

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA CARDIOVASCULAR

**Influência da obesidade induzida por dieta
hiperlipídica nas respostas cardiovasculares
evocadas pelo estresse emocional em ratos**

AUTORA: Aline Rezende Ribeiro de Abreu

Ouro Preto

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA CARDIOVASCULAR

Influência da obesidade induzida por dieta hiperlipídica nas respostas cardiovasculares evocadas pelo estresse emocional em ratos

AUTORA: Aline Rezende Ribeiro de Abreu
ORIENTADOR: Prof. Dr. Rodrigo Cunha Alvim de Menezes
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Pedrosa

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

Ouro Preto

2012

A162i Abreu, Aline Rezende Ribeiro de.

Influência da obesidade induzida por dieta hiperlipídica nas respostas cardiovasculares evocadas pelo estresse emocional em ratos [manuscrito] / Aline Rezende Ribeiro de Abreu – 2012.

xviii, 75 f.: il. color.; grafs.; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Cunha Alvim de Menezes.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria Lúcia Pedrosa.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Estresse - Teses. 2. Obesidade - Teses. 3. Dieta hiperlipídica - Teses.
4. Hipotálamo - Teses. I. Universidade Federal de Ouro Preto. II. Título.

CDU: 612.397:611.814

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



Universidade Federal de Ouro Preto
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - NUPEB
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

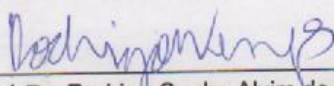


Ata da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação Intitulada:

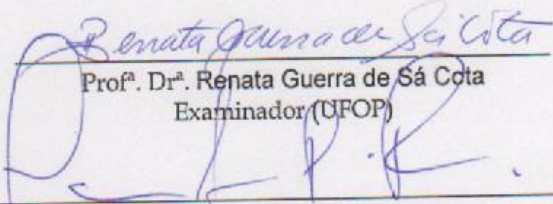
“Influência da Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica nas Respostas Cardiovasculares Evocadas pelo Estresse Emocional em Ratos”

Aos vinte e oito dias do mês de março de 2012, às 09:00, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação da aluna **Aline Rezende Ribeiro de Abreu**. A defesa da dissertação iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVA (R) a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

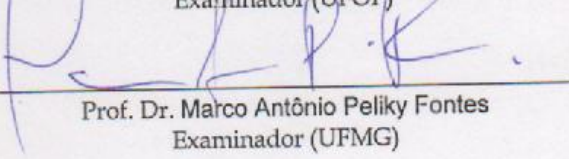
Membros da Banca Examinadora:



Prof. Dr. Rodrigo Cunha Alvim de Menezes
Presidente



Prof. Dr. Renata Guerra de Sá Cota
Examinador (UFOP)



Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes
Examinador (UFMG)

DATA DA DEFESA: 28/03/2012

APOIO FINANCEIRO

Este trabalho foi realizado no **Laboratório de Fisiologia Cardiovascular** e no **Laboratório de Bioquímica Metabólica** do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade de Ouro Preto, com auxílio da CAPES, FAPEMIG e UFOP.

DEDICATÓRIA

A Deus por sua presença incondicional,
a minha família pelo apoio e confiança
e ao meu noivo Henrique por existir e
contribuir para que eu continuasse na
busca pelos meus ideais.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu professor e orientador Prof. Dr. Rodrigo Cunha Alvim de Menezes por ter me concedido trabalhar sob sua orientação, e também por sua ajuda, dedicação, amizade e por acreditar no meu trabalho no início do mestrado sem ao menos me conhecer. Sua confiança desde o começo, sem dúvida, foi uma grande alavanca para a realização desse trabalho. A minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Pedrosa por me acompanhar desde a iniciação científica e por sempre ser uma inspiração. Ao grande colaborador Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior pelo acolhimento no LFC, convivência e apoio sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir chegar até aqui e possibilitar a concretização deste trabalho, mesmo com tantas provações pelo caminho.

Ao meu noivo Henrique pelo amor, paciência, compreensão, companheirismo, por tudo, principalmente, por sempre acreditar e confiar em mim. Te amo!!!!

À minha mãe Ila pelo exemplo de força e pelo apoio em todos os sentidos, ao meu pai Pedro pela torcida e aos meus sogros Jayme e Geralda pelo acolhimento como filha.

Ao meu irmão Alaor e a minha cunhada Karen pelo incentivo, apoio e carinho.

A minha irmã Alessandra pela amizade, cumplicidade e momentos vividos, inclusive pela convivência no laboratório. Espero que essa experiência tenha sido e continuará sendo benéfica a ambas.

As minhas amigas Amanda Braga, Ana Carolina Santos, Ana Flávia e Bruna Mapa, perto ou longe vocês foram fundamentais pelo meu crescimento pessoal e profissional.

As thucas Ms. Fernanda Silva e a Aline Maria pelo incentivo, conversas, conselhos e amizade. O apoio de vocês foi imprescindível.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, principalmente, Dr^a. Arlete Penitente, Ana Carolina, Cecília, Laura, Ms. Luís Henrique (Lulu), Mara (Maravilha), Marcela (TOC), Ms. Mírian Rodrigues, Natália Machado, Thayane, e profs. Luiz Gonzaga e Carlos Henrique pelo acolhimento, disponibilidade em ajudar e por compartilhar experiências. Sem vocês tudo seria muito mais difícil.

A Natália Pimenta (Rodrigo) pela paciência em escutar nossos assuntos de laboratório em todos os encontros e reuniões, pela amizade e por nos receber sempre com muito carinho em sua casa.

Aos Professores da banca examinadora, Prof. Dr. Marco Antônio Peliky Fontes e Prof^a. Dr^a. Renata Guerra de Sá Cota, por não hesitarem em analisar este trabalho e permitirem suas imprescindíveis e expressivas contribuições para a conclusão do mesmo.

Aos meus queridos mestres que me acompanharam desde a graduação, principalmente, Prof. Dr. Marcelo Eustáquio da Silva e ao LABNEX pelo auxílio sempre que requisitado, Prof. Dr. Camilo Adalton Mariano da Silva pela torcida e por me recomendar tão carinhosamente ao NUPEB, Prof. Dr. Aureliano Claret da Cunha por ser uma referência e um grande exemplo a ser seguido, e aos demais mestres da ENUT que tanto contribuíram para minha formação acadêmica.

Aos Laboratórios do NUPEB e seus professores responsáveis, principalmente, LIP – Prof. Luís Carlos Crocco, LIMP – Prof^a. Dr^a. Cláudia Carneiro, LBCM – Prof. Dr. Ieso Castro e Prof. Dr. Rogélio Brandão, que foram indispensáveis na execução desse trabalho. Obrigada pelos equipamentos e materiais de laboratório cedidos durante esse período, mas principalmente pela disponibilidade em corroborar aos meus experimentos sempre.

Aos professores, colegas da pós-graduação, principalmente Karina Barbosa, e demais membros do NUPEB pelo conhecimento compartilhado, convivência e aprendizado.

Ao Centro de Ciência Animal da UFOP por garantir o fornecimento de animais com tanta competência e por sempre fazer o impossível para nos auxiliar. Aos funcionários Érika, Lílian, Hugo e Luciana agradeço pelo profissionalismo, mas principalmente pela amizade.

Aos funcionários Milton Alexandre de Paula, Maria Aparecida Reis Tropa e Mateus Gerwing Kochem que me auxiliaram brilhantemente quando requisitados, e com muito carinho, dedicação e paciência tanto contribuíram para a concretização desse trabalho.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização desta etapa, seja com um simples sorriso todas as manhãs, quanto com ensinamentos que nunca se dissiparão. Muito obrigada a todos!!!!!!!

*“Aprender é a única coisa da qual a mente humana nunca se cansa,
nunca tem medo e jamais se arrepende”.*

Leonardo da Vinci

*“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente,
mas o que melhor se adapta às mudanças”.*

Charles Darwin

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 - INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 - Estresse emocional..... | 1 |
| 1.2 - Hipotálamo Dorsomedial e Estresse Emocional..... | 3 |
| 1.3 - Isolamento Social e Estresse..... | 4 |
| 1.4 - Obesidade | 5 |
| 1.5 - Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica..... | 6 |
| 1.6 - Hipotálamo Dorsomedial e Metabolismo | 7 |
| 1.7 - Obesidade versus Estresse Emocional..... | 8 |
| 2 - OBJETIVOS | 10 |
| 2.1 - Objetivo Geral: | 10 |
| 2.2 - Objetivos Específicos: | 10 |
| 3 - MATERIAIS E MÉTODOS | 11 |
| 3.1 - Modelo Animal..... | 11 |
| 3.2 - Dietas | 11 |
| 3.3 - Delineamento Experimental | 12 |
| 3.3.1 - Caracterização do modelo de obesidade induzida pela dieta..... | 12 |
| 3.3.2 - A influência da obesidade induzida pela dieta e/ou do isolamento social na reatividade a fatores estressores em ratos e a possível participação dos neurônios do Hipotálamo Dorsomedial nessas respostas. | 14 |
| 3.4 - Preparo de drogas/substâncias utilizadas..... | 15 |
| 3.5 - Confecção de Cânulas-guia e cânula injetora | 16 |
| 3.6 - Cirurgias | 17 |
| 3.6 - Cirurgias | 17 |
| 3.6.1 - Implante de cânulas-guia dirigida ao Hipotálamo Dorsomedial..... | 17 |
| 3.6.2 - Canulação da artéria femoral | 18 |
| 3.6.3 - Cuidados pós-operatórios | 18 |
| 3.7 - Registro dos parâmetros cardiovasculares | 19 |
| 3.8 - Procedimentos das Microinjeções | 19 |
| 3.9 - Procedimentos Experimentais..... | 19 |
| 3.9.1 - A obesidade induzida pela dieta e/ou o isolamento social altera a reatividade a fatores estressores em ratos submetidos à inibição química (Muscimol) do DMH seguida de estresse por jato de ar. | 20 |
| 3.9.2 - A obesidade induzida pela dieta altera a reatividade cardiovascular induzida pela desinibição química do DMH. | 21 |
| 3.10 - Procedimentos Histológicos | 22 |
| 3.10 - Análises dos dados..... | 22 |
| 3.11 - Análises Estatísticas..... | 23 |

| | |
|--|-----------|
| 4 - RESULTADOS | 24 |
| 4.1 - Efeitos da dieta hiperlipídica e do isolamento social sobre o perfil nutricional e bioquímico | 24 |
| 4.2 - Efeitos da obesidade induzida pela dieta e/ou do isolamento social na reatividade a fatores estressores em ratos e a participação dos neurônios do Hipotálamo Dorsomedial nessas respostas. | 26 |
| 4.2.1 - Grupo controle e obeso sem isolamento social (coletivo) submetidos à inibição química do DMH seguida de estresse por jato de ar. | 27 |
| 4.2.2 - Grupo controle e obeso em isolamento social (individual) submetidos à inibição química do DMH seguida de estresse por jato de ar. | 31 |
| 4.2.3 - Grupos controle e obeso (coletivo) submetidos à desinibição química do DMH. | 36 |
| 5 - DISCUSSÃO | 41 |
| 6 - CONCLUSÃO..... | 47 |
| 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 48 |
| 8 - APÊNDICES | 58 |
| 9 – PRODUÇÕES CIENTÍFICAS | 75 |
| 9.1. Resumos publicados em Congressos Nacionais..... | 75 |
| 9.2. Resumos publicados em Congresso Internacionais | 75 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Diagrama de corte sagital do cérebro humano mostrando os principais núcleos hipotalâmicos (Fontes *et al.*, 2006). 3
- Figura 2: Estresse por jato de ar. Inserção dos animais a um tubo de contenção (6,5 cm de diâmetro e 23 cm de comprimento) e o posicionamento de uma bomba de nebulização em frente a esse tubo capaz de produzir um jato de ar de 10 l/min acompanhado de ruído levemente elevado. 15
- Figura 3: Delineamento Experimental. Protocolo dietético, procedimentos cirúrgicos e protocolo experimental. 19
- Figura 4: Escala temporal do protocolo experimental para a avaliação da inibição química do DMH por microinjeção de Muscimol seguida por estresse de jato de ar sobre os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC). Os animais foram submetido a microinjeção bilateral de veículo (100nL de salina) e/ou muscimol (100pmol/100nl) em dias consecutivos). Os experimentos iniciaram somente após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por no mínimo 30 min. . 20
- Figura 5: Escala temporal do protocolo experimental para a avaliação da inibição química do DMH por microinjeção de Muscimol seguida por estresse de jato de ar sobre os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC). Os animais foram submetido a microinjeção unilateral de veículo (100nL de salina) e/ou muscimol (10pmol/100nl) em dias consecutivos). Os experimentos iniciaram somente após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por no mínimo 30 min. . 21
- Figura 6: Ingestão alimentar estimada. Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão alimentar estimada (g) durante um período de 9 semanas.⁺ Diferença estatística entre ambos os grupos controle em relação aos grupos obesos; ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). 25
- Figura 7: Ingestão calórica. Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão calórica (kcal/g) durante um período de 9 semanas. ^ Diferença estatística entre ambos os grupos controles em relação ao grupo obeso coletivo. ANOVA two way, pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). 26
- Figura 8: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre os parâmetros fisiológicos basais pressão arterial média - PAM (A) e frequência cardíaca - FC (B). * Diferença estatística da dieta intra-grupos coletivos, teste t de Student não pareado ($p < 0,05$). 27
- Figura 9: Níveis de pressão arterial média (mmHg) antes, durante (entre as linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 minutos) em ratos controle e obesos coletivos pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM. 27
- Figura 10: Alterações na pressão arterial média (PAM-mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados coletivamente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado ($p < 0,05$). 28
- Figura 11: Níveis de frequência cardíaca (bpm) antes, durante (entre as linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 minutos) em ratos controle e obesos coletivos pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM. 29
- Figura 12: Alterações na frequência cardíaca (FC-bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados coletivamente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e

| | |
|--|----|
| muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado ($p < 0,05$). & Diferença estatística da dieta entre os grupos muscimol, teste t de Student não pareado, ($p < 0,05$)..... | 30 |
| Figura 13: Representação esquemática dos cortes coronais do DMH mostrando os locais da microinjeção bilateral de salina e muscimol nos animais (A) controle (triângulo preto, $n = 9$) e (B) obeso (círculo preto, $n = 8$) coletivos. (ver também, Figura 23)..... | 31 |
| Figura 14: Níveis de pressão arterial média (mmHg) antes, durante (entre as linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 min) em ratos controle e obeso individuais pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM. | 32 |
| Figura 15: Mudanças na pressão arterial média (PAM-mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obeso, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p < 0,05$)..... | 33 |
| Figura 16: Níveis de frequência cardíaca (bpm) antes, durante (entre linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 minutos) em ratos controle e obesos individuais pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM. | 34 |
| Figura 17: Alterações na frequência cardíaca (FC-bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) ou muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle individual, teste t de Student pareado ($p < 0,05$)..... | 35 |
| Figura 18: Representação esquemática dos cortes coronais do DMH mostrando os locais da microinjeção bilateral de salina e muscimol nos animais (A) controle (triângulo preto $n = 9$) e (B) obeso (círculo preto $n = 9$) individuais. (ver também Figura 24). | 36 |
| Figura 19: Níveis de pressão arterial média (mmHg) antes e após pré-tratamento (20 minutos) com veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM. | 37 |
| Figura 20: Pressão arterial média (PAM-mmHg) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos em ratos controle e obesos, criados coletivamente. (A) Delta máximo de 3 minutos após bicuculina em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta de recuperação nos 3 minutos finais após biculina em relação aos 5 minutos pré-microinjeção. *Diferença estatística entre os grupos bicuculina em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p < 0,05$)..... | 38 |
| Figura 21: Níveis de frequência cardíaca (bpm) antes e após pré-tratamento (20 minutos) com veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM. | 38 |
| Figura 22: Frequência cardíaca (FC bpm) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos em ratos controle e obesos, criados coletivamente. (A) Delta máximo de 3 minutos após bicuculina em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta de recuperação nos 3 minutos finais após biculina em relação aos 5 minutos | |

pré-microinjeção. *Diferença estatística entre os grupos bicuculina em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p < 0,05$)..... 39

Figura 23: Representação esquemática dos cortes coronais do DMH mostrando os locais da microinjeção unilateral de salina e bicuculina nos animais (A) controle (triângulo preto $n = 9$) e (B) obesos (círculo preto $n = 9$) coletivos. (ver também, Figura 25). 40

Figura 24: Fotomicrografia de um corte transversal do cérebro do rato mostrando um sítio de microinjeção bilateral no DMH. (A) animal controle coletivo e (B) animal obeso coletivo).Seta indica local da microinjeção..... 58

Figura 25: Fotomicrografia de um corte transversal do cérebro do rato mostrando um sítio de microinjeção bilateral no DMH. (A) animal controle individual e (B) animal obeso individual. Setas indicam locais da microinjeção..... 58

Figura 26: Fotomicrografia de um corte transversal do cérebro do rato mostrando um sítio de microinjeção unilateral no DMH. (A) animal controle coletivo e (B) animal obeso coletivo. Setas indicam locais da microinjeção..... 58

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Composição química da dieta hiperlipídica com 45% Kcal/g. | 12 |
| Tabela 2: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o perfil nutricional de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 24 |
| Tabela 3: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o perfil bioquímico de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 25 |
| Tabela 4: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre os parâmetros fisiológicos basais PAM e FC. | 26 |
| Tabela 5: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o peso inicial (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 59 |
| Tabela 6: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o peso final (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 59 |
| Tabela 7: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o ganho de peso (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 60 |
| Tabela 8: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o índice de Lee ^x de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 60 |
| Tabela 9: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAB epididimal (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 61 |
| Tabela 10: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAB retroperitoneal (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 61 |
| Tabela 11: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAB inguinal (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 62 |
| Tabela 12: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o índice de adiposidade ^{xx} de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 62 |
| Tabela 13: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAM (g) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 63 |
| Tabela 14: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre a glicose (mg/dL) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 63 |
| Tabela 15: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o Colesterol Total (mg/dL) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 64 |
| Tabela 16: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o triacilglicerol (mg/dL) de ratos <i>Wistar</i> por um período de 9 semanas. | 64 |
| Tabela 17: Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão alimentar estimada (g) durante um período de 9 semanas. | 65 |
| Tabela 18: Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão calórica (Kcal) durante um período de 9 semanas. | 66 |
| Tabela 19: Níveis basais de PAM (mmHg) em ratos controles e obesos com ou sem isolamento social (coletivos ou individuais). | 67 |
| Tabela 20: Níveis basais de FC (bpm) em ratos controles e obesos com ou sem isolamento social (coletivos ou individuais). | 68 |

| | |
|---|----|
| Tabela 21: Delta de PAM (mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados coletivamente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. | 69 |
| Tabela 22: Delta de FC (bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. | 70 |
| Tabela 23: Delta de PAM (mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. | 71 |
| Tabela 24: Delta de FC (bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. | 72 |
| Tabela 25: Delta de PAM (mmHg) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina(10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. | 73 |
| Tabela 26: Delta de FC (bpm) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina(10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. | 74 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-------------------|----------------------------|
| BMI | Bicuculina Metiodide |
| CC | Grupo Controle Coletivo |
| CI | Grupo Controle Individual |
| DH | Dieta Hiperlipídica |
| DMH | Hipotálamo Dorsomedial |
| GABA _A | Ácido Gama Aminobutírico A |
| IA | Índice de Adiposidade |
| MG | Massa Gorda Corporal |
| NPY | Neuropeptídeo Y |
| OC | Grupo Obeso Coletivo |
| OI | Grupo Obeso Individual |
| PCf | Peso Corporal Final |
| TAB | Tecido Adiposo Branco |
| TAM | Tecido Adiposo Marrom |
| Tco | Temperatura Corporal |

RESUMO:

O hipotálamo dorsomedial (DMH) está envolvido na mediação das respostas funcionais durante o estresse (*e.g.*: nas alterações cardiovasculares em ratos submetidos ao estresse por jato de ar ou isolamento social). Estudos sugerem que ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica (DH) apresentam uma resposta exagerada em condições de estresse e que este, assim como a obesidade apresenta forte associação com doenças cardiovasculares. O objetivo do nosso estudo foi avaliar a influência da obesidade induzida pela DH nas respostas cardiovasculares evocadas pelo estresse agudo em ratos *Wistar*. Para tal, 78 ratos (100 ± 10 g) foram alojados coletivamente (no máximo 3 ratos dentro de uma caixa de 41x34x17cm) ou individualmente (1 rato dentro de uma caixa de 30x19x13 cm) e alimentados, por 9 semanas, com dieta controle (Nuvilab®) ou DH contendo 11% e 45% Kcal/g de lipídio, respectivamente. Em seguida, os ratos foram submetidos ao implante bilateral ou unilateral de cânulas guia no DMH para microinjeção de muscimol (agonista GABA_A;100pmol/100nL e veículo;100nL) seguido por estresse por jato de ar (15 min), ou de bicuculina (antagonista GABA_A;10pmol/100nL e veículo;100nL). Implante de cateter na artéria femoral foi realizado para aquisição dos valores de pressão arterial média (PAM) e de frequência cardíaca (FC). Nossos resultados mostraram que a DH foi eficiente em induzir obesidade dietética - comprovada pelo aumento do peso corporal, índice de Lee e índice de adiposidade - a qual aumentou os níveis de PAM e FC basais nos grupos coletivos. A obesidade potencializou as respostas cardiovasculares: respostas pressoras e taquicárdica quando comparadas com o grupo controle. Além disso, a microinjeção de muscimol reduziu ambas respostas nos grupos dieta, porém foi menos eficaz em reduzir a PAM no grupo obeso. Ao final do estresse, no período de recuperação, o grupo obeso demonstrou-se menos responsivo ao muscimol (não reduziu PAM e FC). Já , tanto no grupo obeso individual quanto no controle individual, a microinjeção de muscimol não reduziu a PAM durante todo o período de estresse, porém, surpreendentemente, aumentou a resposta de FC ao estresse no grupo obeso. A microinjeção de bicuculina no DMH induziu aumento da PAM e FC em ambos os grupos. Contudo, a obesidade alterou a resposta taquicárdica à bicuculina evidenciada por sua curta duração. Esses dados sugerem que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica em ratos alterou PAM e FC basais e evocadas pelo estresse agudo, provavelmente, pela ineficiência da inibição sináptica mediada pelo receptor GABA_A sobressaindo à ativação sináptica excitatória.

ABSTRACT:

The dorsomedial hypothalamus is involved in the integration of the physiological responses during stress (i.e. cardiovascular changes observed in rats submitted to air jet or social isolation). Studies have suggested that rats fed a high fat diet (DH) present an exaggerated response to stress conditions, which, like obesity, show a high correlation with cardiovascular diseases. The aim of this study was to evaluate the influence of obesity, induced by a high fat diet, on the cardiovascular responses induced by acute stress in *Wistar* rats. For that, 78 rats (100±10g) were housed either, in grouped (maximum of 3 rats per cage 41x34x71cm) or individual cages (one rat per cage 30x19x13cm), and fed, for 9 weeks, a control diet (Nuvilab®) or a DH, containing 11% or 45% Kcal/g from lipids, respectively. Subsequently, bilateral or unilateral guide cannulas were implanted into the DMH, for the microinjection of muscimol (GABA_A agonist: 100pmol/100nL) followed by air jet stress (15 min), or bicuculline (GABA_A antagonist: 10pmol/100nL) respectively. Femoral arterial catheters were implanted for the acquisition of mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR). Our results showed that the DH induced nutritional obesity- established by the increased body weight, Lee index and adiposity index-, which led to increases in baseline levels of MAP and HR in the grouped housed group. Obesity potentiated the stress responsiveness, evidenced by the larger changes in the MAP and HR, when compared with the control group. Moreover, the muscimol microinjection reduced the increases in HR and MAP in both groups, however, induced a smaller reduction in MAP in the obese group. At the end of the stress procedure, the obese rats showed less responsiveness to muscimol (did not induced a reduction in PAM and HR). On the other hand, when housed individually, the microinjection of muscimol did not affect the MAP response during the whole stress period, however, surprisingly, it increased the HR response to stress in the obese group. Microinjection of bicuculline into DMH induced increases in MAP and HR in both groups. Nevertheless, obesity changed the tachycardic response to bicuculline, which is indicated by the short duration of this response. These results suggest that in a rat model of diet-induced obesity changed as basal MAP and HR as evoked by stress, probably, by inefficiency of synaptic inhibition mediated by GABA_A protruding the excitatory synaptic activation.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Estresse emocional

Segundo Cannon (1929), a homeostase resultante de processos fisiológicos coordenados. Além disso, ele foi o primeiro a sugerir que o sistema nervoso autônomo simpático seria o responsável pela restauração da homeostase, após sua perturbação por algum estímulo estressante (Cannon, 1929).

Apesar do conceito de estresse estar implícito na descrição feita por Cannon, esse só foi introduzido e popularizado anos depois por Hans Selye (Selye, 1936). Selye propõe a teoria da síndrome da adaptação geral, popularmente conhecida como estresse. A palavra estresse remete ao esforço da adaptação do organismo para enfrentar situações que são consideradas ameaçadoras à sua vida e ao seu equilíbrio interno.

A despeito de o estresse ser amplamente reconhecido como mecanismo necessário para aumentar a chance de sobrevivência dos mamíferos (incluindo o Homem) (Clark, Rager *et al.*, 1997), sabe-se que nas últimas décadas, a expressiva mudança em todos os níveis da sociedade passou a exigir do ser humano uma grande capacidade de adaptação física, mental e social. Estão incluídos nesta mudança, os acontecimentos diários de menor impacto, tais como esperar em filas, barulhos, engarrafamentos que, também são considerados causadores de estresse. Esses acontecimentos diários, quando se manifestam de uma forma frequente, podem gerar respostas psicológicas e fisiológicas mais intensas do que os eventos de vida estressores (Margis, Picon *et al.*, 2003).

Dessa maneira, a exposição crônica a estímulos estressantes é fator determinante para o aparecimento de doenças em diversos sistemas. Em relação ao sistema cardiovascular, essas situações de estresse crônico podem resultar em vários estados patológicos, como hipertensão arterial sistêmica, arritmias cardíacas e infarto do miocárdio (Amiragova, 1985; Leor, Poole *et al.*, 1996; Dimicco, Samuels *et al.*, 2002). Estudos em ratos corroboram a essas observações, demonstrando, por exemplo, que a ativação repetida do sistema cardiovascular devido ao estresse produz hipertensão arterial sistêmica sustentada (Folkow, 1982).

Em resposta ao estresse emocional (ou ambiental), o sistema nervoso central de mamíferos produz respostas de defesa caracterizadas por um padrão integrado de alterações endócrinas, autonômicas e comportamentais. Essas respostas envolvem aumento da concentração plasmática do hormônio adenocorticotrópico (ACTH), da pressão arterial (PA), da frequência cardíaca (FC), da temperatura do tecido adiposo marrom e da

temperatura corporal (Tco) (Stotz-Potter, Morin *et al.*, 1996; Stotz-Potter, Willis *et al.*, 1996; De Menezes, Zaretsky *et al.*, 2008; Ootsuka, Blessing *et al.*, 2008). Essas alterações são acompanhadas por comportamentos defensivos que incluem fuga, congelamento, ataque defensivo e avaliação de risco (Blanchard e Blanchard, 1989a; b). Essa estratégia favoreceu os mamíferos a confrontarem situações de risco na natureza.

De acordo com a hipótese da reatividade, respostas fisiológicas (i.e. como as citadas acima) exageradas e persistentes, às situações de estresse emocional podem ser marcadores de indivíduos ou subgrupos com risco aumentado para doenças cardiovasculares (Lovallo e Gerin, 2003). Mesmo que as causas dessas diferenças individuais ainda sejam pouco entendidas, a possibilidade de que o estresse prolongado cause mudanças permanentes em grupos neuronais no sistema nervoso central, e conseqüentemente, resulte em aumento da reatividade simpática ou mesmo desbalanço autonômico, é grande.

Para entender os mecanismos pelos quais ocorrem essas diferenças individuais, é fundamental, a identificação dos núcleos e vias cerebrais envolvidas nas respostas ao estresse emocional. Estas respostas, produzidas por diferentes tipos de estresse em ratos, resultam da ativação de circuitos centrais específicos que são genética e constitutivamente programados e constantemente modulados por fatores ambientais (Pacak e Palkovits, 2001).

Estudos indicam que o hipotálamo é uma região importante na integração das respostas autonômicas/endócrinas (Bernardis e Bellinger, 1998) e comportamentais ao estresse emocional. Vários núcleos e sub-regiões hipotalâmicas têm sido apontados como mediadores da resposta fisiológica ao estresse. Na última década, foi sugerido o envolvimento do hipotálamo dorsomedial (DMH) na mediação das respostas funcionais ao estresse (Dimicco, Samuels *et al.*, 2002). O DMH parece estar diretamente envolvido na resposta cardiovascular ao estresse emocional, sua ativação provoca mudanças comportamentais e endócrinas semelhantes àquelas evocadas em situações de estresse emocional agudo (Dimicco, Stotz-Potter *et al.*, 1996).

1.2 - Hipotálamo Dorsomedial e Estresse Emocional

Há um grande número de evidências da participação de neurônios da região do DMH são essenciais para a integração das respostas fisiológicas cardiovasculares (Stotz-Potter, Willis *et al.*, 1996) e neuroendócrina (Bailey e Dimicco, 2001) e comportamentais presentes durante o estresse emocional em ratos (Dimicco, Samuels *et al.*, 2002).

O DMH está localizado adjacente ao terceiro ventrículo, caudal ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), dorsal ao núcleo ventromedial (VMH) e ventral à zona incerta. Suas bordas laterais e caudais são pouco distintas. Lateralmente, ele é circundado pela região perifornical da área hipotalâmica lateral, com os limites de seu polo caudal terminando no núcleo periventricular posterior (Fontes, Menezes *et al.*, 2006) (Figura 1). Ele é subdividido em duas porções distintas: uma difusa e uma compacta (Paxinos e Watson, 2007), sendo esta última claramente delimitada no polo posterior do DMH. Estudos indicam que a porção compacta do DMH seria a estrutura mais responsiva do mesmo à microinjeção de aminoácidos excitatórios (De Novellis, Stotz-Potter *et al.*, 1995) ou de antagonistas do receptor do ácido gama aminobutírico A (GABA_A) (Fontes, Menezes *et al.*, 2006).

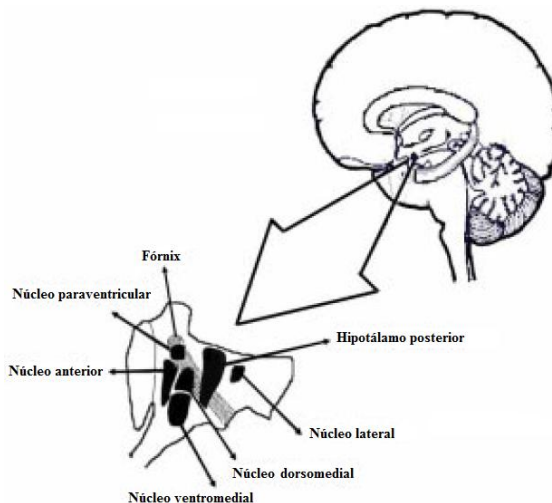


Figura 1: Diagrama de corte sagital do cérebro humano mostrando os principais núcleos hipotalâmicos (Fontes *et al.*, 2006).

A estimulação do DMH através de microinjeção de fármacos antagonistas do receptor GABA_A, como a bicuculina metiodide – BMI, resulta em alterações cardiovasculares e comportamentais similares às observadas durante o estresse: aumento significativo da FC, aumento da atividade simpática do nervo renal e cardíaco e elevação da PA (Shekhar e Dimicco, 1987; Shekhar, Hingtgen *et al.*, 1987; Shekhar, 1993;

Shekhar e Katner, 1995; Fontes *et al.*, 2001; Da Silva, De Menezes *et al.*, 2003; Da Silva, Menezes *et al.*, 2006; De Menezes, Zaretsky *et al.*, 2006).

Por outro lado, estudos demonstraram que a microinjeção do inibidor neuronal muscimol (agonista do receptor GABA_A) reduz as respostas cardiovasculares (taquicardia e hipertensão) produzidas durante o estresse (Soltis e Dimicco, 1992; Stotz-Potter, Morin *et al.*, 1996; Stotz-Potter, Willis *et al.*, 1996; Dimicco, Samuels *et al.*, 2002). Animais que receberam microinjeção de muscimol no DMH e foram, posteriormente, submetidos ao estresse por jato de ar apresentaram atenuação da resposta pressora e taquicárdica em 68 e 85% respectivamente. A mesma microinjeção na área intermediária entre o DMH e PVN atenuou a resposta pressora e taquicárdica em 52 e 46% respectivamente. Estes resultados implicam a ativação neural do DMH na geração das mudanças cardiovasculares observadas no estresse agudo (Stotz-Potter, Morin *et al.*, 1996).

1.3 - Isolamento Social e Estresse

Estudos mostram que a exposição de mamíferos, no início da vida, a adversidade, como a separação da mãe ou o isolamento social de membros da mesma espécie, afeta negativamente o desenvolvimento do cérebro e o comportamento adulto (Harlow, Dodsworth *et al.*, 1965; Heim, Plotsky *et al.*, 2004; Rapoport, Addington *et al.*, 2005).

A criação de roedores em isolamento social desde o desmame, a privá-los do jogo social, produz uma grande variedade de alterações comportamentais de longa duração em comparação com o grupo controle alojados socialmente, apresentando níveis elevados de contato com objetos em um campo aberto e apresentarem-se mais lentos ao surgirem a partir de um pequeno compartimento em um ambiente desconhecido (Eion e Morgan, 1977; Heidbreder, Weiss *et al.*, 2000; Lapid, Fulford *et al.*, 2003). Coletivamente as alterações comportamentais observadas são consistentes com a proposta de que ratos criados em isolamento social são incapazes de processar adequadamente estímulos ambientais, uma vez que são significativamente mais ativos em um novo ambiente do que os ratos alojados socialmente (Fone e Porkess, 2008).

Experimentos iniciais realizados em ratos criados em isolamento social relatam que os mesmos apresentam-se excessivamente reativos ao manuseio, emocionalmente e ansiosos (Hatch, Wiberg *et al.*, 1965; Koch e Arnold, 1972; Morgan, 1973; Sahakian, Robbins *et al.*, 1977) o que conduziu à descrição da “síndrome de estresse induzido por isolamento (Valzelli, 1973; Holson, Scallet *et al.*, 1991).

1.4 - Obesidade

Os estudos envolvendo a obesidade têm-se intensificado nos últimos anos, em função da presença cada vez maior de indivíduos portadores dessa doença, que ganha contornos de epidemia mundial. O número de indivíduos adultos com sobrepeso vem crescendo mundialmente e já representava em 2008 um bilhão e meio de pessoas, desta população mais de 30% (200 milhões de homens e quase 300 milhões de mulheres) foram consideradas como obesas (World Health Organization, 2011).

No Brasil, segundo a POF 2008-09 o excesso de peso, por sua vez, atingiu cerca de metade dos homens e das mulheres, excedendo em 28 vezes a frequência do déficit de peso no caso masculino e em 13 vezes no feminino. Em crianças entre 5 e 9 anos de idade e entre adolescentes, a frequência do excesso de peso, que vinha aumentando modestamente até o final da década de 1980, praticamente triplica nos últimos 20 anos, alcançando entre um quinto e um terço dos jovens (Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística, 2010).

A obesidade é uma doença metabólica, caracterizada pelo ganho de peso excessivo, pelo aumento do tecido adiposo, por modificações no metabolismo dos carboidratos e lipídeos, e pelo surgimento da resistência insulínica e da disfunção autonômica (Kaufman, Peterson et al., 1991; Beske, Alvarez et al., 2002; Fantuzzi, 2005).

A acumulação excessiva de tecido adiposo deriva de um aporte calórico excessivo e crônico de alimentos ricos em gordura, sal e açúcares, mas baixo em vitaminas minerais e outros micronutrientes (World Health Organization, 2011) em relação ao gasto energético (metabolismo basal, efeito termogênico e atividade física). Nessa acumulação intervêm tanto os fatores sociológicos, as alterações metabólicas e neuroendócrinas, os componentes hereditários, como o estilo de vida e os hábitos alimentares (Martinez e Fruhbeck, 1996; Marques-Lopes, Ansorena *et al.*, 2001; Corbalan, Marti *et al.*, 2002). A obesidade ainda apresenta uma forte associação com inúmeras doenças crônicas, tais como dislipidemia, intolerância a glicose, diabetes, aterosclerose, hipertensão e outras doenças cardiovasculares (Beske, Alvarez *et al.*, 2002). Pelo menos 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano no mundo, como resultado de excesso de peso ou obesidade (World Health Organization, 2011).

1.5 - Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica

Vários modelos experimentais de obesidade foram desenvolvidos com o intuito de auxiliar na compreensão da fisiopatologia da obesidade. Dietas hipercalóricas têm sido comumente utilizadas em ensaios experimentais de obesidade, objetivando mimetizar efeitos orgânicos associados à adiposidade (Boustany, Brown *et al.*, 2005; Du Toit, Nabben *et al.*, 2005; Carroll, Zenebe *et al.*, 2006).

Em geral, o aumento da epidemia humana de obesidade é decorrente de modificações do estilo de vida, sobretudo em relação aos hábitos nutricionais, com elevação do consumo de dietas ricas em gordura aliada ao sedentarismo (Schrauwen e Westerterp, 2000; Feoli, Roehrig *et al.*, 2003). Neste sentido, a promoção de obesidade em roedores a partir de dietas hiperlipídicas (DH) almeja reproduzir o comportamento nutricional humano (Diniz, Burneiko *et al.*, 2008). Além disso, tem sido demonstrado que as perturbações originadas por uma alimentação com alto teor de gordura em ratos se assemelham às perturbações metabólicas observadas em humanos (Woods, Seeley *et al.*, 2003).

Em 1949, a obesidade foi induzida pela dieta pela primeira vez em ratos alimentados com uma dieta palatável semi-líquida (Ingle, 1949). Então, em 1953, Fenton e Dowling utilizando dieta rica em gorduras, com 50% de gordura da energia total, em camundongos recém-desmamados para induzir obesidade, chamada de obesidade nutricional (Fenton e Dowling, 1953), mas o modelo foi mais tarde rebatizado de obesidade dietética (Sclafani e Springer, 1976).

Normalmente dietas ricas em gorduras são utilizadas dentro de um intervalo de 30-78% do consumo de energia total utilizados - quer por adição de uma gordura em particular à dieta do animal, quer utilizando uma variedade de alimentos de supermercados ricos em gordura e açúcar - para o estudo da obesidade em ratos (Mickelsen, Takahashi *et al.*, 1955; Ellis, Lake *et al.*, 2002; Ghibaudi, Cook *et al.*, 2002). A utilização de dietas ricas em carboidratos e pobres em gorduras não foi tão eficiente quanto a dietas indutoras de obesidade com alto teor de gordura e pobres em carboidratos (Harrold, Williams *et al.*, 2000; Ellis, Lake *et al.*, 2002; Ghibaudi, Cook *et al.*, 2002).

Poucos estudos estabeleceram associações, ainda que inconsistentes, entre os perfis nutricional e cardiovascular em ratos normotensos sob DH (Du Toit, Nabben *et al.*, 2005; Ricci, Smallwood *et al.*, 2006). Estudos que não avaliaram a função cardíaca reportaram dislipidemia, alterações glicêmicas, hiperinsulinemia e hipertrofia cardíaca (Akiyama,

Tachibana *et al.*, 1996; Naderali, Fatani *et al.*, 2004). Du Toit *et al.* (2005) verificaram aumento da pressão arterial, hipertrofia e disfunção miocárdica pós-isquêmica, com modificações glicêmicas, lipidêmicas e manutenção da insulinemia (Du Toit, Nabben *et al.*, 2005). Outros pesquisadores, embora denotassem dislipidemia, não detectaram efeitos glicêmicos, hemodinâmicos (Girard, Madani *et al.*, 2005; Carroll, Zenebe *et al.*, 2006) e remodelagem cardíaca (Carroll, Zenebe *et al.*, 2006; Ricci, Smallwood *et al.*, 2006). Wilson *et al.* (2007), conquanto não constatassem desordens nutricionais, relataram disfunção cardíaca progressiva (Wilson, Tran *et al.*, 2007). Diante dessas controvérsias, a influência de DH sobre o perfil nutricional e cardiovascular de ratos normotensos não está plenamente esclarecida (Oliveira Júnior, Oloshi *et al.*, 2009).

1.6 - Hipotálamo Dorsomedial e Metabolismo

O DMH está envolvido com uma variedade de mecanismos regulatórios que incluem desde a modulação da secreção de hormônios, controle da temperatura corporal, e ainda, evidências sugerem sua participação na homeostase energética (Bernardis e Bellinger, 1987; 1998; Bellinger e Bernardis, 2002; Dimicco, Samuels *et al.*, 2002). Este núcleo recebe projeções de áreas do hipotálamo e tronco encefálico sabidamente relacionadas com o comportamento alimentar e, quando lesionadas, resultam em hipofagia (Berthoud, 2002).

Sistemas de sinalização de peptídeos hipotalâmicos desempenham papéis importantes no controle do balanço energético. O neuropeptídeo Y (NPY) é um potente peptídeo orexígeno do hipotálamo. A administração central do NPY provoca o aumento consideráveis na ingestão de alimentos e no peso corporal e, com a administração crônica, podem eventualmente produzir obesidade (Clark, Kalra *et al.*, 1984; Levine e Morley, 1984; Stanley, Chin *et al.*, 1985; Stanley, Kyrkouli *et al.*, 1986; Zarjevski, Cusin *et al.*, 1993). Embora a imunorreatividade do NPY seja amplamente distribuída por todo o hipotálamo (Chronwall, Dimaggio *et al.*, 1985; Gray e Morley, 1986), em hibridação histoquímica *in situ* revelou que os neurônios que expressam NPY são principalmente localizados no núcleo arqueado (ARC) e no DMH (Bi, Robinson *et al.*, 2003).

Estudos tem mostrado que a expressão do gene *Npy* é induzida ou significativamente elevada no DMH de ratos, e tem sido encontrada em vários modelos de obesidade em roedores: ratos com obesidade induzida por dieta (Guan, Yu *et al.*, 1998), ratos com obesidade devido a deficiência de tecido adiposo marron (TAM) (Tritos,

Elmqvist et al., 1998), bem como, os ratos OLETF (Ootsuka, Blessing et al., 2008) um modelo poligênico de obesidade (Bi, Ladenheim et al., 2001).

Lesões eletrolíticas no DMH são capazes de interromper a comportamento alimentar em uma extensão significativa, porém, menor do que lesões na VMH (Bernardis e Bellinger, 1987). Como em outros sítios hipotalâmicos, microinjeção de vários sinais orexígenos no DMH induziu ingestão alimentar (Grandison e Guidotti, 1977; Kelly e Grossman, 1980; Stanley, Chin et al., 1985; Kyrkouli, Stanley et al., 1990). O papel crucial dos neurônios no DMH foi indicado pela observação de que a inibição da ingestão induzida pela inibição de NPY por leptina aumentava c-Fos (proto oncogene de ativação imediata que atua como um marcador de ativação neuronal) no DMH, o produto de proteína do proto oncogene e um marcador de ativação neuronal (Elmqvist, Ahima *et al.*, 1997; Yokosuka, Xu *et al.*, 1998). Estes resultados sugerem que o local de interação NPY e leptina pode residir na DMH e pode representar um componente do circuito envolvido em qualquer atenuação ou inibição de alimentação pela leptina (Yokosuka, Xu et al., 1998).

Uma vez que existem vias de NPY que se projetam a partir do ARC para o DMH (Bai, Yamano et al., 1985), é altamente provável que o NPY liberado neste núcleo participa na estimulação da alimentação. No entanto, os níveis de NPY no DMN, ao contrário do que visto no PVN e ARC, não foram elevados, em resposta a jejum (Sahu, Kalra et al., 1998). Outra descoberta relevante é que, embora apenas uns poucos neurônios normalmente expressam NPY no DMN (Chan, Steiner et al., 1996; Kamegai, Minami et al., 1996), a expressão do gene de NPY foi severamente aumentada no DMN em associação com hiperfagia induzida pela ruptura da sinalização neurais no VMH (Pu, Dube et al., 1998) e em um modelo genético de obesidade (Kalra, Dube et al., 1999).

1.7 - Obesidade versus Estresse Emocional

Embora a preocupação com o alarmante crescimento do número de indivíduos com obesidade e em situações de estresse emocional seja recorrente na atualidade, poucos estudos abordam essa interface.

A literatura relata que, na presença de obesidade associada, as respostas fisiológicas e comportamentais ao estresse podem estar aumentadas, reduzidas, ou mesmo inalteradas quando comparadas às respostas na ausência desta condição (Levin *et al.*, 2000; Harris e Legendre, 2006; Benson *et al.*, 2009).

Estudos têm sugerido que as variações na composição de macronutrientes de uma dieta pode afetar a resposta neuroendócrina ao estresse (Pascoe, Smythe *et al.*, 1991; Tannenbaum, Brindley *et al.*, 1997; Kamara, Eskay *et al.*, 1998). Harris e Legendre, demonstraram uma resposta exagerada ao estresse em ratos alimentados com uma DH em comparação com aqueles alimentados com dieta de baixo teor de gorduras (Harris e Legendre, 2006). Tannenbaum et al. relataram que ratos alimentados com uma dieta de 40% de gordura kcal por 7 ou 21 dias tinham níveis basais elevados de corticosterona, aumento da liberação de ACTH durante o estresse, e uma recuperação diminuída da liberação de corticosterona após 20 min de estresse por contenção (Tannenbaum, Brindley *et al.*, 1997). Outros relataram que ratos alimentados com uma DH mostraram um aumento concentrações circulantes de corticosterona e dos níveis catecolaminas hipotalâmicas após um estresse de natação (Pascoe, Smythe *et al.*, 1991; Harris e Legendre, 2006). Com exceção de alguns estudos, poucos são os dados abordando possíveis efeitos da obesidade sobre as respostas cardiovasculares ao estresse. Dentre estes efeitos foram descritos: recuperação tardia da frequência cardíaca e da pressão diastólica pós-estresse em mulheres obesas (Benson, Arck *et al.*, 2009) e ratos espontaneamente hipertensos (Sedova, Berube *et al.*, 2004); e aumento da atividade do nervo simpático muscular e da resistência vascular durante o estresse mental em indivíduos obesos (Kuniyoshi, Trombetta *et al.*, 2003). Estes resultados sugerem que a obesidade pode alterar significativamente o impacto de experiências estressogênicas sobre o sistema cardiovascular. Entretanto, os mecanismos centrais envolvidos nestas duas condições permanecem por ser elucidados.

Portanto, a integração entre a obesidade e o estresse emocional deve ser estudada com o intuito de correlacioná-las como fator de risco potencializado. Espera-se com esse estudo compreender as alterações induzidas pela obesidade, na reatividade neuronal durante o estresse, nos neurônios do DMH.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral:

Avaliar a influência da obesidade induzida pela dieta hiperlipídica nas respostas cardiovasculares evocadas pelo estresse emocional em ratos *Wistar*.

2.2 - Objetivos Específicos:

- Avaliar a eficácia da dieta hiperlipídica na indução da obesidade em ratos alojados com ou sem isolamento social quanto ao ganho de peso, ingestão calórica, distribuição de tecidos adiposos e em nível de dosagens bioquímicas séricas: glicemia, colesterol total e triacilgliceróis.
- Comparar a resposta cardiovascular ao estresse em ratos controle e obesos.
- Avaliar o efeito da inibição química do DMH sobre as alterações de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC), produzidas pelo estresse de jato de ar, em animais controles e obesos criados coletivamente, e em animais controles e obesos criados individualmente.
- Avaliar os efeitos produzidos pela desinibição química do DMH, sobre a PA e FC no grupo de animais coletivos (controles e obesos).

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Modelo Animal

Neste trabalho utilizamos 79 ratos *Wistar*, recém-desmamados, com aproximadamente 100 ± 10 g, gentilmente cedidos pelo Centro de Ciências Animal da Universidade Federal de Ouro Preto - CCA UFOP. Parte dos animais foram alojados coletivamente em gaiolas coletivas com dimensões de 41x34x17cm (máximo 3 animais/caixa) e outra parte alojados individualmente em gaiolas individuais de 30x19x13cm durante todo protocolo dietético. Nesse período, os animais foram mantidos na sala de Experimentação I do CCA UFOP e, posteriormente, foram encaminhados para o biotério de manutenção, anexo ao Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, para serem submetidos aos procedimentos cirúrgicos a serem descritos a seguir. Deve-se ressaltar que após o primeiro procedimento cirúrgico todos os animais passaram a ser alojados em gaiolas individuais. Em ambos os locais, os animais foram mantidos sob temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclo claro - escuro de 12 (doze) horas e acesso *ad libitum* a água e a dieta.

Todos os procedimentos foram realizados com a devida aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP nº 2010\75, de acordo com as diretrizes da Lei 11.794 (Lei Arouca) e com os regulamentos determinados pelo Guia de Uso e Cuidado de Animais de Laboratório do *National Research Council, EUA*.

3.2 - Dietas

Uma parte dos animais utilizados foi alimentada com ração comercial Nuvilab® (dieta controle) contendo por peso: 19,0% de proteína, 56,0% de carboidrato, 3,5% de lipídio (11%Kcal/g), 4,5% de celulose, 5,0% de vitaminas e minerais o que corresponde a aproximadamente **3,78 kcal/g**.

A outra parte, por sua vez, foi alimentada com DH (45%Kcal/g) com ingredientes em similaridade à Research Diets, Inc. fórmula D12451 (Gao, Ghibaudi *et al.*, 2002; Hileman, Pierroz *et al.*, 2002; Farley, Cook *et al.*, 2003; Shklyayev, Aslanidi *et al.*, 2003) o que corresponde a aproximadamente **4,81 kcal/g**.

A DH foi preparada mensalmente no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, acondicionada em sacos plásticos e armazenada em freezer (-20°C) até a utilização desta.

A composição química da DH está representada na tabela 1.

Tabela 1 - Composição química da dieta hiperlipídica com 45% Kcal/g.

| Ingredientes | g/kg | kcal/g |
|---------------------------------------|---------------|---------------|
| Colina | 2,5 | 0 |
| Mix de Vitamina (AIN 93) ¹ | 10,0 | 0 |
| Mix de Mineral (AIN 93) ² | 35,0 | 0 |
| Celulose | 50,0 | 0 |
| Maltodextrina | 115,0 | 460,0 |
| Amido | 127,5 | 510,0 |
| Sacarose | 200,0 | 800,0 |
| Caseína | 220,0 | 880,0 |
| Banha | 200,0 | 1800,0 |
| Óleo de Soja | 40,0 | 360,0 |
| TOTAL | 1000,0 | 4810,0 |

¹**Mistura de minerais (g/Kg de mistura):** NaCl – 139,3 / KI – 0,79 / MgSO₄.7H₂O – 57,3 / CaCO₃ – 381,4 / MnSO₄.H₂O – 4,01 / FeSO₄.7H₂O – 27,0 / ZnSO₄.7H₂O – 0,548 / CuSO₄.5H₂O – 0,477 / CoCl₂.6H₂O – 0,023 / KH₂PO₄ – 389,0.

²**Mistura de vitaminas (g/Kg de mistura):** Acetato de retinol – 0,6 / Colecalciferol – 0,005/ Ácido p-aminobenzóico – 10,00 / I-Inositol – 10,00 / Niacina – 4,00 / Pantotenato de cálcio – 4,00 / Riboflavina – 0,80/ Tiamina HCl – 0,50 / Piridoxina HCl – 0,50 / Ácido fólico – 0,20 / Biotina – 0,04 / Vitamina B12 – 0,003 / Sacarose – q.s.p. 1000. / Colina – 200,0 / α -Tocoferol – 6,7.

3.3 - Delineamento Experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: dois grupos alimentados com ração comercial Nuvilab® dividido em grupo controle coletivo (CC) e grupo controle individual (CI); e dois grupos alimentados com DH dividido em grupo obeso coletivo (OC) e grupo obeso individual (OI).

Todos os grupos seguiram o protocolo dietético por um período de 9 semanas, sendo a primeira semana referente a adaptação. Após esse período, os animais foram utilizados para experimentação por 10 a 12 dias, período esse, em que os animais continuaram recebendo a dieta previamente determinada.

3.3.1 - Caracterização do modelo de obesidade induzida pela dieta

Hipótese 1 - Dieta com 45% de gordura induz a obesidade em ratos *Wistar*

Para essa hipótese, avaliou-se a eficácia da dieta com 45% de gordura em induzir obesidade em ratos *Wistar* e se a maneira como os animais eram alojados (em gaiolas coletivas e individuais) influenciaria no desenvolvimento da obesidade.

O peso e a gordura corporal foram utilizados para a determinação do índice de adiposidade. O peso corporal foi avaliado antes do início da introdução das dietas padrão e

hiperlipídica, e semanalmente até a eutanásia dos animais. A gordura corporal dos ratos de todos os grupos foi analisada ao final das 9 semanas de indução da obesidade. Após os animais serem anestesiados (Isoflurano, 2–2,5% - 2l/min de O₂) e eutanasiados por exsanguinação (coleta de soro e plasma), o tecido adiposo marrom interescapular e os tecidos adiposos brancos epididimal, retroperitoneal e inguinal foram dissecados e pesados. A massa gorda corporal (MG) foi caracterizada pela soma desses três depósitos de gordura branca.

A obesidade foi determinada utilizando-se o índice de adiposidade (IA). O IA foi calculado através da relação: $MG \times 100 / \text{peso corporal final (PCf)}$. Diversos autores utilizam este índice para avaliar a quantidade de gordura corporal em roedores (Levin, Richard *et al.*, 2000; Carroll, Zenebe *et al.*, 2006). Este método é facilmente realizado e permite analisar os depósitos de gordura corporal de maneira consistente. Além disso, utilizamos o índice de Lee (Lee, 1929) para avaliar o grau de obesidade dividindo-se a raiz cúbica do PCf em gramas pelo comprimento naso-anal (CNA) em milímetros e multiplicando-se por dez.

Para uma melhor caracterização da obesidade foram realizadas dosagens bioquímicas séricas desses animais em jejum: glicemia, colesterol total (CT) e triacilgliceróis (TAG). Os animais foram mantidos em jejum por 12 horas para a realização da coleta sanguínea. Os animais foram anestesiados com isoflurano no dia da eutanásia. O sangue foi acondicionado em *eppendorfs* esterilizados previamente acrescido de anti-coagulante, GLISTAB KF 12g/dL + EDTA 6g/dL (LABTEST DIAGNÓSTICA, MG, Brasil) na concentração de 1 gota/3 mL de sangue. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 4000 rpm para separação do soro e plasma, que foram armazenados em *eppendorfs* esterilizados e armazenados a -80°C para posterior realização dos ensaios bioquímicos que seguiram os protocolos dos Kits LABTEST (LABTEST DIAGNÓSTICA, MG, Brasil).

Faz necessário ressaltar que nenhum dos animais utilizados para testar essa hipótese passou por procedimentos cirúrgicos. Com o intuito de testar essa hipótese foram utilizados 36 animais, ou seja, nove animais de cada grupo.

Ingestão calórica e ingestão alimentar estimada

A ingestão calórica estimada refere-se à quantidade em kcal consumida pelo animal. Este parâmetro é obtido multiplicando-se o consumo semanal de ração pelo valor

calórico de cada dieta, respectivamente, 3,78 e 4,81 kcal para a dieta controle e hiperlipídica.

Para o cálculo da ingestão calórica, a ingestão alimentar estimada foi medida três vezes por semana durante todo o período de protocolo nutricional.

Vale ressaltar que, como o modelo utilizado se trata de roedores e a dieta hiperlipídica não apresentava-se muito sólida, a ponto de ser roída, foi acrescentado para cada animal um cubo de madeira não tratada 1x2x4cm aproximadamente. Isso foi feito tanto para os animais controles quanto para os animais obesos para que ambos os grupos não tivessem crescimento dentário que prejudicasse a ingestão alimentar.

3.3.2 - A influência da obesidade induzida pela dieta e/ou do isolamento social na reatividade a fatores estressores em ratos e a possível participação dos neurônios do Hipotálamo Dorsomedial nessas respostas.

Hipótese 2 - A obesidade induzida pela dieta e/ou o isolamento social altera a reatividade a fatores estressores em ratos submetidos à inibição química (Muscimol) do DMH seguida de estresse por jato de ar.

Avaliou-se a influência da obesidade induzida pela dieta e/ou do isolamento social nas alterações cardiovasculares observadas durante o estresse em ratos. A participação do DMH nessas alterações foi avaliada através da inibição dos neurônios dessa região. Para tanto, foram realizadas microinjeções de muscimol (agonista de receptor GABA_A) ou veículo (salina) no DMH, nos 4 grupos antes de serem expostos a estresse por jato de ar. Esse estresse consistiu na inserção dos animais a um tubo de contenção (6,5 cm de diâmetro e 23 cm de comprimento) e o posicionamento de uma bomba de nebulização em frente a esse tubo (Figura 2). Essa bomba foi capaz de produzir um jato de ar de 10 l/min e, além disso, produziu ruído levemente elevado. Essa foi ligada sempre antes da colocação do animal dentro do contensor (variação da resposta quando acionada depois da colocação) e posicionada sempre com a mesma distância do rato, pois o ruído produzido por ela poderia exacerbar as respostas cardiovasculares ao estresse utilizado. Além disso, o jato de ar não foi direcionado diretamente para o rato, pois já foi demonstrado que isso poderia causar uma pequena hipotermia (observações não publicadas). Os animais permaneceram em estresse por 15 minutos (ver 3.9.1).

Os parâmetros cardiovasculares medidos foram FC e PA. Os animais foram utilizados como controle deles mesmos, ou seja, cada animal foi submetido a dois experimentos em dias consecutivos (injeção de muscimol no primeiro dia e salina no

segundo dia ou vice-versa). Dessa maneira foi possível reduzir o número de animais utilizados pela metade.

Com o intuito de testar essa hipótese foram utilizados 30 animais, ou seja, 9 animais CC, 9 animais OC, 7 animais CI e 5 animais OI.

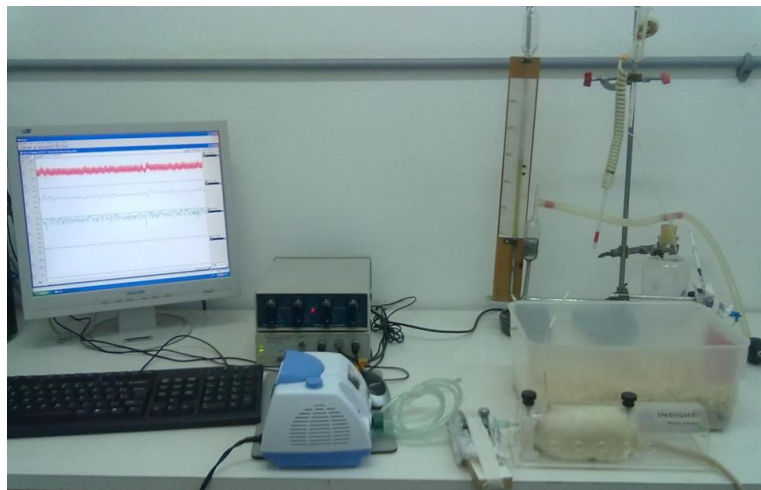


Figura 2: Estresse por jato de ar. Inserção dos animais a um tubo de contenção (6,5 cm de diâmetro e 23 cm de comprimento) e o posicionamento de uma bomba de nebulização em frente a esse tubo capaz de produzir um jato de ar de 10 l/min acompanhado de ruído levemente elevado.

Hipótese 3 - A obesidade induzida pela dieta altera a reatividade cardiovascular induzida pela desinibição química do DMH.

Avaliamos a influência da obesidade induzida pela dieta nas alterações fisiológicas de ratos nas alterações fisiológicas produzidas pela desinibição do DMH. Para tanto, foram feitas microinjeções de BMI (antagonista de receptor $GABA_A$) ou veículo no DMH via cânula-guia nos animais do grupo controle e grupo obeso coletivos. Os parâmetros mensurados durante todo o procedimento experimental foram FC e PA (ver 3.9.2). Esses animais, também, foram utilizados como controles deles mesmos. Para essa hipótese foram utilizados 13 animais, 6 animais CC e 7 animais OC.

3.4 - Preparo de drogas/substâncias utilizadas

PBS (Salina tamponada com fosfato; pH 7,2): solução preparada pela diluição de 8,18g de NaCl P.A., 1,98 g de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ P.A. e 0,26 g de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ P.A. (Synth, LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP) em água ultra-purificada (Milli – Q®) q.s.p. 1000,0 mL. Ajustou-se o pH da solução para 7,2 com soluções de HCl e NaOH, conforme necessidade. A solução foi esterilizada por autoclavação 120°C e 1,0

Kg/cm² durante 15 minutos, conforme protocolo em vigor no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular.

Anestésico (Solução de Ketamina + Xilazina): solução preparada pela adição de 2 mL de Xilazina 2% (p/v) a 10 mL de Ketamina 10% (p/v). Utilizada da seguinte forma: dose (ketamina: 80mg/kg ; Xilazina: 7mg/kg) e volume (0,1mL/100g de animal; *i.m.*).

Antiinflamatório [Ketoflex 1% p/v (Cetoprofeno)]: empregado com o objetivo de reduzir inflamação e dor decorrente dos procedimentos cirúrgicos. Utilizado da seguinte forma: dose (4mg/Kg) e volume (0,1 mL/100g de animal; *s.c.*).

Antibiótico (Pentabiótico Veterinário): utilizado na prevenção de infecções, na seguinte dose: 48.000UI de penicilina, 20mg de estreptomicina e 20mg de diidroestreptomicina/kg. Volume injetado: 0,1 mL/100g de animal; *s.c.*.

Muscimol (agonista dos receptores GABA_A): Diluído em PBS até atingir a concentração utilizada neste trabalho (100 pmol/100nl), separado em alíquotas de 10 µL e mantido congelado a -4°C.

Bicuculina methiodide – BMI (antagonista dos receptores GABA_A): Diluído em PBS até atingir a concentração utilizada neste trabalho (10 pmol/100nl), separado em alíquotas de 10 µl e mantido congelado a -4°C.

3.5 - Confeção de Cânulas-guia e cânula injetora

As cânulas-guia (CG) foram confeccionadas utilizando-se agulha 23G, ajustadas até o comprimento de 15 mm, através de eletrocorrosão. Já as cânulas injetoras foram confeccionadas a partir da agulha 30G e ajustadas a 16 mm, também, através de eletrocorrosão. Assim, no momento da microinjeção, a extremidade da injetora permanecia 1mm abaixo da extremidade da CG, correspondendo a região do DMH, de acordo com as coordenadas utilizadas (ver item 3.6.1).

3.6 - Cirurgias

3.6.1 - Implante de cânulas-guia dirigida ao Hipotálamo Dorsomedial

Com o auxílio de um aparelho estereotáxico (Stoelting Co., Illinois, EUA), implantamos a CG de 15 mm em direção ao DMH, como previamente descrito (Bailey e Dimicco, 2001; Da Silva, De Menezes et al., 2003; Da Silva, Menezes et al., 2006; De Menezes, Zaretsky et al., 2006; De Menezes, Zaretsky et al., 2008; De Menezes, Zaretsky et al., 2009). Para isso, anestesiámos os animais com solução anestésica de Ketamina e Xilazina (i.m.) e em seguida, tricotomizamos a região entre os pavilhões auditivos e os olhos, acomodamos e fixamos os animais no estereotáxico com a barra dental a 3,3mm abaixo da linha interaural. A região tricotomizada foi submetida à assepsia com PVPI degermante e, após foi realizada injeção subcutânea de cloridrato de lidocaína 2% associado a epinefrina, para provocar uma vasoconstricção local. A região superior do crânio foi exposta a partir de uma incisão mediana dois orifícios foram realizados para a fixação de parafusos de aço inoxidável no crânio dos animais para ancoragem da CG. A torre do estereotáxico foi angulada em zero e cânulas-guia foram posicionadas usando o bregma como referência de acordo com as coordenadas estereotáxicas segundo Paxinos e Watson, 2007, para o DMH: 3,3mm posterior, 0,6mm lateral e 7,6mm ventral. Foram utilizados esses mesmos parâmetros em todos os grupos estudados. Cabe ressaltar, no entanto, que a cada 50g abaixo ou acima de 300g de peso corporal dos animais, foram subtraído ou adicionados 0,1mm na coordenada posterior. Em sequência, foram realizados os orifícios para o implante das CG (um orifício quando a cirurgia foi unilateral e dois quando bilateral). Introduzimos a CG e fechamos a abertura cirúrgica com resina odontológica (acrílico dental polimerizável). Com o intuito de evitar a obstrução da CG, introduzimos um oclisor aço inoxidável de mesmo comprimento da CG (15mm). Feito isso, os animais foram submetidos a cuidados pós-operatórios (ver item 3.6.3) e passaram por um período de recuperação entre 6 e 8 dias.

3.6.2 - Canulação da artéria femoral

Passado o período de recuperação, os animais foram novamente submetidos aos procedimentos pré-cirúrgicos (sedação e anestesia), no entanto, utilizando-se de anestésico inalatório (Isoflurano 2 – 2,5% - 2l/min de O₂) para a realização do implante de cânulas femorais. Em seguida, realizou-se a tricotomia da região inguinal e do dorso, seguida de assepsia destes locais com PVPI degermante. Através de uma pequena incisão na região inguinal, o trígono femoral foi exposto, os vasos femorais identificados e separados do nervo femoral. Um cateter de polietileno (PE-10 Clay Adams, Parsippany, NJ, EUA) de aproximadamente quatro centímetros (soldado por aquecimento a um tubo de PE-50 de 13 a 14 cm dependendo do tamanho do animal) foi introduzido na artéria femoral, até alcançar a aorta abdominal. A fim de garantir a não oclusão do cateter (formação de trombo) após a inserção na artéria femoral, o mesmo foi preenchido com solução de salina heparinizada (125 UI/mL). Após a introdução do cateter na artéria, este foi passado pelo tecido subcutâneo do animal, com o auxílio de um pequeno tubo de metal (trocáter), até a sua exteriorização na região interescapular. Terminado o procedimento, os locais de incisão foram suturados.

Os animais foram submetidos a um período de recuperação por 48hs antes do início dos procedimentos experimentais. No momento do registro a extremidade do cateter foi conectada ao sistema de aquisição de dados para obtenção dos sinais de PA e FC.

3.6.3 - Cuidados pós-operatórios

Após as cirurgias, os animais receberam injeção *s.c.* de cetoprofeno (Ketoflex®) e uma dose profilática de penicilina (Pentabiótico Veterinário - Fort Dodge, São Paulo, Brasil) para prevenção de infecções e inflamações. Os ratos foram alocados em gaiolas individuais e mantidos sobre manta térmica até a passagem completa do efeito do anestésico, a fim de evitar hipotermia (apenas após o procedimento de implante de cânulas-guia). Posteriormente, os animais foram mantidos na sala de experimentos sob condições de temperatura, luminosidade e níveis de ruído controlados, com dieta de acordo com o protocolo previamente estabelecido e água *ad libitum*.

3.7 - Registro dos parâmetros cardiovasculares

Para obtenção do registro dos parâmetros cardiovasculares, a cânula inserida na artéria femoral dos ratos foi conectada a um transdutor, que ligado a um sistema de aquisição de dados Power Lab 4/20 (ADInstruments) possibilitou o registro da pressão arterial pulsátil (PAP). As oscilações de pressão captadas foram amplificadas e convertidas em sinais enviados a uma placa de aquisição de dados, através de uma placa de conversão analógico/digital. O software de leitura Chart 7 for Windows realizou uma coleta contínua da PAP, calculando a partir desta, os valores de FC e pressão arterial média (PAM).

3.8 - Procedimentos das Microinjeções

Para a microinjeção de salina, muscimol ou BMI foram utilizadas cânulas injetoras de 16mm conectadas a um tubo de polietileno (Norton, 0.010) e a uma seringa Hamilton de 10 μ L preenchida com água deionizada. O polietileno foi preenchido com a salina, muscimol ou BMI, e entre a água deionizada e a substância contida no polietileno formou-se uma pequena bolha. A cânula injetora foi introduzida na cânula-guia e 100nl de salina, muscimol (100pmol) ou BMI (10pmol) foram injetados. Durante a administração das substâncias, o movimento descendente da bolha de ar indicou o sucesso da microinjeção. Após a retirada da cânula injetora a mesma foi testada, para verificar possíveis obstruções.

3.9 - Procedimentos Experimentais

Conforme a figura 3 temos o o resumo do delineamento experimental ao qual os grupos controle e dieta hiperlipídica foram submetidos.

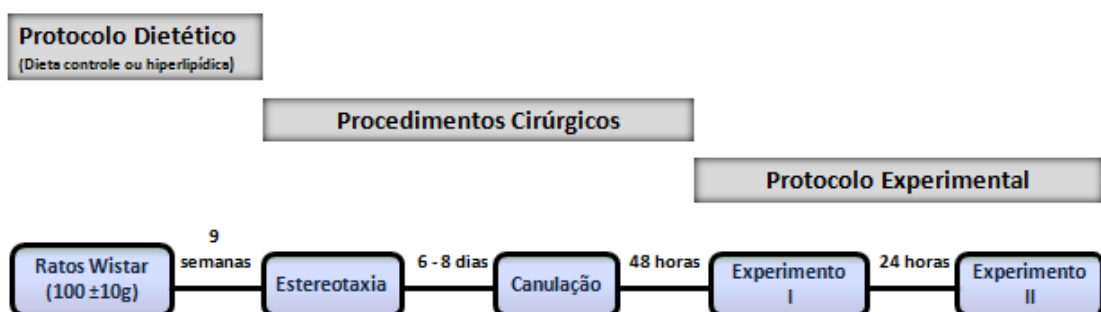


Figura 3: Delineamento Experimental. Protocolo dietético, procedimentos cirúrgicos e protocolo experimental.

Após as 9 semanas de protocolo dietéticos os animais eram submetidos à estereotaxia (6 a 8 dias) e implante de cânulas-guia (24 horas) antes do experimento.

3.9.1 - A obesidade induzida pela dieta e/ou o isolamento social altera a reatividade a fatores estressores em ratos submetidos à inibição química (Muscimol) do DMH seguida de estresse por jato de ar.

Com o propósito de verificar se a obesidade induzida pela dieta e/ou o isolamento social potencializava a reatividade a fatores estressores em ratos submetidos a inibição química do DMH seguida de estresse por jato de ar foi realizado o seguinte protocolo (figura 4):

Experimento:

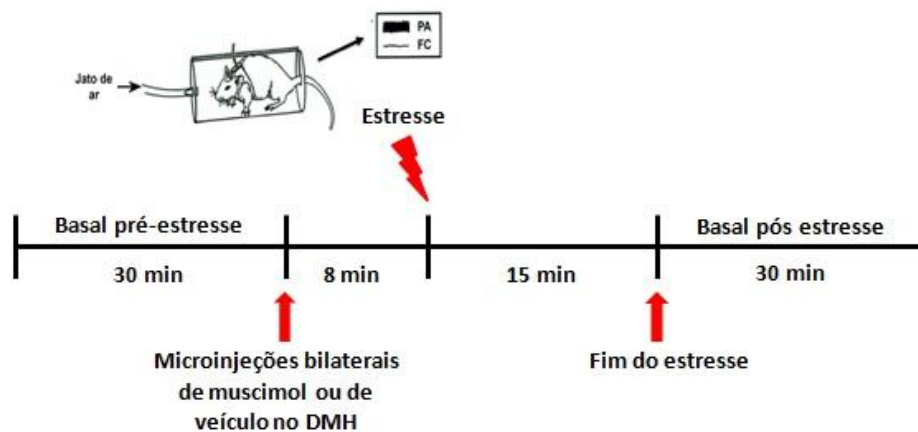


Figura 4: Escala temporal do protocolo experimental para a avaliação da inibição química do DMH por microinjeção de Muscimol seguida por estresse de jato de ar sobre os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC). Os animais foram submetidos a microinjeção bilateral de veículo (100nL de salina) e/ou muscimol (100pmol/100nl) em dias consecutivos). Os experimentos iniciaram somente após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por no mínimo 30 min.

Após o início do registro, acompanhamos a estabilização dos parâmetros cardiovasculares do animal, por um período de 30 minutos ou mais, se necessário (basal pré-estresse). Em seguida, procedemos a microinjeção de veículo ou muscimol (no primeiro dia – Experimento I). Seguidos 8 minutos, o animal foi submetido ao estresse por jato de ar por 15 minutos como descrito anteriormente. Ao final do estresse, o animal seguiu por mais 30 minutos de registro para recuperação dos parâmetros cardiovasculares (basal pós-estresse).

É importante salientar que o animal que recebeu a microinjeção de salina no primeiro dia, recebeu a microinjeção de muscimol no segundo dia (Experimento II) conforme explicado anteriormente.

3.9.2 - A obesidade induzida pela dieta altera a reatividade cardiovascular induzida pela desinibição química do DMH.

Já para verificar a obesidade induzida por dieta potencializava a reatividade a fatores estressores em ratos submetidos a desinibição química do DMH pela BMI, foi realizado o seguinte procedimento experimental (figura 5):

Experimento:

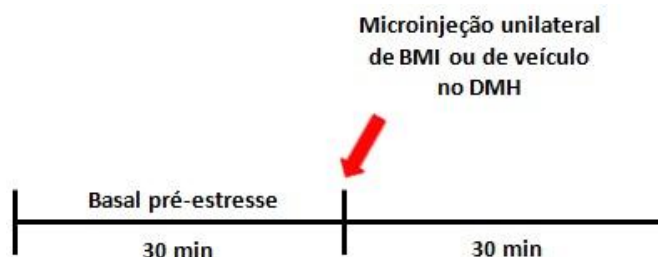


Figura 5: Escala temporal do protocolo experimental para a avaliação da inibição química do DMH por microinjeção de Muscimol seguida por estresse de jato de ar sobre os parâmetros cardiovasculares (PAM e FC). Os animais foram submetidos a microinjeção unilateral de veículo (100nL de salina) e/ou muscimol (10pmol/100nl) em dias consecutivos). Os experimentos iniciaram somente após a estabilização dos parâmetros cardiovasculares por no mínimo 30 min.

De maneira semelhante ao experimento anterior, no início do registro, acompanhamos a estabilização dos parâmetros cardiovasculares do animal, por um período de no mínimo 30 minutos (basal pré-estresse). Em seguida, procedemos a microinjeção de veículo ou BMI (no primeiro dia – Experimento I). Em seguida, o animal seguiu por mais 30 minutos de registro para recuperação dos parâmetros cardiovasculares.

É importante salientar que o animal que recebeu a microinjeção de salina no primeiro dia, recebeu a microinjeção de BMI no segundo dia (Experimento II) conforme explicado anteriormente.

3.10 - Procedimentos Histológicos

Ao término dos Protocolos Experimentais, injetamos 100 nL do corante Comassie blue (1 μ L, 2%), no sítio de microinjeção no DMH, para subsequente confirmação histológica. Anestesiámos os animais com o dobro da quantidade de solução de Ketamina + Xilazina (descrito no item 3.4), submetendo-os a uma toracotomia para a exposição do coração. Através de punção cardíaca, realizamos a perfusão com solução salina (0,9%), seguida de solução de paraformaldeído tamponado (4%). Posteriormente, retiramos e fixamos o cérebro em solução de formaldeído tamponado 4% por 48 horas. Após este período, os cérebros foram transferidos para uma solução de sacarose a 20% (diluído em água deionizada) permanecendo por 24 horas. Cortes coronais, na região do hipotálamo, com a espessura de 50 μ m foram obtidos com o auxílio de um Criostato (Leica CM 1850, Alemanha). Os cortes foram colocados em lâminas de histologia previamente gelatinizadas, corados com vermelho neutro (1%) e posteriormente examinados por microscopia óptica.

3.10 - Análises dos dados

Para a realização das análises de FC e PAM basais, calculamos as médias dos menores valores obtidos durante 5 minutos de cada período basal pré-estresse registrado de todos os animais que foram submetidos aos experimentos (mesmo aqueles que não obtivemos histologia positiva para as regiões de injeção).

No protocolo de inibição química do DMH (microinjeção de muscimol) seguido de estresse realizamos as análises de FC e PAM a cada 3 minutos considerando os 5 minutos antes do estresse, os 15 minutos de estresse e os 15 minutos seguintes pós-estresse. Foram utilizados os 3 primeiros minutos de estresse como pico e os 3 minutos finais do estresse para os cálculos dos deltas.

Já no protocolo de desinibição química (microinjeção de BMI), também, realizamos as análises de FC e PAM a cada 3 minutos considerando os 5 minutos antes da microinjeção (respostas semelhantes ao estresse) até os 20 minutos seguintes. Foram utilizados os 3 minutos de maior pico para o cálculo do delta de estresse e para o delta de recuperação os 3 minutos finais (dos 20 minutos registrados).

3.11 - Análises Estatísticas

Utilizamos o programa GraphPad Prism 5.00 (Graphpad Inc.) para as análises estatísticas. Utilizamos o teste t de Student - não pareado para análise das variáveis independentes, o teste t de Student – pareado para análise das variáveis dependentes, a análise de variância ANOVA One way e Two way para análise de mais de dois grupos sob influência de um (dieta) ou dois fatores (dieta e droga), respectivamente. Para ANOVA one way utilizamos pós-teste de Newman-Keuls para dados paramétricos e para dados não paramétricos utilizamos teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunns. Já para ANOVA two way utilizamos o pós-teste de Bonferroni para comparações entre os grupos veículo e muscimol/bicuculina em relação à dieta e para comparações entre os outros grupos veículo e muscimol/bicuculina, ou o teste t de Student pareado para as comparações dentro dos grupos dietas. Estabelecemos o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os resultados foram expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (Média \pm EPM).

4 - RESULTADOS

A partir desse momento, de acordo com os resultados a seguir, os animais DH passarão a ser chamados de obesos.

4.1 - Efeitos da dieta hiperlipídica e do isolamento social sobre o perfil nutricional e bioquímico

Decorrido um período de 9 semanas de protocolo dietético observamos, inicialmente, que os animais dos quatro grupos avaliados (CC, OC, CI e OI) apresentaram peso inicial semelhantes. No entanto, após esse período observamos que nos grupos coletivos (controle e obeso), a DH (45%Kcal de gordura) aumentou significativamente o peso final ($p=0,0003$), ganho de peso, índice de Lee, os tecidos adiposos brancos e marrom, bem como o IA ($p<0,0001$). Em relação aos grupos individuais (controle e obeso), a DH não alterou somente o índice de Lee. Adicionalmente, o isolamento social aumentou significativamente o peso final ($p=0,0003$), ganho de peso e índice de Lee ($p<0,0001$), apenas nos animais controle (Tabela 2).

Tabela 2: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o perfil nutricional de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | | P valor |
|-------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------------------|----------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | |
| Peso inicial (g) | 97,06 ± 2,09 | 102,00 ± 2,66 | 93,47 ± 1,71 | 99,10 ± 2,72 | 0,0887 |
| Peso final (g) | 283,4 ± 8,20 | 338,60 ± 7,94* | 316,4 ± 9,94** | 351,6 ± 7,33 [#] | 0,0003 |
| Ganho de Peso (g) | 186,3 ± 9,54 | 236,60 ± 7,09* | 223,00 ± 8,51** | 252,50 ± 7,10 [#] | < 0,0001 |
| Índice de Lee ^x | 0,27 ± 0,002 | 0,30 ± 0,002* | 0,29 ± 0,002** | 0,30 ± 0,003 | < 0,0001 |
| TAB Epididimal (g) | 2,06 ± 0,16 | 4,11 ± 0,34* | 2,34 ± 0,21 | 4,14 ± 0,24 [#] | < 0,0001 |
| TAB Retroperitoneal (g) | 2,28 ± 0,31 | 6,05 ± 0,92* | 2,43 ± 0,29 | 5,06 ± 0,57 [#] | < 0,0001 |
| TAB Inguinal (g) | 4,77 ± 0,45 | 9,52 ± 1,26* | 4,87 ± 0,34 | 8,30 ± 0,95 [#] | < 0,0001 |
| Índice de Adiposidade ^{xx} | 3,29 ± 0,26 | 5,83 ± 0,65* | 3,16 ± 0,19 | 5,09 ± 0,46 [#] | < 0,0001 |
| TAM (g) | 0,26 ± 0,02 | 0,45 ± 0,02* | 0,30 ± 0,02 | 0,46 ± 0,04 [#] | < 0,0001 |

Valores expressos em média ± EPM; n, número de animais por grupo, TAB (tecido adiposo branco) e TAM (tecido adiposo marrom).

^x [peso corporal final(g)]^{1/3} comprimento nasoanal (mm) x 10

^{xx}massa gorda (epididimal + retroperitoneal + inguinal) (g) /peso corporal final (g) x 100

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais; e ** dieta controle entre os grupos isolamento social) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls ($p<0,05$) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos ($p<0,05$).

Quanto ao perfil bioquímico, conforme a tabela 3, observamos que os animais dos quatro grupos avaliados (CC, OC, CI e OI) não apresentaram alteração nos níveis de glicose plasmática ($p=0,4782$). Entretanto, a DH reduziu os níveis de CT sérico ($p=0,006$), e aumentou significativamente os níveis de TAG sérico nos animais obesos tanto no grupo coletivo, quanto no individual. Porém, esse aumento foi maior nos animais obesos não submetidos ao isolamento (OC).

Tabela 3: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o perfil bioquímico de ratos Wistar por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | | P- valor |
|--------------------------|----------------|-------------------------------------|----------------|---------------------------|----------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | |
| Glicose (mg/dL) | 141,0 ± 3,46 | 151,0 ± 4,80 | 145,7 ± 4,35 | 143,1 ± 9,45 | 0,4782 |
| Colesterol Total (mg/dL) | 49,19 ± 1,10 | 38,13 ± 2,21* | 53,03 ± 1,88 | 42,61 ± 3,69 [#] | 0,0006 |
| Triacilglicerol (mg/dL) | 61,86 ± 2,96 | 115,1 ± 2,98* ^{##} (n = 8) | 67,22 ± 4,70 | 65,09 ± 3,86 [#] | 0,0004 |

Valores expressos em média ± EPM; n, número de animais por grupo.

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais; ^{##} dieta entre os grupos isolamento social) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls ($p<0,05$) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos ($p<0,05$).

Observamos que ambos os grupos OC e OI tiveram uma ingestão alimentar estimada significativamente menor do que os grupos CC e CI ($84,86 ± 2,07$; $n=9$ e $95,37 ± 2,78$; $n=8$ vs $141,50 ± 5,47$ e $147,2 ± 3,82$; $n=9$, $p< 0,0001$, respectivamente). Ressalta-se que a ingestão calórica do grupo OC foi significativamente diferente do grupo OI apenas na 6^a semana ($82,31 ± 2,54$; $n=9$ vs $104,82 ± 7,13$; $n=8$, $p< 0,01$ respectivamente).

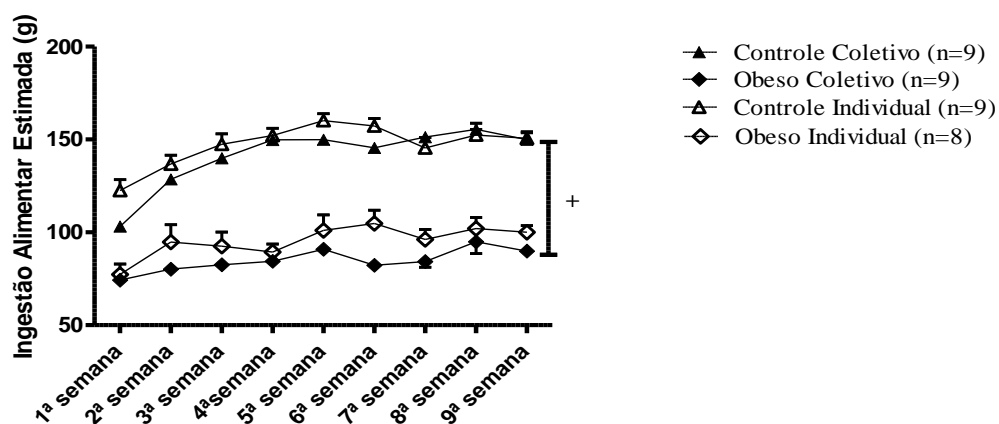


Figura 6: Ingestão alimentar estimada. Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão alimentar estimada (g) durante um período de 9 semanas. ⁺ Diferença estatística entre ambos os grupos controle em relação aos grupos obesos; ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Quanto a ingestão calórica (kcal/g) observamos um comportamento semelhante à ingestão alimentar em que ambos os grupos OC e OI seguiram um padrão de ingestão calórica significativamente menor do que os grupos CC e CI ($408,20 \pm 9,94$; $n=9$ e $458,70 \pm 13,39$; $n=8$ vs $540,60 \pm 20,51$, $556,60 \pm 14,44$; $n=9$ $p < 0,0001$, respectivamente). Ressalta-se que a ingestão calórica, assim como a ingestão alimentar estimada, do grupo OC foi significativamente diferente ao grupo OI, apenas na 6ª semana ($395,91 \pm 12,23$; $n=9$ vs $504,17 \pm 34,32$; $n=8$, $p < 0,01$ respectivamente).

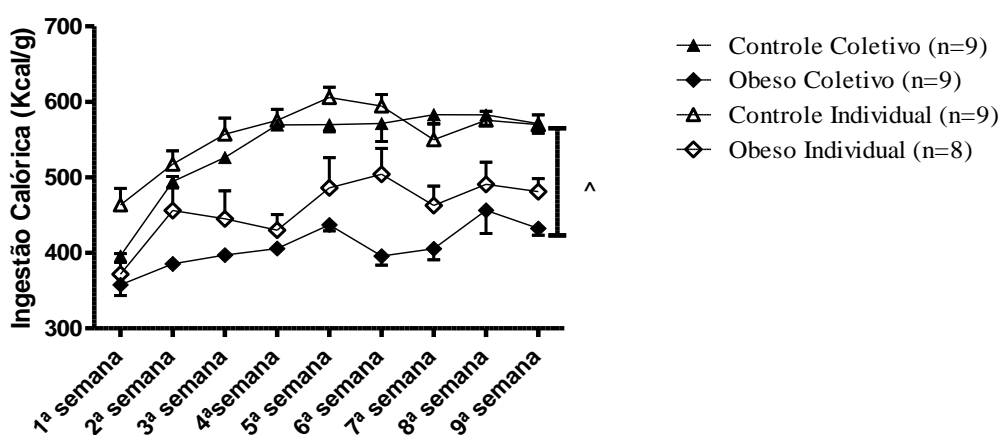


Figura 7: Ingestão calórica. Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão calórica (kcal/g) durante um período de 9 semanas. ^ Diferença estatística entre ambos os grupos controles em relação ao grupo obeso coletivo. ANOVA two way, pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

4.2 - Efeitos da obesidade induzida pela dieta e/ou do isolamento social na reatividade a fatores estressores em ratos e a participação dos neurônios do Hipotálamo Dorsomedial nessas respostas.

A obesidade aumentou significativamente os níveis basais de PAM ($p=0,0076$) e FC ($p=0,0153$) apenas nos animais do grupo coletivo, de acordo com a tabela 4.

Tabela 4: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre os parâmetros fisiológicos basais PAM e FC.

| | Coletivo | | P valor | Individual | | P valor |
|------------|---------------------|-------------------|---------|---------------------|-------------------|---------|
| | Controle (n =25) | Obeso (n = 28) | | Controle (n =13) | Obeso (n = 11) | |
| PAM (mmHg) | $109,1 \pm 1,2$ | $114,7 \pm 1,6^*$ | 0,0076 | $111,7 \pm 2,5$ | $117,1 \pm 1,9$ | 0,2025 |
| FC (bpm) | $370,3 \pm 7,6$ | $392,8 \pm 5,1^*$ | 0,0153 | $368,0 \pm 8,8$ | $383,7 \pm 11,5$ | 0,3247 |

Valores expressos em média \pm EPM; n , número de animais por grupo, PAM (pressão arterial média) e FC (frequência cardíaca). * Diferença estatística da dieta intra-grupos coletivos, teste t de Student não pareado ($p < 0,05$).

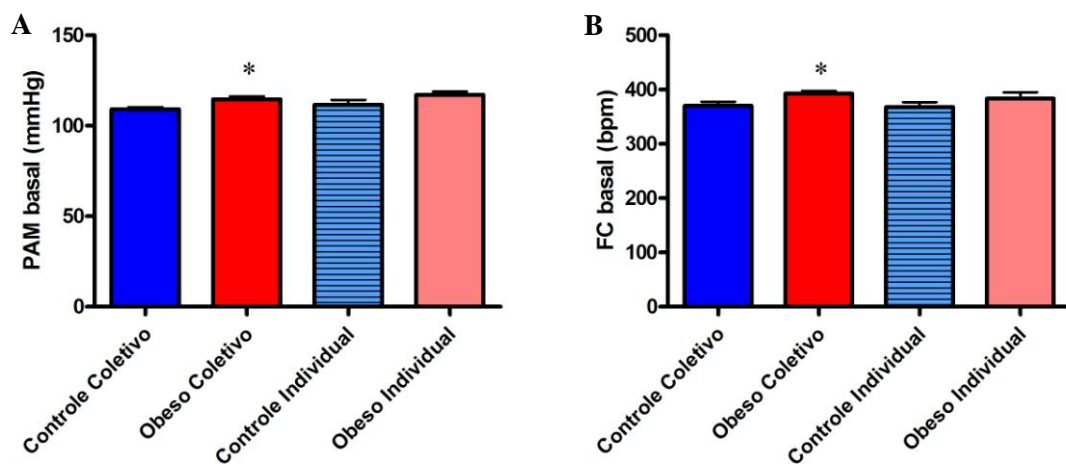


Figura 8: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre os parâmetros fisiológicos basais pressão arterial média - PAM (A) e frequência cardíaca - FC (B). * Diferença estatística da dieta intra-grupos coletivos, teste t de Student não pareado ($p < 0.05$).

4.2.1 - Grupo controle e obeso sem isolamento social (coletivo) submetidos à inibição química do DMH seguida de estresse por jato de ar.

De maneira representativa, a figura 9 ilustra os diferentes perfis de PAM antes, durante e após o estresse por jato de ar nos animais do grupo coletivo pré-tratados com veículo-salina ou muscimol, explorados detalhadamente na figura 10.

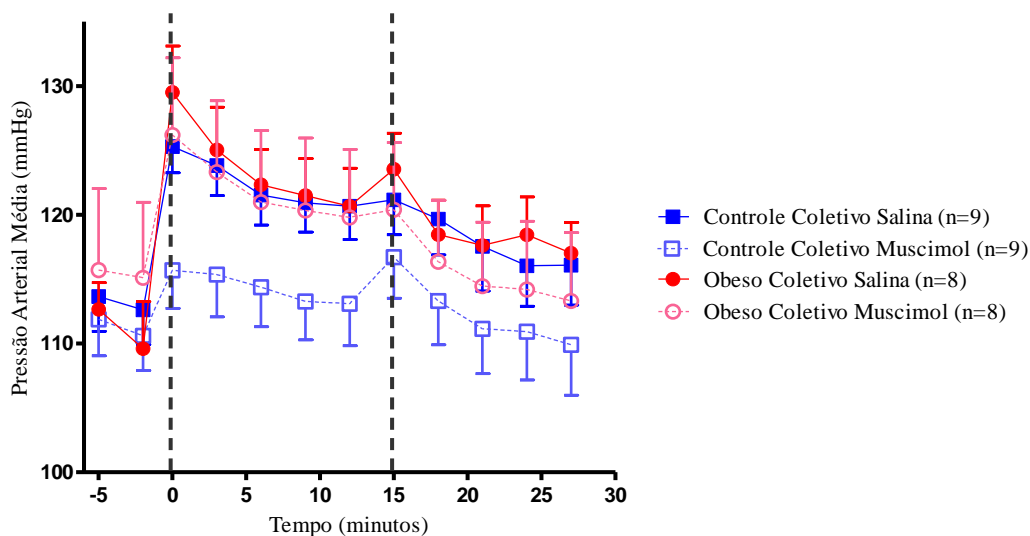


Figura 9: Níveis de pressão arterial média (mmHg) antes, durante (entre as linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 minutos) em ratos controle e obesos coletivos pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM.

Nos 3 minutos iniciais do estresse (Figura 10A), quando comparamos os grupos salina e muscimol controle e obeso, observamos uma maior variação da resposta pressora no grupo obeso em ambos os grupos tratamento ($12,2 \pm 1,2$ vs $18,4 \pm 2,4$ mmHg; $p < 0,05$) e

($4,4 \pm 1,4$ vs $10,8 \pm 1,1$ mmHg; $p < 0,05$). No entanto, a microinjeção de muscimol reduziu significativamente os aumentos de PAM, evocados pelo estresse por jato de ar, em relação à microinjeção de salina ($4,4 \pm 1,5$ vs $12,2 \pm 1,2$ mmHg; $p = 0,0075$) nos animais controle e nos obesos ($10,8 \pm 1,1$ vs $18,4 \pm 2,4$ mmHg; $p = 0,0592$).

Adicionalmente, nos 3 minutos finais do estresse (figura 10B), o muscimol reduziu significativamente os valores de PAM em relação à salina ($7,5 \pm 2,0$ vs $1,9 \pm 1,6$ mmHg; $p = 0,0413$) no grupo controle.

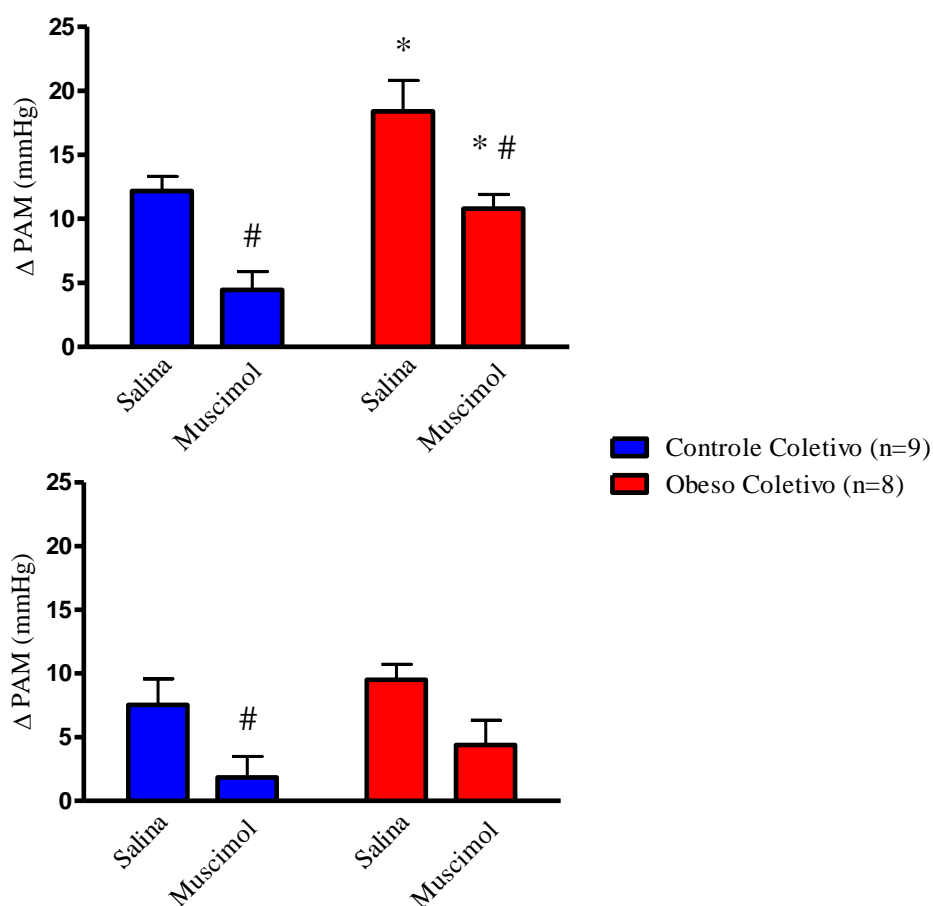


Figura 10: Alterações na pressão arterial média (PAM-mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados coletivamente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado ($p < 0,05$).

A figura 11 mostra os diferentes perfis de FC antes, durante e após o estresse por jato de ar nos animais do grupo coletivo pré-tratados com veículo-salina ou muscimol, explorados detalhadamente na figura 12.

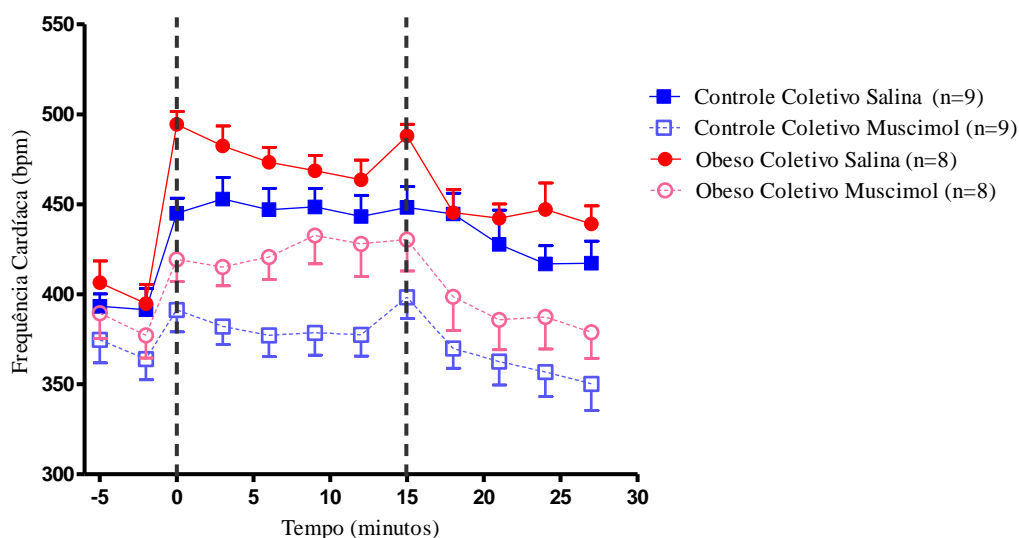


Figura 11: Níveis de frequência cardíaca (bpm) antes, durante (entre as linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 minutos) em ratos controle e obesos coletivos pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM.

Nos 3 minutos iniciais do estresse (Figura 12A), quando comparamos os grupos salina controle e obeso, observamos uma maior variação da resposta traquicárdica no grupo obeso ($52,7 \pm 7,8$ vs $93,8 \pm 9,9$ mmHg; $p < 0,01$). Além disso, a microinjeção de muscimol reduziu significativamente os aumentos de FC em relação à microinjeção de salina tanto nos animais controle ($22,0 \pm 9,2$ vs $52,7 \pm 7,8$ bpm; $p = 0,0141$), quanto nos obesos coletivos ($36,0 \pm 8,6$ vs $93,8 \pm 9,9$ bpm; $p = 0,0067$).

Já nos 3 minutos finais do estresse (Figura 12B), o muscimol reduziu significativamente os níveis desse parâmetro em relação à salina ($8,3 \pm 6,8$ vs $51,7 \pm 13,0$ bpm; $p = 0,0320$) apenas nos animais controle. Na presença da obesidade, o mesmo não foi capaz de reduzir os níveis desse parâmetro evocados pelo estresse por jato de ar ($45,2 \pm 15,1$ vs $62,9 \pm 10,5$ bpm; $p = 0,4394$). Tal resultado é enfatizado, quando comparamos os grupos muscimol controle e obeso, e observamos uma maior variação da resposta taquicárdica nesse último grupo ($8,3 \pm 6,8$ vs $45,2 \pm 15,1$ bpm; $p = 0,0350$).

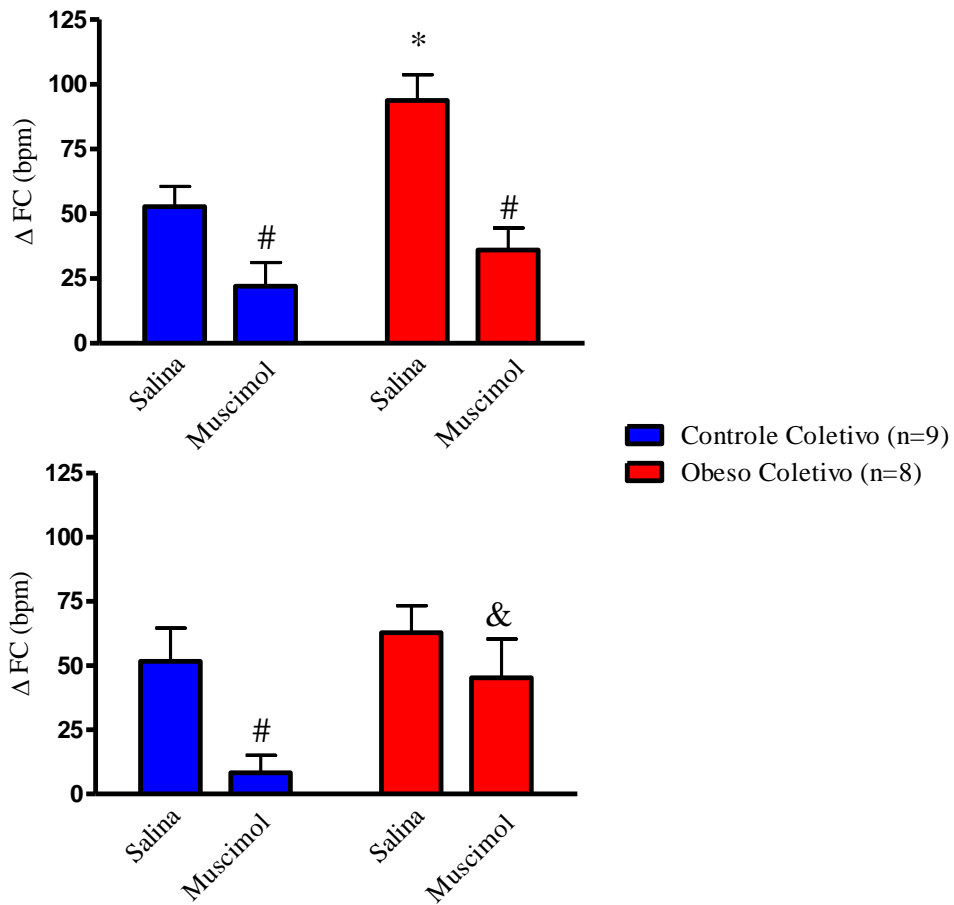


Figura 12: Alterações na frequência cardíaca (FC-bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados coletivamente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado ($p < 0,05$). & Diferença estatística da dieta entre os grupos muscimol, teste t de Student não pareado, ($p < 0,05$).

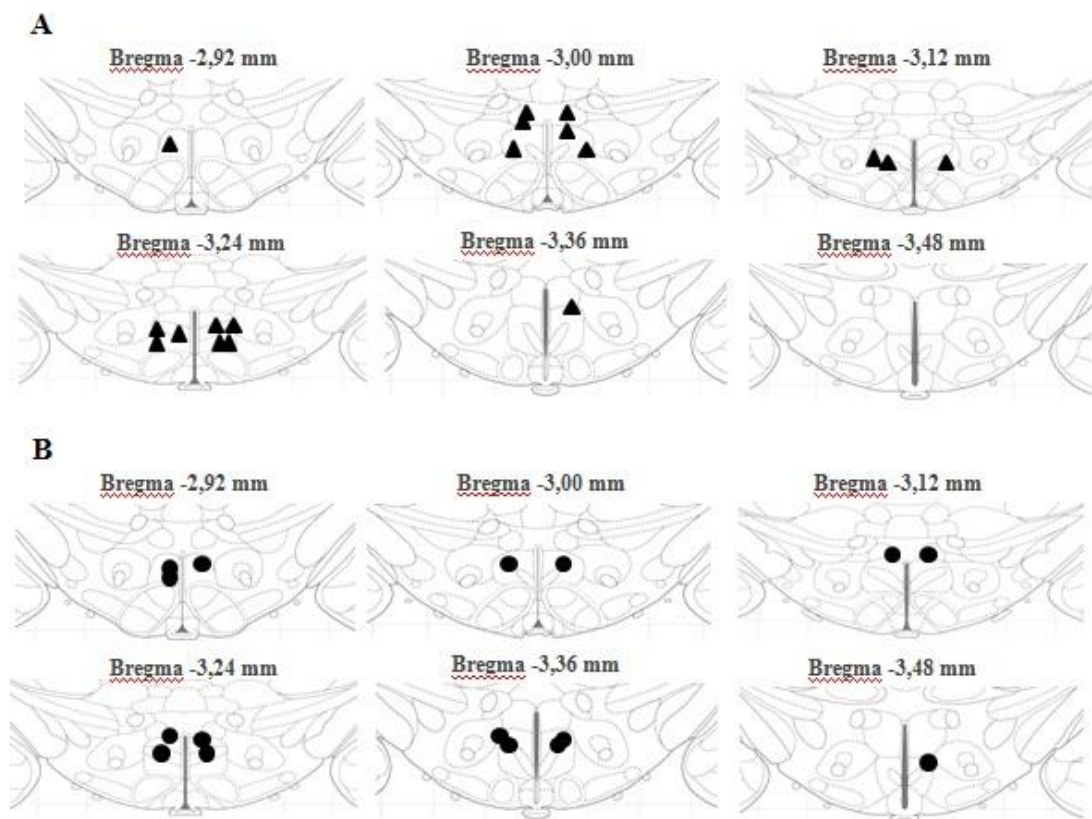


Figura 13: Representação esquemática dos cortes coronais do DMH mostrando os locais da microinjeção bilateral de salina e muscimol nos animais (A) controle (triângulo preto, n = 9) e (B) obeso (círculo preto, n = 8) coletivos. (ver também, Figura 23).

4.2.2 - Grupo controle e obeso em isolamento social (individual) submetidos à inibição química do DMH seguida de estresse por jato de ar.

De maneira ilustrativa, a figura 14 evidencia os diferentes perfis de PAM antes, durante e após o estresse por jato de ar nos animais dos grupos individuais pré-tratados com veículo-salina e muscimol, analisados detalhadamente na figura 15.

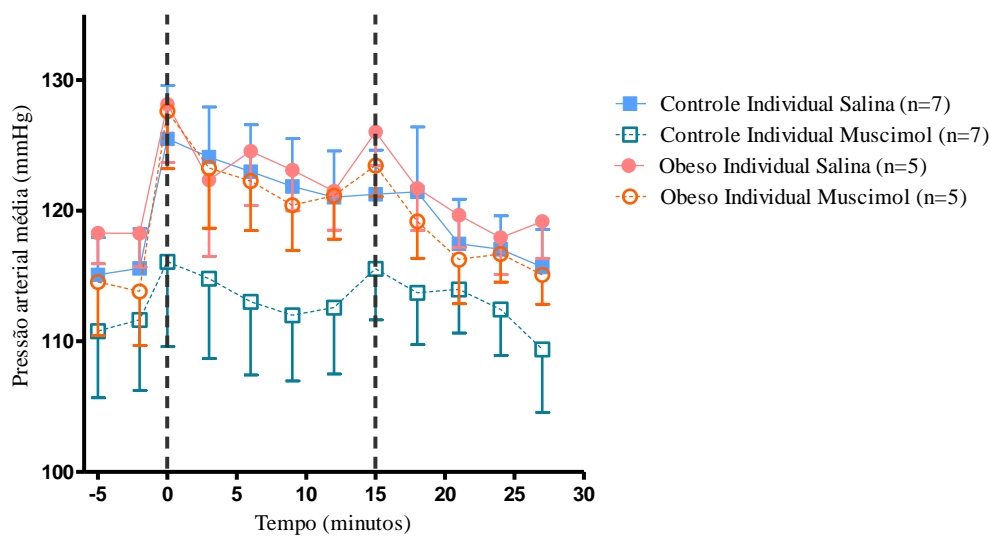


Figura 14: Níveis de pressão arterial média (mmHg) antes, durante (entre as linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 min) em ratos controle e obeso individuais pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM.

Surpreendente, nos 3 minutos iniciais (Figura 15A) e finais do estresse (figura 15B), a microinjeção de muscimol não reduziu significativamente as alterações de PAM em relação à microinjeção de salina, tanto nos animais controle ($p=0,2209$ e $p=0,2342$), quanto nos obesos individuais ($p=0,5314$ e $0,1888$).

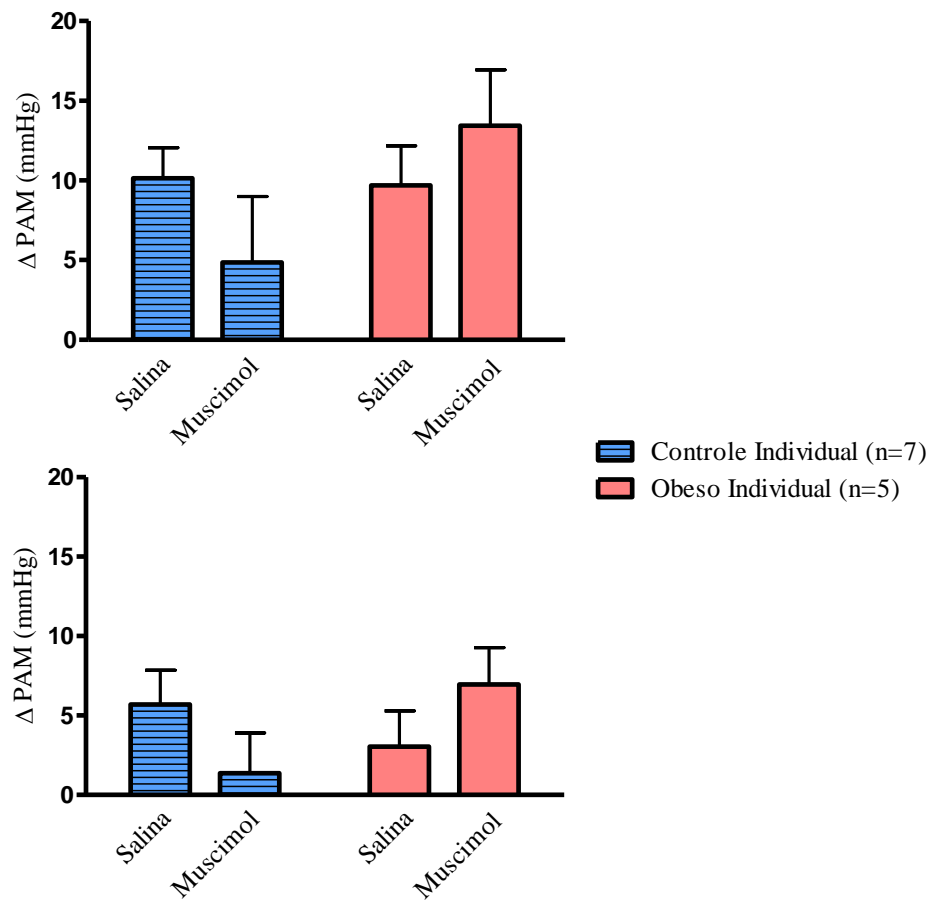


Figura 15: Mudanças na pressão arterial média (PAM-mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obeso, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p < 0,05$).

A figura 16 ilustra os diferentes perfis de FC antes, durante e após o estresse por jato de ar nos animais dos grupos individuais pré-tratados com veículo-salina e muscimol, explorados minuciosamente na figura 17.

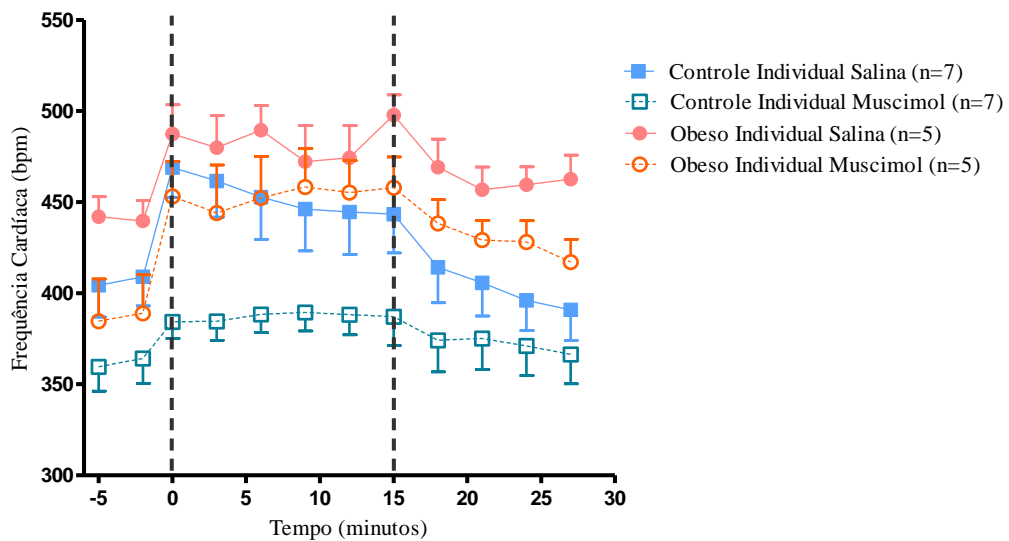


Figura 16: Níveis de frequência cardíaca (bpm) antes, durante (entre linhas tracejadas) e após o estresse por jato de ar (15 minutos) em ratos controle e obesos individuais pré-tratados com veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM.

No início do estresse (Figura 17A), a microinjeção de muscimol reduziu significativamente os aumentos de FC em relação à microinjeção de salina nos animais controle individuais ($22,5 \pm 11,2$ vs $62,4 \pm 10,6$ bpm; $p= 0,0469$). Porém, aumentou esse parâmetro nos obesos individuais ($66,3 \pm 12,6$ vs $46,4 \pm 9,2$ bpm; $p= 0,0423$). Tal resultado é melhor compreendido quando comparamos os grupos muscimol controle e obeso individuais, e observamos uma elevação expressiva da resposta taquicárdica nesse último grupo ($22,5 \pm 11,2$ vs $66,3 \pm 12,6$ bpm; $p<0,05$).

Já nos 3 minutos finais do estresse (Figura 17B), não observamos nenhuma diferença nos níveis de FC tanto no grupo controle quanto no grupo obeso após ambos os tratamentos ($p=0,6502$ e $p=0,1888$).

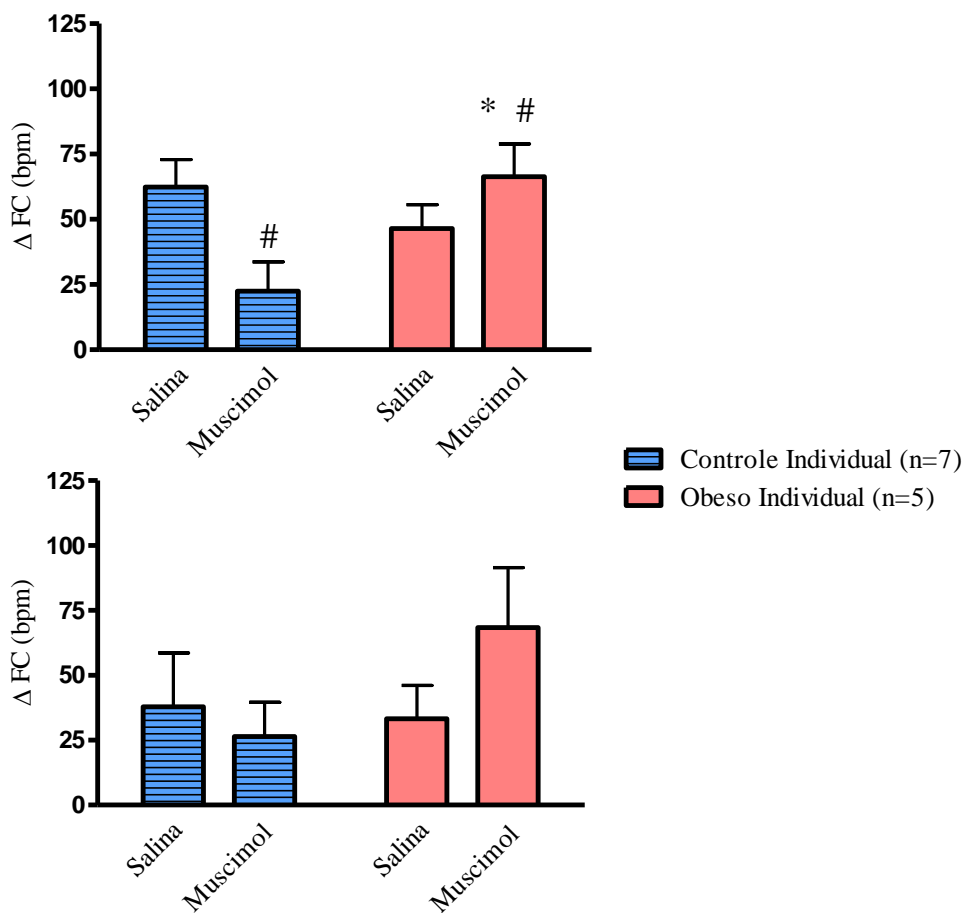


Figura 17: Alterações na frequência cardíaca (FC-bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) ou muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. (A) Delta dos 3 minutos iniciais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta dos 3 minutos finais de estresse em relação aos 5 minutos pré-estresse. *Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle individual, teste t de Student pareado ($p < 0,05$).

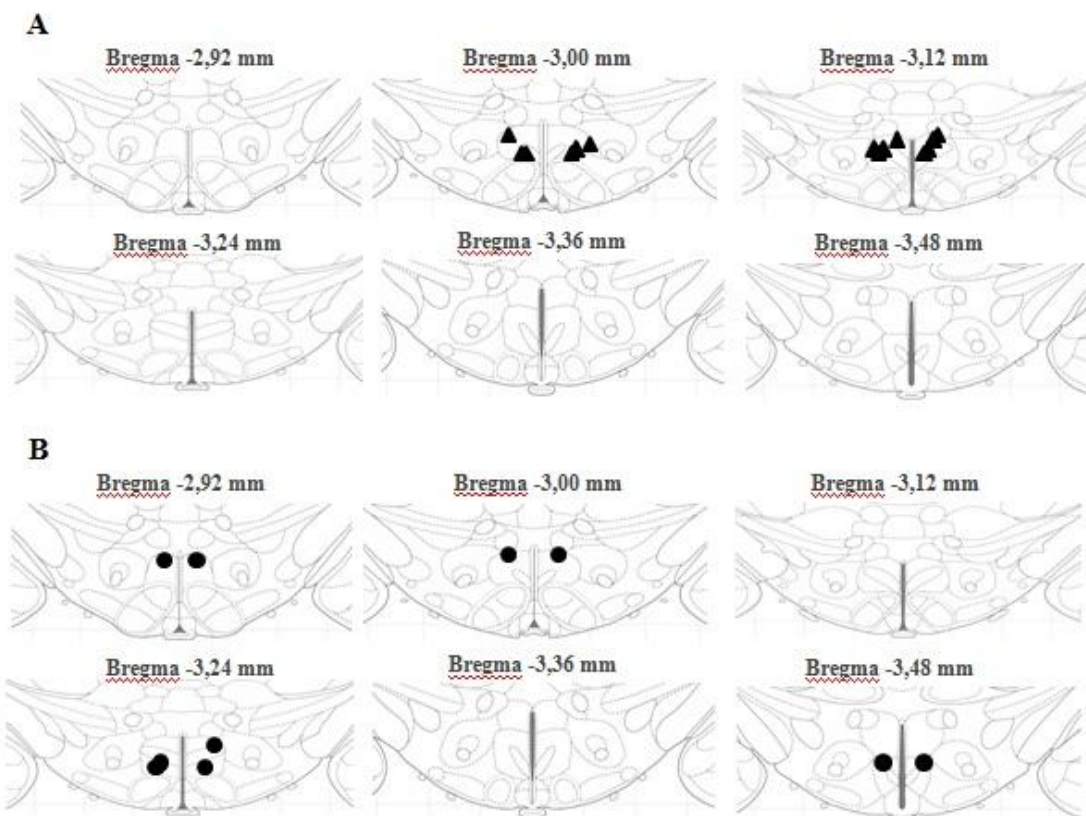


Figura 18: Representação esquemática dos cortes coronais do DMH mostrando os locais da microinjeção bilateral de salina e muscimol nos animais (A) controle (triângulo preto n = 9) e (B) obeso (círculo preto n = 9) individuais. (ver também Figura 24).

4.2.3 - Grupos controle e obeso (coletivo) submetidos à desinibição química do DMH.

Do mesmo modo, ilustramos os diferentes perfis de PAM antes e após o pré-tratamento com veículo-salina e bicuculina no DMH em dias consecutivos (Figura 19), explorados detalhadamente na figura 20. É importante ressaltar que a obesidade aumenta os valores de PAM já nos 5 minutos anteriores a microinjeção de salina ($106,7 \pm 2,8$ vs $120,2 \pm 3,6$ mmHg; $p= 0,0145$) e bicuculina ($107,7 \pm 2,6$ vs $117,7 \pm 2,2$ mmHg; $p=0,0143$).

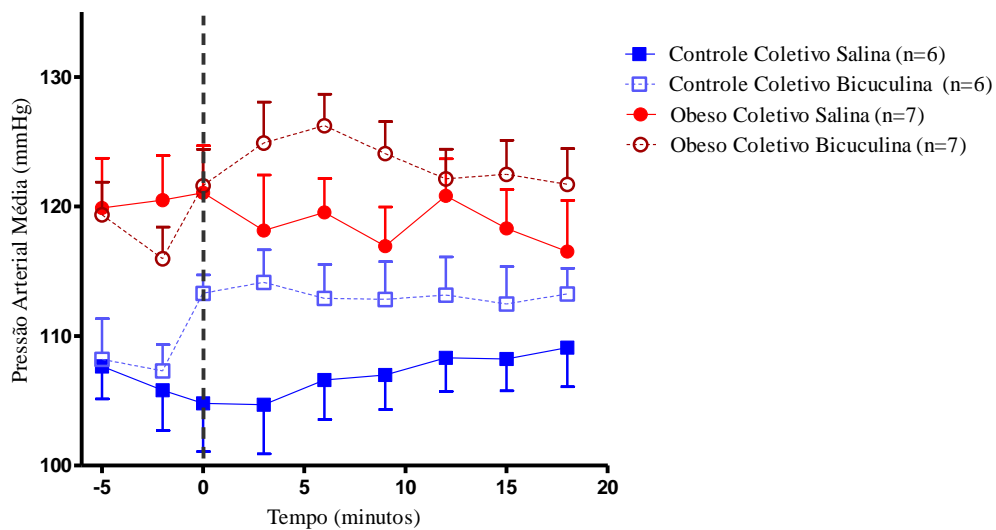


Figura 19: Níveis de pressão arterial média (mmHg) antes e após pré-tratamento (20 minutos) com veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM.

Abaixo (Figura 20A), observamos um aumento significativo do pico de resposta de PAM mediados pela injeção de bicuculina quando comparada à salina, em ambos os grupos (controle coletivo: $8,5 \pm 3,5$ vs $-1,8 \pm 1,1$ mmHg; $p=0,0446$ e obeso coletivo: $9,1 \pm 2,7$ vs $-2,1 \pm 2,4$ mmHg; $p=0,0434$). Entretanto, a análise da alteração de PAM nos 3 minutos finais (Figura 20B) não evidenciou diferença nos níveis de PAM, tanto no grupo controle quanto no grupo obeso após ambos os tratamentos ($p=0,3884$ e $p=0,0610$).

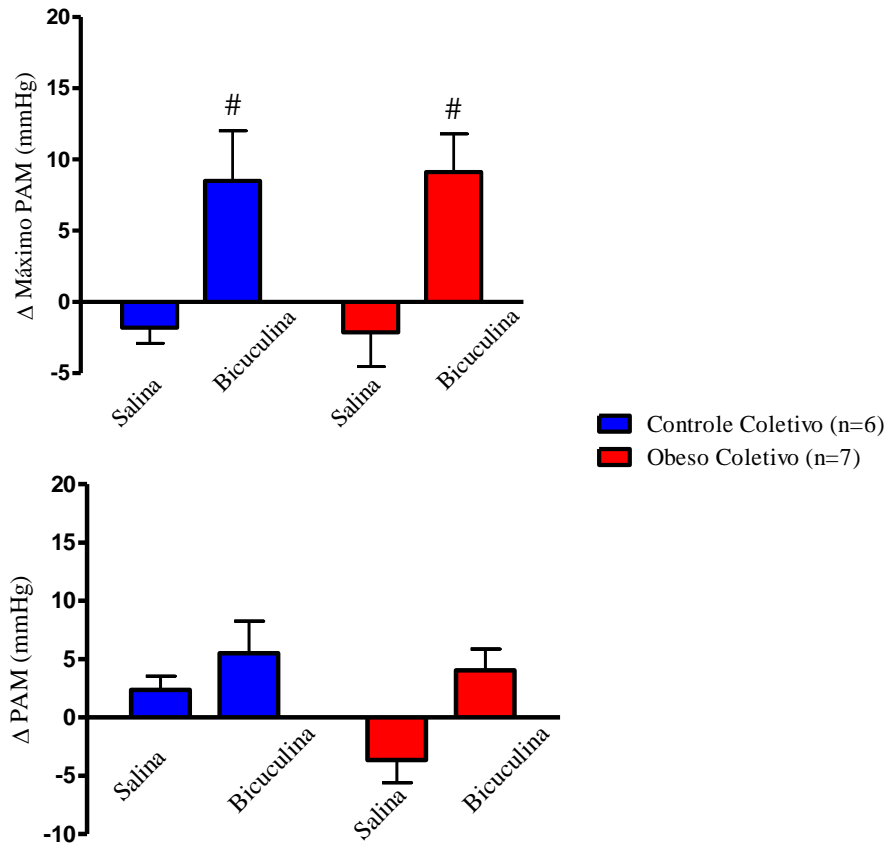


Figura 20: Pressão arterial média (PAM-mmHg) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos em ratos controle e obesos, criados coletivamente. (A) Delta máximo de 3 minutos após bicuculina em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta de recuperação nos 3 minutos finais após bicuculina em relação aos 5 minutos pré-microinjeção. *Diferença estatística entre os grupos bicuculina em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p < 0,05$).

A Figura 21 evidencia os diferentes perfis de FC antes e após o pré-tratamento com veículo-salina e bicuculina no DMH em dias consecutivos, pormenorizados na figura 22.

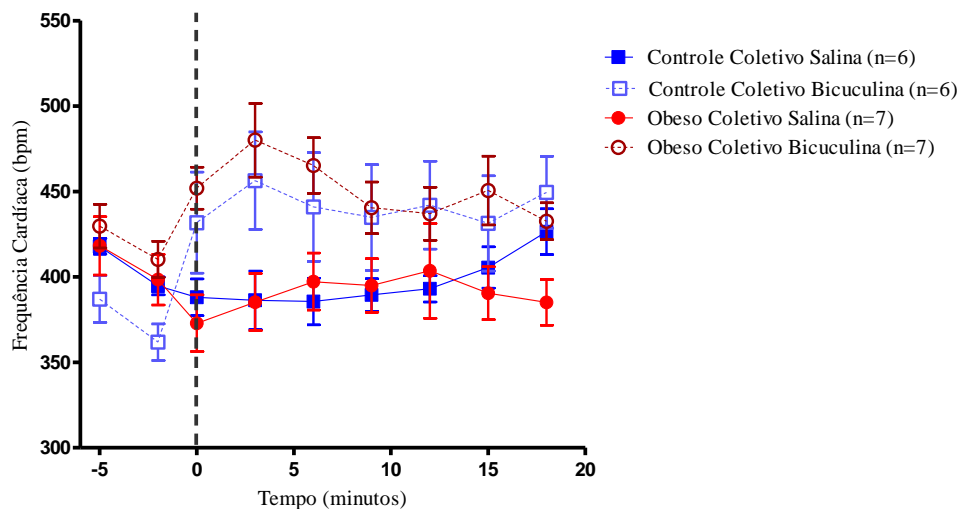


Figura 21: Níveis de frequência cardíaca (bpm) antes e após pré-tratamento (20 minutos) com veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos. Os símbolos representam média \pm EPM.

Na figura 22A, observamos um aumento significativo das alterações máximas de FC mediados pela injeção de bicuculina quando comparada à salina, em ambos os grupos (controle: $92,6 \pm 28,4$ vs $-24,6 \pm 10,0$ bpm; $p=0,0239$ obeso: $75,4 \pm 13,5$ vs $-28,3 \pm 8,2$ bpm; $p=0,002$). Entretanto, a análise de delta FC nos 3 minutos finais (Figura 22B) evidenciou que a bicuculina induz um aumento significativo desse parâmetro em ambos os grupos (controle: $75,1 \pm 25,5$ vs $20,1 \pm 16,3$ bpm; $p=0,0271$ e obeso: $12,7 \pm 4,4$ vs $-23,2 \pm 11,4$ bpm; $p=0,0423$). Porém, tal aumento possui menor amplitude na presença da obesidade ($12,7 \pm 4,4$ vs $75,1 \pm 25,5$ bpm; $p<0,05$).

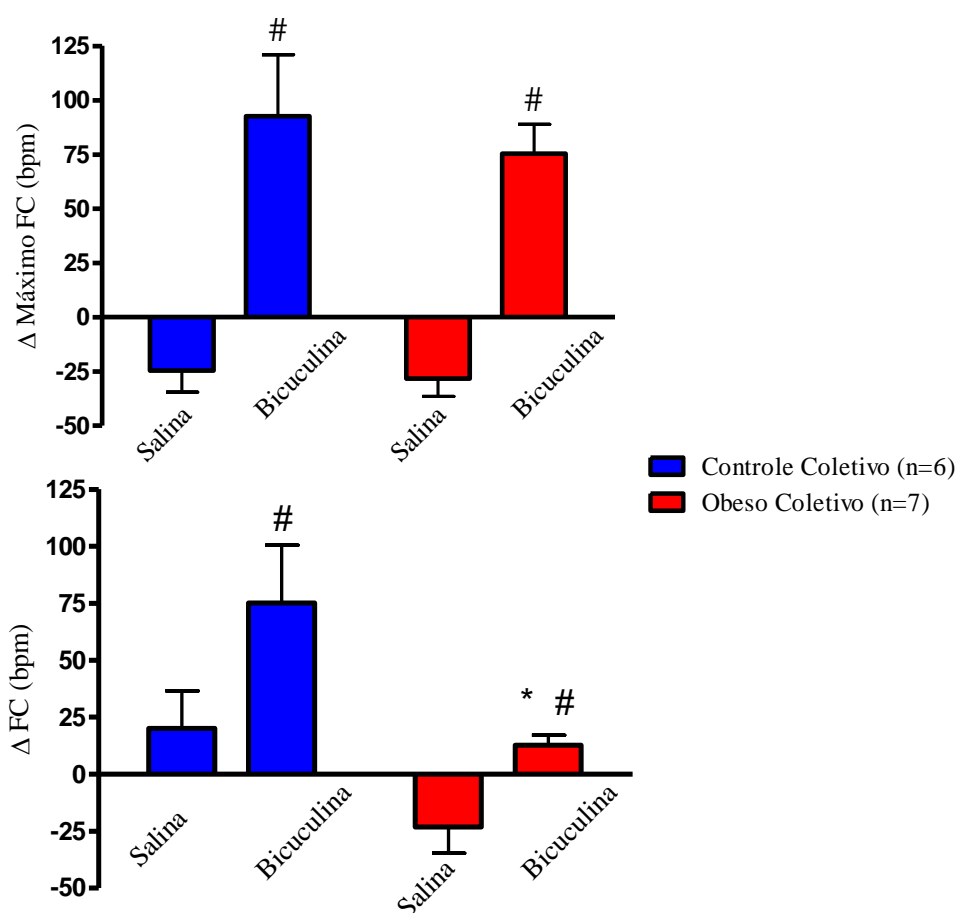


Figura 22: Frequência cardíaca (FC bpm) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina (10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos em ratos controle e obesos, criados coletivamente. (A) Delta máximo de 3 minutos após bicuculina em relação aos 5 minutos pré-estresse e (B) Delta de recuperação nos 3 minutos finais após bicuculina em relação aos 5 minutos pré-microinjeção. *Diferença estatística entre os grupos bicuculina em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p<0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p<0,05$).



Figura 23: Representação esquemática dos cortes coronais do DMH mostrando os locais da microinjeção unilateral de salina e bicuculina nos animais (A) controle (triângulo preto n = 9) e (B) obesos (círculo preto n = 9) coletivos. (ver também, Figura 25).

5 - DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que a DH foi eficiente em induzir obesidade dietética a qual aumentou os níveis de PAM e FC basais nos grupos coletivos. Além disso, a obesidade potencializou a responsividade ao estresse, evidenciado pela maior variação da resposta pressora e taquicárdica quando comparada com o grupo controle. Aliás, apesar da microinjeção de muscimol ter reduzido ambas respostas nos grupos dieta, promoveu menor redução da PAM frente a obesidade e, no período de recuperação, demonstrou-se ineficiente (não reduziu PAM e FC). Dessa forma os nossos resultados mostram que a obesidade induz alterações neuronais, reduzindo a atividade Gabaérgica, no DMH levando a um aumento na resposta cardiovascular ao estresse.

Já em ambos os grupos individual, a microinjeção de muscimol não foi eficiente em reduzir a PAM durante todo o período de estresse, porém, surpreendentemente, aumentou a resposta de FC ao estresse no grupo obeso.

Ao avaliarmos os efeitos da microinjeção de bicuculina no DMH vimos que a mesma induziu aumento da PAM e FC em ambos os grupos. Contudo, a obesidade alterou a resposta taquicárdica à bicuculina evidenciada por aumento dos parâmetros cardiovasculares de curta duração.

Diferentes modelos experimentais têm sido estudados com o intuito de auxiliar na compreensão da fisiopatologia da obesidade. Dietas hipercalóricas (*e.g.*: hiperlipídicas) têm sido comumente utilizadas em ensaios experimentais de obesidade, visando mimetizar efeitos orgânicos associados à adiposidade (Boustany, Brown *et al.*, 2005; Du Toit, Nabben *et al.*, 2005; Carroll, Zenebe *et al.*, 2006). Neste trabalho, a DH (45% kcal de gordura), utilizada no modelo rato pós- desmame (100 ± 10 g) por um período de 9 semanas, mostrou-se eficiente em induzir obesidade dietética experimental, enfatizando a importância do tipo de alimentação neste período sobre a composição e distribuição corporal dos depósitos adiposos (Ozanne e Hales, 2004).

Em humanos, um dos critérios utilizados para definir obesidade é o índice de massa corporal (IMC, relação entre a altura ao quadrado e o peso corpóreo). Entretanto, este critério não é válido para modelos experimentais (Thibault *et al.*, 2004). Assim, alguns dos critérios utilizados para a determinação de obesidade em animais de laboratório levam em consideração os depósitos de gordura visceral e subcutânea (Woods *et al.*, 2003; Thibault *et al.*, 2004; Dourmashkin *et al.*, 2005), gordura corporal total (Woods *et al.*, 2003; Levin *et al.*, 2003, Thibault *et al.*, 2004) e também o peso corporal (Woods *et al.*, 2003).

Entretanto, alguns estudos mostram que o peso corporal pode não ser um bom indicador de classificação de obesidade em animais (Nascimento *et al.*, 2008; Woods *et al.*, 2003). Nesse estudo, os ratos com dieta rica em gordura desenvolveram obesidade caracterizada pelo aumento no peso corporal final e na massa de tecido adiposo (representada pelo índice de adiposidade) a qual levou em consideração a soma de três depósitos de gordura, a saber, visceral, epididimal e retroperitoneal.

Observamos um aumento do peso corporal, índice de Lee e do IA e dos demais parâmetros avaliados em todos os animais obesos dos grupos coletivo e individual, exceto para o índice de Lee desse último grupo. É importante ressaltar que, embora não tenhamos encontrado diferença estatística no índice de Lee do grupo individual, podemos considerar os animais que receberam DH como obesos, uma vez que, que por se tratar de um parâmetro biométrico que indica o estado nutricional do animal (Lee, 1929), ele é considerado por alguns autores inapropriado por não se correlacionar adequadamente com a gordura corporal de ratos normais, pois o comprimento naso-anal é insatisfatório para estimar a massa livre de gordura em animais de mesma idade e de mesma história nutricional (Stephens, 1980). Ademais, assim como no grupo coletivo, foi observado aumento significativo da adiposidade central (retroperitoneal) e visceral (epididimal) decorrente do consumo da dieta. Esses dados são compatíveis aos encontrados por Estadella *et al.* (2004), comprovando a eficiência da DH em gerar a obesidade exógena em ratos (Estadella, Oyama *et al.*, 2004).

A DH diminuiu a ingestão de calorias (kcal), para o mesmo consumo alimentar (gramas), não caracterizando a hiperfagia. Tais resultados corroboram aos achados de Kretschmer *et al.* (2005) que relataram uma redução no consumo de ração em animais submetidos à dieta rica em gordura, demonstrando que a obesidade pode ocorrer mesmo sem hiperfagia (Kretschmer, Schelling *et al.*, 2005). E, embora o grupo obeso, também, tenha ingerido menos comida, o maior ganho de peso exibido por esses animais ocorreu muito provavelmente devido à eficiência da alimentação em relação aos controles. Provavelmente, a discrepância entre os resultados de diferentes trabalhos encontrados na literatura se deve ao tempo de manutenção dos ratos na referida dieta, bem como ao momento do início do tratamento (Kusunoki, Storlien *et al.*, 1993; Kim, Youn *et al.*, 2000).

Vale ressaltar que, ainda sobre o perfil nutricional encontramos um aumento do TAM em ambos os grupos obesos. É bem estabelecido pela literatura que, em animais de laboratório, o oferecimento de dietas de cafeteria em longo prazo é acompanhado pela hiperplasia do TAM e aumento da expressão de UCP1 (Puigserver, Llado *et al.*, 1991;

Roca, Rodriguez et al., 1999), e também de UCP2 (Roca, Rodriguez et al., 1999) no TAB, uma resposta que confere uma relativa proteção contra a obesidade (Rothwell e Stock, 1979). Estudos apontam que a indução de UCP1 no TAM é um marcador de termogênese em roedores e é muitas vezes utilizado como indicador de dispêndio de energia, e que DH aumenta os níveis de proteína UCP1 em ratos jovens (Wilsey, Zolotukhin et al., 2003; Zhang, Matheny et al., 2007).

Quanto ao perfil bioquímico a glicemia dos ratos dos grupos obesos, em relação às grupos controle não apresentou valores estatisticamente diferentes. Estes resultados estão em concordância com o estudo de Estadella et al. (Estadella, Oyama et al., 2004), mas discordam daqueles obtidos por Bernardes et al. (2004) e Cheik (2005), que registraram ocorrência de hiperglicemias em ratos tratados com dieta hiperlipídica (Bernardes, Manzoni et al., 2004; Cheik, 2005). Todavia, todos os estudos que tiveram como resultados a hiperglicemia foram desenvolvidos em ratos alimentados. Embora os níveis de CT e TAG séricos estejam estatisticamente diminuídos nos grupos obesos, os mesmos não apresentam alterados quando nos baseamos nos valores de referência para ratos (CT: 10-54 mg/dL; (Mitruka e Rawnsley, 1981) e TAG: 26-145 mg/dL ; (Melby Jr. e Altaman, 1977).

A obesidade aumentou os níveis basais de PAM e FC dos animais do grupo coletivo, o que está em conformidade com estudos de Oliveira Júnior *et al.* (Oliveira Júnior, Oloshi *et al.*, 2009). Com exceção de alguns estudos, poucos são os dados abordando possíveis efeitos da obesidade sobre as respostas cardiovasculares adaptativas ao estresse. Dentre estes efeitos foram descritos: recuperação tardia da frequência cardíaca e da pressão diastólica pós-estresse em mulheres obesas (Benson *et al.*, 2009) e ratos espontaneamente hipertensos (Sedova *et al.*, 2004); e aumento da atividade do nervo simpático muscular e da resistência vascular durante o estresse mental em indivíduos obesos (Kuniyoshi *et al.*, 2003). Além disso, a obesidade foi capaz de potencializar a responsividade ao estresse, evidenciado pela maior variação da resposta pressora e taquicárdica no grupo salina e apenas pressora no grupo muscimol. O que sugere que a obesidade pode alterar significativamente o impacto de experiências estressogênicas sobre o sistema cardiovascular.

Estudos demonstraram que a microinjeção do inibidor neuronal muscimol (agonista do receptor GABA_A) reduz as respostas cardiovasculares (taquicardia e hipertensão) produzidas durante o estresse agudo (Soltis e Dimicco, 1992; Stotz-Potter, Morin *et al.*, 1996; Stotz-Potter; Dimicco, Samuels *et al.*, 2002). Animais que receberam microinjeção de muscimol no DMH e foram, posteriormente, submetidos ao estresse por jato de ar

apresentaram atenuação da resposta pressora e taquicárdica em 68 e 85% respectivamente (Stotz-Potter, Morin *et al.*, 1996). No entanto, em nosso estudo, apesar da microinjeção de muscimol ter reduzido as respostas pressora e taquicárdica nos grupos dieta (controle e obeso), frente à obesidade a mesma promoveu menor redução de PAM. Além do mais, no período de recuperação o grupo obeso demonstrou-se menos responsivo ao muscimol (não reduziu PAM e FC). Sabe-se que na obesidade, os níveis de NPY estão elevados (Guan, Yu *et al.*, 1998; Tritos, Elmquist *et al.*, 1998; Bi, Ladenheim *et al.*, 2001) e que estes se co-localizam com as catecolaminas nas fibras nervosas simpáticas perivasculares e na medula adrenal, contribuindo para o controle pressórico com seu efeito de vasoconstrição direta e potencialização do efeito vasoconstritor da adrenalina (Faiçal e Shiota, 1997). Adicionalmente, estudos demonstram que a liberação de neurotransmissores pode ser regulada pela estimulação de receptores de NPY em axônios pré-sinápticos (Obrietan e Van Den Pol, 1966; Walker, Ewald *et al.*, 1988). Segundo Obrietan *et al.*, os efeitos do NPY, sobre o corpo celular de um neurônio, poderia reduzir a liberação de GABA em seu axônio terminal. Estes autores ainda demonstraram que a atividade gabaérgica mediada pelo NPY não está restrita ao núcleo supraquiasmático, atingindo outros neurônios hipotalâmicos (*e.g.*: núcleo arqueado), sugerindo que o efeito da ativação do receptor de NPY pode deprimir a atividade GABAérgica em outros neurônios hipotalâmicos que regulam as várias funções dessa região (Obrietan e Van Den Pol, 1966). Sendo assim, é plausível sugerir que uma diminuída atividade GABAérgica viabiliza um maior tônus excitatório (*e.g.*: pela estimulação de receptores glutamatérgicos NMDA e não-NMDA). Essa possível redução na atividade do GABA, seja por diminuição da liberação deste ou por alteração na sensibilidade ao receptor, possivelmente é a responsável pelo aumento das respostas cardiovasculares frente ao estresse, uma vez que, o GABA exerce papel crítico no controle de núcleos envolvidos na manutenção e reatividade simpática, inclusive no DMH (Soltis e Dimicco, 1991; Stotz-Potter, Morin *et al.*, 1996; Fontes *et al.*, 2001). Esse aumento excessivo nas variáveis cardiovasculares, durante o estresse, podem eventualmente contribuir para o aparecimento de doenças cardiovasculares, já que sobrecarregam o sistema. A alteração nos parâmetros basais cardiovasculares também pode ser explicada por essa possível alteração na reatividade GABAérgica no DMH, uma vez que sem a influência do GABA neste núcleo, durante situações de repouso, esse rato permaneceria em estado de estresse crônico (*i.e* leve), novamente sobrecarregando o sistema (Amiragova, 1985; Leor, Poole *et al.*, 1996; Dimicco, Samuels *et al.*, 2002).

Quando avaliamos os animais em isolamento social, observamos que em ambos os grupos individuais, o muscimol não reduziu a PAM durante todo estresse. Porém, no início, surpreendentemente, aumentou a FC do grupo obeso. Acreditamos as alterações dos parâmetros cardiovasculares em nosso estudo esteja relacionadas não a falta de produção de GABA_A, mas sim a não liberação do mesmo pelas vesículas pré-sinápticas devido as alterações nos canais de cálcio dependentes de voltagem. O estresse agudo e, principalmente, o crônico aumenta a concentração de cloreto intracelular que reflete em uma mudança de despolarização por eventos sinápticos mediados pelo GABA_A, e enfraquece profundamente a inibição sináptica. De acordo com Holm *et al.* (2011), ratos com estresse crônico leve (modelo de depressão) demonstram uma disfunção GABAérgica hipocampal causada por redução na ação das vesículas de liberação do GABA dependente de potencial (Holm, Nieto-Gonzalez *et al.*, 2011). Mudanças na probabilidade de liberação podem ser causadas por uma série de alterações subcelulares (*e.g.*:alterações nos canais de cálcio dependente de voltagem) (Xie, Li *et al.*, 2007). Além disso, estudos demonstram que vias neurais ativadas no estresse de restrição agudo tem como alvo o transportador aniônico transmembrana KCC2 de comando neuroendócrinos do PVN que controla da saída do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Por comprometer a atividade KCC2, o estresse aumenta a concentração de cloreto intracelular que reflete em uma mudança de despolarização por eventos sinápticos mediados pelo GABA_A, e profundamente enfraquece a inibição sináptica. In vivo, isso se traduz em uma completa ausência do controle inibitório GABA do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal após o situações de estresse (Hewitt, Wamsteeker *et al.*, 2009).

Vale ressaltar, que a experiência emocional precoce interfere no desenvolvimento de redes sinápticas excitatórias no hipocampo de roedores. Secreção de corticosterona associada ao estresse crônico pode alterar a liberação de glutamato/GABA que, por sua vez, como mecanismo de compensação, resulta na expressão alterada das proteínas responsáveis pelo ciclo glutamato/GABA. No entanto, algumas destas alterações podem ser observadas apenas em ratos “idosos” estressados (Martisova *et al.*, 2012). Assim como o que vimos sobre o isolamento social, estudos tem demonstrado que a separação materna imita a exposição repetida ao estresse no início da vida animais com sinais comportamentais e neuroendócrino de reatividade ao estresse aumentados quando adultos (Aisa *et al.*, 2007;. Heim e Nemeroff, 2001; Martisova *et al.*, 2012) ou senescentes (Solas *et al.*, 2010; Martisova *et al.*, 2012).

Embora já esteja bem definido na literatura que a estimulação do DMH através de microinjeção de fármacos antagonistas do receptor GABA_A, como a bicuculina metiodide – BMI resulta em alterações cardiovasculares e comportamentais similares às aquelas observadas durante o estresse (e.g: aumento significativo da FC e elevação da PA (Shekhar e Dimicco, 1987; Shekhar, Hingtgen *et al.*, 1987; Shekhar, 1993; Shekhar e Katner, 1995; Fontes, 2001; Tagawa *et al.*, 2001; Da Silva, De Menezes *et al.*, 2003; Da Silva, Menezes *et al.*, 2006; De Menezes, Zaretsky *et al.*, 2006), quando avaliamos a desinibição química do DMH através da microinjeção de BMI observamos que apenas no início do procedimento ocorre aumento de PAM e FC em ambos grupos dieta. Isso demonstra que obesidade altera exarcebadamente a resposta taquicárdica à bicuculina, porém não sustenta essa alteração, o que evidencia sua curta duração. Corroborando aos nossos primeiros achados no que se refere a uma possível ineficiência do GABA e como consequência uma sobressalente resposta excitatória glutamatérgica. Estudos mostram um colapso no gradiente de cloreto como resultado de baixa regulação do KCC2 leva a uma atividade neuronal sustentada (Rivera, Voipio *et al.*, 2004). Essa excitabilidade mediada pela ineficiência da inibição por GABA poderia explicar a alteração basal de PAM e FC nos ratos obesos.

6 - CONCLUSÃO

- A dieta hiperlipídica (45% de lipídio Kcal/g) por 9 semanas, promoveu aumento no peso corporal, índice de Lee, IA e nos níveis basais da PAM e FC.
- A obesidade potencializou a responsividade ao estresse, evidenciado pela maior variação da resposta pressora e taquicárdica quando comparada com o grupo controle.
- Apesar da microinjeção de muscimol no DMH reduzir resposta pressora evocada pelo estresse nos grupos dieta, a mesma promoveu uma menor redução da PAM frente a obesidade.
- Em ambos os grupos individual, a microinjeção de muscimol (100pmol,100nL) no DMH não foi eficiente em reduzir a PAM durante todo o período de estresse, porém, surpreendentemente, potencializou a resposta de FC ao estresse no grupo obeso.
- A microinjeção de bicuculina no DMH, induziu aumento da PAM e FC em ambos grupos. Contudo, a obesidade alterou a resposta taquicárdica à bicuculina evidenciada pela redução na duração desta.

Finalmente, concluímos que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica durante 9 semanas, alterou os parâmetros cardiovasculares basais, mas principalmente os evocados pelo estresse agudo, provavelmente, pela interferência com a inibição do GABA_A no DMH. Nossos achados sugerem que os animais obesos possuem uma ineficiência na liberação do GABA no DMH o que permite que a resposta excitatória se sobressaia.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AISA, B. et al. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, p. 256-66, 2007.
- AKIYAMA, T. et al. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 31, n. 1-3, p. 27-35, Mar 1996.
- AMIRAGOVA, M. G. Neurophysiological analysis of the development of endocrine and hypertensive reactions in prolonged emotional stress. **Brain Res**, v. 344, n. 2, p. 303-15, Oct 7 1985.
- BAI, F. L. et al. An arcuato-paraventricular and -dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y-containing system which lacks noradrenaline in the ra. **Brain Res**, v. 331, p. 172-175, 1985.
- BAILEY, T. W.; DIMICCO, J. A. Chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamus elevates plasma ACTH in conscious rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 280, n. 1, p. R8-15, Jan 2001.
- BELLINGER, L. L.; BERNARDIS, L. L. The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: lessons learned from lesioning studies. **Physiol Behav**, v. 76, n. 3, p. 431-42, Jul 2002.
- BENSON, S. et al. Effects of obesity on neuroendocrine, cardiovascular, and immune cell responses to acute psychosocial stress in premenopausal women. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, n. 2, p. 181-9, Feb 2009.
- BERNARDES, D. et al. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. **Rev Bras Educ Fis Esp**, v. 18, n. 2, p. 191-200, 2004.
- BERNARDIS, L. L.; BELLINGER, L. L. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1986 update. **Brain Res**, v. 434, n. 3, p. 321-81, Jul 1987.
- BERNARDIS, L. L.; BELLINGER, L. L. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1998 update. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 218, n. 4, p. 284-306, Sep 1998.
- BERTHOUD, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, n. 4, p. 393-428, Jun 2002.
- BESKE, S. D. et al. Reduced cardiovagal baroreflex gain in visceral obesity: implications for the metabolic syndrome. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 282, n. 2, p. H630-5, Feb 2002.
- BI, S. et al. A role for NPY overexpression in the dorsomedial hypothalamus in hyperphagia and obesity of OLETF rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 281, n. 1, p. R254-60, Jul 2001.

BI, S.; ROBINSON, B. M.; MORAN, T. H. Acute food deprivation and chronic food restriction differentially affect hypothalamic NPY mRNA expression. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 285, n. 5, p. R1030-6, Nov 2003.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. Antipredator defensive behaviors in a visible burrow system. **J Comp Psychol**, v. 103, n. 1, p. 70-82, Mar 1989a.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. Attack and defense in rodents as ethoexperimental models for the study of emotion. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 13 Suppl, p. S3-14, 1989b.

BOUSTANY, C. M. et al. AT1-receptor antagonism reverses the blood pressure elevation associated with diet-induced obesity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 289, n. 1, p. R181-6, Jul 2005.

CANNON, W. B. **Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: an account of recent researches into the function of emotional excitement**. New York: 1929.

CARROLL, J. F.; ZENEBE, W. J.; STRANGE, T. B. Cardiovascular function in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**, v. 48, n. 1, p. 65-72, Jul 2006.

CHAN, Y. Y.; STEINER, R. A.; CLIFTON, D. K. Regulation of hypothalamic neuropeptide-Y neurons by growth hormone in the rat. **Endocrinology**, v. 137, n. 4, p. 1319-25, Apr 1996.

CHEIK, N. **Efeitos de diferentes intervenções nutricionais e do exercício físico sobre a regulação hormonal da ingestão alimentar e do metabolismo lipídico em ratos**. 2005. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

CHRONWALL, B. M. et al. The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in rat brain. **Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 1159-81, Aug 1985.

CLARK, J. D.; RAGER, D. R.; CALPIN, J. P. Animal well-being. II. Stress and distress. **Lab Anim Sci**, v. 47, n. 6, p. 571-9, Dec 1997.

CLARK, J. T. et al. Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. **Endocrinology**, v. 115, n. 1, p. 427-9, Jul 1984.

CORBALAN, M. S. et al. Beta(2)-adrenergic receptor mutation and abdominal obesity risk: effect modification by gender and HDL-cholesterol. **Eur J Nutr**, v. 41, n. 3, p. 114-8, Jun 2002.

DA SILVA, L. G. et al. Role of periaqueductal gray on the cardiovascular response evoked by disinhibition of the dorsomedial hypothalamus. **Brain Res**, v. 984, n. 1-2, p. 206-14, Sep 12 2003.

DA SILVA, L. G., JR. et al. Excitatory amino acid receptors in the periaqueductal gray mediate the cardiovascular response evoked by activation of dorsomedial hypothalamic neurons. **Neuroscience**, v. 139, n. 3, p. 1129-39, 2006.

- DE MENEZES, R. C. et al. Microinjection of muscimol into caudal periaqueductal gray lowers body temperature and attenuates increases in temperature and activity evoked from the dorsomedial hypothalamus. **Brain Res**, v. 1092, n. 1, p. 129-37, May 30 2006.
- DE MENEZES, R. C. et al. Cardiovascular and thermal responses evoked from the periaqueductal grey require neuronal activity in the hypothalamus. **J Physiol**, v. 587, n. Pt 6, p. 1201-15, Mar 15 2009.
- DE MENEZES, R. C. et al. Microinjection of muscimol into the periaqueductal gray suppresses cardiovascular and neuroendocrine response to air jet stress in conscious rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 295, n. 3, p. R881-90, Sep 2008.
- DE NOVELLIS, V. et al. Hypothalamic sites mediating cardiovascular effects of microinjected bicuculline and EAAs in rats. **Am J Physiol**, v. 269, n. 1 Pt 2, p. R131-40, Jul 1995.
- DIMICCO, J. A. et al. The dorsomedial hypothalamus and the response to stress: part renaissance, part revolution. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 71, n. 3, p. 469-80, Mar 2002.
- DIMICCO, J. A. et al. Role of the dorsomedial hypothalamus in the cardiovascular response to stress. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 23, n. 2, p. 171-6, Feb 1996.
- DINIZ, Y. S. et al. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. **Int J Cardiol**, v. 124, n. 1, p. 92-9, Feb 20 2008.
- DOURMASHKIN, J.T. et al.. Different forms of obesity as a function of diet composition. **Int J Obes Rel Met Disord**, v.9, p.1-11, 2005.
- DU TOIT, E. F.; NABBEN, M.; LOCHNER, A. A potential role for angiotensin II in obesity induced cardiac hypertrophy and ischaemic/reperfusion injury. **Basic Res Cardiol**, v. 100, n. 4, p. 346-54, Jul 2005.
- EINON, D. F.; MORGAN, M. J. A critical period for social isolation in the rat. **Dev Psychobiol**, v. 10, n. 2, p. 123-32, Mar 1977.
- ELLIS, J.; LAKE, A.; HOOVER-PLOW, J. Monounsaturated canola oil reduces fat deposition in growing female rats fed a high or low fat diet. . **Nutr Res** v. 22, p. 609–621, 2002.
- ELMQUIST, J. K. et al. Leptin activates neurons in ventrobasal hypothalamus and brainstem. **Endocrinology**, v. 138, n. 2, p. 839-42, Feb 1997.
- ESTADELLA, D. et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 218-24, Feb 2004.
- FAIÇAL, S.; SHIOTA, D. Feocromocitoma: atualização diagnóstica e terapêutica. **Rev Assoc Med Bras**, v. 43, n. 3, p. 237-44, 1997.
- FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **J Allergy Clin Immunol**, v. 115, n. 5, p. 911-9; quiz 920, May 2005.

- FARLEY, C. et al. Meal pattern analysis of diet-induced obesity in susceptible and resistant rats. **Obes Res**, v. 11, n. 7, p. 845-51, Jul 2003.
- FENTON, P. F.; DOWLING, M. T. Studies on obesity. I. Nutritional obesity in mice. **J Nutr**, v. 49, n. 2, p. 319-31, Feb 10 1953.
- FEOLI, A. M. et al. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. **Nutrition**, v. 19, n. 9, p. 789-93, Sep 2003.
- FOLKOW, B. Physiological aspects of primary hypertension. **Physiol Rev**, v. 62, p. 347-504, 1982.
- FONE, K. C. F.; PORKESS, M. V. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents – relevance to developmental neuropsychiatric disorders. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2008.
- FONTES, M. A. et al. Descending pathways mediating cardiovascular response from dorsomedial hypothalamic nucleus. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 280, n. 6, p. H2891-901, Jun 2001.
- FONTES, M. A. P. et al. O hipotálamo dorsomedial e a organização da resposta cardiovascular ao estresse emocional: uma perspectiva funcional. **Medicina, Ribeirão Preto.**, v. 39, p. 13-20, 2006.
- GAO, J. et al. Characterization of diet-induced obese rats that develop persistent obesity after 6 months of high-fat followed by 1 month of low-fat diet. **Brain Res**, v. 936, n. 1-2, p. 87-90, May 17 2002.
- GHIBAUDI, L. et al. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. **Obes Res**, v. 10, n. 9, p. 956-63, Sep 2002.
- GIRARD, A. et al. Changes in lipid metabolism and antioxidant defense status in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats fed a diet enriched with fructose and saturated fatty acids. **Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 240-8, Feb 2005.
- GRANDISON, L.; GUIDOTTI, A. Stimulation of food intake by muscimol and beta endorphin. **Neuropharmacology**, v. 16, n. 7-8, p. 533-6, Jul-Aug 1977.
- GRAY, T. S.; MORLEY, J. E. Neuropeptide Y: anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system. **Life Sci**, v. 38, n. 5, p. 389-401, Feb 3 1986.
- GUAN, X. M. et al. Induction of neuropeptide Y expression in dorsomedial hypothalamus of diet-induced obese mice. **Neuroreport**, v. 9, n. 15, p. 3415-9, Oct 26 1998.
- HARLOW, H. F.; DODSWORTH, R. O.; HARLOW, M. K. Total social isolation in monkeys. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 54, n. 1, p. 90-7, Jul 1965.
- HARRIS, R. B.; LEGENDRE, A. Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 5, p. R1288-1294, Nov 2006.

HARROLD, J. A.; WILLIAMS, G.; WIDDOWSON, P. S. Early leptin response to a palatable diet predicts dietary obesity in rats: key role of melanocortin-4 receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus. **J Neurochem**, v. 74, n. 3, p. 1224-8, Mar 2000.

HATCH, A. M. et al. Isolation syndrome in the rat. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 7, n. 5, p. 737-45, Sep 1965.

HEIDBREder, C. A. et al. Behavioral, neurochemical and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. **Neuroscience**, v. 100, n. 4, p. 749-68, 2000.

HEIM, C.; NEMEROFF, C. B. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biol Psychiatry**, v. 49, p. 1023-39, 2001.

HEIM, C.; PLOTSKY, P. M.; NEMEROFF, C. B. Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 4, p. 641-8, Apr 2004.

HEWITT, S. A. et al. Altered chloride homeostasis removes synaptic inhibitory constraint of the stress axis. **Nat Neurosci**, v. 12, n. 4, p. 438-43, Apr 2009.

HILEMAN, S. M. et al. Characterization of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. **Endocrinology**, v. 143, n. 3, p. 775-83, Mar 2002.

HOLM, M. M. et al. Hippocampal GABAergic dysfunction in a rat chronic mild stress model of depression. **Hippocampus**, v. 21, n. 4, p. 422-33, Apr 2011.

HOLSON, R. R. et al. "Isolation stress" revisited: isolation-rearing effects depend on animal care methods. **Physiol Behav**, v. 49, n. 6, p. 1107-18, Jun 1991.

INGLE, D. J. A simple means of producing obesity in the rat. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 72, n. 3, p. 604, Dec 1949.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil**. FAMILIARES, P. D. O. 2010.

KALRA, S. P. et al. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. **Endocr Rev**, v. 20, n. 1, p. 68-100, Feb 1999.

KAMARA, K.; ESKAY, R.; CASTONGUAY, T. High-fat diets and stress responsivity. **Physiol Behav**, v. 64, n. 1, p. 1-6, Apr 1998.

KAMEGAI, J. et al. Growth hormone receptor gene is expressed in neuropeptide Y neurons in hypothalamic arcuate nucleus of rats. **Endocrinology**, v. 137, n. 5, p. 2109-12, May 1996.

- KAUFMAN, L. N.; PETERSON, M. M.; SMITH, S. M. Hypertension and sympathetic hyperactivity induced in rats by high-fat or glucose diets. **Am J Physiol**, v. 260, n. 1 Pt 1, p. E95-100, Jan 1991.
- KELLY, J.; GROSSMAN, S. P. GABA and hypothalamic feeding systems. **Brain Res Bull** v. 5, p. 237-244, 1980.
- KIM, C. H. et al. Effects of high-fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 278, n. 6, p. E977-84, Jun 2000.
- KOCH, M. D.; ARNOLD, W. J. Effects of early social deprivation on emotionality in rats. **J Comp Physiol Psychol**, v. 78, n. 3, p. 391-9, Mar 1972.
- KRETSCHMER, B. D. et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Sci**, v. 76, n. 14, p. 1553-73, Feb 18 2005.
- KUNIYOSHI, F. H. et al. Abnormal neurovascular control during sympathoexcitation in obesity. **Obes Res**, v. 11, n. 11, p. 1411-9, Nov 2003.
- KUSUNOKI, M. et al. Muscle glucose uptake during and after exercise is normal in insulin-resistant rats. **Am J Physiol**, v. 264, n. 2 Pt 1, p. E167-72, Feb 1993.
- KYRKOULI, S. E. et al. Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. **Peptides**, v. 11, n. 5, p. 995-1001, Sep-Oct 1990.
- LAPIZ, M. D. et al. Influence of postweaning social isolation in the rat on brain development, conditioned behavior, and neurotransmission. **Neurosci Behav Physiol**, v. 33, n. 1, p. 13-29, Jan 2003.
- LEE, M. O. Determination of the Surface Area of the White Rat with Its Application to the Expression of Metabolic Results. **Am. J. Physiol**, v. 89, p. 24-33, 1929.
- LEOR, J.; POOLE, W. K.; KLONER, R. A. Sudden cardiac death triggered by an earthquake. **N Engl J Med**, v. 334, n. 7, p. 413-9, Feb 15 1996.
- LEVIN, B. E. et al. Differential stress responsivity in diet-induced obese and resistant rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 279, n. 4, p. R1357-64, Oct 2000.
- LEVINE, A. S.; MORLEY, J. E. Neuropeptide Y: a potent inducer of consummatory behavior in rats. **Peptides**, v. 5, n. 6, p. 1025-9, Nov-Dec 1984.
- LOVALLO, W. R.; GERIN, W. Psychophysiological reactivity: mechanisms and pathways to cardiovascular disease. **Psychosom Med**, v. 65, n. 1, p. 36-45, Jan-Feb 2003.
- MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F. Stressful life-events, stress and anxiety. **Revista de Psiquiatria**, v. 25, p. 65-74, 2003.

MARQUES-LOPES, I. et al. Postprandial de novo lipogenesis and metabolic changes induced by a high-carbohydrate, low-fat meal in lean and overweight men. **Am J Clin Nutr**, v. 73, p. 253-61, 2001.

MARTINEZ, J. A.; FRUHBECK, G. Regulation of energy balance and adiposity: a model with new approaches. **Rev Esp Fisiol**, v. 52, n. 4, p. 255-8, Dec 1996.

MARTISOVA, E. et al. Long lasting effects of early-life stress on glutamatergic/GABAergic circuitry in the rat hippocampus. **Neuropharmacology**, v.62 p.1944-53,2012.

MELBY JR., C. L.; ALTAMAN, N. H. **Handbook of laboratory animal science**. Cleveland: CRC Press, 1977. 943

MICKELSEN, O.; TAKAHASHI, S.; CRAIG, C. Experimental obesity. I. Production of obesity in rats by feeding high-fat diets. **J Nutr**, v. 57, n. 4, p. 541-54, Dec 10 1955.

MITRUKA, M. B.; RAWNSLEY, H. M. **Clinical, biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans**. New York: Masson Publishing, 1981.

MORGAN, M. J. Effects of post-weaning environment on learning in rat. **Anim.Behav.**, v. 21, p. 429-442, 1973.

NADERALI, E. K.; FATANI, S.; WILLIAMS, G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. **Atherosclerosis**, v. 172, n. 1, p. 63-9, Jan 2004.

NASCIMENTO, A. F. et al. Misclassification probability as obese or lean in hypercaloric and normocaloric diet. **Biol Res**, v.41, n.3, p.253-9, 2008.

OBRIETAN, K.; VAN DEN POL, A. N. Neuropeptide Y depresses GABA-mediated calcium transients in developing suprachiasmatic nucleus neurons: a novel form of calcium long-term depression. **The journal of neuroscience**, v. 16, n. 10, p. 3521, May 15 1996.

OLIVEIRA JÚNIOR, S. A. et al. Perfil nutricional e Cardiovascular de Ratos normotensos e Hipertensos sob dieta Hiperlipídica. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n. 5, p. 526-533, 2009.

OOTSUKA, Y.; BLESSING, W. W.; NALIVAICO, E. Selective blockade of 5-HT_{2A} receptors attenuates the increased temperature response in brown adipose tissue to restraint stress in rats. **Stress**, v. 11, n. 2, p. 125-33, 2008.

OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. **Nature**, v. 427, n. 6973, p. 411-2, Jan 29 2004.

PACAK, K.; PALKOVITS, M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. **Endocr Rev**, v. 22, n. 4, p. 502-48, Aug 2001.

PASCOE, W. S.; SMYTHE, G. A.; STORLIEN, L. H. Enhanced responses to stress induced by fat-feeding in rats: relationship between hypothalamic noradrenaline and blood glucose. **Brain Res**, v. 550, n. 2, p. 192-6, Jun 7 1991.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. Amsterdam: Academic Press, 2007.

PU, S. et al. **Induction of neuropeptide Y (NPY) gene expression in novel hypothalamic sites in association with transient hyperphagia and body weight gain**. Program of the 80th Annual Meeting of The Endocrine Society. New Orleans, LA. Abstract P3–236: 435 p. 1998.

PUIGSERVER, P. et al. Evidence for masking of brown adipose tissue mitochondrial GDP-binding sites in response to fasting in rats made obese by dietary manipulation. Effects of reversion to standard diet. **Biochem J**, v. 279 (Pt 2), p. 575-9, Oct 15 1991.

RAPOPORT, J. L. et al. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. **Mol Psychiatry**, v. 10, n. 5, p. 434-49, May 2005.

RICCI, E. et al. Electrophysiological characterization of left ventricular myocytes from obese Sprague-Dawley rat. **Obesity (Silver Spring)**, v. 14, n. 5, p. 778-86, May 2006.

RIVERA, C. et al. Mechanism of activity-dependent downregulation of the neuron-specific K-Cl cotransporter KCC2. **J Neurosci**, v. 24, n. 19, p. 4683-91, May 12 2004.

ROCA, P. et al. Brown adipose tissue response to cafeteria diet-feeding involves induction of the UCP2 gene and is impaired in female rats as compared to males. **Pflugers Arch**, v. 438, n. 5, p. 628-34, Oct 1999.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. **Nature**, v. 281, n. 5726, p. 31-5, Sep 6 1979.

SAHAKIAN, B. J.; ROBBINS, T. W.; IVERSEN, S. D. Effects of isolation rearing on exploration in rat. **Anim. Learn. Behav.**, v. 5, p. 193–198, 1977.

SAHU, A.; KALRA, P. S.; KALRA, S. P. Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus. **Peptides**, v. 9, p. 83–86, 1998.

SCHRAUWEN, P.; WESTERTERP, K. R. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. **Br J Nutr**, v. 84, n. 4, p. 417-27, Oct 2000.

SCLAFANI, A.; SPRINGER, D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. **Physiol Behav**, v. 17, n. 3, p. 461-71, Sep 1976.

SEDOVA, L. et al. Diet-induced obesity delays cardiovascular recovery from stress in spontaneously hypertensive rats. **Obes Res**, v. 12, n. 12, p. 1951-8, Dec 2004.

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

SHEKHAR, A. GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of rats regulate anxiety in the elevated plus-maze test. I. Behavioral measures. **Brain Res**, v. 627, n. 1, p. 9-16, Nov 5 1993.

- SHEKHAR, A.; DIMICCO, J. A. Defense reaction elicited by injection of GABA antagonists and synthesis inhibitors into the posterior hypothalamus in rats. **Neuropharmacology**, v. 26, n. 5, p. 407-17, May 1987.
- SHEKHAR, A.; HINGTGEN, J. N.; DIMICCO, J. A. Selective enhancement of shock avoidance responding elicited by GABA blockade in the posterior hypothalamus of rats. **Brain Res**, v. 420, n. 1, p. 118-28, Sep 8 1987.
- SHEKHAR, A.; KATNER, J. S. Dorsomedial hypothalamic GABA regulates anxiety in the social interaction test. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 50, n. 2, p. 253-8, Feb 1995.
- SHKLYAEV, S. et al. Sustained peripheral expression of transgene adiponectin offsets the development of diet-induced obesity in rats. **PNAS** v. 100, n. 24, p. 14217-14222, 2003.
- SOLAS, M. et al. Interactions between age, stress and insulin on cognition: implications for Alzheimer's disease. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, p. 1664-1673, 2010.
- SOLTIS, R. P.; DIMICCO, J. A. Hypothalamic excitatory amino acid receptors mediate stress-induced tachycardia in rats. **Am J Physiol**, v. 262, n. 4, pt 2, p. R689-97, Apr 1992.
- SOLTIS, R.P.; DIMICCO, J.A. GABA_A and excitatory amino acid receptor in dorsomedial hypothalamus and heart rate in rats. *Am J Physiol*, v.260, n.1, pt 2, p.R13-20, 1991.
- STANLEY, B. G.; CHIN, A. S.; LEIBOWITZ, S. F. Feeding and drinking elicited by central injection of neuropeptide Y: evidence for a hypothalamic site(s) of action. **Brain Res Bull**, v. 14, n. 6, p. 521-4, Jun 1985.
- STANLEY, B. G. et al. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. **Peptides**, v. 7, p. 1189 – 1192, 1986.
- STEPHENS, D. N. Does the Lee obesity index measure general obesity? **Physiol Behav**, v. 25, n. 2, p. 313-5, Aug 1980.
- STOTZ-POTTER, E. H.; MORIN, S. M.; DIMICCO, J. A. Effect of microinjection of muscimol into the dorsomedial or paraventricular hypothalamic nucleus on air stress-induced neuroendocrine and cardiovascular changes in rats. **Brain Res**, v. 742, n. 1-2, p. 219-24, Dec 2 1996.
- STOTZ-POTTER, E. H.; WILLIS, L. R.; DIMICCO, J. A. Muscimol acts in dorsomedial but not paraventricular hypothalamic nucleus to suppress cardiovascular effects of stress. **J Neurosci**, v. 16, n. 3, p. 1173-9, Feb 1 1996.
- TANNENBAUM, B. M. et al. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. **Am J Physiol**, v. 273, n. 6 Pt 1, p. E1168-77, Dec 1997.
- THIBAUT, L. et al. The utility of models of human energy homeostasis. **Br J Nutr**, v.92p.41-5, 2004.

TRITOS, N. A. et al. Characterization of expression of hypothalamic appetite-regulating peptides in obese hyperleptinemic brown adipose tissue-deficient (uncoupling protein-promoter-driven diphtheria toxin A) mice. **Endocrinology**, v. 139, n. 11, p. 4634-41, Nov 1998.

VALZELLI, L. The "isolation syndrome" in mice. **Psychopharmacologia**, v. 31, n. 4, p. 305-20, Aug 3 1973.

WALKER, M. W. et al. Neuropeptide Y modulates neurotransmitter release and Ca²⁺ currents in rat sensory neurons. **J Neurosci**, v. 8, n. 7, p. 2438-46, Jul 1988.

WILSEY, J. et al. Central leptin gene therapy fails to overcome leptin resistance associated with diet-induced obesity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 285, n. 5, p. R1011-20, Nov 2003.

WILSON, C. R. et al. Western diet, but not high fat diet, causes derangements of fatty acid metabolism and contractile dysfunction in the heart of Wistar rats. **Biochem J**, v. 406, n. 3, p. 457-67, Sep 15 2007.

WOODS, S. C. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **J Nutr**, v. 133, n. 4, p. 1081-7, Apr 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Overweight and Obesity** 2011.

XIE, M. et al. Facilitation versus depression in cultured hippocampal neurons determined by targeting of Ca²⁺ channel Cavbeta4 versus Cavbeta2 subunits to synaptic terminals. **J Cell Biol**, v. 178, n. 3, p. 489-502, Jul 30 2007.

YOKOSUKA, M. et al. Neural substrates for leptin and neuropeptide Y (NPY) interaction: hypothalamic sites associated with inhibition of NPY-induced food intake. **Physiol Behav**, v. 64, n. 3, p. 331-8, Jun 1 1998.

ZARJEVSKI, N. et al. Chronic intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity. **Endocrinology**, v. 133, n. 4, p. 1753-8, Oct 1993.

ZHANG, J. et al. Leptine antagonist reveals that the normalization of caloric intake and the thermic effect of food after HF-feeding are leptin dependent. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** v. 292, p. 868-874, 2007.

8 - APÊNDICES

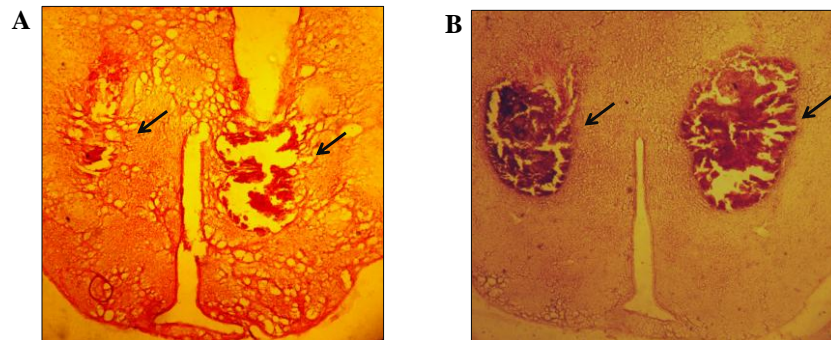


Figura 24: Fotomicrografia de um corte transversal do cérebro do rato mostrando um sítio de microinjeção bilateral no DMH. (A) animal controle coletivo e (B) animal obeso coletivo). Seta indica local da microinjeção.

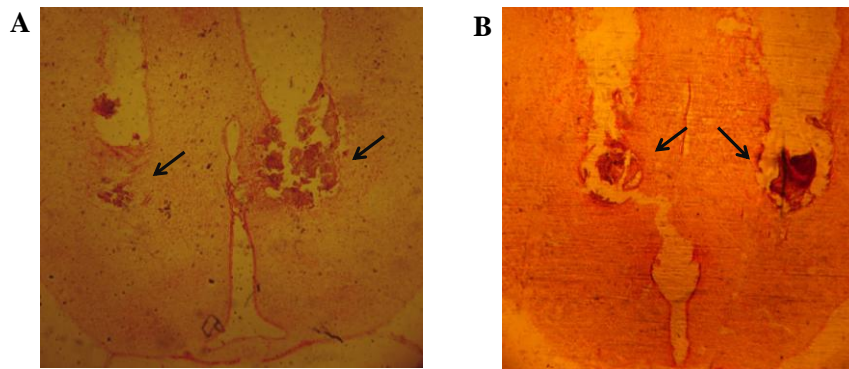


Figura 25: Fotomicrografia de um corte transversal do cérebro do rato mostrando um sítio de microinjeção bilateral no DMH. (A) animal controle individual e (B) animal obeso individual. Seta indica local da microinjeção.

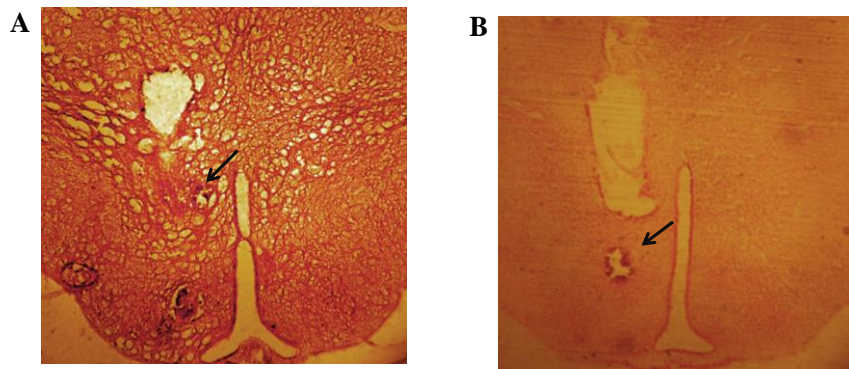


Figura 26: Fotomicrografia de um corte transversal do cérebro do rato mostrando um sítio de microinjeção unilateral no DMH. (A) animal controle coletivo e (B) animal obeso coletivo. Seta indica local da microinjeção.

Tabela 5: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o peso inicial (g) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|-------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 105.5 | 86.5 | 101.6 | 91.9 |
| | 90.1 | 90.8 | 89.0 | 103.7 |
| | 101.1 | 104.8 | 96.9 | 88.5 |
| | 95.0 | 108.2 | 92.2 | 110.4 |
| | 102.9 | 102.3 | 89.1 | 110.5 |
| | 91.9 | 110.3 | 101.3 | 100.4 |
| | 104.0 | 104.9 | 90.3 | 101.3 |
| | 90.0 | 105.8 | 89.6 | 92.8 |
| | 93.0 | 104.6 | 91.2 | 92.4 |
| Média ± EPM | 97,1 ± 2,09 | 102,0 ± 2,66 | 93,5 ± 1,71 | 99,10 ± 2,7 |

n, número de animais por grupo.

Tabela 6: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o peso final (g) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|----------------|----------------|---------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 273.0 | 308.0 | 365.0 | 345.5 |
| | 284.0 | 337.0 | 294.0 | 403.0 |
| | 296.0 | 342.0 | 310.0 | 330.0 |
| | 304.0 | 354.0 | 325.0 | 355.0 |
| | 229.5 | 308.0 | 273.0 | 341.0 |
| | 282.0 | 344.5 | 356.0 | 328.0 |
| | 271.0 | 349.5 | 293.0 | 356.0 |
| | 298.0 | 321.5 | 308.0 | 356.0 |
| | 313.0 | 383.0 | 324.0 | 350.0 |
| Média ± EPM | 283,4 ± 8,20 | 338,60 ± 7,94* | 316,4 ± 9,94** | 351,6 ± 7,33 [#] |

n, número de animais por grupo.

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais; e ** dieta controle entre os grupos isolamento social) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos ($p < 0,05$).

Tabela 7: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o ganho de peso (g) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|----------------|-----------------|----------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 167.5 | 221.5 | 263.4 | 253.6 |
| | 193.9 | 246.2 | 205.0 | 299.3 |
| | 194.9 | 237.2 | 213.1 | 241.5 |
| | 209.0 | 245.8 | 232.8 | 244.6 |
| | 126.6 | 205.7 | 183.9 | 230.5 |
| | 190.1 | 234.2 | 254.7 | 227.6 |
| | 167.0 | 244.6 | 202.7 | 254.7 |
| | 208.0 | 215.7 | 218.4 | 263.2 |
| | 220.0 | 278.4 | 232.8 | 257.6 |
| Média ± EPM | 186,3 ± 9,54 | 236,60 ± 7,09* | 223,00 ± 8,51** | 252,50 ± 7,10 [#] |

n, número de animais por grupo.

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais; e ** dieta controle entre os grupos isolamento social) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 8: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o índice de Lee^x de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|---------------|----------------|--------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 0.28 | 0.29 | 0.30 | 0.29 |
| | 0.27 | 0.29 | 0.29 | 0.32 |
| | 0.28 | 0.29 | 0.29 | 0.30 |
| | 0.28 | 0.30 | 0.29 | 0.29 |
| | 0.27 | 0.29 | 0.28 | 0.29 |
| | 0.27 | 0.30 | 0.30 | 0.29 |
| | 0.27 | 0.29 | 0.29 | 0.29 |
| | 0.27 | 0.29 | 0.28 | 0.30 |
| | 0.27 | 0.30 | 0.29 | 0.30 |
| Média ± EPM | 0,27 ± 0,002 | 0,30 ± 0,002* | 0,29 ± 0,002** | 0,30 ± 0,003 |

n, número de animais por grupo.

* [peso corporal final(g)]^{1/3} comprimento nasoanal (mm) x 10

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais; e ** dieta controle entre os grupos isolamento social) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 9: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAB epididimal (g) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|--------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 1.86 | 4.05 | 2.37 | 4.88 |
| | 2.61 | 2.90 | 2.30 | 4.44 |
| | 2.12 | 3.94 | 1.97 | 3.96 |
| | 2.74 | 3.76 | 2.91 | 4.97 |
| | 1.18 | 3.62 | 1.83 | 3.08 |
| | 1.99 | 4.29 | 3.66 | 4.81 |
| | 1.95 | 5.69 | 1.70 | 3.46 |
| | 2.33 | 3.00 | 1.81 | 4.35 |
| | 1.78 | 5.73 | 2.50 | 3.33 |
| Média ± EPM | 2,06 ± 0,16 | 4,11 ± 0,34* | 2,34 ± 0,21 | 4,14 ± 0,24 [#] |

n, número de animais por grupo e TAB (tecido adiposo branco).

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 10: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAB retroperitoneal (g) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|--------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 3.21 | 4.53 | 1.88 | 3.72 |
| | 2.13 | 4.98 | 2.30 | 6.98 |
| | 3.43 | 5.04 | 2.36 | 3.37 |
| | 3.59 | 4.21 | 1.41 | 8.30 |
| | 1.23 | 4.91 | 1.58 | 3.26 |
| | 1.58 | 9.66 | 4.10 | 4.21 |
| | 1.37 | 11.73 | 2.26 | 5.87 |
| | 2.46 | 3.54 | 3.58 | 4.95 |
| | 1.51 | 5.85 | 2.40 | 4.86 |
| Média ± EPM | 2,28 ± 0,31 | 6,05 ± 0,92* | 2,43 ± 0,29 | 5,06 ± 0,57 [#] |

n, número de animais por grupo e TAB (tecido adiposo branco).

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 11: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAB inguinal (g) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|--------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 6.64 | 7.42 | 4.82 | 7.27 |
| | 4.70 | 7.46 | 3.78 | 10.69 |
| | 7.10 | 7.09 | 4.67 | 5.94 |
| | 5.13 | 7.04 | 4.42 | 14.83 |
| | 3.07 | 7.24 | 4.83 | 6.80 |
| | 4.03 | 16.26 | 7.21 | 6.95 |
| | 4.59 | 15.66 | 4.74 | 8.60 |
| | 4.23 | 7.40 | 5.55 | 7.59 |
| | 3.46 | 10.07 | 3.83 | 6.05 |
| Média ± EPM | 4,77 ± 0,45 | 9,52 ± 1,26* | 4,87 ± 0,34 | 8,30 ± 0,95 [#] |

n, número de animais por grupo e TAB (tecido adiposo branco).

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 12: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o índice de adiposidade^{xx} de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|--------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 4.41 | 5.12 | 2.58 | 4.69 |
| | 3.35 | 4.48 | 2.93 | 5.51 |
| | 4.38 | 4.55 | 2.95 | 4.11 |
| | 3.85 | 4.29 | 2.76 | 8.48 |
| | 2.41 | 5.24 | 3.15 | 3.96 |
| | 2.76 | 8.83 | 4.47 | 5.01 |
| | 2.98 | 9.50 | 3.11 | 5.11 |
| | 3.14 | 4.64 | 3.67 | 4.85 |
| | 2.28 | 5.78 | 2.80 | 4.11 |
| Média ± EPM | 3,29 ± 0,26 | 5,83 ± 0,65* | 3,16 ± 0,19 | 5,09 ± 0,46 [#] |

n, número de animais por grupo.

^{xx}massa gorda (epididimal + retroperitoneal + inguinal) (g) /peso corporal final (g) x 100

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 13: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o TAM (g) de ratos Wistar por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|---------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 0.21 | 0.41 | 0.32 | 0.58 |
| | 0.23 | 0.40 | 0.17 | 0.63 |
| | 0.22 | 0.47 | 0.33 | 0.40 |
| | 0.28 | 0.42 | 0.33 | 0.48 |
| | 0.21 | 0.49 | 0.30 | 0.34 |
| | 0.28 | 0.48 | 0.33 | 0.32 |
| | 0.25 | 0.47 | 0.33 | 0.34 |
| | 0.41 | 0.37 | 0.30 | 0.55 |
| | 0.24 | 0.50 | 0.29 | 0.51 |
| Média ± EPM | 0,26 ± 0,02 | 0,45 ± 0,02* | 0,30 ± 0,02 | 0,46 ± 0,04 # |

n, número de animais por grupo e TAM (tecido adiposo marrom).

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; # dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes; ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos ($p < 0,05$).

Tabela 14: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre a glicose (mg/dL) de ratos Wistar por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 155.66 | 169.18 | 148.43 | 172.01 |
| | 151.37 | 168.24 | 164.47 | 146.54 |
| | 127.96 | 164.47 | 151.89 | 112.46 |
| | 133.96 | 161.64 | 134.35 | 103.34 |
| | 146.23 | 137.69 | 139.62 | 157.14 |
| | 128.93 | 143.71 | 143.71 | 175.79 |
| | 137.74 | 138.99 | 152.52 | 160.06 |
| | 135.53 | 136.48 | 155.97 | 154.72 |
| | 151.26 | 138.68 | 120.36 | 106.08 |
| Média ± EPM | 141,0 ± 3,46 | 151,0 ± 4,80 | 145,7 ± 4,35 | 143,1 ± 9,45 |

n, número de animais por grupo.

Tabela 15: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o Colesterol Total (mg/dL) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|---------------|----------------|---------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 50.20 | 42.35 | 57.65 | 40.00 |
| | 45.10 | 49.41 | 49.41 | 43.14 |
| | 46.27 | 34.12 | 45.49 | 21.57 |
| | 48.23 | 37.25 | 60.00 | 30.20 |
| | 53.72 | 40.39 | 60.00 | 43.92 |
| | 48.23 | 40.00 | 55.29 | 57.25 |
| | 46.67 | 39.61 | 53.72 | 53.33 |
| | 54.90 | 34.90 | 45.88 | 48.63 |
| | 49.41 | 25.10 | 49.80 | 45.49 |
| Média ± EPM | 49,19 ± 1,10 | 38,13 ± 2,21* | 53,03 ± 1,88 | 42,61 ± 3,69 [#] |

n, número de animais por grupo.

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes;

ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 16: Efeitos da dieta (controle e hiperlipídica) e do isolamento social (coletivo e individual) sobre o triacilglicerol (mg/dL) de ratos *Wistar* por um período de 9 semanas.

| | Coletivo | | Individual | |
|-------------|----------------|------------------------------|----------------|---------------------------|
| | Controle (n=9) | Obeso (n=9) | Controle (n=9) | Obeso (n=9) |
| | 65.25 | 118.44 | 87.2340 | 75.1773 |
| | 47.52 | 119.86 | 57.4468 | 75.8865 |
| | 66.67 | 108.51 | 66.6667 | 70.2128 |
| | 55.32 | 104.25 | 60.9929 | 61.7021 |
| | 63.83 | 118.44 | 46.8085 | 38.2979 |
| | 67.37 | 119.15 | 63.1206 | 73.7589 |
| | 68.08 | 104.25 | 60.2837 | 60.2837 |
| | 49.64 | 127.66 | 90.7801 | 64.5390 |
| | 73.05 | 118.44 | 71.6312 | 65.9574 |
| Média ± EPM | 61,86 ± 2,96 | 115,10 ± 2,98* ^{##} | 67,22 ± 4,70 | 65,09 ± 3,86 [#] |

n, número de animais por grupo.

Caracteres distintos (* dietas intra-grupos coletivos; [#] dietas intra-grupos individuais) revelam diferenças estatisticamente significantes;

ANOVA one way, com pós-teste de Newman-Keuls (p<0,05) para os dados paramétricos e Kruskal-Wallis, com o pós-teste de Dunns para os dados não paramétricos (p<0,05).

Tabela 17: Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão alimentar estimada (g) durante um período de 9 semanas.

| Controle Coletivo | | | | | | | | | |
|----------------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 112.03 | 112.03 | 112.03 | 99.74 | 99.74 | 99.74 | 97.80 | 97.80 | 97.80 |
| Segunda | 131.80 | 131.80 | 131.80 | 127.06 | 127.06 | 127.06 | 126.79 | 126.79 | 126.79 |
| Terceira | 136.36 | 136.36 | 136.36 | 142.51 | 142.51 | 142.51 | 140.80 | 140.80 | 140.80 |
| Quarta | 155.93 | 155.93 | 155.93 | 151.42 | 151.42 | 151.42 | 142.22 | 142.22 | 142.22 |
| Quinta | 152.66 | 152.66 | 152.66 | 157.74 | 157.74 | 157.74 | 139.49 | 139.49 | 139.49 |
| Sexta | 138.14 | 138.14 | 138.14 | 149.09 | 149.09 | 149.09 | 149.37 | 149.37 | 149.37 |
| Sétima | 146.66 | 146.66 | 146.66 | 157.81 | 157.81 | 157.81 | 149.40 | 149.40 | 149.40 |
| Oitava | 144.12 | 144.12 | 144.12 | 167.45 | 167.45 | 167.45 | 154.69 | 154.69 | 154.69 |
| Nona | 161.66 | 161.66 | 161.66 | 152.14 | 152.14 | 152.14 | 136.08 | 136.08 | 136.08 |
| Média ± EPM | 149.90 ± 5.47 | | | | | | | | |
| Obeso Coletivo | | | | | | | | | |
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 83.00 | 83.00 | 83.00 | 65.48 | 65.48 | 68.00 | 68.00 | 68.00 | 85.30 |
| Segunda | 77.91 | 77.91 | 77.91 | 79.40 | 79.40 | 81.88 | 81.88 | 81.88 | 83.20 |
| Terceira | 77.30 | 77.30 | 77.30 | 81.12 | 81.12 | 87.51 | 87.51 | 87.51 | 86.20 |
| Quarta | 86.59 | 86.59 | 86.59 | 79.73 | 79.73 | 85.39 | 85.39 | 85.39 | 84.07 |
| Quinta | 95.33 | 95.33 | 95.33 | 83.65 | 83.65 | 92.72 | 92.72 | 92.72 | 86.48 |
| Sexta | 84.17 | 84.17 | 84.17 | 69.52 | 69.52 | 85.79 | 85.79 | 85.79 | 91.88 |
| Sétima | 74.52 | 74.52 | 74.52 | 80.20 | 80.20 | 93.34 | 93.34 | 93.34 | 94.83 |
| Oitava | 73.71 | 73.71 | 73.71 | 92.17 | 92.17 | 117.94 | 117.94 | 117.94 | 95.07 |
| Nona | 82.60 | 82.60 | 82.60 | 93.07 | 93.07 | 93.16 | 93.16 | 93.16 | 95.60 |
| Média ± EPM | 84.31 ± 2.07 | | | | | | | | |
| Controle Individual | | | | | | | | | |
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 133.67 | 151.20 | 141.67 | 95.90 | 126.40 | 120.33 | 109.1 | 116.00 | 109.30 |
| Segunda | 139.26 | 159.13 | 147.80 | 117.40 | 149.00 | 143.07 | 129.5 | 124.00 | 122.60 |
| Terceira | 139.17 | 172.54 | 153.73 | 123.13 | 159.37 | 161.90 | 125.0 | 139.70 | 152.30 |
| Quarta | 146.60 | 167.73 | 165.70 | 133.37 | 154.53 | 155.80 | 137.5 | 150.60 | 158.30 |
| Quinta | 157.54 | 172.00 | 177.12 | 170.90 | 145.30 | 159.50 | 148.5 | 158.80 | 152.53 |
| Sexta | 152.99 | 172.83 | 172.15 | 169.50 | 154.28 | 156.42 | 136.8 | 153.15 | 147.67 |
| Sétima | 159.14 | 150.20 | 165.16 | 112.90 | 143.42 | 129.38 | 137.1 | 160.54 | 151.20 |
| Oitava | 164.93 | 153.94 | 159.04 | 135.80 | 159.20 | 150.30 | 141.6 | 157.50 | 149.08 |
| Nona | 151.90 | 162.33 | 156.53 | 139.30 | 145.10 | 132.70 | 150.0 | 165.40 | 153.23 |
| Média ± EPM | 150.7 ± 3.82 | | | | | | | | |
| Controle Individual | | | | | | | | | |
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 90.50 | 89.17 | 98.63 | 85.97 | 52.66 | 63.03 | 68.00 | 70.70 | - |
| Segunda | 79.00 | 98.13 | 153.20 | 96.23 | 101.33 | 79.57 | 65.10 | 86.40 | - |
| Terceira | 81.87 | 91.63 | 73.14 | 125.83 | 122.60 | 90.87 | 64.40 | 89.90 | - |
| Quarta | 77.93 | 100.17 | 84.53 | 108.47 | 101.30 | 76.23 | 84.20 | 82.70 | - |
| Quinta | 73.74 | 145.80 | 101.08 | 123.10 | 104.40 | 90.00 | 81.60 | 88.71 | - |
| Sexta | 90.96 | 107.60 | 118.42 | 144.10 | 110.54 | 98.50 | 83.73 | 84.69 | - |
| Sétima | 91.97 | 112.67 | 116.70 | 111.60 | 91.36 | 78.70 | 82.37 | 84.40 | - |
| Oitava | 89.10 | 125.66 | 102.57 | 122.10 | 98.30 | 113.20 | 87.40 | 78.28 | - |
| Nona | 93.63 | 113.67 | 99.33 | 113.20 | 90.40 | 102.80 | 102.40 | 84.63 | - |
| Média ± EPM | 96.22 ± 2.78 | | | | | | | | |

⁺ Diferença estatística entre ambos os grupos controle em relação aos grupos obesos; ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni (p<0,05).

Tabela 18: Efeito do consumo de dieta controle e dieta hiperlipídica em grupos de animais criados coletivamente (3 animais/caixa) ou individualmente sobre a ingestão calórica (Kcal) durante um período de 9 semanas.

| Controle Coletivo | | | | | | | | | |
|----------------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 423.47 | 423.47 | 423.47 | 377.02 | 377.02 | 377.02 | 369.68 | 369.68 | 425.89 |
| Segunda | 498.20 | 498.20 | 498.20 | 480.29 | 480.29 | 480.29 | 479.27 | 479.27 | 556.23 |
| Terceira | 515.44 | 515.44 | 515.44 | 538.69 | 538.69 | 538.69 | 532.22 | 532.22 | 512.98 |
| Quarta | 589.41 | 589.41 | 589.41 | 572.37 | 572.37 | 572.37 | 537.59 | 537.59 | 563.60 |
| Quinta | 577.05 | 577.05 | 577.05 | 596.26 | 596.26 | 596.26 | 527.27 | 527.27 | 552.64 |
| Sexta | 522.17 | 522.17 | 522.17 | 563.56 | 563.56 | 563.56 | 564.62 | 564.62 | 758.15 |
| Sétima | 554.37 | 554.37 | 554.37 | 596.52 | 596.52 | 596.52 | 564.73 | 564.73 | 666.64 |
| Oitava | 544.77 | 544.77 | 544.77 | 632.96 | 632.96 | 632.96 | 584.73 | 584.73 | 541.94 |
| Nona | 611.07 | 611.07 | 611.07 | 575.09 | 575.09 | 575.09 | 514.38 | 514.38 | 552.26 |
| Média ± EPM | 569.7 ± 20.51 | | | | | | | | |
| Obeso Coletivo | | | | | | | | | |
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 399.23 | 399.23 | 399.23 | 314.96 | 314.96 | 327.08 | 327.08 | 327.08 | 410.29 |
| Segunda | 374.75 | 374.75 | 374.75 | 381.91 | 381.91 | 393.84 | 393.84 | 393.84 | 400.19 |
| Terceira | 371.81 | 371.81 | 371.81 | 390.19 | 390.19 | 420.92 | 420.92 | 420.92 | 414.62 |
| Quarta | 416.50 | 416.50 | 416.50 | 383.50 | 383.50 | 410.72 | 410.72 | 410.72 | 404.38 |
| Quinta | 458.54 | 458.54 | 458.54 | 402.36 | 402.36 | 445.98 | 445.98 | 445.98 | 415.97 |
| Sexta | 404.86 | 404.86 | 404.86 | 334.39 | 334.39 | 412.65 | 412.65 | 412.65 | 441.94 |
| Sétima | 358.44 | 358.44 | 358.44 | 385.76 | 385.76 | 448.96 | 448.96 | 448.96 | 456.13 |
| Oitava | 354.54 | 354.54 | 354.54 | 443.34 | 443.34 | 567.29 | 567.29 | 567.29 | 457.29 |
| Nona | 397.31 | 397.31 | 397.31 | 447.67 | 447.67 | 448.10 | 448.10 | 448.10 | 459.83 |
| Média ± EPM | 405.5 ± 9.94 | | | | | | | | |
| Controle Individual | | | | | | | | | |
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 505.27 | 571.54 | 535.51 | 362.50 | 477.79 | 454.85 | 412.40 | 438.48 | 413.15 |
| Segunda | 526.40 | 601.51 | 558.68 | 443.77 | 563.22 | 540.80 | 489.51 | 468.72 | 463.43 |
| Terceira | 526.06 | 652.20 | 581.10 | 465.43 | 602.42 | 611.98 | 472.50 | 528.07 | 575.69 |
| Quarta | 554.15 | 634.02 | 626.35 | 504.14 | 584.12 | 588.92 | 519.75 | 569.27 | 598.37 |
| Quinta | 595.50 | 650.16 | 669.51 | 646.00 | 549.23 | 602.91 | 561.33 | 600.26 | 576.56 |
| Sexta | 578.30 | 653.30 | 650.73 | 640.71 | 583.18 | 591.27 | 517.10 | 578.91 | 558.19 |
| Sétima | 601.55 | 567.76 | 624.30 | 426.76 | 542.13 | 489.06 | 518.24 | 606.84 | 571.54 |
| Oitava | 623.43 | 581.89 | 601.17 | 513.32 | 601.78 | 568.13 | 535.25 | 595.35 | 563.52 |
| Nona | 574.18 | 613.61 | 591.68 | 526.55 | 548.48 | 501.61 | 567.00 | 625.21 | 579.21 |
| Média ± EPM | 569.7 ± 14.44 | | | | | | | | |
| Controle Individual | | | | | | | | | |
| Semanas | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | 08 | 09 |
| Primeira | 435.30 | 428.91 | 474.41 | 413.51 | 253.29 | 303.17 | 327.08 | 340.07 | - |
| Segunda | 379.99 | 472.00 | 736.89 | 462.87 | 487.40 | 382.73 | 313.13 | 415.58 | - |
| Terceira | 393.79 | 440.74 | 351.80 | 605.24 | 589.71 | 437.08 | 309.76 | 432.42 | - |
| Quarta | 374.84 | 481.82 | 406.59 | 521.74 | 487.25 | 366.67 | 405.00 | 397.79 | - |
| Quinta | 354.69 | 701.30 | 486.19 | 592.11 | 502.16 | 432.90 | 392.50 | 426.69 | - |
| Sexta | 437.52 | 517.56 | 569.60 | 693.12 | 531.70 | 473.78 | 402.74 | 407.36 | - |
| Sétima | 442.37 | 541.94 | 561.33 | 536.80 | 439.44 | 378.55 | 396.20 | 405.96 | - |
| Oitava | 428.57 | 604.42 | 493.36 | 587.30 | 472.82 | 544.49 | 420.39 | 376.53 | - |
| Nona | 450.36 | 546.75 | 477.78 | 544.49 | 434.82 | 494.47 | 492.54 | 407.07 | - |
| Média ± EPM | 462.8 ± 13.39 | | | | | | | | |

[^] Diferença estatística entre ambos os grupos controle em relação aos grupos obesos; ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni (p<0,05).

Tabela 19: Níveis basais de PAM (mmHg) em ratos controles e obesos com ou sem isolamento social (coletivos ou individuais).

| Animal | Coletivo | | Individual | |
|-------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| | Controle (n =25) | Obeso (n = 28) | Controle (n =13) | Obeso (n = 11) |
| 01 | 114.5 | 117.3 | 115.2 | 124.7 |
| 02 | 108.6 | 110.1 | 116.9 | 118.4 |
| 03 | 101.1 | 108.3 | 117.2 | 111.4 |
| 04 | 103.6 | 114.9 | 124.1 | 111.3 |
| 05 | 112.2 | 129.7 | 103.7 | 119.8 |
| 06 | 104.2 | 115.6 | 100.7 | 123.7 |
| 07 | 115.8 | 114.5 | 102.5 | 111.5 |
| 08 | 105.7 | 110.3 | 114.6 | 122.7 |
| 09 | 117.4 | 118.5 | 121.7 | 123.7 |
| 10 | 104.6 | 117.6 | 113.7 | 108.9 |
| 11 | 115.0 | 112.3 | 107.9 | 111.6 |
| 12 | 98.4 | 114.2 | 120.5 | |
| 13 | 105.4 | 118.7 | 93.9 | |
| 14 | 107.3 | 100.0 | | |
| 15 | 110.7 | 124.5 | | |
| 16 | 114.4 | 110.1 | | |
| 17 | 98.2 | 121.9 | | |
| 18 | 112.9 | 107.9 | | |
| 19 | 112.7 | 109.1 | | |
| 20 | 112.9 | 135.7 | | |
| 21 | 111.2 | 112.3 | | |
| 22 | 111.5 | 121.1 | | |
| 23 | 117.5 | 107.1 | | |
| 24 | 110.7 | 111.6 | | |
| 25 | 101.3 | 108.0 | | |
| 26 | | 111.1 | | |
| 27 | | 130.7 | | |
| 28 | | 99.0 | | |
| Média ± EPM | 109,1 ± 1,2 | 114,7 ± 1,6* | 111,7 ± 2,5 | 117,1 ± 1,9 |

Valores expressos em média ± EPM; n, número de animais por grupo; PAM (pressão arterial média).

* Diferença estatística da dieta intra-grupos coletivos, teste t de Student não pareado (p<0.05).

Tabela 20: Níveis basais de FC (bpm) em ratos controles e obesos com ou sem isolamento social (coletivos ou individuais).

| Animal | Coletivo | | Individual | |
|-------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| | Controle (n =25) | Obeso (n = 28) | Controle (n =13) | Obeso (n = 11) |
| 01 | 405.7 | 450.9 | 415.4 | 356.2 |
| 02 | 333.1 | 387.6 | 345.8 | 432.9 |
| 03 | 382.4 | 392.5 | 326.4 | 391.8 |
| 04 | 336.6 | 423.8 | 383.3 | 377.1 |
| 05 | 358.6 | 417.1 | 357.2 | 342.7 |
| 06 | 333.7 | 398.7 | 409.7 | 313.7 |
| 07 | 420.5 | 376.3 | 331.2 | 365.8 |
| 08 | 289.4 | 354.9 | 357.7 | 435.3 |
| 09 | 365.6 | 407.6 | 345.6 | 399.1 |
| 10 | 412.3 | 377.9 | 406.8 | 382.4 |
| 11 | 340.9 | 424.6 | 404.8 | 423.4 |
| 12 | 328.3 | 394.9 | 353.2 | |
| 13 | 384.9 | 360.5 | 347.0 | |
| 14 | 348.4 | 361.9 | | |
| 15 | 364.1 | 346.7 | | |
| 16 | 362.3 | 402.4 | | |
| 17 | 423.4 | 393.1 | | |
| 18 | 389.1 | 386.2 | | |
| 19 | 407.8 | 378.1 | | |
| 20 | 366.0 | 421.3 | | |
| 21 | 316.5 | 403.3 | | |
| 22 | 406.6 | 427.4 | | |
| 23 | 388.6 | 373.1 | | |
| 24 | 443.1 | 365.8 | | |
| 25 | 349.1 | 386.2 | | |
| 26 | | 346.3 | | |
| 27 | | 421.5 | | |
| 28 | | 417.0 | | |
| Média ± EPM | 370,3 ± 7,6 | 392,8 ± 5,1* | 368,0 ± 8,8 | 383,7 ± 11,5 |

Valores expressos em média ± EPM; n, número de animais por grupo; FC (frequência cardíaca).

* Diferença estatística da dieta intra-grupos coletivos, teste t de Student não pareado (p<0.05).

Tabela 21: Delta de PAM (mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados coletivamente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos.

| 3 minutos iniciais de estresse | | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =9) | Muscimol (n =9) | Salina (n =8) | Muscimol (n = 8) |
| | 11.4 | 1.4 | 18.1 | 7.8 |
| | 11.6 | 8.8 | 22.6 | 7.7 |
| | 14.7 | 3.5 | 14.9 | 10.1 |
| | 15.7 | 7.7 | 9.1 | 8.4 |
| | 11.5 | -0.5 | 27.4 | 16.7 |
| | 4.5 | 9.8 | 11.0 | 11.8 |
| | 10.2 | 5.9 | 27.0 | 13.6 |
| | 15.0 | 6.2 | 16.9 | 10.1 |
| | 14.9 | -2.8 | | |
| Média ± EPM | 12.2 ± 1.2 | 4,4 ± 1.4[#] | 18.4 ± 2.4[*] | 10.8 ± 1.1^{*,#} |
| 3 minutos finais de estresse | | | | |
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =9) | Muscimol (n =9) | Salina (n =8) | Muscimol (n = 8) |
| | 4.0 | -6.1 | 13.6 | 2.9 |
| | 7.3 | 0.1 | 12.4 | -2.9 |
| | 6.3 | 0.3 | 9.7 | 3.4 |
| | 1.1 | 4.8 | 9.3 | 8.9 |
| | 10.4 | 5.8 | 9.5 | 9.6 |
| | 0.3 | 6.5 | 2.1 | 12.7 |
| | 10.4 | 5.1 | 11.1 | 0.8 |
| | 20.8 | 5.5 | 8.3 | -0.2 |
| | 7.2 | -5.5 | | |
| Média ± EPM | 7.5 ± 2.0 | 1.8 ± 1.6[#] | 9.5 ± 1.2 | 4.4 ± 1.9 |

n, número de animais por grupo; PAM (pressão arterial média).

*Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni (p<0,05). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado (p<0,05).

Tabela 22: Delta de FC (bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos.

| 3 minutos iniciais de estresse | | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =9) | Muscimol (n =9) | Salina (n =8) | Muscimol (n = 8) |
| | 26.2 | 11.7 | 112.9 | 52.2 |
| | 59.3 | 57.3 | 141.5 | -14.2 |
| | 20.3 | 8.2 | 66.1 | 51.8 |
| | 92.9 | 54.6 | 58.0 | 25.0 |
| | 58.8 | -23.6 | 115.1 | 55.4 |
| | 47.6 | 45.0 | 95.7 | 48.2 |
| | 66.5 | 33.4 | 80.8 | 19.9 |
| | 32.2 | 14.4 | 80.0 | 49.3 |
| | 70.5 | -2.9 | | |
| Média ± EPM | 52.7 ± 7.8 | 22.0 ± 9.1[#] | 93.8 ± 9.9[*] | 35.9 ± 8.6[#] |
| 3 minutos finais de estresse | | | | |
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =9) | Muscimol (n =9) | Salina (n =8) | Muscimol (n = 8) |
| | 72.3 | -15.8 | 111.9 | 39.8 |
| | 66.9 | 15.1 | 91.6 | 5.4 |
| | -19.9 | 11.5 | 23.1 | 32.2 |
| | 74.1 | 11.9 | 37.3 | 76.7 |
| | 97.5 | -14.9 | 47.2 | 118.1 |
| | 52.5 | 29.2 | 49.8 | 74.8 |
| | 50.0 | 42.7 | 62.1 | -14.4 |
| | -4.4 | 10.2 | 79.7 | 29.3 |
| | 76.0 | -15.2 | | |
| Média ± EPM | 51.7 ± 8.3 | 13.0 ± 6.8[#] | 62.8 ± 10.5 | 45.2 ± 15.1^{&} |

n, número de animais por grupo; FC (frequência cardíaca).

*Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni (p<0,01). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado (p<0,05). & Diferença estatística da dieta entre os grupos muscimol, teste t de Student não pareado, (p<0,05).

Tabela 23: Delta de PAM (mmHg) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos.

| 3 minutos iniciais de estresse | | | | |
|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| | Controle Individual | | Obeso Individual | |
| | Salina (n =7) | Muscimol (n =7) | Salina (n =5) | Muscimol (n = 5) |
| | 10.2 | 12.6 | 15.1 | 9.7 |
| | 16.5 | 7.3 | 14.4 | 14.4 |
| | 4.6 | 6.8 | 6.4 | 10.9 |
| | 15.6 | 5.2 | 10.7 | 5.8 |
| | 13.0 | 13.2 | 1.9 | 26.3 |
| | 5.2 | 8.1 | | |
| | 5.7 | -19.0 | | |
| Média ± EPM | 10.1 ± 1.9 | 4.9 ± 4.1 | 9.7 ± 2.5 | 13.4 ± 3.5 |
| 3 minutos finais de estresse | | | | |
| | Controle Individual | | Obeso Individual | |
| | Salina (n =7) | Muscimol (n =7) | Salina (n =5) | Muscimol (n = 5) |
| | 3.9 | 5.2 | -0.9 | 0.6 |
| | 5.5 | 5.5 | 3.2 | 13.8 |
| | -1.2 | -1.4 | -2.4 | 4.0 |
| | 17.4 | -1.0 | 10.2 | 6.1 |
| | 6.5 | 11.7 | 5.1 | 10.2 |
| | 3.2 | -1.1 | | |
| | 4.5 | -9.2 | | |
| Média ± EPM | 5.7 ± 2.2 | 1.4 ± 2.5 | 3.0 ± 2,2 | 6.9 ± 2.3 |

n, número de animais por grupo; PAM (pressão arterial média).

Tabela 24: Delta de FC (bpm) evocadas pelo estresse de jato de ar em ratos controle e obesos, criados individualmente, após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e muscimol (100pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos.

| 3 minutos iniciais de estresse | | | | |
|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| | Controle Individual | | Obeso Individual | |
| | Salina (n =7) | Muscimol (n =7) | Salina (n =5) | Muscimol (n = 5) |
| | 36.2 | 31.2 | 16.9 | 21.1 |
| | 62.3 | 7.5 | 63.8 | 97.5 |
| | 29.7 | -1.0 | 66.7 | 75.5 |
| | 116.4 | -3.0 | 48.7 | 63.6 |
| | 63.6 | 41.8 | 35.7 | 73.8 |
| | 62.4 | 3.6 | | |
| | 65.8 | 77.4 | | |
| Média ± EPM | 62.4 ± 10.5 | 22.5 ± 11.2 | 46.4 ± 9.2 | 66.3 ± 12.6 |
| 3 minutos finais de estresse | | | | |
| | Controle Individual | | Obeso Individual | |
| | Salina (n =7) | Muscimol (n =7) | Salina (n =5) | Muscimol (n = 5) |
| | -2.0 | 28.0 | -8.0 | 10.7 |
| | 9.5 | 24.3 | 45.9 | 100.6 |
| | -37.1 | -18.7 | 69.00 | 22.6 |
| | 130.4 | -4.9 | 37.2 | 75.4 |
| | 36.6 | 88.6 | 22.1 | 132.7 |
| | 72.2 | 20.0 | | |
| | 55.7 | 47.6 | | |
| Média ± EPM | 37.9 ± 20.7 | 26.4 ± 13.2 | 33.2 ± 12,8 | 68.4 ± 23.1^{*,#} |

n, número de animais por grupo; FC (frequência cardíaca).

*Diferença estatística entre os grupos muscimol em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni (p<0,01). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle ou obeso, teste t de Student pareado (p<0,05).

Tabela 25: Delta de PAM (mmHg) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina(10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos.

| 3 minutos iniciais após microinjeção | | | | |
|---|--------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =6) | Bicuculina (n =6) | Salina (n =7) | Bicuculina (n = 7) |
| | -1.4 | 8.5 | 2.1 | 14.3 |
| | -0.5 | 19.8 | -12.2 | 19.9 |
| | -4.1 | 8.3 | -4.2 | 14.8 |
| | -5.4 | 14.2 | 3.4 | 3.7 |
| | -1.4 | -5.7 | -8.7 | 3.9 |
| | 2.0 | 5.8 | 0.6 | 1.3 |
| | | | 4.0 | 5.9 |
| Média ± EPM | -1.8 ± 1.1 | 8.5 ± 3.5[#] | -2.1 ± 2.4 | 9.1 ± 2.7[#] |
| 3 minutos finais após microinjeção | | | | |
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =6) | Bicuculina (n =6) | Salina (n =7) | Bicuculina (n =7) |
| | -2.7 | 6.6 | -11.6 | 12.1 |
| | 1.7 | 11.6 | -4.9 | 3.6 |
| | 1.5 | 10.8 | -5.2 | 2.2 |
| | 5.3 | 7.4 | 5.7 | 3.2 |
| | 3.8 | -6.9 | -3.6 | -0.9 |
| | 4.4 | 3.4 | -1.5 | -0.9 |
| | | | -4.6 | 8.8 |
| Média ± EPM | 2.4 ± 1.2 | 5.5 ± 2.7 | -3.6 ± 1.9 | 4.0 ± 1.8 |

n, número de animais por grupo; PAM (pressão arterial média).

*Diferença estatística entre os grupos bicuculina em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni (p<0,01). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado (p<0,05).

Tabela 26: Delta de FC (bpm) após a microinjeção de veículo-salina (100nl) e bicuculina(10pmol/100nl) no DMH em dias consecutivos.

| 3 minutos iniciais após microinjeção | | | | |
|---|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =6) | Bicuculina (n =6) | Salina (n =7) | Bicuculina (n = 7) |
| | -25.2 | 71.4 | -9.9 | 64.7 |
| | -41.8 | 210.7 | -12.4 | 135.7 |
| | -36.2 | 65.6 | -73.2 | 47.9 |
| | -52.5 | 138.2 | -14.9 | 90.3 |
| | -3.5 | 46.4 | -25.0 | 28.4 |
| | 11.8 | 23.1 | -27.6 | 61.9 |
| | | | -34.8 | 98.5 |
| Média ± EPM | -24.6 ± 10.0 | 92.6 ± 28.4[#] | -28.2 ± 8.2 | 75.3 ± 13.5[#] |
| 3 minutos finais após microinjeção | | | | |
| | Controle Coletivo | | Obeso Coletivo | |
| | Salina (n =6) | Bicuculina (n =6) | Salina (n =7) | Bicuculina (n =7) |
| | -21.7 | 42.6 | -18.0 | -1.7 |
| | 44.6 | 171.7 | 10.1 | 9.6 |
| | 43.6 | 114.2 | -75.2 | 15.2 |
| | 64.8 | 91.1 | 10.3 | 7.8 |
| | -35.7 | 4.9 | -32.3 | 10.2 |
| | 24.9 | 25.9 | -42.4 | 36.8 |
| | | | -14.8 | 10.9 |
| Média ± EPM | 20.1 ± 16.3 | 75.1 ± 25.5[#] | -23.2 ± 11.4 | 12.7 ± 4.5[#] |

n, número de animais por grupo; FC (frequência cardíaca).

*Diferença estatística entre os grupos bicuculina em relação à dieta, ANOVA two way, com pós-teste de Bonferroni ($p < 0,01$). # Diferença estatística do tratamento intra-grupo controle, teste t de Student pareado ($p < 0,05$).

9 – PRODUÇÕES CIENTÍFICAS

9.1. Resumos publicados em Congressos Nacionais

ABREU, A. R. R.; DE ABREU, A. R. R; SANTOS, L. G. B.T; DE MENEZES, R. C. A. Involvement of the dorsomedial hypothalamus in the physiological responses evoked by air Jet stress in rats fed a high fat diet. In: XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE), 2011, Rio de Janeiro. Anais da Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE), 2011.

ABREU, A. R. R.; DE ABREU, A. R. R; SANTOS, L. G. B. T; DE MENEZES, R. C. A. Influência da obesidade induzida pela dieta hiperlipídica nas respostas fisiológicas ao estresse por jato de ar em ratos. In: XVI Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2012, Goiânia. Apresentação Oral. Anais do Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2012.

ABREU, A. R. R.; DE ABREU, A. R. R; SANTOS, L. G. B.T; DE MENEZES, R. C. A. Efeitos Cardiovasculares produzidos pela ativação do hipotálamo dorsomedial em animais submetidos à obesidade induzida por dieta hiperlipídica. In: XLVII Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Fisiologia e III Encontro Científico do Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, 2012, Gramado. Apresentação Oral. Anais do Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Fisiologia e III Encontro Científico do Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, 2012.

ABREU, A. R. R.; REIS, T. O.; R. C. A. Efeitos Cardiovasculares produzidos pela inibição do hipotálamo dorsomedial em animais submetidos a obesidade induzida por dieta hiperlipídica. In: XX Seminário de Iniciação Científica da UFOP, 2012, Ouro Preto. Anais do Seminário de Iniciação Científica-SEIC, 2012.

9.2. Resumos publicados em Congresso Internacionais

ABREU, A. R. R. ; DE ABREU, A. R. R. ; SANTOS, L. G. B. T. ; DE MENEZES, R. C. A. Involvement of the dorsomedial hypothalamus in the physiological responses evoked by air jet stress in Wistar rats fed a high fat diet. In: Joint Meeting “ISAN/AAS-2011– 7th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience and 22nd Symposium of the American Autonomic Society, 2011, Buzios. Clinical Autonomic Research, 2011.

ABREU, A. R. R.; DE ABREU, A. R. R; DE MENEZES, R. C. A. The effect of a high fat diet on the neuronal activity in dorsomedial hypothalamus of Wistar rats submitted to air jet stress. In: Satellite Symposium “Brain Origins of Cardiovascular Disorders”, 2011, Ouro Preto. Joint Meeting ISA/AAS, 2011.

ABREU, A. R. R.; CHIANCA-JR, D. A.; DE MENEZES, R. C. A. Cardiovascular effects evoked by the activation of the dorsomedial hypothalamus in obese rats. In: 42nd Annual Meeting, 2012, New Orleans. Nanosymposium session. Neuroscience Annual Meeting Publications, 2012.