a curva ($t=1,018$; $df=19$; $p>0,05$; Fig. 5 D).

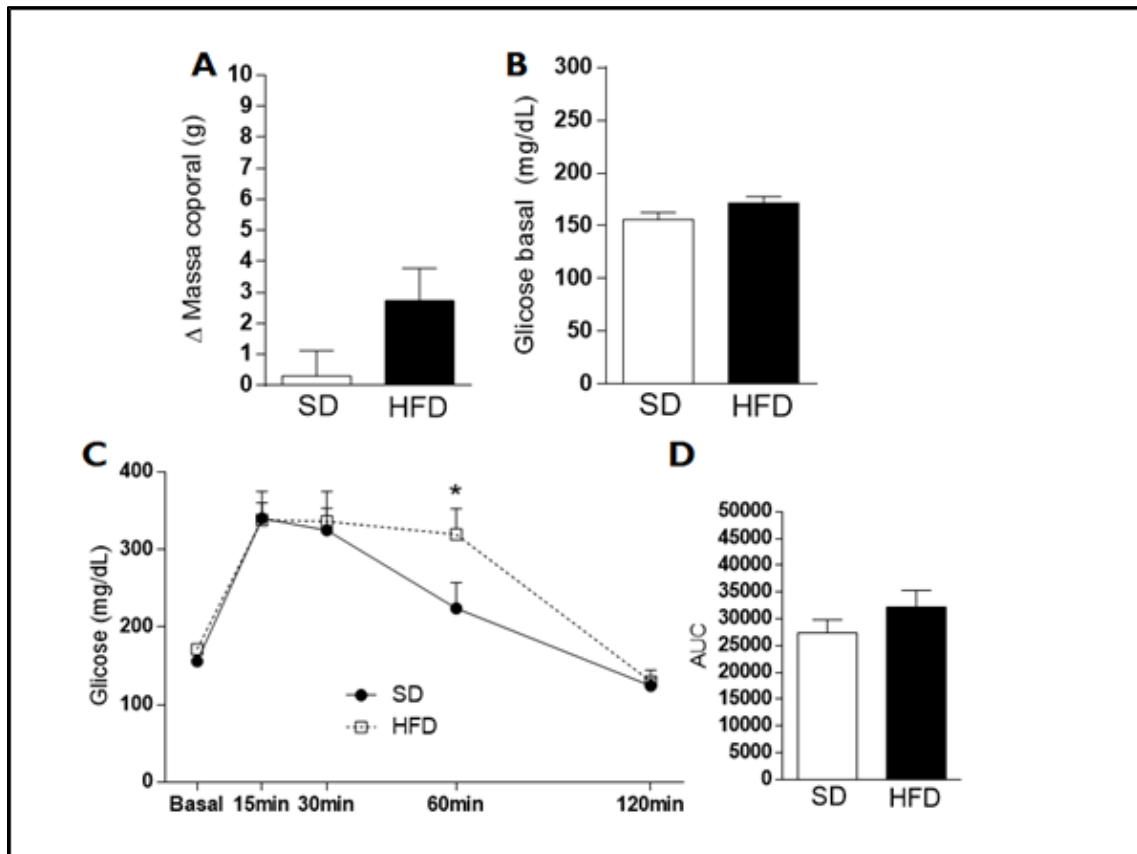


Figura 5: Efeito da HFD em parâmetros metabólicos após 4 semanas de exposição à dieta. (A) Δ Massa corporal (g). (B) glicose basal (mg / dL). Teste de tolerância à glicose (C-D); (C) Glicose (mg / dL), (D) Área sob curva (AUC). Os dados são expressos como média + SEM. * $p < 0,05$ vs. grupo SD. Teste T de Student para A, B, D e ANOVA com medidas repetidas para GTT). SD (dieta padrão); HFD (dieta hiperlipídica).

Avaliamos a memória espacial de curto prazo usando teste do labirinto em T. O grupo HFD apresentou aumento do número de cruzamentos totais durante as sessões de treino ($t=2,407$; $df=18$; $p<0,05$) e de teste ($t=3,286$; $df=18$; $p<0,05$) quando comparado ao grupo SD (Fig. 6 A e B). No entanto, ambos os grupos apresentaram um aumento significativo no tempo gasto explorando o novo braço (SD: $t= 2,324$; $df= 8$; $p<0,05$; e HFD: $t= 2,234$; $df=10$; $p<0,05$), evidenciando aprendizado da tarefa (Fig. 6 C).

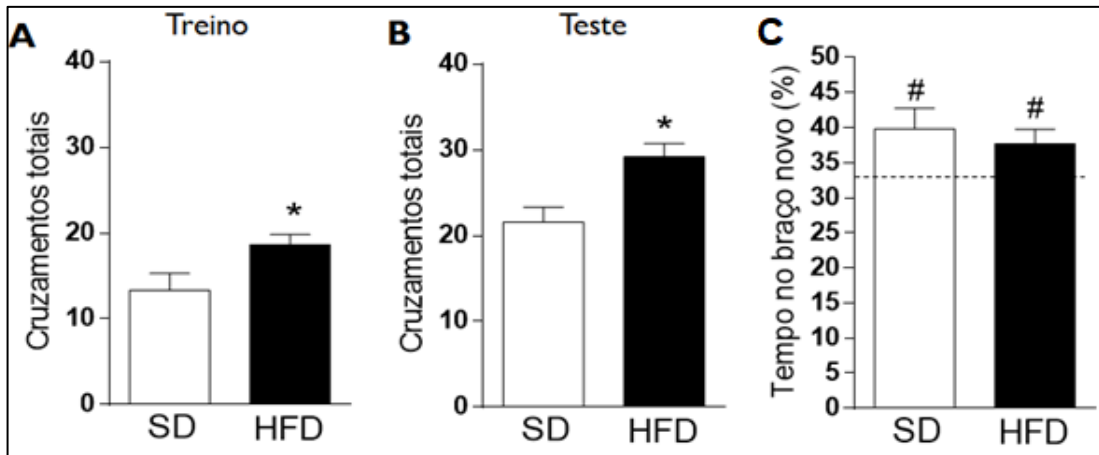


Figura 6: Efeito da HFD memória espacial de curto prazo após 4 semanas de exposição, testado no labirinto em T. A) Avaliação do número de cruzamentos totais durante o treino no teste do labirinto em T em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); B) Avaliação do número de cruzamentos totais durante a fase de teste do labirinto em T; C) Tempo (s) de exploração do braço novo. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. * $p<0,05$ quando comparado com o grupo SD; # $P<0,05$ comparado com 33% (denota aprendizado da tarefa); SD ($n=10$), HFD ($n=11$).

No teste de suspensão pela cauda, utilizado para avaliar o comportamento dos animais frente a estresse agudo inescapável, não foi observado diferença entre os grupos com relação aos parâmetros de latência para imobilidade ($p>0,05$; Fig. 7 A) e tempo de imobilidade ($p>0,05$; Fig. 7 B).

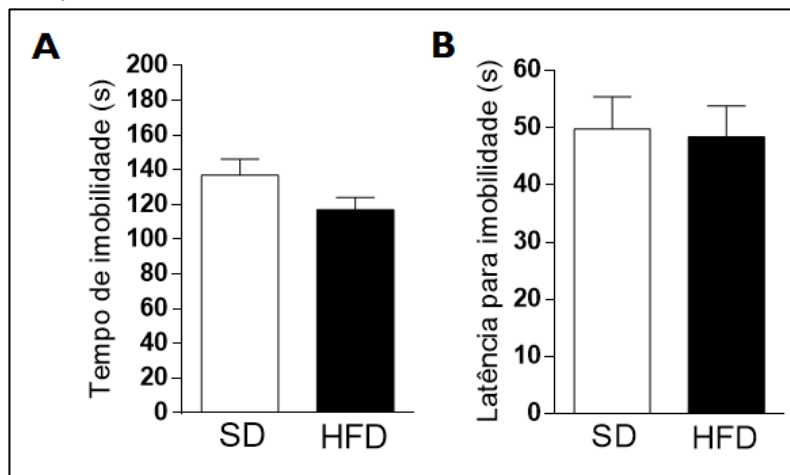


Figura 7: Efeito da HFD no comportamento frente a estresse agudo inescapável no teste de suspensão pela cauda, após 4 semanas de exposição à dieta. A) Avaliação do tempo (s) de imobilidade durante o teste de

suspensão pela cauda em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); B) Avaliação da latência (s) para a imobilidade em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD). Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média; SD (n=9), HFD (n=8).

5.2 Bloco experimental 2 (8 semanas)

Após 8 semanas sobre influência das mesmas dietas, os animais passaram por outra bateria de testes, sendo eles o reconhecimento de objetos, borrifagem de sacarose e GTT. Em relação aos parâmetros metabólicos, observamos um aumento significativo da massa corporal ($t=2,517$; $df=19$; $p<0,05$; Fig. 8 A), da glicose basal ($t=3,691$; $df=18$; $p<0,05$; Fig. 8 B) e dos níveis de glicose no GTT ($p<0,05$; Fig. 8 C) dos animais do grupo HFD quando comparados ao grupo SD. O teste t de Student indicou diferença significativa na AUC ($t=3,908$; $df=18$; $p<0,05$; Fig. 8 D).

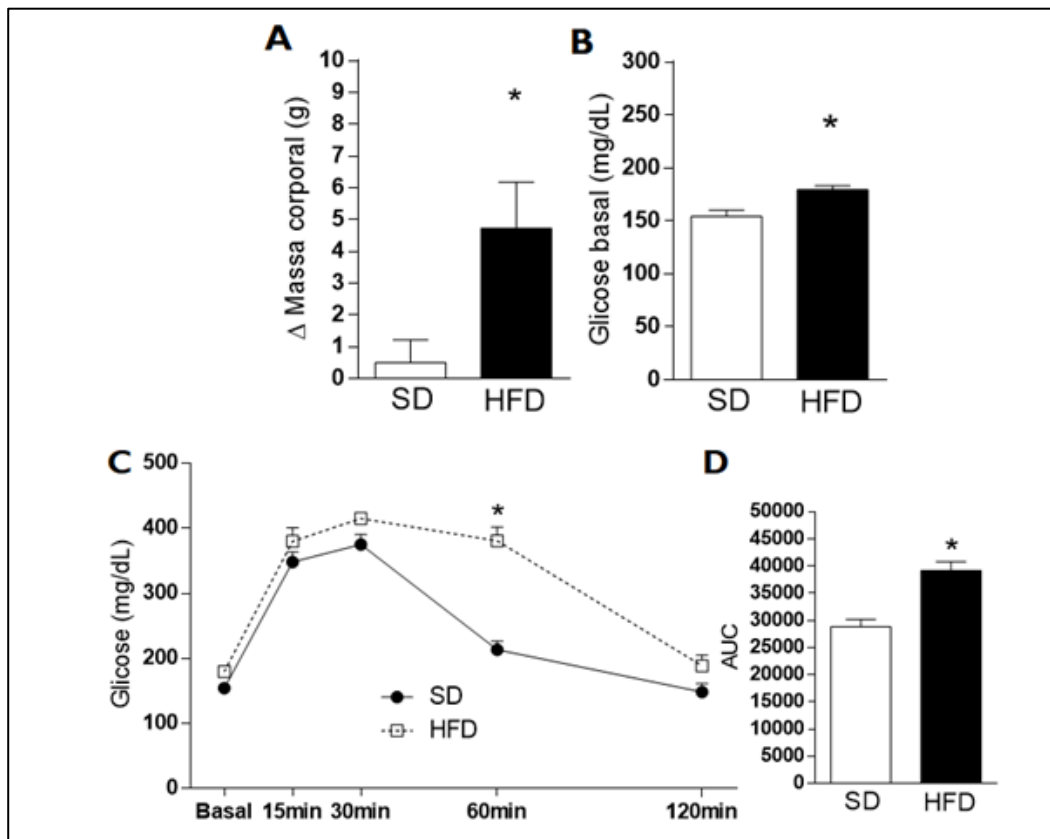


Figura 8: Efeito da HFD em parâmetros metabólicos após 8 semanas de exposição à dieta. A) Massa corporal (g) (massa final- inicial); B) Glicose basal (mg/dL); C) Avaliação da tolerância à glicose após 6 h em jejum e i.p. injeção de 2 g / kg de glicose nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 min em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); D) Área sob a curva. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. * $p<0,05$ quando comparado com o grupo SD; ANOVA de uma via com medidas repetidas; SD (n=10), HFD (n=10).

O teste do reconhecimento de objetos foi precedido de uma habituação longa (três dias) no aparato campo aberto, tendo sido encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) no número de cruzamento totais na primeira exposição ao aparato, mas não nos outros dois dias ($p > 0,05$; Fig. 9 A). Na sessão de treino do teste de reconhecimento de objetos, não houve nenhuma diferença no índice de reconhecimento de objetos (SD: $t = 0,3084$; $df = 8$; $p > 0,05$ e HFD: $t = 2,023$; $df = 9$; $p > 0,05$; Fig. 9 B), denotando a ausência de preferência inata por um dos objetos. Na sessão de teste, o índice de reconhecimento foi superior a 50% para o objeto novo nos grupos SD e HFD (SD: $t = 2,708$; $df = 8$; $p < 0,05$ e HFD: $t = 2,463$; $df = 9$; $p < 0,05$; Fig. 9 C), demonstrando que ambos os grupos aprenderam a tarefa e exploraram mais tempo o objeto novo.

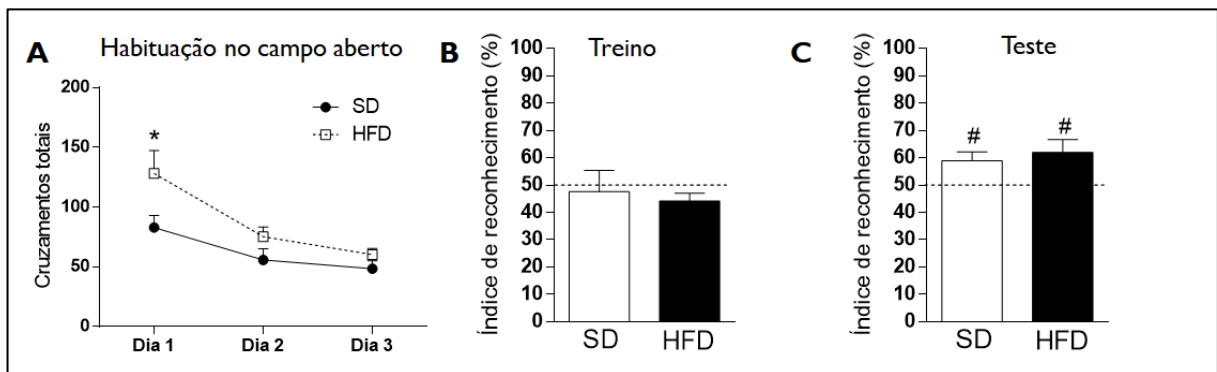


Figura 9: Efeito da HFD na locomoção espontânea e na memória de reconhecimento após 8 semanas de exposição. A) Avaliação do número de cruzamentos totais no campo aberto nos dias 1, 2 e 3 em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); B) Índice de reconhecimento (%) de objetos durante o treino no teste de reconhecimento de objetos; C) Índice de reconhecimento (%) de objetos durante a fase de teste. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo SD; # indica $p < 0,05$ versus 50% (teste t); SD ($n = 10$), HFD ($n = 11$).

No teste de borrifagem de sacarose, que avalia o comportamento de anedonia e autocuidado, não houve diferença entre os grupos na latência para autolimpeza ou grooming ($t = 1,063$; $df = 8$; $p > 0,05$; Fig. 10 A), mas mostrou diferença significativa no tempo total de grooming ($t = 2,279$; $df = 17$; $p < 0,05$; Fig. 10 B), sendo indicativo de comportamento anedônico.

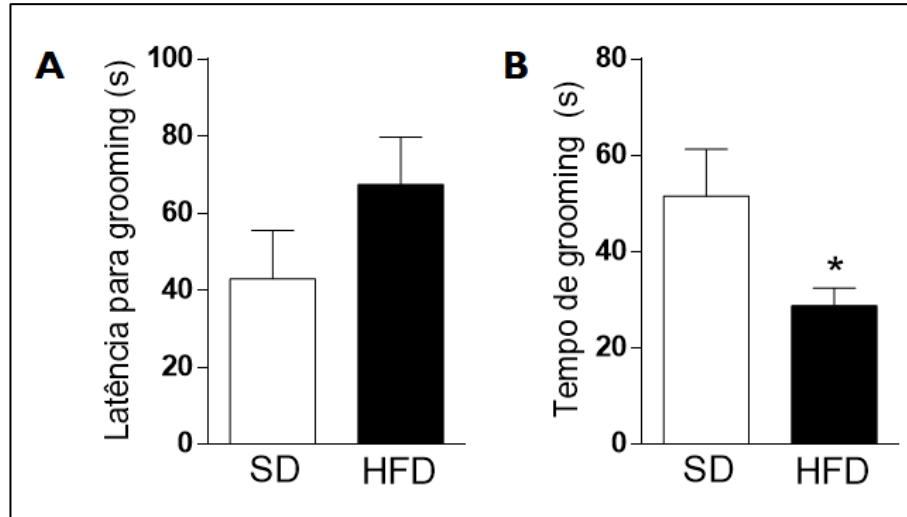


Figura 10: Efeito da HFD no autocuidado e comportamento anedônico no teste de borrifagem de sacarose, após 8 semanas de exposição. A) Avaliação do tempo (s) para o início do comportamento de autolimpeza em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); B) Tempo (s) de duração do comportamento de autolimpeza. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo SD; SD (n=9), HFD (n=10).

5.3 Bloco experimental 3 (12 semanas)

Posteriormente, os animais continuaram recebendo a dieta por mais 4 semanas, totalizando 12 semanas de intervenção e foram testados no teste de realocação de objetos, que foi precedido de habituação no campo aberto e GTT. O teste t de Student mostrou diferença significativa entre os grupos SD e HFD na massa corporal ($t=2,842$; $df=19$; $p < 0,05$; Fig. 11 A) e glicose basal ($t=2,312$; $df=16$; $p < 0,05$; Fig. 11 B). No teste GTT, a ANOVA de uma via com medidas repetidas indicou aumento significativo de glicose aos 30 e 60 min no grupo HFD ($p < 0,05$; Fig. 11 C), e o teste t de Student indicou diferença significativa na AUC ($t=5,727$; $df=16$; $p < 0,05$; Fig. 11 D).

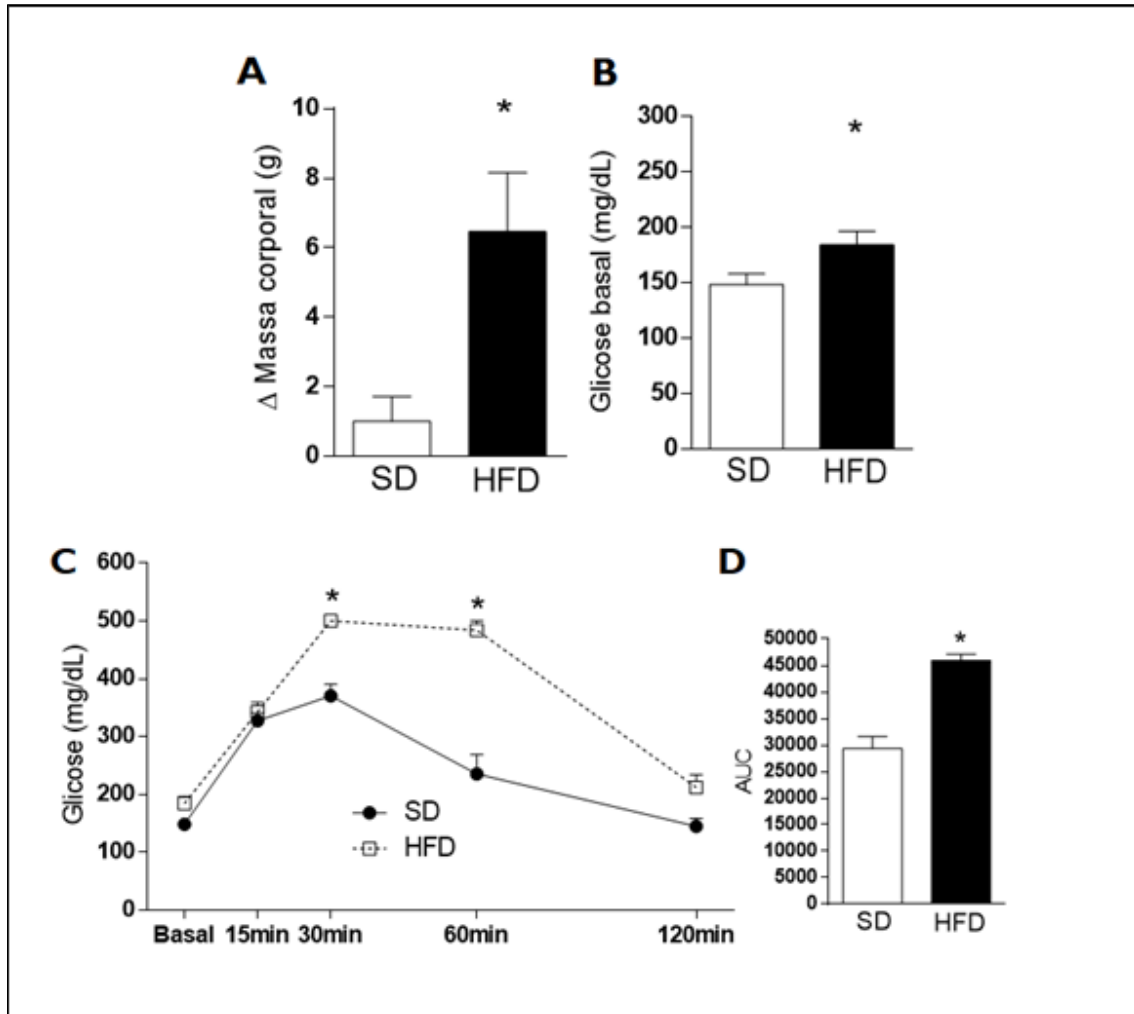


Figura 11: Efeito da HFD em parâmetros metabólicos após 12 semanas de exposição à dieta. A) Δ Massa corporal (g); B) Glicose basal (mg/dL); C) Avaliação da tolerância à glicose após 6 h em jejum e i.p. injeção de 2 g / kg de glicose nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 min em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); D) Área sob a curva. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo SD; ANOVA de uma via com medidas repetidas; SD (n=9), HFD (n=9).

O teste de realocação de objetos, que se propõe a avaliar memória espacial de curto prazo foi precedido de habituação curta (1 dia) no campo aberto (Fig. 12 A), e observamos que o grupo HFD ($t=2,492$; $df=19$; $p < 0,05$) realizou significativamente mais cruzamentos que o grupo controle, indicativo de aumento da locomoção espontânea. Na fase de treino do teste de realocação de objetos, ambos os grupos exploraram os dois objetos sem demonstrar preferência por nenhum deles (SD: $t=2,378$; $df=7$; $p < 0,05$ e HFD: $t=0,7253$; $df=7$; $p > 0,05$; Fig. 12 B), e na fase de teste, os animais do grupo HFD passaram significativamente menos tempo explorando o objeto deslocado quando comparado ao grupo controle, evidenciando

prejuízo na memória espacial de curto prazo (SD: $t=0,7253$; $df=7$; $p>0,05$ e HFD: $t=2,378$; $df=7$; $p<0,05$; Fig. 12 C).

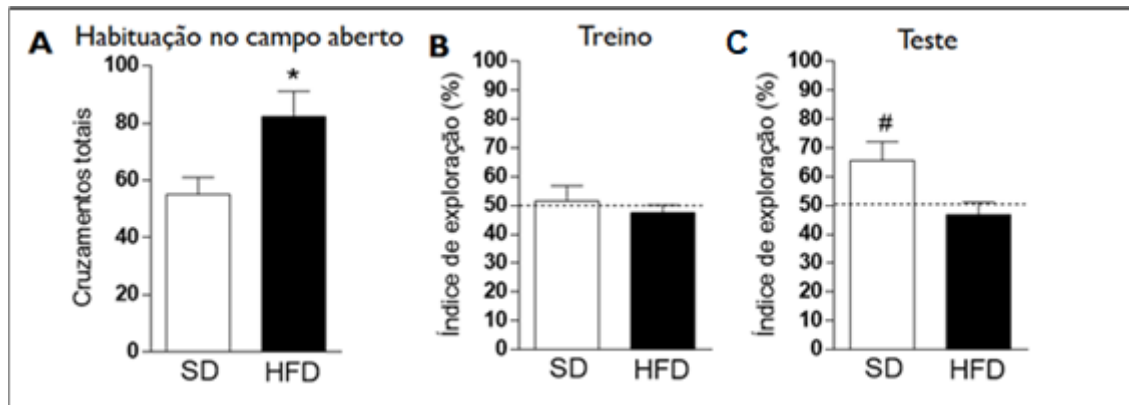


Figura 12: Efeito da HFD na locomoção espontânea e na memória espacial de curto prazo após 12 semanas de exposição. A) Avaliação do número de cruzamentos totais no campo aberto em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); B) Índice de localização (%) de objetos durante o treino no teste de realocação de objetos; C) Índice de localização (%) de objetos durante a fase de teste. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. * $p<0,05$ quando comparado com o grupo SD; # indica $p<0,05$ versus 50% (teste t); SD (n=8), HFD (n=8).

5.4 Bloco experimental 4

Após 12 semanas recebendo HFD, essa foi substituída por dieta padrão para roedores por 4 semanas para testar a hipótese de que tal alteração poderia reverter os prejuízos metabólicos e os comportamentais induzidos pelo consumo crônico de HFD. Os animais foram submetidos aos testes do campo aberto, alternância espontânea no labirinto em Y, nado forçado e GTT.

Em relação aos parâmetros metabólicos, a figura 13 A mostra a massa corporal de ambos os grupos ao longo do experimento, evidenciando um aumento da massa ($p<0,05$; Fig. 13 A) a partir da quarta semana de exposição a HFD e a reversão desse incremento após substituição da dieta. Ainda, teste t de Student não mostrou diferença significativa entre os grupos nos parâmetros de massa corporal ($t=0,9606$; $df=19$; $p>0,05$; Fig. 13 B), concentração basal de glicose sanguínea ($t=0,7090$; $df=17$; $p>0,05$; Fig. 13 C) e AUC ($t=0,5459$; $df=17$; $p>0,05$; Fig. 13 E), nem a ANOVA de uma via com medidas repetidas no GTT ($p>0,05$; Fig. 13 D).

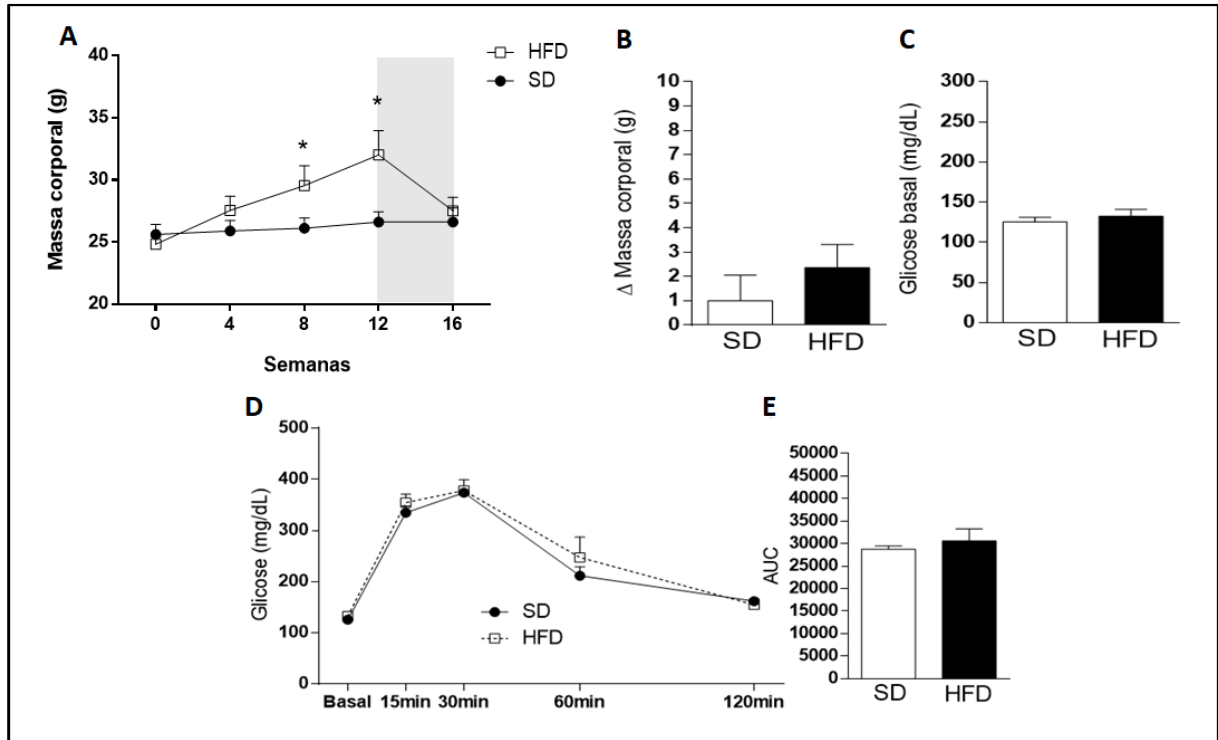


Figura 13: Efeito da alteração da HFD por dieta padrão por 4 semanas nos parâmetros metabólicos. A) Curva da massa corporal (g) ao longo do experimento; B) Delta da massa corporal (g); C) Glicose basal (mg/dL); D) Avaliação da tolerância à glicose após 6 h em jejum e i.p. injeção de 2 g / kg de glicose nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 min em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); E) Área sob a curva do gráfico A. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média. ANOVA de uma via com medidas repetidas; * $p < 0,05$ quando comparado com o grupo SD; SD (n=9), HFD (n=9).

O teste t de Student não mostrou diferença significativa no número de cruzamentos totais no campo aberto ($t=0,5959$; $df=16$; $p > 0,05$; Fig. 14 A) e nem no índice de alternância espontânea no teste do labirinto em Y ($t=0,2733$; $df=16$; $p > 0,05$; Fig. 14 B).

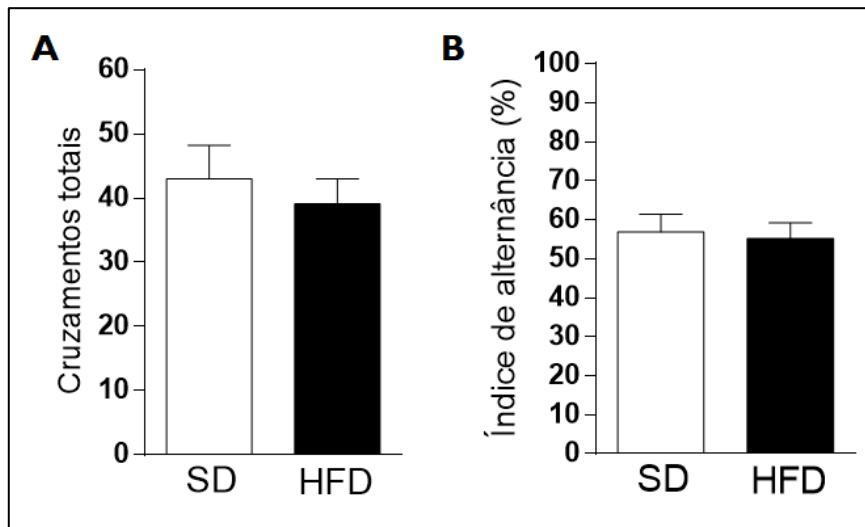


Figura 14: Efeito da alteração da HFD por dieta padrão por 4 semanas na locomoção espontânea e memória de trabalho. A) Cruzamentos totais no campo aberto em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD). B) . Avaliação do índice de alternância (%) no teste labirinto em Y. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média; SD (n=9), HFD (n=9).

Ainda, no teste do nado forçado (Fig. 15 A e B), que avalia comportamento dos roedores frente a um estresse agudo, não observamos diferença significativa nos parâmetros de latência para imobilidade ($t=0,1022$; $df=16$; $p>0,05$; Fig. 15 A) e tempo de imobilidade ($t=0,2332$; $df=16$; $p>0,05$; Fig. 15 B).

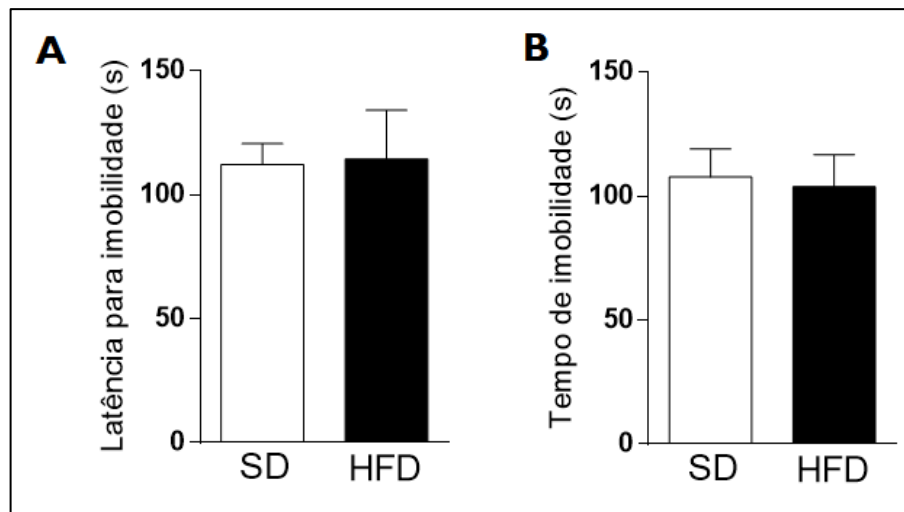


Figura 15: Efeito da alteração da HFD por dieta padrão por 4 semanas no comportamento frente a estresse agudo. A) Avaliação da latência (s) para a imobilidade em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD); B) Avaliação do tempo (s) de imobilidade durante o teste do nado forçado em camundongos C57Bl/6 que receberam dieta padrão para roedores (SD) e dieta hiperlipídica (HFD). Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média; SD (n=9), HFD (n=9).

6. DISCUSSÃO

A ingestão de HFD tem sido associada ao desenvolvimento de obesidade, alterações metabólicas e cardiovasculares (Lovejoy, 2002). Além disso, na última década, diversos estudos também têm associado hábitos alimentares a alterações cognitivas e emocionais (Luppino et al., 2010; Moreira, et al., 2014; Cordner e Tamashiro, 2015). As dietas com alto teor de gordura (pelo menos 20% de gordura a mais do que na ração padrão para roedores) foram associadas ao desenvolvimento de deficiências cognitivas e modificações na emocionalidade em roedores (Cordner, 2015; Abbott, 2019).

Nossos resultados mostram que quatro semanas de dieta HFD não foram suficientes para promover mudanças significativas nos parâmetros de massa corporal e na glicose basal. Gergerlioglu e colaboradores (2016), utilizando ratos Wistar, machos, com 10 a 12 semanas de idade, alimentados com HFD (35% de gordura) por quatro semanas, não observaram diferença significativa na massa corporal e glicose basal desses animais quando comparado ao grupo controle. Magnusson e colaboradores (2015) observaram que, camundongos C57Bl machos, alimentados com HFD (42% de gordura) por seis semanas, só apresentavam diferença significativa na massa corporal após a quinta semana de exposição a dieta. Em contrapartida, Ayabe e colaboradores (2018) mostraram que camundongos C57Bl machos, com cinco semanas de idade, alimentados com HFD (60% de gordura) por oito semanas, já começam a apresentar massa corporal significativamente maior que o grupo controle a partir da terceira semana de dieta. Denver, Gault e McClean (2018) identificaram que camundongos C57Bl, machos, alimentados com HFD (45% de gordura), tinham massa corporal significativamente maior que o grupo controle após o quarto dia de dieta, porém não observaram diferença na glicose basal após 18 dias, 34 dias, 10 semanas ou 34 semanas de dieta.

A alimentação prolongada com HFD induz um aumento na massa corporal de roedores, sendo mais pronunciada quando a exposição se inicia após o desmame e continua por várias semanas (Cawthorn, Scheller e Macdougald, 2012; Buettner et al., 2007). A literatura mostra que embora um aumento na massa corporal possa ser identificado após duas semanas de alimentação com HFD, o fenótipo de obesidade induzido pela dieta se torna mais aparente após exposição por período superior a quatro semanas (Buettner et al., 2007).

Apesar de não termos encontrado diferença significativa nos parâmetros de massa corporal e glicose basal após quatro semanas de HFD, esse tempo de dieta já foi suficiente

para produzir um efeito negativo na homeostase glicêmica, evidenciado pelo comprometimento observado no GTT. Semelhantemente, Krishna e colaboradores (2016) observaram que cinco semanas de HFD (60% de gordura) resultou em prejuízo no metabolismo de glicose em ratos wistar fêmeas. McDonald e colaboradores (2011) avaliaram ratos machos alimentados com uma dieta de HFD (41% de gordura) por 7, 22 e 39 semanas, e observaram que às sete semanas foi possível detectar um metabolismo glicêmico comprometido nesses animais. McLean e colaboradores (2018), utilizando camundongos C57Bl machos, com doze semanas de idade, mostraram que apenas sete dias de HFD (60% gordura) foi suficiente para provocar aumento na massa corporal, ingestão calórica e comprometimento da tolerância à glicose.

As células β do pâncreas liberam insulina de acordo com um padrão bifásico, sendo o principal estímulo para a liberação desse hormônio o aumento dos níveis plasmáticos de glicose. O estudo de Ahren e Pacini (2002) mostrou que camundongos C57Bl alimentados com HFD (58% de gordura) tinham um prejuízo na primeira fase de liberação da insulina quando comparados a animais tratados com dieta padrão. Em contrapartida, apresentam uma possível compensação pancreática caracterizada pelo aumento da massa de células β e aumento da secreção de insulina na segunda fase, provavelmente porque apresentavam redução da sensibilidade à insulina (Ahren e Pacini, 2002; Buettner et al., 2007; Moreno-Fernández et al., 2018).

Além disso, às quatro semanas de dieta, não observamos efeitos da dieta na resposta frente à estresse agudo inescapável ou prejuízo de memória espacial de curto prazo. Boitard e colaboradores (2014) mostraram que ratos Wistar machos alimentados com HFD (24% de gordura) por quatro semanas após o desmame (3 semanas) ou na fase adulta (12 semanas) não apresentaram prejuízo na memória espacial de curto prazo quando comparado a animais tratados com dieta padrão para roedores. Porém, os animais expostos a HFD após o desmame tiveram prejuízo na memória espacial de longo prazo enquanto que o consumo semelhante dessa dieta na fase adulta não afetou tal parâmetro, indicando que o período juvenil é particularmente vulnerável aos efeitos da HFD (Boitard et al., 2014). Diferentemente, Denver, Gault e McClean (2018) mostraram que camundongos C57Bl alimentados com HFD (45% de gordura) apresentavam prejuízo na memória de reconhecimento após 18 dias, 34 dias e 10 semanas de exposição a dieta.

Por outro lado, os animais expostos a HFD por quatro semanas apresentaram aumento da atividade locomotora espontânea. Kaczmarczyk e colaboradores (2013) mostraram que

camundongos C57Bl machos, com três semanas de idade, alimentados com HFD (60% de gordura) por um período de 1 a 3 semanas apresentaram aumento da movimentação espontânea na roda de correr após uma semana de tratamento com essa dieta. Porém estudos como o de Wong e colaboradores (2015), que utilizou camundongos C57Bl fêmeas com oito semanas de idade, alimentadas com HFD (40% de gordura) por seis semanas, observou que os animais demonstraram uma redução na atividade locomotora espontânea, associada a hiperinsulinemia e comprometimento do metabolismo da glicose nos testes intraperitoneal de tolerância à glicose e tolerância à insulina.

Fordahl, Lock e Jones (2016) mostraram em seu estudo feito com camundongos C57Bl machos, tratados com HFD (60% de gordura) por seis semanas apresentavam aumento dos níveis plasmáticos de leptina e insulina, associado a aumento da locomoção espontânea e diminuição da captação de dopamina. Mostraram ainda que níveis elevados de dopamina extracelular no núcleo accumbens parecem contribuir para o aumento da locomoção e outros modelos de obesidade induzida por dieta tem mostrado alterações no sistema dopaminérgico devido a consumo de HFD (Alsio et al., 2010). A sinalização da dopamina contribui para a eficácia reforçada dos psicoestimulantes (Baik, 2013), e níveis elevados no núcleo accumbens é um achado neuroquímico de todas as substâncias abusadas, incluindo alimentos (Fordahl, Lock e Jones, 2016). Estudos mostram que roedores tratados com HFD por cinco e doze semanas apresentam redução da expressão do receptor de dopamina no núcleo accumbens, e que a recaptação de dopamina nesse local foi atenuada após 6 semanas de exposição a HFD (Alsio et al., 2010; Carlin et al., 2013).

Após oito semanas de exposição às dietas padrão ou HFD os animais foram reavaliados e observamos aumento significativo de massa corporal, da glicose de jejum e incremento no prejuízo na tolerância à glicose, sendo evidenciado pela diferença na análise da AUC. Esses efeitos deletérios são explicados pela susceptibilidade desses animais aos déficits metabólicos (Montgomery et al., 2013) e ao perfil inflamatório (Ayabe et al., 2018) induzidos pela HFD durante oito semanas. Ayabe e colaboradores mostraram que oito semanas de HFD (60% de gordura) foi capaz de induzir aumento da massa corporal, aumento da massa de tecido adiposo epididimário e níveis plasmáticos de triglicérides. Arnold e colaboradores (2014) mostraram que camundongos C57Bl tratados com HFD (45% de gordura) por oito semanas apresentavam aumento de massa corporal, glicose basal e alterações no teste de tolerância à glicose. Xu e colaboradores (2018) mostraram que além da alteração na massa corporal, níveis aumentados de glicose plasmática e resistência à insulina, camundongos

C57Bl tratados com HFD (60% de gordura) por oito semanas também apresentavam aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol, LDL, diminuição de HDL, aumento da expressão de moléculas relacionadas à lipidogênese e alteração hepática condizente com o quadro de esteatose hepática não alcoólica.

Na obesidade, há um quadro de inflamação crônica de baixo grau que está envolvida na patogênese de várias doenças crônicas, que ocorre devido à elevação da infiltração de macrófagos e expressão de citocinas pró-inflamatórias, principalmente no tecido adiposo e no fígado. Várias alterações contribuem para o início da inflamação crônica, como estresse no retículo endoplasmático, redução da adiponectina, elevação da leptina, morte de adipócitos, infiltração de macrófagos, lipólise e hipóxia do tecido adiposo (Ye e McGuinness, 2013), induzindo liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 e IL-6. Alguns dos mecanismos propostos na literatura como mediadores dos efeitos da inflamação é a inibição do IRS-1 (substrato 1 do receptor de insulina) e do receptor de insulina na via de sinalização da insulina (Ye, 2011; White, 2002) e por meio do aumento de ácidos graxos livres no plasma através da estimulação da lipólise (Ye, 2013).

Ainda, também demonstramos que, no teste de borrifagem de sacarose, os animais do grupo HFD apresentaram comportamento anedônico. Diferentemente de nossos resultados, Hassan e colaboradores (2018) demonstraram que camundongos C57Bl machos, quando alimentados por oito semanas com HFD (60% gordura), não apresentaram diferença no tempo de autolimpeza no teste de borrifagem de sacarose (Hassan et al., 2018). Porém, em outros paradigmas, animais alimentados com HFD exibiram um comportamento anedônico associado a alterações na microbiota, metaboloma cerebral (Hassan et al., 2018) e inflamação (Dutheil et al., 2016). Isingrini e colaboradores (2010) mostraram que a ingestão de HFD (45% de gordura) resultou em comportamento anedônico e impediu que a fluoxetina, fármaco utilizado para o tratamento da depressão, tivesse efeito nos comportamento de autocuidado e anedonia em camundongos machos da linhagem BALB/c.

Estresse, neurogênese e plasticidade sináptica prejudicadas representam fatos interconectados associados à depressão (Dwivedi, 2011 ; Mouillet-Richard et al., 2012), que apresenta características fisiopatológicas que incluem diminuição de monoaminas, excesso de glutamato, hormônio liberador de corticotrofinas e níveis de cortisol (Carvalho et al., 2015; Jo et al., 2015). A inflamação crônica está associada ao desenvolvimento de sintomas depressivos, inclusive quando o processo inflamatório é decorrente de quadro de obesidade. O aumento dos níveis sistêmicos de citocinas pró-inflamatórias afeta o SNC e estimula os

astrócitos e as células micróglia a produzirem citocinas. Tal condição pode favorecer a ocorrência de depressão em indivíduos susceptíveis (Dantzer et al., 2008).

Foi demonstrado que a micróglia também converte a quinurenina transportada ao SNC em ácido quinolínico, um composto neurotóxico (Dantzer e Walker, 2014). Os astrócitos, por sua vez, não são capazes de absorver o excesso de glutamato, que juntamente com o ácido quinolínico aumentam a neurotransmissão glutamatérgica. Ainda, as citocinas pró-inflamatórias podem estimular o eixo HPA para liberação adicional de glicocorticoides que podem agir suprimindo a neurogênese (Brites e Fernandes, 2015).

Além disso, com oito semanas de exposição não identificamos prejuízo na memória de reconhecimento averiguada no teste de reconhecimento de objetos. Ayabe e colaboradores (2018) trataram camundongos C57Bl machos, de cinco semanas de idade com HFD (60% de gordura) por oito semanas e realizaram os testes de reconhecimento e realocação de objetos. Esse estudo mostrou que, no teste de reconhecimento de objetos, os animais do grupo HFD passaram menos tempo explorando o objeto novo e o mesmo aconteceu com relação ao objeto deslocado no teste de realocação de objetos. Ainda, Che e colaboradores (2018) mostraram que camundongos SAMP8, machos, com 10 meses de idade, após serem submetidos à exposição de HFD por oito semanas apresentavam prejuízo na memória espacial.

As diferenças entre machos e fêmeas nos parâmetros de aprendizagem e memória dependente de hipocampo são relatadas em humanos e roedores (Yagi e Galea, 2018), sendo que machos parecem apresentar melhor desempenho em tarefas de memória espacial, enquanto de fêmeas em tarefas de reconhecimento (Piber et al., 2018; Voyer, Voyer e Saint-Aubin, 2017), e a literatura sugere que tais diferenças sejam decorrentes de hormônios sexuais (Hammes e Levin, 2019). Ainda existem diferenças entre machos e fêmeas no desenvolvimento da obesidade e suscetibilidade a distúrbios relacionados à obesidade induzida por dieta. Quando alimentados com dieta rica em gordura, camundongos machos C57BL ganham massa corporal, enquanto as fêmeas são resistentes à obesidade induzida pela dieta. O estudo de Omotola e colaboradores (2019) mostrou que camundongos C57Bl fêmeas ovariectomizadas, e, portanto com níveis de estrógeno circulantes indetectáveis tornaram-se quando alimentados com uma HFD.

Após receberem HFD por 12 semanas, os animais do grupo HFD mostraram um aumento mais significativo nas alterações metabólicas observadas em quatro e oito semanas. Estudos mostram que animais alimentados com HFD apresentam diversas alterações

condizentes com o quadro de obesidade, como aumento significativo de massa corporal, gordura visceral, hiperglicemia, resistência à insulina, resistência à leptina, hipertrigliceridemia, esteatose hepática não alcoólica (Buettner et al., 2007; Moreno-Fernández et al., 2018; Xu et al., 2018; Arnold et al., 2014). Tais alterações tendem a ser agravar à medida que a exposição à dieta se prolonga (McLean et al., 2018).

Além disso, nesse período do experimento, os animais apresentaram comprometimento na memória espacial de curto prazo no teste de realocação de objetos. Os estudos sobre os efeitos da HFD na aprendizagem e memória de roedores contam com muitas variações, como a linhagem e idade dos animais utilizados, composição da dieta, duração da exposição e forma de avaliação desses paradigmas, com poucos estudos usando vários testes cognitivos (Cordner e Tamashiro, 2015). Os resultados de Kosari e colaboradores (2012) mostram que tanto uma dieta ocidental (21% de gordura, 0,15% de colesterol) quanto uma dieta rica em gorduras (60% de gordura) por doze semanas resultou em prejuízo memória espacial de curto prazo e na memória de trabalho, em ratos machos da linhagem Long Evans, evidenciando que HFD parece prejudicar a memória dependente do hipocampo. Camer e colaboradores (2015) mostraram que camundongos C57Bl, machos, com 12 meses de idade, apresentam prejuízo na memória de reconhecimento após exposição de 21 semanas a HFD (40% de gordura). Já McLean e colaboradores (2018), utilizando camundongos C57Bl, machos, com doze semanas de idade, mostraram que apenas sete dias de HFD (60% gordura) foi suficiente para promover prejuízo na memória espacial, contextual e episódica, mas não na memória de reconhecimento desses animais. Denver, Gault e McClean (2018) em seu experimento com camundongos C57Bl, machos, com idades entre sete e 14 semanas, alimentados com HFD (45% de gordura) por 18 dias, 34 dias, 10 e 21 semanas, mostraram que havia prejuízo na memória de reconhecimento em todos os tempos analisados, porém que a memória espacial foi prejudicada apenas em camundongos alimentados com HFD por 18 dias e 21 semanas.

O agravo da condição metabólica relacionada à glicose e aumento da massa corporal observados em nossos resultados coincidiu com o desenvolvimento progressivo de alterações comportamentais. Estudos mostram que a diminuição da sensibilidade à insulina e à leptina podem favorecer déficits de memória, e essas alterações também são observadas em camundongos tratados com HFD (Williams et al., 2014; Koch et al., 2014). Os receptores de insulina são expressos em todo o encéfalo e a sinalização da insulina modula a estrutura e a função da sinapse, reduz a neuroinflamação, promove a proliferação neuronal e é fundamental

para os processos de aprendizagem e memória (Arnold et al., 2014; Pintana et al., 2013; Jeon et al., 2012; Cordner e Tamashiro, 2015). Estudos mostram que o comprometimento cognitivo induzido pela HFD está associado a prejuízos na sinalização periférica e central da insulina (Cordner e Tamashiro, 2015). A fosforilação do IRS-1 em resíduos de serina (Ser⁶¹⁶) no SNC tem sido correlacionada com disfunções cognitivas em quadros de resistência à insulina de pacientes com doença de Alzheimer (Talbot et al., 2012) e esta aumentada em camundongos tratados com HFD (Denver, Gault e McClean, 2018).

O comprometimento cognitivo induzido pela obesidade também pode ser atribuído a uma redução da plasticidade sináptica (Molteni et al., 2002). Evidências indicaram que o comprometimento da plasticidade neuronal induzida por HFD pode ser influenciado pela redução da expressão de proteínas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no córtex pré-frontal e no hipocampo, que são áreas-chave do cérebro na aprendizagem e na memória (Kanoski et al 2007). A sinalização de BDNF é uma via crítica para promover a potenciação de longo prazo (LTP), uma forma de plasticidade sináptica responsável pela formação da memória de longo prazo e neurogênese (Lomo et al., 1966; Noble et al., 2011; Spinelli et al., 2017). A fosforilação e ativação do receptor de tropomiosina quinase B (TrkB do inglês *Tropomyosin receptor kinase B*) levam a uma cascata de sinalização intracelular que resulta na ativação da sinalização da proteína Akt (Cunha et al., 2010). A sinalização Akt regula a tradução e o transporte de proteínas sinápticas, a fim de promover a plasticidade sináptica em processos como aprendizado e na memória (Yoshii e Constantine-Paton, 2007). Além da ativação do TrkB, o BDNF também impulsiona a abertura dos canais de íons dependentes de Na⁺, resultando em um influxo de Ca²⁺ e ativação dos receptores N- metil- d- aspartato (NMDA) (Rose et al., 2004; Camer et al., 2015).

Os receptores NMDA também desempenham um papel crucial na plasticidade sináptica, uma vez que sua ativação pelo glutamato favorece a LTP (Cooke e Bliss, 2006). Valladolid-Acebes e colaboradores (2012) mostraram que a HFD dessensibiliza os receptores NMDA no hipocampo de camundongos, sugerindo que sua alteração também pode contribuir com os prejuízos cognitivos induzidos pela dieta.

Outro mecanismo que pode estar comprometido no cenário da obesidade é a neurogênese, processo que envolve a proliferação, migração, diferenciação, sobrevivência e integração de novos neurônios nos circuitos existentes, desempenhando um papel na plasticidade cerebral. Uma região do cérebro em que a neurogênese persiste até a idade adulta em muitas espécies, incluindo humanos e roedores, é a zona subgranular do giro dentado no

hipocampo (Kempermann et al., 2015). Essa região pode ser dividida ao longo de seu eixo longitudinal no hipocampo dorsal, envolvido nos processos cognitivos, e no hipocampo ventral, envolvido no processamento emocional, e são análogos às porções posterior e anterior do hipocampo, respectivamente, em primatas (Fanselow e Dong, 2010). O estudo de Robison e colaboradores (2020) que utilizou camundongos C57Bl machos e fêmeas com idade entre 2 e 6 meses, tratados com HFD (60% de gordura) por 18 semanas, observou que essa dieta diminuiu a proliferação celular no hipocampo dorsal e correlação entre alterações metabólicas e prejuízo na neurogênese, sendo que os piores resultados metabólicos foram preditivos de maiores comprometimento na neurogênese do hipocampo, e tais achados foram observados apenas em fêmeas.

Nesse estudo, que tinha como um dos objetivos avaliar o surgimento das alterações metabólicas e comportamentais induzidas pelo consumo de HFD (60% de gordura) ao longo de 12 semanas, observamos uma progressão cronológica dos efeitos deletérios da dieta. Primeiramente, os animais apresentam distúrbios metabólicos e aumento da locomoção espontânea, com subsequente aumento da massa corporal, da glicose basal, alterações de emocionalidade e, finalmente, problemas de memória acompanhados pelo agravamento de distúrbios metabólicos.

Após 12 semanas de exposição à HFD, essa foi substituída por dieta padrão e mantivemos os animais por mais quatro semanas nessa dieta. Após esse período, observamos que a substituição da dieta foi capaz de reverter os parâmetros metabólicos, como massa corporal, glicemia de jejum e intolerância à glicose. Walker e colaboradores (2017) mostraram que camundongos C57Bl machos e fêmeas, tratados com HFD (60% de gordura) por 28 semanas, apresentavam reversão das alterações de massa corporal, glicose basal e prejuízo na tolerância à glicose quando essa dieta foi trocada por dieta padrão para roedores. Além disso, no grupo reversão observaram redução de marcadores inflamatórios com IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Ainda, Holmes e colaboradores (2015) mostraram que ratos Sprague-Dawley com 10 a 11 semanas de idade, tratados com HFD (45% de gordura) por 10 semanas, apresentam diminuição da massa corporal, tecido adiposo epididimal, esteatose hepática e sensibilidade à glicose quando a dieta é trocada por dieta com baixo teor de gordura. McLean e colaboradores observaram após exposição aguda de HFD (60% de gordura), quando a dieta é trocada há diminuição da massa corporal, consumo calórico e tolerância à glicose.

Além disso, observamos que ao substituir a dieta por quatro semanas não há alterações na memória de trabalho e na resposta comportamental frente a um estresse agudo.

Isso implica que o consumo ininterrupto de HFD pode resultar em declínio cognitivo e que uma dieta equilibrada pode favorecer a função cognitiva. O estudo de McLean e colaboradores (2018) investigou se as alterações metabólicas e comportamentais oriundas do consumo agudo (7 dias) de HFD poderiam ser revertidas com substituição dessa por uma dieta padrão para roedores por 7 dias. Eles observaram que sete dias de HFD estava relacionado a aumento da massa corporal, ingestão calórica, intolerância a glicose, comprometimento na memória episódica, memória espacial e contextual, mas não na memória de reconhecimento. Além disso, mostraram que a troca da HFD para dieta com baixo teor de gordura reverteu todas as alterações induzidas pelo consumo agudo de tal dieta.

Este estudo buscou avaliar a temporalidade do aparecimento e grau das alterações metabólicas e comportamentais induzidas pela HFD e observamos que essas alterações metabólicas se acentuam à medida que o tempo de exposição à dieta se prolonga. Observamos que camundongos C57Bl fêmeas, com 12 meses de idade, quando expostas a HFD por 12 semanas, apresentam alterações relacionadas ao metabolismo da glicose, da locomoção espontânea, comportamento anedônico e comprometimento da memória espacial de curto prazo, e quando essa dieta foi trocada por dieta padrão para roedores observamos a reversão das alterações metabólicas e ausência de alterações comportamentais nos parâmetros de memória de trabalho e na resposta de enfretamento frente a estresse agudo inescapável, mostrando que algumas alterações induzidas por ingestão crônica de dieta com alto teor de gordura parecem ser transitórias.

Os déficits cognitivos induzidos por HFD já foram associados à leptina, desregulação do cálcio, inflamação, estresse celular e sinalização da insulina (Robinson et al., 2016; Boitard et al., 2014; Thibault et al., 2013). É provável que assim como vários mecanismos parecem contribuir para o comprometimento cognitivo induzido por HFD, vários mecanismos também podem estar envolvidos no processo de reversão dessas alterações (Robinson et al., 2016), e como perspectiva para estudos futuros é necessário investigar os possíveis mecanismos que estariam atuando no processo de reversão das alterações metabólicas e comportamentais induzidas pela HFD. Especulá-la que talvez um desses mecanismos esteja relacionado com a via de sinalização da insulina periférica e central. Estudos mostram que a metformina, fármaco hipoglicemiante da classe das biguanidas, utilizado para tratamento do diabetes tipo 2 tem impacto positivo na cognição e memória, seja através da melhora da sensibilidade à insulina ou do aumento da liberação de insulina (Pintana et al., 2012).

Outro possível mecanismo é a redução da inflamação sistêmica e central (Ferreira et al., 2014). Mediadores inflamatórios sistêmicos contribuem para a inflamação central e em quadros de obesidade, com a expansão do tecido adiposo, há aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6 e IL-1 β . Os mediadores inflamatórios periféricos atravessam a barreira hematoencefálica e em conjunto com mediadores produzido pela micróglia podem levar a inflamação do SNC (Ferreira et al., 2014; Vitale et al., 2013; Calay e Hotamisligil, 2013). A mudança de HFD para dieta com baixo teor de gordura ou dieta padrão para roedores, reduz a massa corporal e a produção de citocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo (Walker et al., 2017) e poderia favorecer uma atenuação da neuroinflamação e estar envolvido no processo de reversão das alterações centrais induzidas pelo consumo de HFD. Para o esclarecimento dos processos envolvidos nesse na reversão das alterações decorrentes de exposição crônica a HFD, sugere-se mais estudos utilizando grupos independentes para cada etapa analisada.

7. CONCLUSÃO

- Quatro semanas de HFD induziu alteração na sensibilidade à glicose, aumento da locomoção espontânea;
- Oito semanas de exposição à HFD induziu aumento da massa corporal, níveis glicose basal, prejuízo na sensibilidade à glicose exacerbado, permanência do aumento da locomoção espontânea e comportamento anedônico;
- Doze semanas de HFD foi acompanhado de incremento das alterações na massa corporal, glicose basal e sensibilidade à glicose, somado a prejuízo na memória espacial de curto prazo;
- Após a troca da HFD por dieta padrão para roedores observamos a reversão das alterações metabólicas relacionados a massa corporal, glicose basal, tolerância à glicose;
- Após a troca da HFD por dieta padrão para roedores não observamos alteração na memória de trabalho bem como na estratégia de enfrentamento diante de um estresse agudo inescapável.

8. REFERÊNCIAS

- ABBOTT, Kirsten N. et al. The effect of high fat, high sugar, and combined high fat-high sugar diets on spatial learning and memory in rodents: A meta-analysis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2019.
- AHREN, Bo; PACINI, Giovanni. Insufficient islet compensation to insulin resistance vs. reduced glucose effectiveness in glucose-intolerant mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 2002.
- ALSIÖ, Johan et al. Dopamine D1 receptor gene expression decreases in the nucleus accumbens upon long-term exposure to palatable food and differs depending on diet-induced obesity phenotype in rats. **Neuroscience**, v. 171, n. 3, p. 779-787, 2010.
- ANDERSON, Annie S. et al. European code against cancer 4th edition: obesity, body fatness and cancer. **Cancer epidemiology**, v. 39, p. S34-S45, 2015.
- ARNOLD, Steven E. et al. High fat diet produces brain insulin resistance, synaptodendritic abnormalities and altered behavior in mice. **Neurobiology of disease**, v. 67, p. 79-87, 2014.
- ARNOLD, Steven E. et al. High fat diet produces brain insulin resistance, synaptodendritic abnormalities and altered behavior in mice. **Neurobiology of disease**, v. 67, p. 79-87, 2014.
- ASHWELL, Margaret et al. Waist-to-height ratio is more predictive of years of life lost than body mass index. **PloS one**, v. 9, n. 9, 2014.
- ASSINI, Fabrício Luiz; DUZZIONI, Marcelo; TAKAHASHI, Reinaldo Naoto. Object location memory in mice: pharmacological validation and further evidence of hippocampal CA1 participation. **Behavioural brain research**, v. 204, n. 1, p. 206-211, 2009.
- AYABE, Tatsuhiro et al. Iso- α -acids, bitter components of beer, prevent obesity-induced cognitive decline. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.
- BAIK, Ja-Hyun. Dopamine signaling in reward-related behaviors. **Frontiers in neural circuits**, v. 7, p. 152, 2013.
- BARNES, Rachel D. et al. Metabolic syndrome in obese patients with binge-eating disorder in primary care clinics: a cross-sectional study. **The Primary Care Companion to CNS Disorders**, v. 13, n. 2, 2011.
- BEILHARZ, J. E.; MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Short-term exposure to a diet high in fat and sugar, or liquid sugar, selectively impairs hippocampal-dependent memory, with differential impacts on inflammation. **Behavioural brain research**, v. 306, p. 1-7, 2016.
- BOITARD, Chloé et al. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. **Brain, behavior, and immunity**, v. 40, p. 9-17, 2014.
- BRAY, George A.; SIRI-TARINO, Patty W. The role of macronutrient content in the diet for weight management. **Endocrinology and Metabolism Clinics**, 2016, 45.3: 581-604.
- BRITES, Dora; FERNANDES, Adelaide. Neuroinflammation and depression: microglia activation, extracellular microvesicles and microRNA dysregulation. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 9, p. 476, 2015.

- BUCKMASTER, Cindy A. et al. Entorhinal cortex lesions disrupt the relational organization of memory in monkeys. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 44, p. 9811-9825, 2004.
- BUETTNER, Roland; SCHÖLMERICH, Jürgen; BOLLHEIMER, L. Cornelius. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**, v. 15, n. 4, p. 798-808, 2012.
- BURHANS, Maggie S. et al. Contribution of adipose tissue inflammation to the development of type 2 diabetes mellitus. **Comprehensive Physiology**, v. 9, n. 1, p. 1-58, 2011.
- CARLIN, JesseLea et al. Reversal of dopamine system dysfunction in response to high-fat diet. **Obesity**, v. 21, n. 12, p. 2513-2521, 2013.
- CAMER, Danielle et al. Bardoxolone methyl prevents high-fat diet-induced alterations in prefrontal cortex signalling molecules involved in recognition memory. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 59, p. 68-75, 2015.
- CARVALHO, André F. et al. Peripheral vascular endothelial growth factor as a novel depression biomarker: a meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 62, p. 18-26, 2015.
- CAWTHORN, William P.; SCHELLER, Erica L.; MACDOUGALD, Ormond A. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. **Journal of lipid research**, v. 53, n. 2, p. 227-246, 2012.
- CHE, Hongxia et al. Comparative study of the effects of phosphatidylcholine rich in DHA and EPA on Alzheimer's disease and the possible mechanisms in CHO-APP/PS1 cells and SAMP8 mice. **Food & function**, v. 9, n. 1, p. 643-654, 2018.
- CLARK, Luke; CHAMBERLAIN, Samuel R.; SAHAKIAN, Barbara J. Neurocognitive mechanisms in depression: implications for treatment. **Annual review of neuroscience**, v. 32, p. 57-74, 2009.
- COMMONS, Kathryn G. et al. The rodent forced swim test measures stress-coping strategy, not depression-like behavior. **ACS chemical neuroscience**, v. 8, n. 5, p. 955-960, 2017.
- COOKE, S. F.; BLISS, T. V. P. Plasticity in the human central nervous system. **Brain**, v. 129, n. 7, p. 1659-1673, 2006.
- CORDNER, Zachary A.; TAMASHIRO, Kellie LK. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. **Physiology & behavior**, v. 152, p. 363-371, 2015.
- CORNIER, Marc-Andre et al. Prevention of overweight/obesity as a strategy to optimize cardiovascular health. **Circulation**, v. 124, n. 7, p. 840-850, 2011.
- CRANE, Paul K. et al. Glucose levels and risk of dementia. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 6, p. 540-548, 2013.
- CRYAN, John F.; HOLMES, Andrew. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. **Nature reviews Drug discovery**, v. 4, n. 9, p. 775-790, 2005.
- CUKIERMAN, T.; GERSTEIN, H. C.; WILLIAMSON, J. D. Cognitive decline and dementia in diabetes—systematic overview of prospective observational studies. **Diabetologia**, v. 48, n. 12, p. 2460-2469, 2005.

- CUNHA, Carla; BRAMBILLA, Riccardo; THOMAS, Kerrie L. A simple role for BDNF in learning and memory?. **Frontiers in molecular neuroscience**, v. 3, p. 1, 2010.
- DANTZER, Robert et al. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature reviews neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 46-56, 2008.
- DE OLIVEIRA, J. et al. Positive correlation between elevated plasma cholesterol levels and cognitive impairments in LDL receptor knockout mice: relevance of cortico-cerebral mitochondrial dysfunction and oxidative stress. **Neuroscience**, v. 197, p. 99-106, 2011.
- DE SOUZA, Raul Marin et al. Behavioural, metabolic and neurochemical effects of environmental enrichment in high-fat cholesterol-enriched diet-fed mice. **Behavioural brain research**, v. 359, p. 648-656, 2019.
- DEACON, Robert MJ; RAWLINS, J. Nicholas P. T-maze alternation in the rodent. **Nature protocols**, v. 1, n. 1, p. 7, 2006.
- DENVER, Paul; GAULT, Victor A.; MCCLEAN, Paula L. Sustained high-fat diet modulates inflammation, insulin signalling and cognition in mice and a modified xenin peptide ameliorates neuropathology in a chronic high-fat model. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 20, n. 5, p. 1166-1175, 2018.
- DOS SANTOS, Lana Claudinez; TORRENT, Isadora Froes. O tecido adiposo e a produção de adipocinas. **SYNTHESIS| Revistal Digital FAPAM**, v. 2, n. 2, p. 110-119, 2010.
- DUTHEIL, Sophie et al. High-fat diet induced anxiety and anhedonia: impact on brain homeostasis and inflammation. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 7, p. 1874-1887, 2016.
- DWIVEDI, Yogesh. Evidence demonstrating role of microRNAs in the etiopathology of major depression. **Journal of chemical neuroanatomy**, v. 42, n. 2, p. 142-156, 2011.
- ENGIN, Atilla. The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. In: **Obesity and Lipotoxicity**. Springer, Cham, 2017. p. 1-17.
- ESTRUCH, Ramón et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 14, p. 1279-1290, 2013.
- FANDIÑO, Julia et al. Cirurgia bariátrica: aspectos clínico-cirúrgicos e psiquiátricos. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 26, n. 1, p. 47-51, 2004.
- FANSELOW, Michael S.; DONG, Hong-Wei. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?. **Neuron**, v. 65, n. 1, p. 7-19, 2010.
- FORDAHL, Steve C.; LOCKE, Jason L.; JONES, Sara R. High fat diet augments amphetamine sensitization in mice: Role of feeding pattern, obesity, and dopamine terminal changes. **Neuropharmacology**, v. 109, p. 170-182, 2016.
- GAO, Zhanguo et al. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor κ B kinase complex. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 50, p. 48115-48121, 2002.
- GERGERLIOGLU, Hasan Serdar et al. Environmental enrichment reverses cognitive impairments provoked by Western diet in rats: Role of corticosteroid receptors. **Life sciences**, v. 148, p. 279-285, 2016.
- GONZALEZ-MUNIESA, P. et al. Obesity. **Nature reviews. Disease primers** 3, 17034. 2017.

GOOSSENS, Chloë et al. Premorbid obesity, but not nutrition, prevents critical illness-induced muscle wasting and weakness. **Journal of cachexia, sarcopenia and muscle**, v. 8, n. 1, p. 89-101, 2017.

GRAY, Susan; KIM, Jason K. New insights into insulin resistance in the diabetic heart. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n. 10, p. 394-403, 2011.

GREGOR, Margaret F.; HOTAMISLIGIL, Gökhan S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual review of immunology**, v. 29, p. 415-445, 2011.

GUILLEMOT-LEGRIS, Owein; MUCCIOLI, Giulio G. Obesity-induced neuroinflammation: beyond the hypothalamus. **Trends in Neurosciences**, v. 40, n. 4, p. 237-253, 2017.

Haan MN. Therapy insight: type 2 diabetes mellitus and the risk of late-onset Alzheimer's disease. **Nat Clin Pract Neurol**. 2006;2(3):159–166.

HAMMES, Stephen R.; LEVIN, Ellis R. Impact of estrogens in males and androgens in females. **The Journal of clinical investigation**, v. 129, n. 5, p. 1818-1826, 2019.

HARIRI, Niloofar; THIBAUT, Louise. High-fat diet-induced obesity in animal models. **Nutrition research reviews**, v. 23, n. 2, p. 270-299, 2010.

HASSAN, Ahmed M. et al. High-fat diet induces depression-like behaviour in mice associated with changes in microbiome, neuropeptide Y, and brain metabolome. **Nutritional neuroscience**, p. 1-17, 2018.

HATZIDIS, Aikaterini et al. Removal of a high-fat diet, but not voluntary exercise, reverses obesity and diabetic-like symptoms in male C57BL/6J mice. **Hormones**, v. 16, n. 1, p. 62-74, 2017.

HILL, James O.; MELANSON, Edward L.; WYATT, Holly T. Dietary fat intake and regulation of energy balance: implications for obesity. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 2, p. 284S-288S, 2000.

HIUGE-SHIMIZU, Aki et al. Absolute value of visceral fat area measured on computed tomography scans and obesity-related cardiovascular risk factors in large-scale Japanese general population (the VACATION-J study). **Annals of medicine**, v. 44, n. 1, p. 82-92, 2012.

HOLMES, Amey et al. Rat models of diet-induced obesity and high fat/low dose streptozotocin type 2 diabetes: effect of reversal of high fat diet compared to treatment with enalapril or menhaden oil on glucose utilization and neuropathic endpoints. **Journal of diabetes research**, v. 2015, 2015.

HRYHORCZUK, Cecile; SHARMA, Sandeep; FULTON, Stephanie E. Metabolic disturbances connecting obesity and depression. **Frontiers in neuroscience**, v. 7, p. 177, 2013.

HSU, Ted M.; KANOSKI, Scott E. Blood-brain barrier disruption: mechanistic links between Western diet consumption and dementia. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 6, p. 88, 2014.

HUNOT, Vivien et al. Mindfulness-based 'third wave' cognitive and behavioural therapies versus other psychological therapies for depression. **The Cochrane database of systematic reviews**, n. 9, 2010.

- ISINGRINI, Elsa et al. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. **PLoS One**, v. 5, n. 4, 2010.
- JEON, Byeong Tak et al. Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. **Diabetes**, v. 61, n. 6, p. 1444-1454, 2012.
- JÉQUIER, Eric. Pathways to obesity. **International Journal of Obesity**, v. 26, n. 2, p. S12-S17, 2002.
- JO, Wendy K. et al. Glia in the cytokine-mediated onset of depression: fine tuning the immune response. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 9, p. 268, 2015.
- KACZMARCZYK, Melissa M. et al. Methylphenidate prevents high-fat diet (HFD)-induced learning/memory impairment in juvenile mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 9, p. 1553-1564, 2013.
- KAHN, Steven E. The importance of β -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 9, p. 4047-4058, 2001.
- KAHN, Steven E.; HULL, Rebecca L.; UTZSCHNEIDER, Kristina M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 840-846, 2006.
- KALUEFF, Allan V.; TUOHIMAA, Pentti. Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. **Brain Research Protocols**, v. 13, n. 3, p. 151-158, 2004.
- KANOSKI, Scott E. et al. The effects of energy-rich diets on discrimination reversal learning and on BDNF in the hippocampus and prefrontal cortex of the rat. **Behavioural brain research**, v. 182, n. 1, p. 57-66, 2007.
- KEMPERMANN, Gerd; SONG, Hongjun; GAGE, Fred H. Neurogenesis in the adult hippocampus. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 7, n. 9, p. a018812, 2015.
- KERTI, Lucia et al. Higher glucose levels associated with lower memory and reduced hippocampal microstructure. **Neurology**, v. 81, n. 20, p. 1746-1752, 2013.
- KOCH, C. E. et al. High-fat diet induces leptin resistance in leptin-deficient mice. **Journal of neuroendocrinology**, v. 26, n. 2, p. 58-67, 2014.
- KOSARI, Sepideh et al. Effect of western and high fat diets on memory and cholinergic measures in the rat. **Behavioural brain research**, v. 235, n. 1, p. 98-103, 2012.
- KRISHNA, Saritha et al. Time-dependent behavioral, neurochemical, and metabolic dysregulation in female C57BL/6 mice caused by chronic high-fat diet intake. **Physiology & behavior**, v. 157, p. 196-208, 2016.
- LEGER, Marianne et al. Object recognition test in mice. **Nature protocols**, v. 8, n. 12, p.2531,2013.
- LI, Weihong et al. The effect of combination therapy of allicin and fenofibrate on high fat diet-induced vascular endothelium dysfunction and liver damage in rats. **Lipids in health and disease**, v. 9, n. 1, p. 131, 2010.
- LIVINGSTON, Gill et al. Dementia prevention, intervention, and care. **The Lancet**, v. 390, n. 10113, p. 2673-2734, 2017.

- LOMO, T. Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. **Acta Physiol. Scand.** 68-128, 1966.
- LOVEJOY, Jennifer C. The influence of dietary fat on insulin resistance. **Current diabetes reports**, v. 2, n. 5, p. 435-440, 2002.
- LUPPINO, Floriana S. et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. **Archives of general psychiatry**, v. 67, n. 3, p. 220-229, 2010.
- MACHADO, Adriano E. et al. Hypercholesterolemia impairs contextual fear conditioning memory formation in female mice: evidence for cholinergic dysfunction. **NeuroReport**, v. 29, n. 13, p. 1140-1143, 2018.
- MACHT, Michael. How emotions affect eating: a five-way model. **Appetite**, v. 50, n. 1, p. 1-11, 2008.
- MAGNUSSON, K. R. et al. Relationships between diet-related changes in the gut microbiome and cognitive flexibility. **Neuroscience**, v. 300, p. 128-140, 2015.
- MATSUZAWA, Yuji. The metabolic syndrome and adipocytokines. **FEBS letters**, v. 580, n. 12, p. 2917-2921, 2006.
- MCDONALD, Sarah D. et al. Adverse metabolic effects of a hypercaloric, high-fat diet in rodents precede observable changes in body weight. **Nutrition research**, v. 31, n. 9, p. 707-714, 2011.
- MCLEAN, Fiona H. et al. Rapid and reversible impairment of episodic memory by a high-fat diet in mice. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.
- MECHAWAR, N.; SAVITZ, J. Neuropathology of mood disorders: do we see the stigmata of inflammation? *Transl Psychiatry* 6: e946. 2016.
- MELO, Helen M.; SANTOS, Luís Eduardo; FERREIRA, Sergio T. Diet-Derived Fatty Acids, Brain Inflammation, and Mental Health. **Frontiers in neuroscience**, v. 13, 2019.
- MIEDEL, Christian J. et al. Assessment of spontaneous alternation, novel object recognition and limb clasping in transgenic mouse models of amyloid- β and tau neuropathology. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 123, p. e55523, 2017.
- MILLER, Alyson A.; SPENCER, Sarah J. Obesity and neuroinflammation: a pathway to cognitive impairment. **Brain, behavior, and immunity**, v. 42, p. 10-21, 2014
- MOLTENI, RAFFAELLA et al. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. **Neuroscience**, v. 112, n. 4, p. 803-814, 2002.
- MONTGOMERY, Magdalene K. et al. Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. **Diabetologia**, v. 56, n. 5, p. 1129-1139, 2013.
- MOREIRA, Eduardo Luiz Gasnhar et al. Hypercholesterolemia induces short-term spatial memory impairments in mice: up-regulation of acetylcholinesterase activity as an early and causal event?. **Journal of neural transmission**, v. 121, n. 4, p. 415-426, 2014.
- MORENO-FERNÁNDEZ, Silvia et al. High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1502, 2018.

- MORETTI, Morgana et al. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. *Journal of psychiatric research*, v. 46, n. 3, p. 331-340, 2012.
- MORIN, Jean-Pascal et al. Palatable hyper-caloric foods impact on neuronal plasticity. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 11, p. 19, 2017.
- MORIN, V.; HOZER, F.; COSTEMALE-LACOSTE, J.-F. The effects of ghrelin on sleep, appetite, and memory, and its possible role in depression: a review of the literature. **L'Encéphale**, p. 1-8, 2017.
- MOUBARAC, Jean-Claude et al. Consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health. Evidence from Canada. **Public Health Nutrition**, v. 16, n. 12, p. 2240-2248, 2013.
- MOUILLET-RICHARD, Sophie et al. MicroRNAs and depression. **Neurobiology of disease**, v. 46, n. 2, p. 272-278, 2012.
- NAZARE, Julie-Anne et al. Changes in both global diet quality and physical activity level synergistically reduce visceral adiposity in men with features of metabolic syndrome. **The Journal of nutrition**, v. 143, n. 7, p. 1074-1083, 2013.
- NG, Marie et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-781, 2014.
- NOBLE, Emily E. et al. The lighter side of BDNF. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 5, p. R1053-R1069, 2011.
- OMOTOLA, Oluwabukola et al. Estradiol regulates daily rhythms underlying diet-induced obesity in female mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 317, n. 6, p. E1172-E1181, 2019.
- PATTI M. E. e KAHN C. R. (1998) The insulin receptor--a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **J.Basic Clin.Physiol Pharmacol.** 9:2-4, 89-109.
- PAWSON T. (1995) Protein modules and signalling networks. **Nature** 373:6515, 573-580.
- PERLEY, Michael; KIPNIS, David M. Plasma insulin responses to glucose and tolbutamide of normal weight and obese diabetic and nondiabetic subjects. **Diabetes**, v. 15, n. 12, p. 867-874, 1966.
- PETRAULT, Olivier et al. Visceral adiposity links cerebrovascular dysfunction to cognitive impairment in middle-aged mice. **Neurobiology of disease**, p. 104536, 2019.
- PIBER, Dominique et al. Sex effects on spatial learning but not on spatial memory retrieval in healthy young adults. **Behavioural brain research**, v. 336, p. 44-50, 2018.
- PINTANA, Hiranya et al. DPP-4 inhibitors improve cognition and brain mitochondrial function of insulin-resistant rats. **J Endocrinol**, v. 218, n. 1, p. 1-11, 2013.
- PORSOLT, Roger D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.
- POTI, Jennifer M.; BRAGA, Bianca; QIN, Bo. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health—Processing or Nutrient Content?. **Current obesity reports**, v. 6, n. 4, p. 420-431, 2017.

- PRODHOMME, Hugo et al. Imaging and identification of brown adipose tissue on CT scan. **Clinical physiology and functional imaging**, v. 38, n. 2, p. 186-191, 2018.
- PRPIC, Veronica, et al. Differential mechanisms and development of leptin resistance in A/J versus C57BL/6J mice during diet-induced obesity. **Endocrinology**, 2003, 144.4: 1155-1163.
- PRUT, Laetitia; BELZUNG, Catherine. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, v. 463, n. 1-3, p. 3-33, 2003.
- ROBISON, Lisa S. et al. High-Fat Diet-Induced Obesity Causes Sex-Specific Deficits in Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice. **eNeuro**, v. 7, n. 1, 2020.
- ROSE, Christine R. et al. From modulator to mediator: rapid effects of BDNF on ion channels. **Bioessays**, v. 26, n. 11, p. 1185-1194, 2004.
- SACK, Markus et al. Early effects of a high-caloric diet and physical exercise on brain volumetry and behavior: a combined MRI and histology study in mice. **Brain imaging and behavior**, v. 11, n. 5, p. 1385-1396, 2017.
- SACKS, Harold; SYMONDS, Michael E. Anatomical locations of human brown adipose tissue: functional relevance and implications in obesity and type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 62, n. 6, p. 1783-1790, 2013.
- SANCHEZ-VILLEGAS, Almudena; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, Miguel A. Diet, a new target to prevent depression?. **BMC medicine**, v. 11, n. 1, p. 3, 2013.
- SANTHANAM, Prasanna et al. Adiposity-related cancer and functional imaging of brown adipose tissue. **Endocrine Practice**, v. 21, n. 11, p. 1282-1290, 2015.
- SCHRAUWEN, Patrick; WESTERTERP, Klaas R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. **British Journal of Nutrition**, v. 84, n. 4, p. 417-427, 2000.
- SHARMA, S.; FULTON, S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. **International journal of obesity**, v. 37, n. 3, p. 382-389, 2013.
- SOLOMON, Alina et al. Midlife serum cholesterol and increased risk of Alzheimer's and vascular dementia three decades later. **Dementia and geriatric cognitive disorders**, v. 28, n. 1, p. 75-80, 2009.
- SPENCER, Sarah J. et al. Food for thought: how nutrition impacts cognition and emotion. **npj Science of Food**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2017.
- SPINELLI, Matteo et al. Brain insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and memory by increasing GluA1 palmitoylation through FoxO3a. **Nature communications**, v. 8, n. 1, p. 2009, 2017.
- STANHOPE, Kimber L. et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. **The Journal of clinical investigation**, v. 119, n. 5, p. 1322-1334, 2009.
- STERU, Lucien et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367-370, 1985.
- STRANAHAN, Alexis M.; MATTSON, Mark P. Impact of energy intake and expenditure on neuronal plasticity. **Neuromolecular medicine**, v. 10, n. 4, p. 209-218, 2008.

- TAKAHASHI, N., et al. Divergent effects of leptin in mice susceptible or resistant to obesity. **Hormone and metabolic research**, 2002, 34.11/12: 691-697.
- TALBOT, Konrad et al. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. **The Journal of clinical investigation**, v. 122, n. 4, p. 1316-1338, 2012.
- THALER, Joshua P. et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. **The Journal of clinical investigation**, v. 122, n. 1, p. 153-162, 2012.
- THIRUMANGALAKUDI, Lakshmi et al. High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. **Journal of neurochemistry**, v. 106, n. 1, p. 475-485, 2008.
- VALLADOLID-ACEBES, Ismael et al. High-fat diets induce changes in hippocampal glutamate metabolism and neurotransmission. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 302, n. 4, p. E396-E402, 2012.
- VAN DOORN, Catherine et al. Leptin resistance and hippocampal behavioral deficits. **Physiology & behavior**, v. 176, p. 207-213, 2017.
- VERDILE, Giuseppe et al. Inflammation and oxidative stress: the molecular connectivity between insulin resistance, obesity, and Alzheimer's disease. **Mediators of inflammation**, v. 2015, 2015.
- VIGITEL, Brasil. Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Agência Nacional de Saúde Suplementar.—Brasília: Ministério da Saúde**, 2018.
- VOYER, Daniel; VOYER, Susan D.; SAINT-AUBIN, Jean. Sex differences in visual-spatial working memory: A meta-analysis. **Psychonomic bulletin & review**, v. 24, n. 2, p. 307-334, 2017.
- WALKER, Jennifer M. et al. Reversal of high fat diet-induced obesity improves glucose tolerance, inflammatory response, β -amyloid accumulation and cognitive decline in the APP/PSEN1 mouse model of Alzheimer's disease. **Neurobiology of disease**, v. 100, p. 87-98, 2017.
- WHITE, Morris F. IRS proteins and the common path to diabetes. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, 2002, 283.3: E413-E422.
- WILLIAMS, Lynda M. et al. The development of diet-induced obesity and glucose intolerance in C57BL/6 mice on a high-fat diet consists of distinct phases. **PloS one**, v. 9, n. 8, 2014.
- WOLF, Andrea et al. A comprehensive behavioral test battery to assess learning and memory in 129S6/Tg2576 mice. **PloS one**, 2016.
- WONG, Chi Kin et al. A high-fat diet rich in corn oil reduces spontaneous locomotor activity and induces insulin resistance in mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 319-326, 2015.
- WOODS, Stephen C. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1081-1087, 2003.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **World Health Organization obesity and overweight fact sheet**. 2000, 2014, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *OBESITY: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series 894)* (WHO, 2000).

WU, Aiguo; YING, Zhe; GOMEZ-PINILLA, Fernando. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. **European Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 7, p. 1699-1707, 2004.

XU, Haiyan et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **The Journal of clinical investigation**, v. 112, n. 12, p. 1821-1830, 2003.

XU, Haiyan et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **The Journal of clinical investigation**, v. 112, n. 12, p. 1821-1830, 2003.

XU, Ning et al. Sterol O-acyltransferase 1 deficiency improves defective insulin signaling in the brains of mice fed a high-fat diet. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 499, n. 2, p. 105-111, 2018.

YAGI, Shunya; GALEA, Liisa AM. Sex differences in hippocampal cognition and neurogenesis. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 1, p. 200-213, 2019.

YE, Jianping. Mechanisms of insulin resistance in obesity. **Frontiers of medicine**, v. 7, n. 1, p. 14-24, 2013.

YE, Jianping; GIMBLE, Jeffery M. Regulation of stem cell differentiation in adipose tissue by chronic inflammation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2011, 38.12: 872-878.

YE, Jianping; MCGUINNESS, Owen P. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 304, n. 5, p. E466-E477, 2013.

YOSHII, Akira; CONSTANTINE-PATON, Martha. BDNF induces transport of PSD-95 to dendrites through PI3K-AKT signaling after NMDA receptor activation. **Nature neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 702-711, 2007.

ZHANG, Jin et al. S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF- α signaling through IKK2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 51, p. 35375-35382, 2008.