

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



DISSERTAÇÃO

**Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao Estresse Crônico Variado:
análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais**

Pamela Silva Vitória Salerno

Pelotas, 2014.

Pamela Silva Vitória Salerno

**Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao estresse crônico variado:
análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Giovana Duzzo Gamaro
Co-orientadora(s): Prof^a. Dr^a. Adriana Lourenço da Silva
Prof^a. Dr^a. Rejane Giacomelli Tavares

Pelotas, 2014.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S163e Salerno, Pamela Silva Vitória

Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao estresse crônico variado : análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais / Pamela Silva Vitória Salerno ; Giovana Duzzo Gamaro, orientadora ; Adriana Lourenço da Silva, Rejane Giacomelli Tavares, coorientadoras. – Pelotas, 2014.

91 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Obesidade. 2. Palatabilidade. 3. Estresse crônico variado. 4. Dieta de cafeteria. I. Gamaro, Giovana Duzzo, orient. II. Silva, Adriana Lourenço da, coorient. III. Tavares, Rejane Giacomelli, coorient. IV. Título.

CDD : 612.3

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a. Giovana Duzzo Gamaro
Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Adriana Lourenço da Silva
Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a Rejane Giacomelli Tavares
Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Carlos Castilho de Barros
Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Elizabete Helbig
Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Custódio de Souza
Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

À Deus por me dar força e iluminar minhas escolhas;

À faculdade de nutrição, por me receber desde a graduação;

À coordenação do mestrado, por acreditar nos projetos e tornar possível a execução dos mesmos e pela oportunidade de crescimento em minha formação;

À professora Giovana pela orientação, oportunidade e confiança depositada em mim para executar esse trabalho;

À professora Rejane pelo apoio e pela execução das análises;

À professora Adriana pelo empréstimo de materiais e orientação;

À professora Izabel por se disponibilizar a fazer análises histológicas;

À equipe que ajudou na rotina do laboratório, Renata, Itiane, Cândida, Graciele, Carina, Thais e Douglas. Alguns momentos foram desafiadores, mas vocês foram incansáveis, principalmente para aplicar os estressores que no início tanto nos assustou;

Aos professores Beti e Carlos pelo apoio e ajuda durante esse período, e por ajudarem na construção desde a qualificação do projeto;

As mestrandas Cristiane, Roberta e Fabrícia obrigada pela ajuda e acima de tudo, amizade e companheirismo nos momentos difíceis e nos bons também. Que nossa amizade tenha vida longa;

Ao meu esposo amado por me dar apoio quando mais precisei, pela paciência, por ser esse companheiro e amigo que quando pensava em desanimar tu me acalentava com um sorriso e carinho. Desculpa as crises de choro e mau humor. Te amo!

Aos meus familiares e amigos que mesmo sem entender minha ausência durante esses 24 meses, se orgulham de mim. Sei que posso contar com vocês!

À razão de tudo, a minha mãe que superou todas as adversidades da vida pra me proporcionar a possibilidade de estudar e vencer. Só nós sabemos o que a vida já colocou no nosso caminho desde o meu nascimento. Tu ensinaste-me tudo que tenho de melhor, por isso agradecerei infinitamente por ter nascido do teu ventre e ter sido educada por ti.

Resumo

SALERNO, Pamela Silva Vitória. **Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao Estresse Crônico Variado: análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais**. 2014. 89f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Obesidade é definida pelo acúmulo de gordura no corpo, causada por um estilo de vida sedentário e ingestão de alimentos calóricos. As doenças relacionadas com o sobrepeso são consideradas um dos problemas de saúde pública mais grave em todo mundo, associada ao risco de diabetes e doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer. O estresse também tem sido mencionado como um problema da sociedade moderna que causa distúrbios emocionais e fisiológicos. Nas últimas décadas foi crescente o número de doenças relacionadas ao estresse, sobrepeso e obesidade, associadas ao aumento do consumo de alimentos energeticamente densos. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos de uma DC associada ao estresse crônico variado (ECV) nos parâmetros bioquímicos, depósitos de gordura corporal e comportamentais. Foram utilizados 40 ratos machos *Wistar* divididos em quatro grupos: Controle total (C) – Ração padrão sem modelo de estresse; Grupo estresse (E) – ração padrão e estresse; grupo Dieta de cafeteria sem estresse (D) e Grupo Dieta + Estresse (ED). Os animais foram submetidos ao ECV durante 40 dias, em horários e dias alternados. Os parâmetros de ansiedade avaliados pelo teste Labirinto em cruz elevado (*Plus Maze*) mostraram que a dieta foi capaz de reverter ou amenizar os efeitos do estresse. A atividade locomotora, avaliada pelo teste Campo Aberto (*Open Field*) não foi alterada pela dieta, nem pelo estresse. A memória avaliada pelo teste Reconhecimento de Objetos não foi alterada, nem pela dieta, nem pelo estresse. Os animais do grupo E obtiveram menor ganho de peso, e a dieta compensou o efeito do estresse em relação ao ganho de peso nos animais que receberam DC e ECV. Houve aumento do peso do fígado e dos tecidos adiposos (subcutâneo e abdominal) dos animais que receberam a DC, porém não submetidos ao ECV. Os níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL-Colesterol, lipase, foram mensurados, porém não sofreram alterações significativas.

Palavras chave: obesidade, palatabilidade, estresse crônico variado, dieta de cafeteria.

Abstract

SALERNO, Pamela Silva Vitória. **Effect of cafeteria diet in rats subjected to chronic variety stress: analysis of biochemical and behavioral parameters.** 2014. 89p. Dissertation (Master). Pos Graduate Program in Nutrition and Food. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Obesity is defined as an accumulation of fat in the body, caused by a sedentary lifestyle and consumption of high-calorie foods. Diseases related to overweight are considered one of the most serious problems of public health worldwide, associated with risk of diabetes and cardiovascular disease and certain cancers. Stress has also been mentioned as a problem of modern society that causes emotional and physiological disorders. In the last decades has been the increasing number of stress-related, overweight and obesity, associated with increased consumption of energy- dense foods. The object of study to evaluate the effects of a cafeteria diet associated with chronic varied stress (CVS) in biochemical parameters, deposits of body fat and behavioral. Stress Group (S) - standard chow and stress; cafeteria diet group without stress (D) and diet + stress group (SD) standard model without stress control group rats (C): Four Wistar rats were divided into four groups used). The animals were submitted to the CVS for 40 days on alternate days and times. The parameters of anxiety assessed by Plus Maze showed that the diet was able to reverse or ameliorate the effects of stress. Locomotors activity, assessed by the Open Field Test was not altered by diet or by stress. The memory assessed by the Object Recognition Test has changed, neither by diet nor by stress. Animals in group E had lower weight gain, diet and offset the effect of stress in relation to weight gain in animals fed cafeteria diet and CVS. There was an increase in liver weight and adipose tissues (subcutaneous and abdominal) of animals that received the cafeteria diet, but not undergoing CVS. Serum glucose, triglycerides, total cholesterol, HDL-Cholesterol, lipase, were measured, but not changed significant.

Keywords: obesity, palatability, miscellaneous chronic stress, cafeteria diet.

Lista de tabelas

Projeto de pesquisa

Tabela 1	Cronograma de exposição aos agentes estressores.....	25
Tabela 2	Descrição dos componentes e composição calórica da dieta de cafeteria.....	26
Tabela 3	Orçamento e descrição dos materiais utilizados no projeto de pesquisa.....	31

Artigo

Tabela 1	Comparação entre a composição de macronutrientes da ração padrão e da dieta de cafeteria.....	75
Tabela 2	Cronograma de exposição aos agentes estressores.....	76
Tabela 3	Ingestão média de sólidos (g) durante as cinco semanas de tratamento.....	77
Tabela 4	Ingestão média de líquidos (ml) durante as cinco semanas de tratamento.....	78
Tabela 5	Peso relativo do fígado, glândulas adrenais e de coração de ratos Wistar	79

Lista de figuras

Projeto de pesquisa

Figura 1	Desenho experimental.....	23
----------	---------------------------	----

Artigo

Figura 1	Avaliação do ganho de peso dos animais.....	80
----------	---	----

Figura 2	Avaliação de parâmetros de ansiedade através do teste Labirinto em Cruz Elevado (<i>Plus Maze</i>): número de entradas e tempo (s) nos Braços Abertos e Braços Fechados.....	81
----------	--	----

Figura 3	Avaliação do número de cruzamentos no teste de campo aberto e tempo de latência para sair do primeiro quadrante em segundos.....	82
----------	--	----

Figura 4	Avaliação de memória através do teste de reconhecimento de objetos.....	83
----------	---	----

Lista de abreviaturas e siglas

ACTH	Adrenocorticotrófico
AGS	Ácido graxo sintase
ANOVA	Análise de variância
BF	Bolo fecal
CA	Campo aberto
CEA	Coeficiente de eficácia alimentar
CF	Campo fechado
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CT	Grupo controle total
DC	Dieta de cafeteria
ECV	Estresse Crônico Variado
ED	Grupo estresse e dieta
EP	Grupo estresse
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
FAS	Ácido graxo sintase
GC	Glicocorticóides
GPCC	Ganho de peso por consumo calórico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HPA	Hipotalâmico-pituitário-adrenal
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LLP	Lipase lipoproteica
NPY	Neuropeptídeo Y
SAM	Sistema simpático adrenomedular
SNC	Sistema nervoso central
TAG	Triacilglicerol
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
WHO	Organização Mundial de Saúde

Sumário

1. Introdução geral.....	13
2. Projeto de pesquisa	15
3. Revisão bibliográfica.....	33
4. Referências bibliográficas.....	41
5. Relatório do trabalho de campo.....	54
6. Artigo	55
7. Conclusões.....	85
8. Referências	86

1. Introdução Geral

O sobrepeso e obesidade têm aumentando mundialmente em todas as faixas etárias, causando o desenvolvimento de doenças como diabetes, hipertensão arterial e câncer (WHO, 2012). O acúmulo de gordura corporal em geral é devido ao consumo elevado de alimentos, principalmente alimentos caloricamente densos e um estilo de vida sedentário (BRASIL, 2010; BAYOL et al., 2012). Somam-se a isso, situações estressantes do cotidiano que alteram a homeostase do organismo. Tais alterações são importantes para que o organismo se prepare para lidar com elas por meio de adaptações de reações comportamentais, além de fornecer energia necessária para um aumento repentino da atividade motora (ANISMAN et al., 2008). O estresse crônico sobrecarrega esses mecanismos fisiológicos levando a distúrbios funcionais ou orgânicos, afetando também o sistema nervoso com alterações cognitivas, imunológicas, neurológicas, além de alterações no consumo e alimentar (SAPOLSKY et al., 1996; METZ et al., 2001).

O modelo de estresse crônico variado (ECV) foi desenvolvido para identificar sintomas depressivos em ratos, no qual os animais são submetidos, por algumas semanas a estressores variados de intensidade moderada, assim não há adaptação ao estressor (WILLNER, 1997). Esse modelo de estresse comumente apresenta alterações alimentares como diminuição do consumo de solução açucarada que caracteriza estado de anedonia, ou seja, uma incapacidade de sentir prazer de qualquer natureza, comum em casos de depressão, além de ser marcador da sensibilidade à recompensa (WILLNER, 1997; HOLMES et al., 2003; LI et al., 2008). De acordo com dados da literatura, animais expostos ao ECV apresentam menor consumo de alimento doce em comparação com animais não estressados, além de apresentar maior perda de peso e alterações comportamentais (BEKRIS et al., 2005; GAMARO et al., 2003; LUCCA et al., 2009).

O consumo de dietas consideradas palatáveis é associado ao estresse, onde pessoas submetidas a situações de estresse relatam ingerir mais alimentos como, por exemplo, chocolate, doces e bolachas, conhecidos como “*comfort foods*” e paralelamente, diminuição do consumo de frutas e vegetais (GIBSON, 2006). O estado de recompensa ou “conforto” causado por estes alimentos pode ser explicado pela ativação do sistema de recompensa do cérebro e diminuição da

atividade do eixo hipotalâmico pituitário adrenal (HPA), diminuindo a resposta ao estresse pela diminuição da liberação de glicocorticoides (GC) (DALLMAN et al., 2006; TOMIYAMA et al., 2011; SCHULZ e LAESSLE, 2012). A dieta de cafeteria (DC), também denominada hipercalórica ou hiperpalatável, caracteriza-se pelo elevado teor de carboidratos simples e gordura (BAYOL et al., 2010). A alta densidade calórica proveniente leva à alterações metabólicas, fisiológicas e desequilíbrio de nutrientes (ALBUQUERQUE et al., 2006; MACEDO et al., 2012). O estresse associado ao consumo elevado de determinados alimentos para alívio em curto prazo gera preocupação no que tange a sociedade atualmente, devido às alterações metabólicas e a associação com doenças. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da DC associada ao modelo de ECV.

2. Projeto de pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Projeto de Pesquisa

**Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao Estresse Crônico Variado:
análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais**

Pamela Silva Vitória Salerno – Mestranda

Giovana Duzzo Gamaro – Orientadora

Adriana Lourenço da Silva – Co-orientadora

Rejane Tavares Giacomelli – Co-orientadora

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEAA/UFPEL), processo CEAA 10757.

Pelotas, 2012.

RESUMO

VITORIA, Pamela Silva. **Efeito da dieta de cafeteria em ratos submetidos ao Estresse Crônico Variado: análise de parâmetros bioquímicos e comportamentais**. 2012. Projeto de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Nas últimas décadas tem sido crescente o aumento de doenças relacionadas ao estresse, sobrepeso e obesidade, tais como diabetes, depressão, câncer e doenças cardíacas. Essas morbidades são as principais causas de mortes no mundo, sendo responsáveis por milhões de mortes a cada ano. O estresse também está associado com inúmeras patologias, como depressão e ansiedade, além de favorecer o sobrepeso e a produção de radicais livres. O consumo de alimentos industrializados tem aumentado consideravelmente, pois são de consumo rápido, além de diminuírem os sintomas de estresse em curto prazo. Por esta razão são denominados como “*comfort foods*”. Porém, levando em conta a composição nutricional, esta fica prejudicada em relação às recomendações de micronutrientes como vitaminas e minerais. Tais alimentos são ricos em açúcar e gordura, principalmente do tipo trans e saturada. Serão utilizados 56 ratos machos *Wistar* submetidos a um protocolo de estresse crônico variável associado a uma dieta hipercalórica, conhecida como dieta de cafeteria. Serão divididos em quatro grupos: Controle total (CT) – Ração padrão sem modelo de estresse; Grupo estresse (EP) – ração padrão e modelo de estresse; grupo dieta e estresse (ED); grupo dieta sem estresse (CD). Os animais serão submetidos ao Estresse Crônico Variado (ECV) durante 40 dias, em horários e dias alternados. Os testes comportamentais que avaliam atividade locomotora, ansiedade e memória serão realizados ao final do experimento, por meio dos testes Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado e Reconhecimento de Objetos. Também serão avaliados: ingestão calórica, consumo de água ao longo do tratamento, níveis séricos de leptina, glicose, triacilglicerol, colesterol total, HDL, LDL e VLDL, assim como mensuração do peso do fígado e glândulas adrenais. A análise estatística será realizada pelo teste ANOVA de medidas repetidas para peso, ingestão calórica e consumo de líquido ao longo do tratamento e ANOVA de duas vias para os demais parâmetros, seguidos do teste de Student-Newman Keuls (SNK). O projeto de pesquisa será submetido ao Comitê de Ética da UFPel. Tendo em vista os problemas da sociedade atual no que tange à saúde, o estudo visa relacionar uma dieta palatável (dieta de cafeteria) ao estresse crônico variado e associar com parâmetros bioquímicos e comportamentais como ansiedade e memória.

Palavras-chave: Estresse. Crônico. Variado. Dieta. Cafeteria.

Sumário

2.1 Introdução	18
2.2 Objetivos	20
2.2.1 Objetivos específicos	20
2.3 Hipótese	21
2.4 Justificativa	22
2.5 Materiais e métodos	23
2.5.1 Animais	23
2.5.2 Desenho experimental	23
2.5.2.1 Agentes estressores	24
2.5.3 Dietas experimentais	26
2.5.3.1 Dieta padrão	26
2.5.3.2 Dieta de cafeteria	27
2.5.4 Composição centesimal	27
2.5.5 Eficiência alimentar	27
2.5.6 Dosagens bioquímicas	28
2.5.7 Coleta de soro	28
2.5.8 Medidas antropométricas	28
2.5.9 Tarefas comportamentais	28
2.5.9.1 Campo aberto (<i>open field</i>)	28
2.5.9.2 Reconhecimento de objetos	29
2.5.9.3 Labirinto em cruz elevado (<i>plus maze</i>)	29
2.5.10 Análise estatística	30
2.5.11 Aspectos éticos	30
2.6 Orçamento	31
2.7 Cronograma	32

2.1 INTRODUÇÃO

A obesidade é definida como um acúmulo de gordura capaz de causar riscos à saúde e desenvolvimento de algumas patologias como, por exemplo, diabetes, cardiopatias, e câncer. No mundo, mais de 300 milhões de adultos são obesos e 42 milhões de crianças apresentam sobrepeso (WHO, 2012; NHSIC, 2010). O estilo de vida ocidental, com uma nova organização familiar trouxe mudanças no padrão alimentar, com aumento de refeições realizadas fora do domicílio, em estabelecimentos de preparo e consumo rápido, ricos em alimentos de alta palatabilidade (BAYOL et al., 2010). Além disso, esse estilo de vida caracterizado por sedentarismo, estresse e consumo aumentado de alimentos industrializados, juntamente com o estímulo gerado pela indústria alimentícia reflete o panorama crescente de obesidade nas últimas décadas (ADAM e EPEL, 2007; BRASIL, 2010a; BRASIL, 2010b).

O excesso de ingestão energética em obesos está relacionado com mecanismos descritos na patogênese e progressão da obesidade, onde verifica-se aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), que está envolvida nas respostas adversas da obesidade (ELMARAKBY e SULLIVAN, 2010). Somam-se a isso, situações estressantes do cotidiano que alteram a homeostase do organismo. Tais alterações são importantes para que o organismo se adapte às situações e se prepare para lidar com elas por meio de adaptações de reações comportamentais, além de fornecer energia necessária para um aumento repentino da atividade motora (ANISMAN et al., 2008). O estresse crônico sobrecarrega esses mecanismos fisiológicos levando a distúrbios funcionais ou orgânicos, afetando também o sistema nervoso com alterações cognitivas, imunológicas, neurológicas como ansiedade, anorexia e depressão (METZ et al., 2001).

O estresse está relacionado com efeitos bidirecionais em relação à ingestão de alimentos, induzindo ao aumento ou redução da ingestão, estas evidências são mostradas em estudos com animais e humanos (PECORARO et al., 2004; SCHULZ e LAESSLE, 2012). O consumo de dietas consideradas palatáveis é associado ao estresse, onde pessoas submetidas a situações de estresse relatam ingerir mais alimentos como, por exemplo, chocolate, doces e bolachas, conhecidos como “*comfort foods*” e paralelamente, diminuição do consumo de frutas e vegetais

(GIBSON, 2006). O estado de recompensa ou “conforto” causado por esse tipo de dieta pode ser explicado pela ativação do sistema de recompensa do cérebro e diminuição da atividade do eixo hipotalâmico pituitário adrenal (HPA), diminuindo a resposta ao estresse pela diminuição da liberação de glicocorticoides (GC) (DALLMAN et al., 2006; TOMIYAMA et al., 2011; GOULARTE et al., 2012). Esses hormônios secretados pelas glândulas supra-renais, bem como a liberação de insulina pelo pâncreas atuam antagonicamente, favorecendo ao acúmulo de triacilgliceróis (TAG) no tecido intra-abdominal (DALLMAN et al., 1995; DALLMAN et al., 2004).

A DC, também denominada hipercalórica ou hiperpalatável, caracteriza-se pelo elevado teor de carboidratos simples, gordura (saturada e/ou trans), baixo teor de fibras alimentares, vitaminas e minerais (BAYOL et al., 2010; MACEDO et al., 2012). A alta densidade calórica proveniente deste tipo de dieta causa desequilíbrio de nutrientes, além de alterações metabólicas e fisiológicas (ALBUQUERQUE et al., 2006).

2.2 OBJETIVOS

Verificar os efeitos da DC em animais expostos ao estresse crônico variado.

2.2.1 Objetivos Específicos

- Mensurar os níveis de leptina em animais submetidos à dieta e ao estresse;
- Avaliar o perfil lipídico por meio da análise de triacilglicerol, colesterol total, e HDL e LDL juntamente aos níveis de glicose dos animais;
- Mensurar o peso do fígado e glândulas adrenais dos animais submetidos à dieta e ao estresse;
- Avaliar a quantidade de tecido adiposo das regiões subcutânea, mesentérica e visceral;
- Monitorar o ganho de peso dos animais submetidos à dieta e ao estresse;
- Monitorar o consumo de água e dieta padrão ao longo do tratamento;
- Avaliar a memória e atividade locomotora por meio das tarefas comportamentais de Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado e Reconhecimento de objetos.

2.3 HIPÓTESE

O consumo da DC associada à exposição ao ECV causa alterações metabólicas como dislipidemia, hiperinsulinemia, excesso de peso e hiperleptinemia. Além disso, o ECV gera alterações comportamentais nos animais como ansiedade e depressão, a DC por sua vez, além de causar alterações fisiológicas e comportamentais, atua como algo compensador, amenizando o estresse.

2.4 JUSTIFICATIVA

O desequilíbrio entre o consumo e gasto energético leva ao aumento de peso, onde as consequências são danos à saúde. A obesidade tem sido tema de grande preocupação nas últimas décadas, sendo considerada uma epidemia, visto que atinge populações do mundo todo, tornando-se um problema de saúde pública. Tem se observado que o aumento do sobrepeso e obesidade é encontrado em todas as faixas etárias (WHO, 2012).

Frequentemente as pessoas se encontram expostas a ambientes conhecidos como obesogênicos, com alta oferta de alimentos caloricamente densos e estes, implicam em alívio imediato ao estresse. Assim, de acordo com Pecoraro et al., 2004, situações de estresse modulam o comportamento alimentar. Além disso, comportamentos alimentares compulsivos que ocorrem muitas vezes em situações de estresse induzem ao aumento do depósito de gordura corporal (COCCURELLO et al., 2009). Dietas de cafeteria, ricas em gordura, açúcares, carboidratos refinados e pobres em micronutrientes estão relacionadas com aumento de peso, aumento da adiposidade abdominal, alterações no perfil insulínico e lipídico em modelos animais (BARTOLOMUCCI et al., 2009).

Os indivíduos são cada vez mais afetados por situações estressantes. Essas situações modulam as respostas ao agente estressor, mediada por alterações fisiológicas do eixo HPA que provoca a estimulação do ACTH e liberação de GC. Estes hormônios causam alterações no metabolismo energético, alterando o consumo alimentar e consequentemente peso corporal. Assim, as mudanças endócrinas em decorrência do estresse modulam o humor e pode acarretar em situações de depressão e/ou ansiedade (DALLMAN et al., 2004).

Levando em consideração os problemas da sociedade atual, com aumento do estresse induzido por diferentes fatores estressantes e o ambiente propício ao aumento do consumo de alimentos considerados não nutritivos e relacionados com aumento de peso, o presente estudo procura investigar se existe relação entre o modelo de estresse e a ingestão de uma dieta palatável. Os resultados obtidos poderão elucidar tais questões, visto que, o tema é de relevante importância na pesquisa em saúde atualmente. No entanto, os estudos que avaliam os efeitos da DC associada ao ECV são escassos.

2.5 MATERIAIS E MÉTODOS

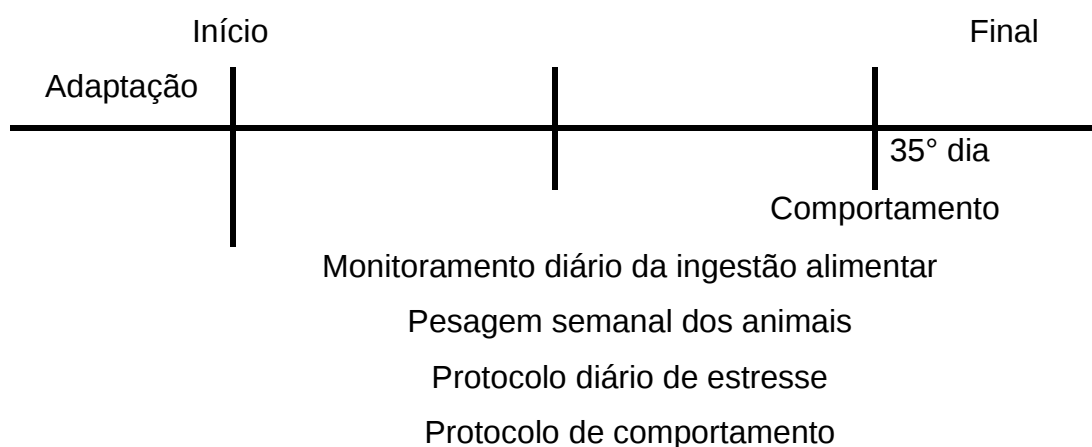
2.5.1 Animais

Serão utilizados 56 ratos *Wistar* machos, adultos provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais serão mantidos em caixas moradia, estas com 5 animais cada. As caixas medem 65 x 25 x 15 cm, com assoalho coberto de maravalha. Os animais serão submetidos ao ciclo claro/escuro onde as luzes permanecerão acesas das 07:00 às 19:00 horas. Os animais serão mantidos em temperatura controlada (24-26 °C). O experimento se dará em duas etapas, onde serão utilizados 23 animais por etapa.

2.5.2 Desenho Experimental

Os animais serão randomizados e divididos em quatro grupos. Grupo controle total (CT), que receberá ração padrão e água *ad libitum*; grupo controle mais dieta de cafeteria (CD); grupo que será submetido ao ECV com ração padrão (EP); grupo submetido ao ECV mais dieta de cafeteria (ED). Os animais permanecerão no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel durante o período do experimento, sendo expostos apenas à manipulação para limpeza das caixas-moradia e para medidas de peso corporal uma vez por semana.

Figura 1: Desenho experimental



Os animais do grupo Estressado serão submetidos ao modelo de estresse crônico variável conforme descrito por Vascocellos e colaboradores (2011) durante 40 dias. O modelo, segundo Gamaro et al., 2003 com alterações, baseia-se na exposição do animal a sete agentes estressores diferentes: (1) luz piscante, (2) restrição de movimentos, (3) isolamento, (4) natação forçada, (5) inclinação da caixa (ângulo de 45°), (6) restrição de movimentos no frio e (7) ruído, durante turnos variados. O tempo de exposição será variável, podendo ou não haver dias intercalados sem a presença de agentes estressores. Após pelo menos 40 dias de tratamento, os animais serão submetidos a tarefas comportamentais e análises bioquímicas.

2.5.2.1 Agentes Estressores

Conforme descrito na tabela 1. Luz Piscante: a caixa-moradia dos animais será colocada dentro de uma caixa de madeira, medindo 50 cm de altura, 60 cm de largura e 40 cm de profundidade, com a face anterior de vidro. Na tampa da caixa de madeira existirá uma lâmpada de 40 Watts que piscará numa frequência de 2 Hz. Esta caixa será colocada em uma sala escura durante o tempo determinado para a sessão de estresse, que variará de 30 minutos até 4 horas.

Restrição de movimentos: os animais serão submetidos a imobilização parcial dos membros, em cilindros plásticos de diâmetro regulável durante diferentes intervalos de tempo, que poderão variar de 30 minutos a 3 horas, conforme o protocolo.

Restrição de movimentos no Frio: constituiu-se do mesmo processo de imobilização descrito acima, porém os animais permanecerão imobilizados em ambiente com temperatura de 0 a 4 °C.

Isolamento: os animais permanecerão de 2 a 3 dias em caixas-moradia individuais, no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel, com ciclo claro-escuro, de 12 horas, água e comida "*ad libitum*".

Natação Forçada: os animais serão submetidos à natação forçada em um aquário de vidro, com 50 cm de altura por 40 cm de largura, com temperatura entre 25 e 30 °C. O animal será colocado na água e permanecendo por um tempo que poderá variar de 10 a 15 minutos, de acordo com o protocolo.

Inclinação da caixa: a caixa moradia sofrerá inclinação (ângulo de 45°) por 4-6 horas.

Ruído: Os animais ficarão sob ruído por 10-15 minutos.

Tabela 1 – Cronograma de exposição aos agentes estressores

Dia de tratamento	Estressor	Duração
1	Inclinação da caixa	4h
2	Ruído	10h
3	Isolamento	24h
4	Isolamento	24h
5	Isolamento	24h
6	Luz piscante	3h
7	Inclinação da caixa	5h
8	Natação	10min
9	Restrição movimentos	1h
10	Inclinação da caixa	5h
11	Não aplicar estressor	—
12	Não aplicar estressor	—
13	Restrição movimentos + frio	2h
14	Luz piscante	2.5h
15	Ruído	15min
16	Natação	15min
17	Isolamento	24h
18	Isolamento	24h
19	Isolamento	24h
20	Inclinação da caixa	6h
21	Ruído	10min
22	Luz Piscante	3h
23	Restrição movimentos	2h
24	Isolamento	24h
25	Isolamento	24h
26	Restrição movimentos + Frio	1.5h
27	Natação	10min

28	Luz piscante	3.5h
29	Não aplica estressor	-
30	Ruído	10min
31	Restrição movimentos	3h
32	Luz piscante	2h
33	Inclinação da caixa	4.5h
34	Restrição movimento + Frio	2h
35	Natação	15min
36	Isolamento	24h
37	Isolamento	24h
38	Não aplicar estressor	-
39	Luz piscante	3h
40	Natação	10min

2.5.3 Dietas Experimentais

2.5.3.1 Dieta padrão

Será utilizada dieta padrão Nuvilab CR-1 (NUVITAL®) composta de 55% de carboidratos que, 22% de proteínas, 4,5% de lipídios, entre outros constituintes (fibras e vitaminas) e perfaz um total de 2,93 kcal/g (informações do fabricante).

2.5.3.2 Dieta de cafeteria

A dieta palatável caloricamente densa (dieta de cafeteria) será conforme descrição de Estadella et al., (2004), onde os componentes e as calorias estão descritos na tabela 2. Os alimentos serão ofertados in natura para os animais, não havendo necessidade de peletizá-la. A dieta padrão estará disponível para que os animais não tenham déficit nutricional.

Tabela 2 – Descrição dos componentes e composição calórica da dieta de cafeteria

Alimentos	Kcal/g/ml
Bolacha recheada	4,76
Leite condensado	3,20
Salgadinho	4,68

Salsicha	2,97
Waffer	5,32
Refrigerante	0,42

2.5.4 Composição Centesimal

A composição centesimal das dietas será determinada em amostras das dietas conforme os procedimentos recomendados pela Association of Official Analytical Chemistry (1995), sendo a determinação de carboidratos realizada segundo Dubois (1956) e comparada com o cálculo do conteúdo de carboidratos obtido pela diferença entre 100% e a soma dos demais macronutrientes. A análise centesimal determinará os teores de proteína, umidade e cinzas, segundo os procedimentos descritos no manual da AOAC. Lipídeos totais serão determinados pelo método descrito por Bigh e Dyer (1959).

2.5.5 Eficiência Alimentar

A eficiência alimentar avalia a capacidade do animal em converter energia alimentar consumida em peso corporal, se dá através do coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e do ganho de peso por consumo calórico (GPCC). Durante o experimento os animais serão pesados e quantificados o CEA de acordo com a ingestão alimentar e o GPCC de acordo com a ingestão calórica para cada grupo.

O CEA é a relação entre o ganho de peso por quantidade de alimento ingerido (NERY et al., 2011) $CEA = (PF-PI) / TA$, sendo:

PF: peso final (g) do animal durante o período de acompanhamento

PI: peso corporal do animal no início do experimento em gramas

TA: quantidade total de alimento ingerido no período em gramas.

Coeficiente de ganho de peso por consumo calórico: $CGPCC = (PF-PI) / \text{kcal ingeridas}$. Em que:

PF: peso final (g) do animal durante o período de acompanhamento

PI: peso corporal do animal no início do experimento em gramas

Kcal: valor calórico da dieta ingerida.

2.5.6 Dosagens Bioquímicas

A aferição das concentrações plasmáticas de glicose mg.dL^{-1} , colesterol total, triacilgliceróis (TAG) e lipoproteína de alta densidade (HDL) serão dosadas por meio de kits da marca Bioclin por espectofotometria e expressos em mg/dL . Os valores de lipoproteína de baixa densidade e muito baixa densidade (LDL e VLDL) serão calculados pela equação de Friedewald ($\text{VLDL} = \text{TAG}/5$, $\text{LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$) (FRIEDWALD et al., 1972). As lipoproteínas serão somadas para se obter o valor total, simulando o que se considera colesterol total em humanos.

Dosagem de Leptina será realizada com o kit ELISA da marca MILLIPORE.

2.5.7 Coleta de soro

Após 12 horas de jejum e 24 horas da última sessão de estresse, os animais serão eutanasiados por meio de decapitação. O sangue troncular será coletado e armazenado em tubos plásticos, centrifugado por 5 minutos em 5000 rpm à temperatura ambiente e o soro armazenado em freezer a -70°C para posterior análise.

2.5.8 Medidas antropométricas

O peso (g) dos animais será aferido semanalmente. Ao final do experimento será expresso o comprimento naso-anal (cm) para posterior determinação do índice de Lee.

$$\frac{\sqrt[3]{\text{massa corporal (g)}}}{\text{comprimento focinho-ânus (cm)}} \times 1.000$$

O fígado, glândulas adrenais e tecido adiposo das regiões subcutânea, mesentérica e visceral serão removidos para pesagem em balança eletrônica, de acordo com descrição de Cinti (2005).

2.5.9 Tarefas comportamentais

2.5.9.1 Campo Aberto (“*open field*”)

O teste Campo Aberto tem por finalidade avaliar a capacidade exploratória e serve para verificar ansiedade. Esta tarefa será realizada no Laboratório de Nutrição

Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel. Os animais serão colocados em uma caixa de madeira medindo 50 x 60 x 40 cm, com a parede frontal de vidro. O assoalho será dividido em 12 retângulos de 15 x 13,3 cm, com linhas escuras (PIETÁ DIAS, et al., 2007). Será realizada somente uma sessão, onde o animal será exposto ao ambiente novo por um tempo total de 5 minutos e serão medidas as respostas de orientação (*rearings*), os cruzamentos, o número de bolos fecais e a latência para saída do primeiro quadrado (aquele onde o animal era colocado no início da tarefa). Esta tarefa será realizada no último dia do experimento.

2.5.9.2 Reconhecimento de objetos

Este teste tem por finalidade avaliar memórias não aversivas. Conforme descrito por Silva et al., (2007), os animais serão colocados na mesma caixa de madeira do campo aberto. Todos os animais devem ser submetidos à sessão de habituação durante 5 minutos. Após 24 horas, cada animal será colocado na caixa com 2 objetos idênticos (A1 e A2 brinquedo) por 5 minutos, em posição simétrica e com distância da parede de 10 cm aproximadamente. A exploração será definida pelo tempo gasto cheirando ou tocando o objeto com o nariz ou com as patas dianteiras. Os animais serão colocados na caixa com um objeto familiar e outro diferente para explorar por 5 minutos. Os objetos apresentarão cor, textura e tamanho semelhante, porém formas distintas.

Após cada teste, os objetos serão lavados com etanol (10%) para eliminar odores ou resíduos. O índice de reconhecimento será calculado pela relação $TB/(TA + TB)$, TA=tempo gasto explorando o objeto familiar A, TB=tempo gasto explorando o novo objeto, B ou C. O teste será realizado no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel, na última semana do experimento (35º dia).

2.5.9.3 Labirinto em cruz elevado (“*plus-maze*”)

O *plus-maze* é um dos principais modelos usados nos estudos de ansiedade. O aparato será constituído por 2 braços abertos (50 X 10 cm) sem qualquer anteparo dispostos em oposição a outro e de 2 braços fechados (de mesma proporção com paredes de 40 cm de altura) também opostos, formando uma cruz. O aparato estará a 50 cm de altura do chão. (BOWMAN, 2009). Os

animais serão colocados no centro do labirinto (no cruzamento entre os braços), com a cabeça voltada para um dos braços abertos e o comportamento será avaliado por um período de 5 minutos. O teste também será realizado Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da UFPel, no último dia do experimento.

2.5.10 Análise Estatística

Será realizado o teste ANOVA de medidas repetidas para peso, ingestão calórica e consumo de líquido ao longo do tratamento, e ANOVA de duas vias para os demais parâmetros, seguidos do teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

2.5.11 Aspectos Éticos

Os procedimentos propostos para este projeto seguirão as normas gerais, nacionais e internacionais que regem a experimentação animal (LANZIOTTI et al., 1994; GOLDIM, 1995). O projeto será submetido ao Comitê de Ética da UFPel.

2.6 ORÇAMENTO

Tabela 3 - Orçamento e descrição dos materiais utilizados no projeto de pesquisa.

Quant.	Unid.	Descrição	Marca	Valor (R\$)
1	Kit	Colesterol monoreagente 400 mL	Bioclin	107,00
1	Kit	Glicose monoreagente 1000 mL	Bioclin	79,00
1	Kit	HDL direto 80 mL	Bioclin	299,00
1	Kit	LDL direto 40 mL	Bioclin	314,00
1	Kit	Lipase colorimétrica 40 mL	Bioclin	67,80
1	Kit	Elisa para leptina	Millipore	1839,95
1	Kit	Proteína total (método biureto) 250 ml	Analisa	150,00
1	Kit	Triglicerídeos	Liquiform	308,54
		Dieta de cafeteria		800,00
Total				3965,29

Recurso financeiro: PROAP-PPGNA/CAPES.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Obesidade

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, decorrente do desequilíbrio entre o consumo e o gasto energético. No entanto, a identificação das causas da obesidade é complexa, pois se trata de uma doença multifatorial, sendo resultado da interação de fatores comportamentais, fisiológicos, endócrinos e genéticos (GERHARDT et al., 2001). Sobrepeso e obesidade são considerados fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes, câncer de mama, cólon e endométrio (WHO, 2012). Em 2008, aproximadamente $\frac{1}{4}$ dos adultos ingleses (24% dos homens e 25% das mulheres) foram classificados com sobrepeso ou obesidade (IMC a partir de 30 kg/m²), no Brasil 13,9% dos adultos foram classificados como obesos (BRASIL, 2010a).

Embora a composição corporal seja influenciada por fatores genéticos, os hábitos alimentares, como por exemplo, o consumo de alimentos densamente calóricos são fatores cruciais para um aumento da adiposidade corporal. Observa-se tamanho aumentado das células adiposas devido ao acúmulo de lipídeos ou consequência do aumentado número de adipócitos resultantes da diferenciação de células adiposas (ROSEN e SPIEGELMAN, 2000). Os adipócitos além de apresentarem a função de reserva energética, também secretam adipocinas como leptina e adiponectina que regulam o balanço energético do metabolismo e a resposta neuroendócrina (AHIMA e FLIER, 2000). Para manter a homeostase de lipídeos, os adipócitos realizam dois processos bioquímicos: lipogênese e lipólise, assim, o conteúdo de gordura é controlado parcialmente através do metabolismo do tecido adiposo (ROSEN e SPIEGELMAN, 2000; AHIMA e FLIER, 2000).

Evidências mostram que a avaliação da ingestão alimentar também é mediada por neuropeptídio Y (NPY) associado com outros hormônios derivados dos adipócitos como a leptina (DALLMAN et al., 1995; CAVAGNINI et al., 2000). A leptina é um hormônio secretado pelos adipócitos, expressa no tecido adiposo e atua no controle da saciedade, sendo que a quantidade de leptina circulante está relacionada com a adiposidade (CAVAGNI et al., 2000). No plasma sanguíneo se liga a receptores específicos no sistema nervoso, sinalizando saciedade ao sistema nervoso central (SNC) que sinaliza a quantidade existente de energia em forma de

gordura no organismo. A leptina age por intermédio de receptores modificando a expressão e a atividade de inúmeros peptídeos hipotalâmicos que regulam o apetite e o gasto de energia, além de induzir a uma resposta imune pró-inflamatória (SOUTH et al., 2012).

A insulina também desempenha um papel importante no metabolismo de lipídeos e no armazenamento de TAG, incluindo AGS (ácido graxo sintase), LLP (lipase lipoproteica), adiponectina e leptina. AGS catalisa a síntese de ácidos graxos de cadeia longa (BENKALFAT et al., 2011). A enzima LLP hidrolisa TAG circulante de lipoproteínas como VLDL e os quilomicrons, fornecendo substrato para a absorção de ácidos graxos. A LLP encontra-se aumentada em humanos obesos, assim como em diferentes modelos de obesidade em roedores, e está envolvida na fisiologia da obesidade (WANG et al., 2009).

Estudos em humanos mostram que uma dieta com grande quantidade de gordura ($\geq 30\%$ de energia proveniente de gordura) pode conduzir a obesidade (ROSENGREN e LISSNER, 2008; HILL et al., 2000; SCHRAUWEN e WESTERTERP, 2000). Mundialmente tem aumentado o consumo de alimentos ricos em gorduras, açúcares e sal e pobre em vitaminas e minerais, juntamente com a inatividade física (WHO, 2012). Existe uma relação positiva com a composição da dieta e a ocorrência de certas doenças, pois estudos populacionais mostram que dietas ricas em ácidos graxos saturados aumentam a incidência de doenças cardíacas. Por outro lado, ácido graxo mono e poli insaturados conferem proteção contra doenças cardiovasculares (DE QUEIROZ et al., 2009; WILLETT, 2012).

Dieta de cafeteria é utilizada na literatura como um modelo animal de obesidade, composta de alimentos palatáveis e caloricamente densos. Uma das principais características é a palatabilidade, pois é composta por alimentos saborosos que conferem sensação de conforto (BENTON, 2010). Estudos com esse modelo de dieta apresentam resultados semelhantes quanto ao ganho de peso, aumento de gordura subcutânea e abdominal (MACEDO et al., 2012; WARNEKE et al., 2014).

3.2 Estresse

O estresse pode ser definido como uma mudança interna ou externa que causa desequilíbrio na homeostase, onde pode causar mudanças comportamentais e fisiológicas, além de alterações emocionais, físicas e sociais (PACAK e

PALKOVITS, 2001). A resposta ao estresse se traduz na ativação de um complexo de respostas comportamentais e fisiológicas, onde a percepção do estressor mediada pela adrenalina secretada na medula adrenal tem papel na preparação para enfrentar possíveis agressores (GRAEFF, 2003).

Se o estressor é percebido como uma ameaça, como por exemplo, uma situação que não se tem os recursos para enfrentá-la, a resposta ao estresse ativa o eixo hipotalâmico pituitário adrenal (HPA) culminando com a liberação de GC (HENRY, 1997). Em contrapartida, se o estressor é percebido como um desafio, o sistema simpático adrenomedular (SAM) é ativado e atua sobre o eixo HPA, onde o cortisol estimula a secreção de adrenalina. Nos seres humanos, quando o estresse se traduz em ameaça, algo ligado ao medo, à liberação do cortisol é ainda mais forte (DICKERSON et al., 2004).

Embora o estresse seja dependente de sua intensidade, duração e tipo do agente estressor existem os componentes cruciais envolvidos na sua ativação como o eixo HPA e SAM. O controle responsável pelo estresse é localizado no hipotálamo onde a liberação do hormônio corticotropina no núcleo paraventricular inicia a resposta ao estresse. O hormônio liberador de corticotrofina (CRH) estimula a secreção de ACTH pela hipófise, este por sua vez, estimula a secreção de cortisol e corticosterona pelas glândulas supra-renais. O cortisol em excesso sinaliza ao hipotálamo a diminuição da ativação do eixo HPA. Este *feedback* negativo protege o organismo da exposição prolongada ao cortisol e mantém a sua concentração dentro de uma faixa estável (HUIZENGA et al., 1998).

A ativação do eixo HPA em resposta ao estresse é um importante fator de regulação do comportamento alimentar. Uma vez que, as respostas neurais que regulam o consumo de energia convergem para o núcleo paraventricular liberando o CRH, responsável pela circulação de GC e insulina. Os GC, por sua vez, na presença de insulina inibem a mobilização de lipídeos dos adipócitos, favorecendo o acúmulo de TAG (DALLMAN et al., 1995; COTTONE et al., 2009).

A modulação das emoções inclui estruturas cerebrais que se encontram conectadas, como córtex pré-frontal, estriado, amígdala e hipocampo. Alterações nessas áreas podem desencadear respostas negativas como sintomas cognitivos de depressão, anedonia e prejuízos de memória (MALETIC et al., 2007). Alterações na

amígdala podem modular respostas emocionais como medo e ansiedade (RODRIGUES et al., 2009).

3.3 Estresse crônico variado

O modelo de estresse crônico variado (ECV) foi desenvolvido para identificar sintomas depressivos em ratos, no qual os animais são submetidos, por algumas semanas a estressores variados de intensidade moderada, assim não há adaptação ao mesmo estressor (WILLNER, 1997). Este modelo de estresse comumente apresenta alterações alimentares como diminuição do consumo de solução açucarada, que caracteriza estado de anedonia, a incapacidade de sentir prazer de qualquer natureza, comum em casos de depressão, além de ser marcador da sensibilidade à recompensa (WILLNER, 1997, HOLMES et al., 2003; LI et al., 2008).

De acordo com dados da literatura, animais expostos ao ECV apresentam menor consumo de alimento doce em comparação com animais não estressados, além de apresentar maior perda de peso e alterações comportamentais (BEKRIS, 2005; GAMARO et al., 2003; LUCCA et al., 2009). A exposição dos animais ao ECV é capaz de induzir mudanças no eixo HPA, no peso corporal e glândulas adrenais (HARRO et al., 2001). Consequentemente essas alterações observadas no modelo de ECV são capazes de induzir a hiperatividade do eixo HPA, verificando níveis elevados de corticosterona. Estudos com animais expostos ao ECV apresentaram alterações no metabolismo lipídico, como aumento do colesterol total e LDL comparado com animais não estressados (MANTING et al., 2011; NEVES et al., 2009).

Evidências sugerem que existe relação entre estresse, mediadores psicológicos e desordens cognitivas, que levam a alterações do sistema imunológico e endócrino. Essas alterações são estimuladas por excessiva secreção de citocinas inflamatórias e hormônios, como TNF α (fator de necrose tumoral), interleucina 1 (IL-1 β), il-6, interferon, corticosterona, CRH e ACTH. Estes estão envolvidos nos distúrbios relacionados com o estresse e na sintomatologia da depressão (JOZUKA et al., 2003; MEDEIROS et al., 2007; GEMMA e BICKFORD, 2007).

3.4 Estresse e comportamento/memória

A memória é composta de diferentes fases: a fase de formação, aquisição e evocação de determinadas informações. A concepção da memória depende de uma sequência de reações bioquímicas, as quais são vulneráveis a estressores diversos (IZQUIERDO e MEDINA, 1997). A aquisição é também definida como aprendizagem, uma vez que se armazena aquilo que foi assimilado. O armazenamento das informações se dá através de modificações permanentes da forma e função das sinapses das redes neurais de cada memória (IZQUIERDO, 2006).

O teste de esQUIVA inibitória é utilizado nos estudos para descrever a formação de memórias aversivas, resultante de uma situação de perigo, onde está associada a processos de reações e adaptações frente a situações de risco (IZQUIERDO e MEDINA, 1997). O hipocampo e a amígdala são estruturas importantes na modulação da memória, sendo que a comunicação sináptica é influenciada pelos hormônios glicocorticoides, vasopressina e vários neurotransmissores. Além disso, a adrenalina e noradrenalina tem efeito dual na amígdala basolateral e facilita a consolidação da memória em baixas doses, já em doses elevadas causa amnésia (MCGAUGH et al., 1996).

O Hipocampo é uma estrutura relacionada com processos cognitivos de aprendizado e memória, possui muitos receptores e GC que atuam de formas distintas ao estresse agudo e crônico. A exposição à GC por períodos prolongados gera alterações neuroquímicas e morfológicas (BREMNER, 2006; CONRAD, 2006). Estudos com animais associam o estresse crônico a déficits cognitivos (ORSETTI et al., 2007).

Comportamentos relacionados com distúrbios de estresse estão associados com deficiências cognitivas, desempenho e atividade motora prejudicada, avaliados no teste “campo aberto” (GARCÍA-DIAZ et al., 2007; CIOBICA et al., 2010). Estudo de LALANZA et al., (2014) mostrou que a dieta também altera a atividade locomotora, ou seja, animais expostos a DC diminuíram a capacidade exploratória do ambiente, verificado no teste campo aberto. Estudos onde os ratos foram submetidos ao ECV mostraram prejuízo na memória, tanto na fase de aquisição como de retenção de memória (METZ et al., 2005; TAGLIARI et al., 2011). Além

disso, o ECV induz ao dano celular neuronal e diminuição da neurogênese (LI et al., 2008).

3.5 Dieta de cafeteria, estresse e comportamento alimentar

Em humanos a literatura mostra que o estresse afeta a ingestão alimentar de uma forma bidirecional, sendo que, poucas pessoas em situações de estresse relatam diminuir a ingestão de alimentos e perder peso durante ou depois do período de estresse (STONE e BROWNELL, 1994; EPEL et al., 2004). Em países ocidentais, as pessoas frequentam ambientes onde há abundância de alimentos calóricos, fazendo com que a maioria ingira esses alimentos quando se encontram estressadas para alívio imediato (STAMBOR, 2006).

O termo *comfort food* é designado para caracterizar alimentos palatáveis com alta densidade energética, estes apresentam alta concentração de açúcares e gorduras. Dada a relação entre estresse e balanço energético, verifica-se que o estresse induz a ingestão destes alimentos e estes por sua vez, reduzem os sintomas de estresse, como ansiedade, proporcionando sensação de conforto e bem estar (ADAM e EPEL, 2007; MANIAM e MORRIS, 2010; TOMIYAMA et al., 2011; KROLOW et al., 2013; ZEENI et al., 2013).

Estudos tem investigado a resposta ao estresse em diferentes patologias alimentares. Pessoas com transtorno alimentar compulsivo tendem a mostrar mais elevados níveis de cortisol basal (GLUCK et al., 2004; GLUCK, 2006). Testes com humanos mostram que os que apresentaram altos índices de cortisol são mais susceptíveis a consumir mais calorias após o estressor, principalmente provenientes de alimentos mais gordurosos, isso para limitar a resposta ao estresse ou reduzir a ansiedade (EPEL et al., 2001). No entanto, em humanos é difícil mensurar os tipos de repostas ao estresse, uma vez que apresentam diversas emoções e fatores relacionados que tendem a interferir nos resultados (KIRSCHBAUM et al., 1993).

Em animais, os GC estimulam a sensação de prazer como o consumo de drogas (GOEDERS, 2003). Visto que, uma dieta palatável estimula essa sensação (BHATNAGAR et al., 2006; DALLMAN et al., 2003). Os modelos animais de estresse que incluem estressores variados como fome, exposição ao frio, imobilização, luz piscante, exposição a um membro socialmente dominante da mesma espécie (GAMARO et al., 2003; WILLNER, 2005). Estudo realizado com animais expostos

durante 40 dias ao ECV mostrou aumento na peroxidação lipídica no hipocampo e no córtex estriado e aumento das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Neste contexto, o estresse oxidativo causa danos nas estruturas do cérebro podendo desencadear a patogênese da depressão (FONTELLA et al., 2005; EREN et al., 2007).

Estudos com animais mostraram que o estresse pode levar ao aumento ou diminuição da ingestão alimentar, dada à relação dose resposta. Sugere-se que a diminuição da ingestão ou a perda de peso pode ser um marcador da gravidade do estresse (ARMARIO, 2006; SCHWEIZER, 2009). No entanto, quando os ratos são expostos a alimentos palatáveis ricos em gordura e açúcares o estresse pode aumentar o consumo especificamente destes alimentos saborosos (DALLMAN et al., 2003; DALLMAN et al., 2005; KUO et al., 2008; GOULARTE et al., 2012).

Estudo encontrou que animais submetidos à DC, após sete semanas apresentaram rápido ganho de peso, intolerância à lactose e resistência insulínica (FALL, 2009). Também foi verificado em animais expostos à DC e expostos a ECV alterações no perfil lipídico, onde houve diminuição do HDL e aumento de LDL, aumento de peso e de gordura intra-abdominal além de maior percentual de gordura corporal. Além disso, observou-se aumento de corticosterona nos grupos submetidos ao estresse, porém o grupo que recebeu DC foi verificado diminuição da corticosterona, mostrando a modulação da resposta ao estresse causada pela dieta palatável (ZEENI et al., 2013).

Estudo com animais expostos à DC apresentaram comportamento hiperfágico e uma condição pré-diabética, apresentando glicose elevada, resistência insulínica e inflamação no fígado. Além disso, quando comparado com uma dieta rica em gordura, mostrou que os animais alimentados com DC apresentaram síndrome metabólica (SAMPEY et al., 2011).

Estudo realizado por 16 semanas também mostrou que ratos com livre acesso à dieta palatável apresentaram comportamento hiperfágico, verificando-se aumento de peso, aumento da adiposidade, aumento da glicose sanguínea, insulina e leptina. Por outro lado, quando estes ratos foram expostos a ração padrão, diminuíram a ingestão e conseqüentemente o peso, isso pode ser explicado pela redução do alimento considerado compensador e agradável (SOUTH et al., 2012).

Quando a DC foi administrada para os ratos alimentados com ração padrão, estes apresentaram comportamento hiperfágico. O consumo agudo de sacarose e gordura provoca liberação de dopamina, portanto em curto prazo, pode ser considerado protetor dos sintomas de estresse (ZHANG et al., 1994; LIANG et al., 2006). Porém um estudo realizado por um período mais prolongado, 4 meses mostrou que os animais que ingeriram a DC eram mais ansiosos (SOUZA et al., 2007).

Estudo observou que a capacidade antioxidante foi diminuída nos animais alimentados com DC comparado com o grupo controle, Além disso, houve aumento na ingestão alimentar e acúmulo de gordura, confirmando a capacidade obesogênica da DC (BOUANANE et al., 2010).

Mudanças emocionais como exposições às situações estressantes podem influenciar o comportamento alimentar, e a exposição crônica pode alterar a composição corporal de animais, tanto no ganho como na perda de peso além de causar danos cognitivos e locomotores.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, T. C.; EPEL, E. S. Stress, eating and the reward system. **Physiol Behav**, v.91, n.4, p.449-458, 2007.

AHIMA, R. S.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol Metab**, n.11, p.327–332, 2000.

ANISMAN, H.; MERALI, Z.; HAYLEY, S. Neurotransmitter, peptide and cytokine processes in relation to depressive disorder: comorbidity between depression and neurodegenerative disorders. **Prog Neurobiol**, v.85, p.1-74, 2008.

ARMARIO, Antonio. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? **CNS and Neurol Disord Drug Targets**, v.5, n.5, p.485–501, 2006.

ALBUQUERQUE, K. T.; SARDINHA, F. L.; TELLES, M. M.; WATANABE, R. L.; NASCIMENTO, C. M., TAVARES DO CARMO, M. G.; RIBEIRO, E. B. Intake of trans fatty acid–rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, n. 22 v. 7, p. 820-829, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of Analysis**. 16h ed. Washington, DC; 1995.

BOWMAN, R. E.; MICIK, R.; GAUTREAUX, C.; FERNANDES, L.; LUINE, V.N. Sex-dependent changes in anxiety, memory, and monoamines following one week of stress. **Physiol Behav**, v. 97, p.21–29, 2009.

BARTOLOMUCCI, A.; CABASSI, A.; GOVONI, P.; CERESINI, G.; CERO, C.; BERRA, D.; DADOMO, H.; FRANCESCHINE, P.; DELL'OMO, G.; PARMIGIANI, S.; PALANZA, P. Metabolic Consequences and Vulnerability to Diet-Induced Obesity in Male Mice under Chronic Social Stress. **PLoS ONE**, v.4, n.1, p.1-12, jan. 2009.

BASIOTIS, P. P.; CARLSON, A.; GERRIOR, S. A.; JUAN, W. Y.; LINO, M. **The Healthy Eating Index: 1999–2000**. United States Department of Agriculture Center for Policy and Promotion, 2002.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; FOWKES, R. C.; STICKLAND, N. C. A Maternal "Junk Food" Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. **Endocrinology**, v.151, p.1451-146, 2010.

BEKRIS, S.; ANTONIOU, K.; DASKAS, S.; PAPADOPOULOU-DAIFOTI, Z. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. **Behav Brain Res**, v.161, p.45–59, 2005.

BENKALFAT, N. B.; MERZOUK, H.; BOUANANE, S.; MERZOUK, S. A.; BELLENGER, J.; GRETI, J.; TESSIER, C.; NARCE, M.; Altered adipose tissue metabolism in offspring of dietary obese rat dams. **Clin Sci**, v.121, p.19-28, 2011.

BENTON, D.. The plausibility of sugar addiction and its role in obesity and eating disorders. **Clinical Nutrition**, v. 29, p. 288-303, 2010

BHATNAGAR, S.; BELL, M. E. Glucocorticoids, chronic stress, and obesity. **Prog Brain Res**, v.153, p.75-105, 2006

BIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

BOUANANE, S.; MERZOUK, H.; BENKALFAT, N. B.; SOULIMANE, N.; MERZOUK, S. A.; GRETI, J.; TESSIER, C.; NARCE, M. Hepatic and very low-density lipoprotein fatty acids in obese offspring of overfed dams. **Metab Clin Exp**, v.59, p.1701–1709, 2010.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**.

Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010a.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: despesas, rendimentos e condições de vida.** Rio de Janeiro; IBGE 2010b.

BREMNER, J. Douglas. Stress and brain atrophy. **CNS Neurol Disord Drug Targets** v.5, p.503–512, 2006.

CAVAGNINI, F.; CROCI, M.; PUTIGNANO, P.; PETRONI, M. L.; INVITTI, C. Glucocorticoids and neuroendocrine function. **Int J Obes**, v.24, p.77-79, 2000.

CINTI, Saverio. The adipose organ. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **3rd Throne Holst Foundation Symposium**, v.73, p.9-15, 2005.

CIOBICA, A.; HRITCU L.; PADURARIU, M.; DOBRIN, R.; BILD, D. Effects of serotonin depletion on behavior and neuronal oxidative stress status in rat: relevance for anxiety and affective disorders. **Adv Med Sci**, v.55, p.289–296, 2010.

COCCURELLO R.; D'AMATO F. R.; MOLES A. Chronic social stress, hedonism and vulnerability to obesity: Lessons from Rodents. **Neurosci Biobehav**, v.33, n.4, p.537–550, 2009.

CONRAD, Cheryl D. What is the functional significance of chronic stress-induced CA3 dendritic retraction within the hippocampus? **Behav Cogn Neurosci Rev**, v.5, p.41–60, 2006.

COTTONE, P.; SABINO, V.; ROBERTO, M.; BAJO, M.; POCKROS, L.; FRIHAUF, J. B.; FEKETE, E. M.; STEARDO, L.; RICE, K. C.; GRIGORIADIS, D. E.; CONTI, B.; KOOB, G. F.; ZORRILA, E. P. **Crf system recruitment mediates dark side of compulsive eating.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009.

DALLMAN, M. F.; AKANA, S. F.; STRACK, A. M.; HANSON, E. S.; SEBASTIAN, R. J. The neural network that regulates energy balance is responsive to glucocorticoids and insulin and also regulates HPA axis responsivity at a site proximal to CRH neurons. **Ann N Y Acad Sci**, v.771, p.730-742, 1995.

DALLMAN, M. F.; LA FLEUR S. E.; PECORARO, N. C.; GOMEZ, F.; HOUSHYAR, H.; AKANA, S. F. Glucocorticoids food intake, abdominal obesity, and wealthy nations in 2004. **Endocrinology**, v.145, n.6, p.2633-2638, 2004.

DALLMAN, M. F.; PECORARO, N. C.; LA FLEUR, S. E. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. **Brain Behav Immun**, v.19, p.275-280, 2005.

DALLMAN, M. F.; PECORARO, N. C.; LA FLEUR, S. E.; WARNE, J. P.; GINSBERG, A. B.; AKANA, S. F.; LAUGERO, K. C.; HOUSHYAR, H.; STRACK, A. M. BHATNAGAR, S.; BELL, M.E. Glucorticóids, chronic stress, and obesity. **Prog Brain Res**, v.153, p.75-105, 2006.

DALLMAN, M.F., PECORARO, N., AKANA, S.F., LA FLEUR, S.E., GOMEZ, F., HOUSHYAR, H., BELL, M.E., BHATNAGAR, S., LAUGERO, K.D., MANALO, S. Chronic stress and obesity: a new view of “comfort food”. **Proc Natl Acad Sci**, v.100, p.11696-11701, 2003.

DE QUEIROZ, J. C. F.; ALONSO-VALE, M. I. C.; CURI, R.; LIMA, F. B. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.53, n.5, p.582-594, 2009.

DICKERSON, S. S.; GRUENEWALD, T. L.; KEMENY, M. E. When the social self is threatened: shame, physiology, and health. **J Pers**, v.72, p.1191-1216, 2004.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v.3, n.3, 1956.

ELMARAKBY A. A.; SULLIVAN, J. C. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. **Cardiovasc Ther**, v.30, n.1, p.49-59, 2010.

EPEL, E.; JIMENEZ, S.; BROWNELL, K.; STROUD, L.; STONEY, C.; NIAURA, R. Are stress eaters at risk for the metabolic syndrome? **Ann N Y Acad Sci**, v.1032, p.208-210, 2004.

EPEL, E.; LAPIDUS, R.; MCEWEN, B.; BROWNELL, K. Stress may add bite to appetite in women: a laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. **Psychoneuroendocrinol**, v.26, n.1, p.37-49, 2001.

EREN, I.; NAZIROGLU, M.; DEMIRDAS, A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. **Neurochem Res**, v.32, p.1188–1195, 2007.

ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DÂMASO, A. R.; RIBEIRO, E. B.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v.20, p.218-224, 2004.

FALL Caroline. Maternal nutrition: effects on health in the next generation. **Indian J Med Res**, v.130, p.593-599, nov. 2009.

FONTELLA, F. U.; SIQUEIRA, I. R.; VASCONCELLOS, A. P.; TABAJARA, A. S.; NETTO, C. A.; DALMAZ, C. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. **Neurochem Res**, v.30, p.105–111, 2005.

GAMARO, G. D.; STRECK, E. L.; MATTÉ, C.; PREDIGER, M. E.; WYSE, A. T. S.; DALMAZ, C. Reduction of Hippocampal Na⁺, K⁺-ATPase Activity in Rats Subjected to an Experimental Model of Depression. **Neurochem Res**, v.28, n.9, p.1339-1344, 2003.

GARCÍA-DÍAZ, D.; CAMPIÓN, J.; MILAGRO, F. I.; MARTÍNEZ, J. A. Adiposity dependent apelin gene expression: relationships with oxidative and inflammation markers. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 305, n.1-2, p. 87-94. 2007.

GEMMA, C.; BICKFORD, P. C. Interleukin-1 β and Caspase-1: Players in the Regulation of Age-related Cognitive Dysfunction. **Reviews in the Neurosciences**, v. 18, n. 2, p. 137-148, 2007.

GIBSON, Edward Leigh. Emotional on food choice: sensory, physiological and psychological and psychological pathways. **Physiol Behav**, v.89, n.1, p.53-61, 2006.

GLUCK, M. E.; GELIEBTER, A.; HUNG, J.; YAHAV, E. Cortisol, hunger, and desire to binge eat following a cold stress test in obese women with binge eating disorder. **Psychosom Med**, v.66, p.876-881, 2004.

GLUCK, Marci E. Stress response and binge eating disorder. **Appetite**, v.46, p.26-30, 2006.

GOEDERS, Nike E. The impact of stress on addiction. **Eur Neuropsychopharmacol**, v.13, p.435-441, 2003.

GOULARTE, J. F.; FERREIRA, M. B. C.; SANVITTO, G. L. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria dietinduced obesity in female rats. **Br J Nutr**, p.1-8, 2012.

GRAEFF, Frederico G. Biological basis of posttraumatic stress disorder. **Rev Bras Psiquiatr**, v.25, n.1, p.21-24, 2003.

GERHARDT, C. C.; ROMERO, I. A.; CANCELLO, R.; CAMOIN, L.; STROSBERG, A. D. Chemokines control fat accumulation and leptin secretion by cultured human adipocytes. **Molecular and cellular endocrinology**, v.175, n.1, p.81-92, 2001.

HARRO, J.; TONISSAAR, M.; ELLER, M.; KASK, A.; ORELAND, L. Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry. **Brain Res**, v.899, p.227–239, 2001.

HENRY, James P. Psychological and physiological responses to stress: the right hemisphere and the hypothalamo–pituitary–adrenal axis, an inquiry into problems of human bonding. **Acta Physiol Scand**, v.640, p.10-25, 1997.

HILL, J. O.; MELANSON, E. L.; WYATT, H. T. Dietary fat intake and regulation of energy balance: implications for obesity. **J Nutr**, v.130, p.284-288, 2000.

HUIZENGA, N. A.; KOPER, J. W.; DE LANGE, P.; POLSHA, STOLKRP, GROBBEE D. E. DE JONG, F. H.; LAMBERTS, S. W. Interperson variability but intraperson stability of baseline plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo– pituitary–adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. **J Clin Endocrinol Metab**, v.83, n.1, p.47-54, 1998.

IZQUIERDO, I.; BEVILAQUA, L. R. M.; ROSSATO, J. L.; BONINI, J. S.; MEDINA, J. H.; CAMMAROTA, M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. **Trends neurosci**, v.29, n.9, p.496-505, 2006.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. **Neurobiol learn mem**, v.68, n.3, p.285-316, nov. 1997.

JOZUKA, H.; JOZUKA, E.; TAKEUCHI, S.; NISHIKAZE, O. Comparison of immunological and endocrinological markers associated with major depression. **Journal of international medical research**, v. 31, n. 1, p. 36-41, 2003.

KROLOW, R., NOSCHANG, C., ARCEGO, D.M., HUFFELL, A. P., MARCOLIN, M. L., BENITZ, A. N., LAMPERT C., FITARELLI R. D., DALMAZ, C.. Sex-specific effects

of isolation stress and consumption of palatable diet during the prepubertal period on metabolic parameters. **Metabolism**, v.62, p.1268-1278, 2013.

KIRSCHBAUM, C.; PIRKE, K. M.; HELLHAMMER, D. H. The 'Trier Social Stress Test' a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. **Neuropsychobiology**, v.28, p.76-81, 1993.

KUO L. E.; CZARNECKA M.; KITLINSKA, J. B; TILAN, J.U.; KVETNANSKÝ, R, ZUKOWSKA, Z. Chronic stress,combined with a high-fat/high-sugar diet, shifts sympathetic signaling toward neuropeptide Y and leads to obesity and the metabolic syndrome. **Ann N Y Acad Sci**, v.1148, p.232-237, 2008.

LALANZA, J. F.; CAIMARI, A.; DEL BAS, J. M.; TORREGROSA, D.; CIGARROA, I.; PALLÀS, M.; CAPDEVILA, L., AROLA, L.; ESCORIHUELA, R. M. Effects Of A Post-Weaning Cafeteria Diet In Young Rats: Metabolic Syndrome, Reduced Activity And Low Anxiety-Like Behaviour. **PLOS ONE**, n. 9, p. e85049, 2014.

LI, S.; WANG, C.; DONG, H.; HOU, P.; TANG, Y.; Chronic mild stress impairs cognition in mice: From brain homeostasis to behavior. **Life Sci**, v.82, p.934-942, 2008.

LIANG, N. C.; HAJNAL, A.; NORNGREN, R. Sham feeding corn oil increases accumbens dopamine in the rat. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.291, n.5, p.1236-1239, 2006.

LUCCA, G.; COMIMA, C. M.; VALVASSORI, S. S.; RÉUS, G. Z.; VUOLO, F.; PETRONILHO, F.; DAL-PIZZOL, F.; GAVIOLI, E. C.; QUEVEDO, J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. **Neurochem Internat**, v.54. p.358–362, 2009.

MACEDO, I. C.; MEDEIROS, L. F.; OLIVEIRA, C.; OLIVEIRA, C. M.; ROZISKY, J. R.; SCARABELOT, V. L.; SOUZA, A.; SILVA, F. R.; SANTOS, V. S.; CIATO, S. G.;

CAUMO, W.; TORRES, I. L. S. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, v. 38, n. 1, p. 189-196, 2012.

MALETIC, V.; ROBINSON M.; OAKES T.; LYENGAR, S.; BALL, S. G.; RUSSELL, J. Neurobiology of depression; an integrated view of key findings. **Int J Clin Pract**, v.12, p.2030-2040, 2007.

MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Palatable cafeteria diet ameliorates anxiety and depression-like symptoms following an adverse early environment. **Psychoneuroendocrinol**, v.35, n.5, p.717-728, 2010.

MANTING, L.; HAIHONG, Z.; JING, L.; SHAODONG, C.; YIHUA, L. The model of rat lipid metabolism disorder induced by chronic stress accompanying high-fat-diet. **Lipids in Health and Disease**, v.10, n.153, 2011.

MCGAUGH, J. L.; CAHILL, L.; ROOZENDAAL, B. Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 24, p. 13508-13514, 1996.

MEDEIROS, R; PREDIGER, R. D.; PASSOS, G. F.; PANDOLFO, P.; DUARTE, F. S.; FRANCO, J. L.; DAFRE A. L.; DI GIUNTA G.; FIGUEIREDO C. P.; TAKAHASHI R. N.; CAMPOS M. M.; CALIXTO, J. B. Connecting TNF- α signaling pathways to iNOS expression in a mouse model of Alzheimer's disease: relevance for the behavioral and synaptic deficits induced by amyloid β protein. **The Journal of neuroscience**, v. 27, n. 20, p. 5394-5404, 2007.

METZ, G. A.; SCHWAB, M. E.; WELZL, H. The effects of acute and chronic stress on motor and sensory performance in male Lewis rats. **Physiology & behavior**, v. 72, n. 1, p. 29-35, 2001.

METZ, G. A.; JADAVJI, N. M.; SMITH, L. K. Modulation of motor function by stress: a novel concept of the effects of stress and corticosterone on behavior. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 5, p. 1190-1200, 2005.

NERY, C. S.; PINHEIRO, I. L.; MUNIZ, G. S.; VASCONCELOS, D. A. A.; FRANÇA, S. P.; NASCIMENTO, E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v.17, n.1, feb. 2011.

NEVES, V. J.; MOURA, M. J.; TAMASCIA, M. L.; FERREIRA, R.; SILVA, N. S.; COSTA, R.; MONTEMOR, P. L.; NARVAES, E. A.; BERNARDES, C. F.; NOVAES, P. D.; MARCONDES, F. K. Proatherosclerotic effects of chronic stress in male rats: altered phenylephrine sensitivity and nitric oxide synthase activity of aorta and circulating lipids. **Stress**, v.12, n.4, p320-327, 2009.

NHSIC, Health and Social Care Information Centre. **Statistics on obesity, physical activity and diet: England, 2010**. February 2010. Disponível em: http://www.ic.nhs.uk/webfiles/publications/opad10/Statistics_on_Obesity_Physical_Activity_and_Diet_England_2010

ORSETTI, M.; COLELLA, L.; DELLAROLE, A.; CANONIC, P. L.; GHI, P. Modification of spatial recognition memory and object discrimination after chronic administration of haloperidol, amitriptyline, sodium valproate or olanzapine in normal and anhedonic rats. **Int J Neuropsychopharmacol**, v.10, p.345–357, 2007.

PACAK, K.; PALKOVITS, M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. **Endocr Rev**, v.22, p.502-548, 2001.

PECORARO, N.; REYES, F.; GOMEZ, F.; BHARGAVA, A.; DALLMAN, M. F. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. **Endocrinology**, v.145, p.3754-3762, 2004.

PIETÁ, C. D.; LIMA, M. N.; PRESTI-TORRES, J.; DORNELLES, A. GARCIA, V. A.; SCALCO, F. S.; GUIMARÃES, M. R.; CONSTANTINO, L. BUDNI, P.; DAL-PIZZOL,

F.; SCHRÖDER, N. Memantine reduces oxidative damage and enhances long-term recognition memory in aged rats. **Neuroscience**, v.146, n.4, p.1719-1725, 2007.

ROCERI, M.; CIRULLI, F.; PESSINA, C.; PERETTO, P.; RACAGNI, G.; RIVA, M. A. Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions. **Biol Psychiatry**, v.55, p.708–714, 2004.

RODRIGUES, S. M.; LE DOUX, J. E.; SAPOLSKY, R. M. The Influence of stress hormones on fear circuitry. **Annu Rev Neurosci**, v.32, p.289-313, 2009.

ROSEN, E. D.; SPIEGELMAN, B. M. Molecular regulation of adipogenesis. **Annu Rev Cell Dev Biol**, n.16, p.145–171, 2000.

ROSENGREN, A.; LISSNER, L. The sociology of obesity. **Obesity and Metabolism**, Basel, v.36, p.260–270, 2008.

SAMPEY, B. P.; VANHOOSE, A. M.; WINFIELD, H. M.; FREEMERMAN, A. J.; MUEHLBAUER, M. J.; FUEGER, P. T.; NEWGARD, C. B.; MAKOWSKI, L. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**, v.19, p.1109–1117, 2011.

SCHRAUWEN, P.; WESTERTEP, K. R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. **Br J Nutr**, v.84, p.417-427, 2000.

SCHULZ, S.; LAESSLE, R. G. Stress-induced laboratory eating behavior in obese women with binge eating disorder. **Appetite**, v.58, p.457-461, 2012.

SCHWEIZER, M. C.; HENNIGER, M. S. H.; SILLABER, I. Chronic Mild Stress (CMS) in Mice: Of Anhedonia, 'Anomalous Anxiolysis' and Activity. **PLoS ONE** v.4, n.1, p.1-11, 2009.

SILVA, A. L.; PIATO, A. L.; FERREIRA, J. G.; MARTINS, B. S.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Promnesic effects of *Ptychopetalum olacoides* in aversive and non-aversive learning paradigms. **J Ethnopharmacol**, v.109, p.449-457, 2007.

SOUTH, T.; WESTBROOK, F.; MORRIS, J. M. Neurological and stress related effects of shifting obese rats from a palatable diet to chow and lean rats from chow to a palatable diet. **Physiol Behav**, v.105 n.4, p.1052–1057, 2012.

SOUZA, C. G.; MOREIRA, J. D.; SIQUEIRA, I. R.; PEREIRA, A. G.; RIEGER, D. K.; SOUZA, D. O.; SOUZA T. M.; PORTELA, L. V.; PERRY, M. L. S. Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. **Life sciences**, 81, 198-203, 2007.

STAMBOR, Zak. Stressed out nation. **Monit Psychol**, v.37, n.4, 2006.

STONE, A. A.; BROWNELL, K. D. The stress-eating paradox: multiple daily measurements in adult males and females. **Psychol Health**, v.9, p.425-436, 1994.

TAGLIARI, B.; SCHERER, E. B.; MACHADO, F. R.; FERREIRA, A. G. K.; DALMAZ, C.; WYSE, A. T. S. Antioxidants Prevent Memory Deficits Provoked by Chronic Variable Stress in Rats, **Neurochem Res**, v.36, p.2373–2380, 2011.

TOMIYAMA, A. J.; DALLMAN, M. F.; EPEL, E. S. Comfort food is comforting to those most stressed: evidence of the chronic stress response network in high stress women. **Psychoneuroendocrinology**, v.36, p.1513-1519, 2011.

VASCOCELLOS, A. P.; VENDITE, A. D.; NASSIF, M.; CREMA, L. M.; FROZZA, R.; THOMAZI, A. P.; NIETO, F. B.; WOFCHUK, S.; SALBEGO, C.; ROCHA, E. R.; DALMAZ, C. Chronic Stress and Lithium Treatments Alter Hippocampal Glutamate Uptake and Release in the Rat and Potentiate Necrotic Cellular Death After Oxygen and Glucose **Deprivation**. **Neurochem Res**, v. 36, n.5, p.793–800, 2011.

WANG, H.; ECKEL, R. H. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab*, v.297, p.271-288, 2009.

WARNEKE, W.; KLAUS, S.; FINK, H.; LANGLEY-EVANS, S.C.; VOIGT, J.P. The impact of cafeteria diet feeding on physiology and anxiety-related behaviour in male and female Sprague–Dawley rats of different ages. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.116, p.45-54, 2014.

WILLETT, Walter C. Dietary fats and coronary heart disease. **Journal of Internal Medicine**, v.272, p.13-24, 2012.

WILLNER Paul. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: 0-10 year review and evaluation. **Psychopharmacology**, v.134, p.319-329, 1997.

WILLNER, Paul. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v.52, p.90-110, 2005.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight**. Atualizado em maio de 2012. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>

ZEENI, N.; DAHER, C.; FROMENTIN, G.; TOME, D.; DARCEL, N.; CHAUMONTET, C. A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. **Stress**, v.16, n.2, p.211-219, 2013.

ZHANG, H.; KIYATKIN, E. A.; STEIN, E. A. Behavioral and pharmacological modulation of ventral tegmental dendritic dopamine release. **Brain Res**, v.656, n.1, p.59-70, 1994.

5. RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO

Primeiramente foi realizado um projeto de pesquisa, e esse foi apresentado a uma banca de qualificação, composta por professores da faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, que teve parecer favorável a execução do trabalho. Após a qualificação e aprovação, o projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEAA/UFPEL), aprovado pelo processo (CEAA 10757). Após procedeu-se a reserva dos animais experimentais no Biotério Central da UFPel.

O ensaio biológico foi realizado no laboratório de experimentação animal da faculdade de nutrição/ UFPel. Por uma questão de logística e espaço, os animais foram divididos em duas levas, sendo que a primeira teve início no dia 8 de abril de 2014 e foi finalizada no dia 17 de maio de 2013. O segundo grupo iniciou dia 03 de julho de 2013 e foi finalizado dia 11 de agosto de 2013. Nas semanas posteriores ao término do ensaio biológico foram realizadas as dosagens bioquímicas no laboratório do departamento de Bioquímica da UFPel realizada pela professora Giovana Gamaro, Rejane Tavares juntamente com a mestranda Pamela Salerno. A determinação centesimal da ração padrão foi realizada no laboratório da faculdade de Nutrição. Posteriormente, foram realizadas tabulação dos dados e análises estatísticas.

A dosagem prevista de leptina não foi possível devido à perda de amostras causada pela queda de energia elétrica no campus Capão do Leão.

Com a realização do presente estudo foi obtido o artigo intitulado: THE INFLUENCE OF CAFETERIA DIET ON BEHAVIOR IN CHRONICALLY STRESSED ANIMALS.

6. ARTIGO

Formatado segundo as normas da revista Stress

The influence of cafeteria diet on behavior in chronically stressed animals

**Salerno PSV¹, Soares FJ², Jaskulski IB¹, Moreira CS¹, Stoll FM², Machado C²,
Helbig E¹, da Silva AL^{1,2}, Tavares RG¹, Gamaro GD^{1,2*}**

**¹Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Pós Graduação em
Nutrição e Alimentos ²Universidade Federal de Pelotas, Pós Graduação em
Bioquímica e Bioprospecção**

Short title: Cafeteria diet ; variate stress

Number of pages: 31

Number of figures: 4

Number of tables: 5

*** Corresponding Author**

Centro de Ciências Químicas,
Farmacêuticas e de Alimentos,
Universidade Federal de Pelotas – UFPeL
Tel: +55 53 32757355
Campus Capão do Leão S/N, Prédio 29 sala 303
Capão do Leão – RS, Brazil, 96010-900
E-mail address: ggamaro@yahoo.com.br

ABSTRACT

The increase number in cases of obesity appears to be result of changes in food intake, eating habits and physical activity levels. The cafeteria diet is a widely used animal model to study obesity, consisting of different kinds of palatable foods that are offered to rodents in addition to normal chow. Another factor related with to the changing in feeding habits is the stress condition of life. This study aims to evaluate the relationship between cafeteria diet on response to chronic variate stress for 40 days on body weight, biochemical parameters and anxiety-related behavior. Our results show an alteration preference in intake of palatable foods in contrast with habitual rat chow. The animals fed with cafeteria diet had higher body weight and intra-abdominal fat percentages compared with the other groups. The animals exposed to cafeteria diet showed an increase in intra- abdominal adipose tissues depots that corroborates with literature. Furthermore, stress decreased locomotion and anxiety as assessed by the Open Field test and in the Elevated Plus Maze. Lastly, stress and cafeteria diet not induce changes in the lipid profile and glycemic index, only an increase in liver weight on group that receive cafeteria diet. Our data suggest an important interaction between stress and cafeteria diet, showing that cafeteria diet can induce changes in the animal's response to stress.

Key words: feeding behavior; cafeteria diet; chronic variate stress, comfort food, palatability, obesity, anxiety.

Introduction

Obesity and overweight is related with the over-eating behavior that it stimulated by the ready availability of food rich in fat and sugar (Erlanson-Albertsson, 2005). The rise in the number of cases of obesity appears to be result of changes in food intake, eating habits and physical activity levels (Goularte et al. 2012). Studies have demonstrated the impact of hyper energetic diets on the central nervous system and investigate behavioral implications of obesity in neurotransmitter synthesis and release (Wright et al. 2011; McMillen et al. 2004). Another factor related with to the changing in feeding habits is the stress condition of life. Stress is the organisms adaptive response that activates multiple systems, such as the adrenergic sympathetic adrenal medulla system and the HPA-axis, regulating glucocorticoids function (Tanke et al. 2008; Selye, 1955; Orsetti et al. 2007). HPA-axis activity seen in affective disorders may be a secondary effect of persistent attempts to adapt to stress or, conversely it impairs coping to stress and causes depression (Tanke et al. 2008).

Stress affect appetite, metabolism and feeding behavior (Adam and Epel 2007; Chrousos and Gold 1992; Dallman et al. 2005; Cottone et al. 2009; Torres et al. 2002) the common effect is decrease food intake with weight loss, but it dependent of severity, duration and type of stressor (Adam and Epel 2007; Tsigos and Chrousos 2002; Gamaro et al. 2003; Torres et al. 2002).

The chronic exposition to different types of stressor cause a decrease in the rewarding properties of variety of natural and drugs rewards, like decrease in the consumption of sweet solutions compatible with a decrease in the rewarding proprieties (Willner 1997; Gamaro et al. 2003 a, b; Mello et al. 2014).

The cafeteria diet is a widely used animal model to study obesity, consisting of different kinds of palatable foods that are offered to rodents in addition to normal chow. This kind of diet is associated with the obesity epidemic effects that produce hyperphagia and high energy intake, body-weight gain, increase adipose tissue mass, glucose intolerance, insulin resistance, hyperinsulinemia, and pro-inflammatory response (Macedo et al. 2012; Goularte et al. 2012; Sampey et al. 2011; Shafat et al. 2009; Sclafani and Springer 1976).

The present study aimed to investigating the relationship between chronic variate stress and cafeteria diet on body weight, biochemical parameters and anxiety-related behavior.

Materials and Methods

Ethics

The experimental protocol was approved by the Research Ethics Committee and Care and Use Committee of Universidad Federal de Pelotas (protocol no.10757) and was compliant with Brazilian guidelines involving the use of animals in research. The minimum number of animal required to produce reliable scientific data were used.

Animals

Forty adult male rats were weighed and randomized. Five days later they were divided in four groups: 1) Control (C) receiving standard chow *ad libitum*; 2) Cafeteria Diet (D) receiving both chow and cafeteria diet *ad libitum*; 3) Stress (S) receiving standard chow *ad libitum* + stress; 4) Stress +Diet Cafeteria (SD) receiving

both standard chow and cafeteria diet *ad libitum* + stress. The animals were housed in polypropylene cages (49 cm x 34 cm x 16 cm), five rats/cage and were maintained on a stander in a 12h light-dark cycle (lights on at 7:00 a.m. and lights off at 07:00 p.m.) in a temperature-controlled environment ($22^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$). The experiment was performed over six weeks. During 40 days, previously weighed amounts of cafeteria diet and standard lab chow were offered, and the remaining was measured each day to evaluate the consumption.

Diets

Cafeteria Diet is characterized as highly palatable has been used in experimental studies to induce obesity in animal (Macedo et al. 2012; Estadella et al. 2004). In this study the diet was describe by Macedo et al (2012), this diet mimics the current feeding, is composed of milk condensed, soda, wafer, sausages, chips and crackers. The animals of group D and group SD receiving the palatable diet also had access to standard rat chow (PuroTrato – Puri Lab 22, Santo Augusto, Brasil®) and water daily. Table I shows the nutritional composition of these foods.

Chronic variable stress procedure

Chronic variate stress was adapted from the procedure described by Gamaro et al. (2003 a,b). The animals of stressed group (S) were submitted during 40 days of treatment and were submitted to 7 different stressors: restraint for different periods (1 – 3h), 10 or 15min of intermittent white noise, cage tilt (home cages were tilted to 45°C degrees from the horizontal (4-5h), forced swimming for 10 or 15 minutes, restraint on cold (4°C , from 1.5 -2h), isolation (2-3 days), and flashing light 40W (1-3.5 h) during different periods (Table II). The stress treatment was maintained during

40 days. Control animals were kept in their home cages. Individual stressors and length of time applied each day are listed in Table II. Stress was applied at different times every day, in order to minimize the previsibility of stressor. Restraint was carried out by lacing the animal in a 25 X 07 cm plastic tube, and adjusting it with plaster tape on the outside so that the animal was unable to move.

Weigh parameters and tissue collection

Body weight delta was defined as the difference between final and baseline weight. The liver, adrenal glands and intra- abdominal adipose tissues (epididimal, perirenal and sub-cutaneous) were manually dissected and weight on analytical balance immediately after decapitation. Data were expressed as grams of tissue per body weight rats (weight tissue /body weight X 100).

Biochemical analyses

The animals were 12-h fasted and euthanized by conscious decapitation, 24 h after the last session of chronic stress. Blood was collected in plastic vials and centrifuged for 15 min at 3500 g. The serum were removed and stored at -80°C until assayed for biochemical markers.

For serum glucose, serum total cholesterol, serum HDL cholesterol and triglycerides levels, a standard enzymatic colorimetric kit was used (Bioclin, Paraná, Brazil). For lipase activity an enzymatic method was performed, using commercial kits (Bioclin, Paraná, Brazil).

Behavior Procedures

After 40 days of chronic variable stress exposure all animals were subjected to a behavioral apparatus. At first, open field, object recognition and plus maze.

Open Field

Open field (50X40X60) cm made of brown plywood with a frontal glass wall was used. The floor was subdivided with white line into 12 equal 13.3 by 15.0 cm rectangles. In the test session, the animals were gently placed facing the left corner and allowed to explore the arena for 5 minutes. The performance of rearings, line crossings latency to the first crossing and number of fecal bolus were counted. The number of crossings was used as a measure of motor activity and number of fecal bolus was evaluated as a measure of emotional behavior (Pietá Dias et al. 2007).

Object recognition

Twenty-four hours after open field exploration the animals were trained and tested in a novel object recognition task as previously described (De Lima et al. 2005; Da Silva et al. 2007). The object recognition task took place in the same arena used for the open field; training was conducted by placing individual rats into the field, in which two identical objects (objects A1 and A2; Lego toys) were placed in a symmetrical position about 10 cm from the wall; exploration was defined as the time spent sniffing or touching the object with the nose and/or forepaws. Animals failing to explore objects for at least 10s were discarded from the study. Test sessions were performed either 24 h after training, when mice were allowed to explore the open field for 5min in the presence of one familiar (A) and one novel (B) object. All measurements were performed in a darkened room. All objects presented similar

textures, colors, and sizes, but distinctive shapes; after each trial objects were washed with 10% ethanol to discard smells or residues. A recognition index calculated for each animal was expressed by the ratio $TB / (TA+TB)$, TA= time spent in exploring the familiar object A; TB= time spent in exploring the novel object B.

Plus Maze

The elevated plus-maze test was conducted in maze that was 80 cm above floor, with four arms arranged in the shape of cross (arms measured 45 X 10 cm). The four arms were joined at the center by a 10 cm square platform. Two of the arms, opposite of each other, had no walls (open arms) the others (close arms) had 23-cm high walls.

Animals were placed individually on the center of the maze, on the junction between open and close arms, facing one of the open arms, and performance was scored during 5 min. A rat was considered to have entered one arm of the maze when all four feet were within the arm. The number of entries into close and open arms was evaluated. The total time spent in each arm was measured two (Bowman et al. 2009).

Statistical Analysis

Results were expressed as mean $\pm$ standard error of mean (S.E.M.). All data were evaluated by two-way ANOVA. When interactions were no significant we made one-way ANOVA followed by Bonferroni when necessary.

For the consumption of food and fluids were used repeated measures ANOVA. All data were analysed using the Prism6.0 statistical package, with statistical significance defined as $P < 0.05$.

Results

Food consumption and water intake

Intake of standard chow and fluids also were monitored. Rats in the D and SD groups ingested less amount of commercial chow during the observation period compared with C group ($F_{(1,35)} = 249.8$; $P < 0.001$, Table 3). The rats that had access to both diets showed a significant preference for comfort food ($F_{(1,35)} = 7.8$; $P < 0.001$). Also, an interaction between stress and comfort food was observed ($F_{(1,35)} = 2.8$; $P < 0.001$). Daily water intake per animal at week 2, 3, 4 and 5 was significantly lower in the D and SD groups compared with the other groups ($P < 0.05$; Table 4). In the same period, daily soda intake per animal appears was higher in D and SD groups.

Weight parameters and tissue collection

Weight gain was influenced by stress and diet. Although all of the rats gained weight during the experimental protocol, the weight gain was less pronounced in the S group rats than in the other groups ($F_{(1,35)} = 21$; $P < 0.001$). However, the weight gain was greater in the D group rats ($F_{(1,35)} = 21$; $P < 0.001$). (Figure 1).

The visceral adipose and subcutaneous tissue were significantly higher in the D group compared with the C group ($P < 0.05$; Table 5). Table 5 shows the relative weight of liver, adrenal glands and heart. Liver weight was significantly higher in the D group compared with the other groups ($P < 0.05$).

Biochemical analyses

Serum glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides levels and lipase activity did not differ between the groups (data not shown).

Behavior Procedures

Plus Maze

The behavior of animals in the elevated plus-maze are shown in Figure 2. The stress group showed a decrease number of entries in open arms when compared to control and diet group ($F_{(1,35)}=6.61$; $P<0.001$). The animals that received only cafeteria diet present an increase in this parameter different of others groups. When we analyzed time spent in open arms the stress diet group shows an increase significant related to control and stress group ($F_{(1,35)}=4.98$; $P<0.005$).

Open Field

Results from exposure to open field are shown in Figure 3. Stressed group had significantly decrease in number of crossings (one-way ANOVA ($F_{(1,35)}=6.16$ $P=0.002$). There was no significant effect in the latency between groups (one-way ANOVA ($F_{(1,35)}=0.19$, $P=0.897$).

Object recognition

Results for object recognition memory are shown in Figure 4. There was no difference between groups in the training trial (data not shown). In the retention test, there was no significant difference in recognition indexes between groups that receive cafeteria diet ($F_{(1,35)}=0.10$, $P > 0.05$), as well as in animals submitted to chronic variate stress ($F_{(1,35)}=0.04$, $P > 0.05$).

Discussion

Some models of chronic mild stress have been reported to lead to a wide range of behavioral disturbances (Basso et al. 1993; Kats et al. 1981; Willner 1991), including decreased intake of palatable sweet solutions (Willner et al. 1997; Duncko et al. 2001; Wang et al. 2010) that can be related to anhedonia, decrease in locomotor activity and other characteristics that defines humor alterations (Willner 1991). Some stress situations has been shown to modify serotonergic and dopaminergic neurotransmission (Gamaro et al. 2003a; Torres et al. 2003; Mizoguchi et al. 2002) involved in the control of feeding behavior and in the development or expression of stress-related mood disorders like depression or anxiety (Halford 2001; Orosco et al. 2000).

In this study, we investigate the influence of cafeteria diet on response to chronic variable stress for 40 days. We observed an alteration preference in intake of palatable foods in contrast with habitual rat chow. The animals fed with cafeteria diet had higher body weight and intra-abdominal fat percentages compared with the other groups.

The exposure to the chronic variable stress reduced the body weight gain independently of diet offered to animals when compared to control group. This data was in accordance with other studies (Gamaro et al; 2003a; Solomon et al; 2010; Macedo et al; 2012). The consumption of palatable food in stress + diet (SD) it possible to be related with the reward system in the brain that can decrease the stress response (Percoraro et al; 2004, Tomiyama et al. 2011; Maniam and Morris 2012). We observed increased intra- abdominal adipose tissues depots in the animals exposed to the cafeteria diet that corroborates with literature (Macedo et al. 2012; Goularte et al. 2012). Several studies have reported that this parameter is considered

the primary signal of obesity associated with consumption of high-caloric-foods (Macedo et al. 2012; Marecki et al. 2011) but we didn't find alterations in lipidic metabolism, only an increase in liver weight on group that receive cafeteria diet. It should be pointed here some results from literature that shown an increase in total cholesterol and LDL levels after stress (Zeeni et al. 2012; Macedo et al. 2012). In addition, some characteristic of the stressor influenced by the type, duration or severity of stress and predictability of the stressor applied may modify the responses to stress (Maniam and Morris, 2012; Martí et al. 1994). Other possible explanation for this results is the time exposition, 40 days it's not sufficient to induce plasma alterations. At the same way these results were in accordance with a recent study by Patertain et al (2011), a chronic stress exposure did not cause any changes in the plasma lipidic profile of rats fed with a standard or cafeteria diet.

We should point as a limitation of the present study the fact that corticosterone levels was not directly measured, but at the same way Macedo et al(2012) that evaluate the effects of the 40 day exposure to chronic restraint stress and hypercaloric diet did not alter the serum corticosterone levels. Data from our laboratory showed corticosterone levels doesn't change after 40 days of chronic variate stress (data not show). We evaluate as an indirect measure to stress intensity the adrenal weight that didn't change. The absence of predictability of the stressor applied is an important characteristic of this model and may be related to the different effects observed in these animals when compared to other models, in which repeated stress is used and higher consumption of sweet food is observed (Ely et al. 1997; Silveira et al. 2000). For example, Zeeni et al. (2013) investigate the influence of different diets on the response to chronic variable stress showed that corticosterone levels in cafeteria-fed animals were the same when compared to

stressed and non-stressed animals fed with cafeteria diet. Palatable food decreases the stress response in chronically stressed animals Percoraro et al.(2004). It has been hypothesized that the immediate mood effects of palatable foods contribute to the habit to eating to cope with stress (Macht and Mueller 2007). Gamaro et al. (2003) showed that animals submitted to chronic variable stress for 40 days presented an increased levels of DOPAC in hippocampus and frontal cortex, suggesting an increased catabolism of DA to DOPAC by intraneuronal monoamine oxidase. It has been suggested that the changes in dopamine activity may be related to coping attempts made by the animal Cabib et al. (1996). In addition, it has been suggested that DA activity in medial prefrontal cortex is influenced by the sensory incentive properties of food, and increases, signaling the relative salience of foods (Ahn and Phillips 1999).

These results suggest that chronic stress may lead to effects concerning anxiety behavior. It is possible that consumption of cafeteria diet may help to explain some of the effects of chronic stress on behavior. The exact neurobiological mechanism involved in this effect after chronic stress, and if there is a relationship with the diet still deserves more studies.

Acknowledgements

This study was supported by Committee for the improvement of Higher Education Personnel-CAPES (P.S.V. Salerno); PROAP (UFPEL); FAPERGS – PQG 001/2013 number 1970-2551/13-0.

References

- Adam TC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav.* 2007;91:449-458.
- Ahn S, Phillips AG. Dopaminergic correlates of sensory-specific satiety in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of the rat. *J Neurosci*, 1999;19:RC29-1.
- Basso AM, Depiante-Depaoli M, Cancela L, Molina V. Seven-day variable-stress regime alters cortical β -adrenoceptor binding and immunologic responses: reversal by imipramine. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993;45(3):665-72.
- Bowman RE, Micik R, Gautreaux C, Fernandez L, Luine VN. Sex-dependent changes in anxiety, memory, and monoamines following one week of stress. *Physiol Behav.* 2009;97:21-9.
- Cabib S, Puglisi-Allegra S. Stress, depression and the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology.* 1996;1284:331-42.
- Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama*, 1992;267:1244-52,
- Cottone P, Sabino V, Roberto M, Bajo M, Pockros L, Frihauf JB, Zorrilla EP CRF system recruitment mediates dark side of compulsive eating. *Proc Nat Acad Sci.* 2009;106:20016-20.

Da Silva AL, Piato AL, Ferreira JG, Martins BS, Nunes DS, Elisabetsky E. Promnesic effects of Ptychopetalumolacoides in aversive and non-aversive learning paradigms. *J Ethnopharmacol.* 2007;109:449-57.

Dallman MF, Pecoraro NC, La Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun.* 2005;19: 275-80.

De Lima MNM, Laranja DC, Caldana F, Bromberg E, Roesler R, Schröder N. Reversal of age-related deficits in object recognition memory in rats with l-deprenyl. *Exp Geront.* 2005;40:506-11.

Ely, DR, Dapper V, Marasca J, Correa JB, Gamaro GD, Xavier MH, Michalowski MB, Catelli D, Rosat R, Dalmaz C. Effect of restraint stress on feeding behavior of rats. *Physiol Behav.* 1997;61(3):395-8.

Erlanson-Albertsson C. How palatable food disrupts appetite regulation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2005;97:61-73.

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

Gamaro GD, Manoli LP, Torres ILS, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem Int.* 2003a;42:107-14.

Gamaro GD, Streck EL, Matté C, Prediger ME, Wyse AT, Dalmaz C. Reduction of hippocampal Na⁺, K⁺-ATPase activity in rats subjected to an experimental model of depression. *Neurochem Res.* 2003b;28:1339-44.

Goularte JF, Ferreira MB, Sanvito GL. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria diet-induced obesity in female rats. *Br J Nutr.* 2012;108:1511-18.

Halford, JCG. Pharmacology of appetite suppression: implication for the treatment of obesity. *Curr Drug Targets.* 2001;2(4):353-70.

Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1981;5(2):247-51.

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

Macedo IC, Medeiros LF, Oliveira C, Oliveira CM, Rozisky JR, Scarabelot VL, Souza A, Silva FR, Santos VS, Ciato SG, Caumo W, Torres ILS. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. *Peptides.* 2012;38:189-96.

Macht M, Mueller J. Immediate effects of chocolate on experimentally induced mood states. *Appetite.* 2007;49(3):667-74.

Maniam J, Morris MJ. The link between stress and feeding behaviour. *Neuropharmacology*. 2012;63:97-110.

Marecki JC, Ronis MJ, Shankar K, Badger TM. Hyperinsulinemia and ectopic fat deposition can develop in the face of hyperadiponectinemia in young obese rats. *J Nutr Biochem*. 2011;22(2):142-52.

Martí O, Martí J, Armario A. . Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure. *Physiol Behav*. 1994;55(4):747-53.

McMillen IC, Muhlhausler BS, Duffield JA, Yuen BSJ. Prenatal programming of postnatal obesity: fetal nutrition and the regulation of leptin synthesis and secretion before birth. *Proc Nutr Soc*. 2004;63:405-412.

Mello AH, Gassenferth A, Schaiber RB, Souza LR, Florentino D, Danielski LG, Cittadin-Soares EC, Fortunato JJ, Petronilho F, Quevedo J, Rezin GT. Effect of omega-3 on behavioral and biochemical parameters in rats submitted to chronic mild stress. *Med Bran Dis*. 2014:1-9.

Mizoguchi K, Yuzurihara M, Ishige A, Sasaki H, Tabira T. Chronic stress impairs rotarod performance in rats: implications for depressive state. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002;71(1):79-84.

Orosco M, Rouch C, Gerozissis K. Activation of hypothalamic insulin by serotonin is the primary event of the insulin–serotonin interaction involved in the control of feeding. *Brain Res.* 2000;872:64-70.

Orsetti M, Colella L, Dellarole A, Luigi Canonico P, Ghi P. Modification of spatial recognition memory and object discrimination after chronic administration of haloperidol, amitriptyline, sodium valproate or olanzapine in normal and anhedonic rats. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2007;10:345-57.

Paternain L, García-Díaz DF, Milagro FI, Gonzalez-Muniesa P, Martinez JA, Campion J. Regulation by chronic-mild stress of glucocorticoids, monocyte chemoattractant protein-1 and adiposity in rats fed on a high-fat diet. *Physiol Behav.* 2011;103:173-80.

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

Pietá Dias C, Martins de Lima M N, Presti-Torres J, Dornelles A, Garcia VA, SicilianiScalco F, Guimarães MR, Constantino L, Budni P, Dal-Pizzol F, Schröder N. Memantine reduces oxidative damage and enhances long-term recognition memory in aged rats. *Neuroscience.* 2007;146:1719-25.

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic

Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity*. 2011;19(6):1109-17.

Sclafani A, Springer D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiol Behav*. 1976;17:461-71.

Selye H. Stress and disease. *The Laryngoscope*. 1955;65:500-514.

Shafat A, Murray B, Rumsey D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*. 2009;52:34-8.

Silveira PP, Xavier MH, Souza FH, Manoli LP, Rosat RM, Ferreira MBC, Dalmaz C. Interaction between repeated restraint stress and concomitant midazolam administration on sweet food ingestion in rats. *Braz J Med Bio Res*. 2000;33(11):1343-50.

Solomon MB, Jones K, Packard BA, Herman JP. The medial amygdala modulates body weight but not neuroendocrine responses to chronic stress. *J Neuroendocrinol*. 2010;22(1):13-23.

Tanke MA, Alserda E, Doornbos B, Van der Most PJ, Goeman K, Postema F, Korf J. Low tryptophan diet increases stress-sensitivity, but does not affect habituation in rats. *Neurochem Int*. 2008;52:272-281.

Tomiyama AJ, Dallman MF, Epel ES. Comfort food is comforting to those most stressed: evidence of the chronic stress response network in high stress women. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36:1513-19.

Torres ILS, Gamaro GD, Vasconcellos AP, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic restraint stress on feeding behavior and on monoamine levels in different brain structures in rats. *Neurochem Res*. 2002;27:519-25.

Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res*. 2002;53:865-71.

Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*. 1997;134: 319-29.

Willner, P. Animal models as simulations of depression. *TIPS*.1991;12:131-6.

Wright TM, Fone KC, Langley-Evans SC, Voigt, JPW. Exposure to maternal consumption of cafeteria diet during the lactation period programmes feeding behaviour in the rat. *Int J Dev Neurosci*. 2011;29:785-93.

Zeeni N, Daher, C, Fromentin G, Tome D, Darcel N, Chaumontet C. A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress*. 2013;16:211-19.

Table 1. Comparison between composition of the standard diet and cafeteria diet.

	Standard diet* (%)	Cafeteria diet (%)
Carbohydrates	37,1	60,0
Protein	22,1	20,0
Lipids	15,9	15,0
Other constituents	24,9	5,0

Lab Chow Wistar rats, Puro Trato – Puro Lab 22 (Santo Augusto, Brasil).

Table 2. Schedule of stressor agents used the chronic stress treatment.

Day of treatment	Stressor used	Time of administration
1	Cage tilt	4h
2	Noise	10h
3	Isolation	24h
4	Isolation	24h
5	Isolation	24h
6	Flashing light	3h
7	Cage tilt	5h
8	Forced swimming	10min
9	Restraint	1h
10	Cage tilt	5h
11	No stressor	-
12	No stressor	-
13	Restraint at 4°C	2h
14	Flashing light	2.5h
15	Noise	15min
16	Forced swimming	15min
17	Isolation	24h
18	Isolation	24h
19	Isolation	24h
20	Cage tilt	6h
21	Noise	10min
22	Flashing light	3h
23	Restraint	2h
24	Isolation	24h
25	Isolation	24h
26	Restraint at 4°C	1.5h
27	Forced swimming	10min
28	Flashing light	3.5h
29	No stressor	-
30	Noise	10min
31	Restraint	3h
32	Flashing light	2h
33	Cage tilt	4.5h
34	Restraint at 4°C	2h
35	Forced swimming	15min
36	Isolation	24h
37	Isolation	24h
38	No stressor	-
39	Flashing light	3h
40	Forced swimming	10min

Table 3. Solid ingestion (g) in five weeks of treatment.

	1	2	3	4	5
C	124,9±6,62	129,2±14,6	125,7±12,9	146,3±33	108,7±16,7
S	126,2±23,6	145,5±30,3	138,6±25,5	119,9±20,7	120,63±19,3
D	136,5±17,5	124,7±8,3	112,9±12,9	117,4±11,9	112,9±10,8
SD	121,6±33,8	106,2±19,5 [#]	108,8±20,6 [#]	107,7±31,7 [*]	112,9±10,8

Data are expressed as the mean ± SEM and grams. Control group-C (standard chow); Stress group-S (chronic stress + standard chow); Diet group-D (standard chow + cafeteria diet); Stress + Diet group-SD, (chronic stress + cafeteria diet + standard chow). * Significant difference from group SD between group C. #Significant difference from group SD between group S (one-way ANOVA, followed by Student Newman-Keuls, P<0,05).

Table 4. Liquid ingestion (ml) in the five weeks of treatment.

	1	2	3	4	5
C	275,7±21,5	244,2±28,7	225,7±21,5	250,7±44,9	178,5±17,7
S	260,5±75,4	216,4±52,8 [#]	230,4±18,6	210,0±71,2 ^{#*}	196,4±7,4
D	175,7±111,3	120,4±22,2 [*]	95,7±7,8 ^{*#}	142,8±58,2 ^{#*}	138,5±23,4
SD	186,4±115,7	169,7±43,5 [*]	177,0±42,8 ^{*#&}	245,7±157,8 ^{&}	135,7±36,4

Data are expressed as the mean ± SEM. Control group-C (standard chow); Stress group-S (chronic stress + standard chow); Diet group-D (standard chow + cafeteria diet); Stress + Diet group-SD, (chronic stress + cafeteria diet + standard chow). * Significant difference compared to C group. & Significant difference compared to S group. # Significant difference compared to D group. (one-way ANOVA, followed by Student Newman-Keuls, P<0,05).

Table 5. Relative of visceral adipose, subcutaneous adipose, liver, adrenal glands, and heart in Wistar rats.

	C	S	D	SD
Visceral adipose	18,5±1,8	15,9±1,07	29,8±3,1*	19,4±0,3
Subcutaneous adipose	28,9±3,8	22,7±2,01	42,0±4,5*	30,7±3,8
Liver	27,7±0,5	27,6±0,7	31,5±0,8*	28,2±1,4
Adrenal glands	0,2±0,02	0,2±0,04	0,2±0,02	0,2±0,01
Heart	3,1±0,1	3,3±0,1	3,2±0,1	3,3±0,1

Data are expressed as the mean ± SEM and grams of tissue/rats weight. Control group-C (standard chow); Stress group-S (chronic stress + standard chow); Diet group-D (standard chow + cafeteria diet); Stress + Diet group-SD, (chronic stress + cafeteria diet + standard chow). * Significant difference from group D between groups C, S and SD (one-way ANOVA, followed by Student Newman-Keuls, $P < 0,05$).

Figure 1

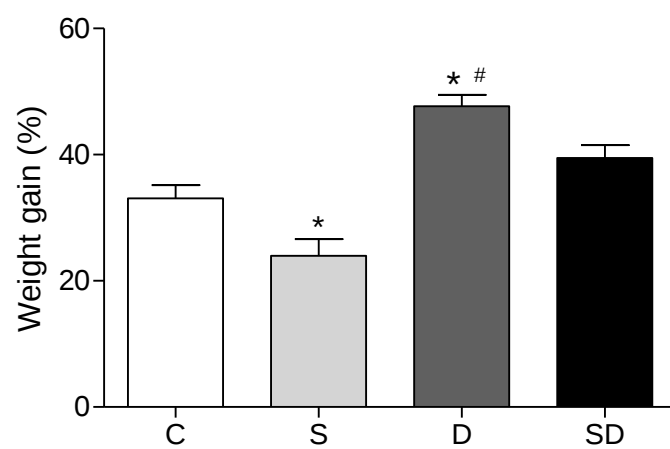


Figure 2

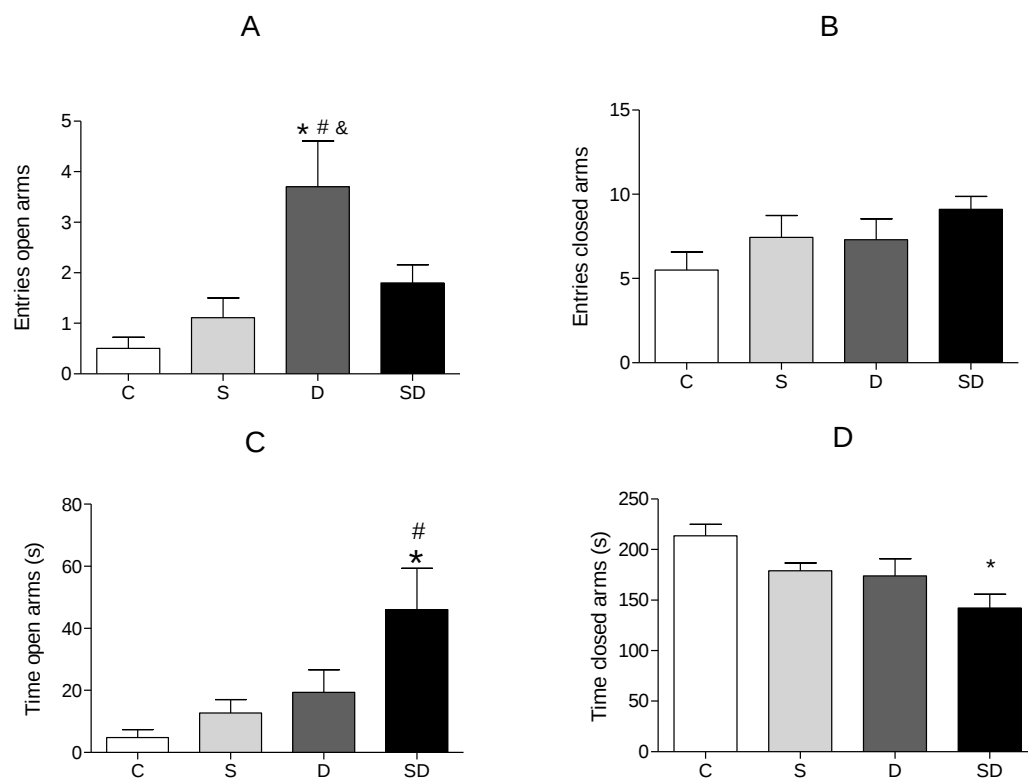


Figure 3

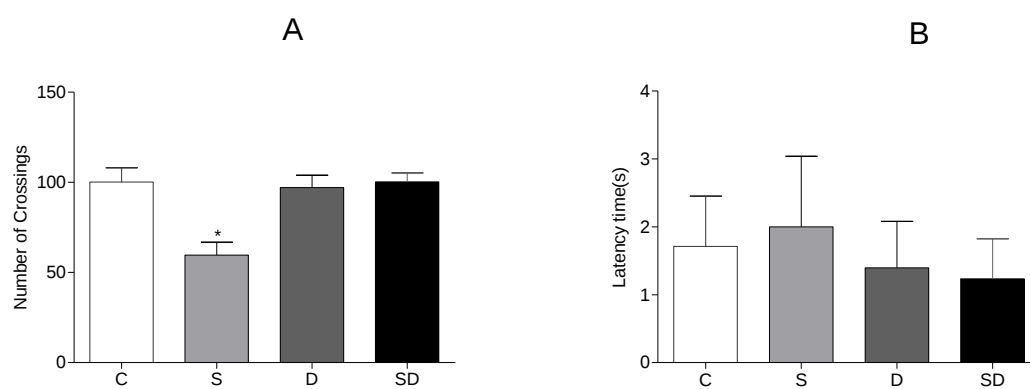


Figure 4

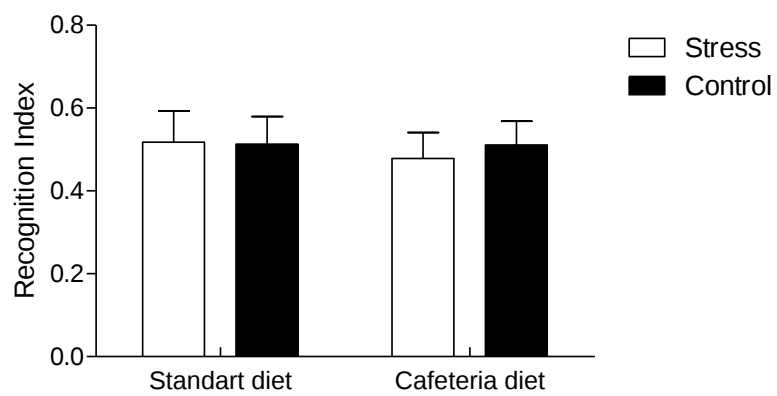


Figure 1 – Weight gain in rats after treatment. Data are expressed by mean $\pm$ SEM. N = 10 animals/group. Control group-C (standard chow alone); Stressed group-S (chronic stress + standard chow); Cafeteria Diet-D (standard chow + cafeteria diet); Stress + cafeteria diet- SD (chronic stress + standard chow + cafeteria diet). *significant difference in relation C group; #significant difference in relation S group (one-way ANOVA, followed Student Newman-Keuls, $P < 0,05$).

Figure 2 – Behavioral in plus maze rats after treatment. Data are expressed by mean $\pm$ SEM. N = 10 animals/group. Control group-C (standard chow alone); Stressed group-S (chronic stress + standard chow); Cafeteria Diet-D (standard chow + cafeteria diet); Stress + cafeteria diet- SD (chronic stress + standard chow + cafeteria diet). (A) entrees in open arm; (B) entrees in close arms; (C) time spent in open arms; (D) time spent in close arms. *significant difference in relation C group; #significant difference in relation S group; &significant difference in relation SD group (one-way ANOVA, followed Student Newman-Keuls, $P < 0,05$).

Figure 3 – Open field behavior in rats after treatment. Data are expressed by mean $\pm$ SEM. N = 10 animals/group. Control group-C (standard chow alone); Stressed group-S (chronic stress + standard chow); Cafeteria Diet-D (standard chow + cafeteria diet); Stress + cafeteria diet- SD (chronic stress + standard chow + cafeteria diet). (A) number of crossings, (B) latency to start locomotion. * $P < 0.01$ compared to the other groups (one-way ANOVA, followed Student Newman-Keuls, $P < 0,05$).

Figure 4 – Novel object recognition memory in rats after treatment. Data are expressed by mean $\pm$ SEM. N = 10 animals/group. There were no significant differences among groups (one-way ANOVA, followed Student Newman-Keuls, $P < 0,05$).

7. CONCLUSÕES

Conclui-se que a DC isoladamente exerce efeito sobre os perfis de ganho de peso, aumento do tecido adiposo subcutâneo e abdominal de forma considerável e esses efeitos já podem ser verificados em seis semanas de tratamento.

Podemos verificar que semelhantemente aos hábitos humanos, também os animais quando se encontram em ambientes com alta oferta de alimentos palatáveis, aumentam o consumo destes alimentos calóricos, isso gera uma preocupação, pois sabe-se que tanto adultos como crianças são expostos diariamente a ambientes considerados obesogêncios. Além disso, apesar do ECV ser conhecido como o modelo de estresse que induz a anedonia, diminuindo o consumo de alimentos em ratos, nesse estudo verificamos que animais estressados, ingeriram estes alimentos palatáveis, ou seja, quando há oferta, ocorre aumento do consumo de determinados alimentos, principalmente aqueles que proporcionam uma sensação de prazer imediato, levando ao aumento do consumo para amenizar os efeitos do estresse. Esses resultados corroboram com nossos achados em relação ao comportamento, pois animais alimentados com a DC apresentaram um comportamento menos ansioso.

Visto que a obesidade aumenta mundialmente e o estresse tem sido a causa de inúmeras doenças, é necessário que se observe de forma concomitante e não isoladamente esses dois fatores importantes. Também é necessário que haja medidas de controle para evitar o estresse, visto seus efeitos danosos, assim como, orientar as pessoas a evitarem o consumo de certos alimentos para amenizar situações estressantes.

8. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, K. T.; SARDINHA, F. L.; TELLES, M. M.; WATANABE, R. L.; NASCIMENTO, C. M., TAVARES DO CARMO, M. G.; RIBEIRO, E. B. Intake of trans fatty acid-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, n. 22 v. 7, p. 820-829, 2006.

ANISMAN, H.; MERALI, Z.; HAYLEY, S. Neurotransmitter, peptide and cytokine processes in relation to depressive disorder: comorbidity between depression and neurodegenerative disorders. **Prog Neurobiol**, v.85, p.1-74, 2008.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; FOWKES, R. C.; STICKLAND, N. C. A Maternal "Junk Food" Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. **Endocrinology**, v.151, p.1451-146, 2010.

BEKRIS, S.; ANTONIOU, K.; DASKAS, S.; PAPADOPOULOU-DAIFOTI, Z. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. **Behav Brain Res**, v.161, p.45-59, 2005.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

DALLMAN, M. F.; PECORARO, N. C.; LA FLEUR, S. E.; WARNE, J. P.; GINSBERG, A. B.; AKANA, S. F.; LAUGERO, K. C.; HOUSHYAR, H.; STRACK, A. M. BHATNAGAR, S.; BELL, M.E. Glucorticoids, chronic stress, and obesity. **Prog Brain Res**, v.153, p.75-105, 2006.

GAMARO, G. D.; STRECK, E. L.; MATTÉ, C.; PREDIGER, M. E.; WYSE, A. T. S.; DALMAZ, C. Reduction of Hippocampal Na⁺, K⁺-ATPase Activity in Rats Subjected

to an Experimental Model of Depression. **Neurochem Res**, v.28, n.9, p.1339-1344, 2003.

GIBSON, Edward Leigh. Emotional on food choice: sensory, physiological and psychological and psychological pathways. **Physiol Behav**, v.89, n.1, p.53-61, 2006.

HOLMES, A.; HEILIG, M.; RUPNIAK, N. M.; STECKLER, T.; GRIEBEL, G. Neuropeptide systems as novel therapeutic targets for depression and anxiety disorders. **Trends in pharmacological sciences**, v.24, n.11, p.580-588, 2003.

LI, S.; WANG, C.; DONG, H.; HOU, P.; TANG, Y.; Chronic mild stress impairs cognition in mice: From brain homeostasis to behavior. **Life Sci**, v.82, p.934-942, 2008.

LUCCA, G.; COMIMA, C. M.; VALVASSORI, S. S.; RÉUS, G. Z.; VUOLO, F.; PETRONILHO, F.; DAL-PIZZOL, F.; GAVIOLI, E. C.; QUEVEDO, J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. **Neurochem Internat**, v.54, p.358–362, 2009.

MACEDO, I. C.; MEDEIROS, L. F.; OLIVEIRA, C.; OLIVEIRA, C. M.; ROZISKY, J. R.; SCARABELOT, V. L.; SOUZA, A.; SILVA, F. R.; SANTOS, V. S.; CIATO, S. G.; CAUMO, W.; TORRES, I. L. S. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**, v. 38, n. 1, p. 189-196, 2012.

METZ, G. A.; SCHWAB, M. E.; WELZL, H. The effects of acute and chronic stress on motor and sensory performance in male Lewis rats. **Physiology & behavior**, v. 72, n.1, p.29-35, 2001.

SAPOLSKY, Robert M. Why stress is bad for your brain. **Science**, v.273, n.5276, p.749-750, 1996.

SCHULZ, S.; LAESSLE, R. G. Stress-induced laboratory eating behavior in obese women with binge eating disorder. **Appetite**, v.58, p.457-461, 2012.

TOMIYAMA, A. J.; DALLMAN, M. F.; EPEL, E. S. Comfort food is comforting to those most stressed: evidence of the chronic stress response network in high stress women. **Psychoneuroendocrinology**, v.36, p.1513-1519, 2011.

WILLNER Paul. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: 0-10 year review and evaluation. **Psychopharmacology**, v.134, p.319-329, 1997.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight**. Atualizado em março de 2014. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>.

APENDICÊ

Tabela 1 - Níveis séricos de glicose, colesterol total, triglicerídeos, lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipase em ratos Wistar.

	C	E	D	ED
Glicose (mg/dL)	136,0 ($\pm 7,6$)	130,8 ($\pm 6,2$)	133,0 ($\pm 5,5$)	131,0 ($\pm 9,5$)
Colesterol (mg/dL)	51,2 ($\pm 4,6$)	57,9 ($\pm 6,2$)	57,7 ($\pm 7,6$)	53,5 ($\pm 5,9$)
Triglicerídeos (mg/dL)	109,3 ($\pm 13,9$)	95,5 ($\pm 7,2$)	122,2 ($\pm 27,3$)	101,3 ($\pm 18,1$)
HDL (mg/dL)	38,7 ($\pm 3,6$)	38,2 ($\pm 3,1$)	59,9 ($\pm 13,3$)	45,0 ($\pm 3,1$)
Lipase (UI)	19,1 ($\pm 3,0$)	25,3 ($\pm 3,7$)	19,2 ($\pm 2,2$)	18,5 ($\pm 2,3$)

Dados expressos em média $\pm$ erro padrão. C, grupo controle-dieta padrão (somente ração padrão); E, grupo estresse (ECV + ração padrão); D, grupo dieta de cafeteria (ração padrão + dieta de cafeteria); ED, grupo estresse + dieta de cafeteria (ECV + ração padrão + dieta de cafeteria).