

Nícia Pedreira Soares

“Comportamentos de ansiedade e compulsão em camundongos observados após consumo de dieta rica em carboidratos são associados à inflamação central e periférica”

Belo Horizonte

2021

Nícia Pedreira Soares

Comportamentos de ansiedade e compulsão em camundongos observados após consumo de dieta rica em carboidratos são associados à inflamação central e periférica

Pró-forma tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fisiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Daniele Cristina de Aguiar

Belo Horizonte

2021

043 Soares, Nícia Pedreira.

Comportamentos de ansiedade e compulsão em camundongos observados após consumo de dieta rica em carboidratos são associados à inflamação central e periférica [manuscrito] / Nícia Pedreira Soares. - 2021.

123 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Daniele Cristina de Aguiar.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Fisiologia. 2. Obesidade. 3. Carboidratos da Dieta. 4. Ansiedade. 5. Comportamento Compulsivo. 6. Microglia. 7. Inflamação Neurogênica. I. Aguiar, Daniele Cristina de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DEFESA DA TESE N° 342 DE NICIA PEDREIRA SOARES

"Comportamentos de Ansiedade e Compulsão em Camundongos Observados Após Consumo de Dieta Rica em Carboidratos são Associados à Inflamação Central e Periférica"

NICIA PEDREIRA SOARES

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia 12 de julho de 2021, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

Profa. Dra. Adaliene Versiani Matos Ferreira, Escola de Enfermagem/Universidade Federal de Minas Gerais
Profa. Dra. Maristela de Oliveira Poletini, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais
Profa. Dra. Sabrina Francesca de Souza Lisboa, FCFRP/Universidade de São Paulo
Prof. Dr. Rodrigo Cunha Alvim de Menezes, ICEB/UFOP
Profa. Dra. Daniele Cristina de Aguiar, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais - Orientadora

Belo Horizonte, 12 de julho de 2021.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por Daniele Cristina de Aguiar, Professora do Magistério Superior, em 13/07/2021, às 11:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Rodrigo Cunha Alvim de Menezes, Usuário Externo, em 13/07/2021, às 11:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Maristela de Oliveira Poletini, Professora do Magistério Superior, em 13/07/2021, às 17:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Sabrina Francesca de Souza Lisboa, Usuário Externo, em 19/07/2021, às 09:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Adaliene Versiani Matos Ferreira, Professora do Magistério Superior, em 03/08/2021, às 10:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orcao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0813353 e o código CRC 3F278055.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha amiga Keila Karine Duarte Campos por ter sido uma guia durante meu mestrado e fonte de inspiração para que eu continuasse seguindo minha trajetória acadêmica no doutorado. Que descanse em paz minha amiga, nunca te esquecerei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a minha orientadora Pra. Dra. Daniele Cristina Aguiar por me aceitar no laboratório de neuropsicofarmacologia (LNP) e permitir que fizesse parte de um grupo tão maravilhoso. Obrigada por me orientar ao longo desses 4 anos partilhando conhecimentos e experiência acadêmica e científica.

Ao Prof. Dr. Fabrício Moreira, pelos ensinamentos, conselhos e colaboração que possibilitou a realização desse trabalho.

Aos amigos de laboratório Anna Paula Marçal, Dayane Godinho, Laila Asth, Lia Iglesias, Juliana Bastos, Rafaela Coelho e Rayssa Brianis. Precisaria de no mínimo uma página para cada uma, para escrever o quanto sou grata e o quanto vocês me ajudaram e contribuíram tanto na minha caminhada acadêmica quanto na vida. Obrigada meninas, vocês tornaram meus dias mais leves e guardo vocês no meu coração. Agradeço ainda, aos alunos de iniciação científica que me auxiliaram durante esse percurso e em especial ao João Paulo por toda ajuda prestada.

A profa. Dra. Adaliene Ferreira do grupo imunometabolismo (IME) e suas alunas Adma Babettô, Joyce Heredia, Mariele Silva e principalmente a Amanda Carla Oliveira por toda a ajuda nas análises de citocinas, adipocinas, metabólitos e em várias eutanásias. Obrigada ainda por toda a assistência prestada através de inúmeras mensagens e conversas.

Aos professores e alunos do laboratório de neurofarmacologia (NEUROFAR) em especial ao Giovanni Gomes pela assistência no uso do microscópio e análises morfológicas microgliais. A Roberta Ribeiro pela ajuda nas dissecações e a Maria Carolina Silva por compartilhar conhecimentos, escutar e responder meus áudios gigantes e mensagens as seis horas da manhã e por ser minha amiga louca que sempre me fez companhia.

A aluna Daniela Reis e sua orientadora Daniela Bonaventura do laboratório de Farmacologia Vascular (LFV) pelo fornecimento dos animais para o experimento da dieta HC por 4 semanas e todas as demais alunas do LFV por serem tão prestativas. Vocês foram ótimas vizinhas.

Aos alunos do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular e da Inflamação (LAFACI) em especial a Bárbara Berg por estar sempre tão disponível para qualquer “pepino” que eu precisava resolver. Não sei descrever quantas vezes mandei mensagem para te perguntar alguma coisa.

A aluna Alessandra Silva e sua orientadora Carla Ceron do laboratório de Farmacologia Experimental e Clínica (LaFec) da UNIFAL pela colaboração nos experimentos com a minociclina. Obrigada ainda, pela companhia e doces!

Ao técnico do biotério Rinaldo por ser uma pessoa maravilhosa, que sempre me ajudou todas as vezes que foi solicitado e que levava pó de ração para casa para triturar para eu poder usar na dieta HC.

A todos os professores do PGFIFAR por se dedicarem em oferecer aulas de qualidade tanto remotas quanto presenciais.

Aos demais alunos do PPGFISFAR e da comissão de representação discente por uma vivência tão tranquila e por todos os momentos vividos juntos.

Aos animais utilizados nos protocolos experimentais para o desenvolvimento do presente trabalho, meu respeito e gratidão.

Aos professores que aceitaram compor a banca examinadora e que tenho certeza que irão contribuir muito para o enriquecimento desse estudo.

A Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) pela valiosa oportunidade de fazer parte de seu corpo discente durante o doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) tanto pela concessão da bolsa de doutorado como da taxa de bancada as quais possibilitaram a execução desse projeto.

Faço ainda um agradecimento muito especial as demais pessoas fora do meio acadêmico, mas que contribuíram tanto para que esse trabalho fosse realizado.

Aos meus pais, Rosa e Herus por todo suporte e ensinamentos;

Ao meu marido Jorge por acreditar tanto em mim e sempre me apoiar para que eu pudesse continuar a cada dia.

Aos meus filhos Yuri e Nicolas, que são fonte de inspiração para me tornar uma pessoa melhor e que me fazem querer levantar da cama todo dia pela manhã.

A minha mãe, sogra Maria, cunhadas Silmara e Cibele, tia Ângela, minha irmã Bruna e a amiga Renata que me ajudaram tantas vezes com meus filhos, principalmente durante a pandemia, para que eu pudesse ir para a UFMG e realizar meus experimentos. Com certeza não teria realizado nem a metade do que eu fiz sem a imensa ajuda de vocês.

Minha eterna gratidão a todos vocês!

RESUMO

A ingestão exacerbada de alimentos ultraprocessados induz a expansão prejudicial do tecido adiposo predispondo à obesidade. Em consequência, observa-se uma resposta inflamatória crônica de baixo grau, que aparentemente, não se limita à periferia, mas também atinge o sistema nervoso central. A resposta inflamatória está associada ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, como ansiedade e transtorno obsessivo compulsivo. Dados do nosso grupo, observaram comportamento ansiogênico e compulsivo em camundongos após consumo crônico de dieta rica em carboidratos (HC), tais efeitos foram associados ao aumento de mediadores inflamatórios em regiões encefálicas associadas a esses comportamentos. A minociclina, um fármaco com propriedade anti-inflamatória, emerge como um novo candidato para tratamento de doenças psiquiátricas. Adicionalmente, a substituição da dieta obesogênica promove além da perda de peso, redução da resposta inflamatória e dos comportamentos de ansiedade e depressão, podendo ser uma intervenção não farmacológica para o tratamento das comorbidades associadas a obesidade. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar se o tratamento com minociclina, ou intervenção dietética, atenuarão as respostas inflamatórias (central e periférica) e os comportamentos de ansiedade e compulsão observados após o consumo da dieta HC em camundongos. Camundongos Balb-C machos receberam dieta padrão ou HC por 4, 8 e 12 semanas e foram submetidos ao teste de enterrar esferas (MB). Posteriormente, animais alimentados com essas dietas por 12 semanas receberam injeções diárias de minociclina por 7 ou 15 dias (50mg / kg). Vinte e quatro horas após o tratamento, os camundongos foram submetidos ao teste MB e alimentação suprimida pela novidade (NSF). Os encéfalos, tecidos adiposos e soro foram coletados para análises de imuno-histoquímica e bioquímicas. Finalmente avaliou-se o efeito da troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias nos testes MB e NSF (CEUA: 65/2017). Observamos que apenas o período de 12 semanas promoveu comportamento do tipo compulsivo no teste MB. A minociclina administrada por 15 dias, atenuou os comportamentos compulsivo e ansioso, e vários parâmetros de ativação microglial no córtex pré-frontal e hipocampo ocasionados pelo consumo da dieta HC. Adicionalmente observamos que a troca da dieta HC pela dieta padrão por 15 dias, foi suficiente para reduzir a adiposidade corporal e o comportamento de ansiedade, mas não o comportamento tipo compulsivo e vários parâmetros metabólicos e inflamatórios periféricos. Nossos dados permitem concluir que as alterações comportamentais promovidas pela dieta HC necessitam de um longo período para promover alterações comportamentais de ansiedade e compulsão. Tais comportamentos seriam decorrentes de uma resposta neuroinflamatória em regiões encefálicas associadas com tais comportamentos, pois o tratamento com minociclina foi eficaz em reduzir as respostas comportamentais, como também as alterações morfológicas microgliais ocasionados pelo consumo crônico da dieta HC. A intervenção dietética não atenuou o comportamento compulsivo, provavelmente por não ser capaz de reverter todos os parâmetros metabólicos periféricos decorrentes do consumo da dieta HC.

Palavras chaves: Obesidade. Dieta HC. Ansiedade. Comportamento compulsivo. Micróglia. Neuroinflamação.

ABSTRACT

Excessive intake of ultra-processed foods promotes the prejudicial expansion of adipose tissue leading to the development of obesity. Consequently, occur the development of a low-grade chronic inflammatory response. This process is not limited to the periphery and also affects the central nervous system. Inflammatory factors are commonly associated with psychiatric disorders like anxiety and obsessive-compulsive disorder. Indeed, our previous data described anxiogenic-like and compulsive behavior after chronic consumption of a high-carbohydrate (HC) diet in mice. These effects were associated with an increase of inflammatory processes in brain regions involved in such behaviors. The minocycline has anti-inflammatory and has been investigated as a new pharmacological tool for treating neuropsychiatric diseases.

Moreover, the replacement of obesogenic diet induces weight loss and has anti-inflammatory properties, and has anxiolytic and antidepressant effects in rodents. The objective of our study was to verify whether the treatment with minocycline or diet intervention would be effective in attenuating the central and peripheral inflammatory processes, as well as the behaviors of compulsion and anxiety observed after the consumption of HC diet in mice. Male Balb-C mice received the standard diet or HC for 4, 8, and 12 weeks and were subjected to the marble-burying test (MB). Mice fed with 12 weeks of HC diet treated with minocycline for 7 or 15 daily injections (50mg/kg). Twenty-four hours after the last injection, they were subjected to the MB and Novelty Suppressed Feed test (NSF). The brain, adipose tissues, and serum were removed for immunohistochemical and biochemical analyzes. Finally, the effect of replacing the HC diet with a standard diet for 15 days in the MB and NSF tests was evaluated. Only the 12-week diet consumption induced compulsive-like behavior in the MB test. The minocycline administered for 15 days reversed the compulsive and anxious behaviors and several parameters of microglial activation in the prefrontal cortex and hippocampus. The effects of minocycline were not related to body adiposity and the levels of serum metabolic, adipocytokines, and cytokines on adipose tissue. Finally, replacing the HC diet with the standard diet for 15 days reduced the body adiposity and anxious-like behavior but did not reverse the compulsive behavior.

In conclusion, the HC diet requires prolonged consumption to promote compulsive behavior. Additionally, the results obtained after minocycline treatment reinforce the role of neuroinflammation in behavior changes promoted by chronic consumption of the HC diet. Further, the diet intervention did not reduce the compulsive-like behavior since it partially attenuated the peripheral metabolic parameters induced by HC diet consumption.

Key Words: Obesity. HC diet. Anxiety. Compulsion, Microglia. Neuroinflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Possível mecanismo que liga a obesidade, inflamação e transtornos de ansiedade e compulsão.....	29
Figura 2. Processo de ativação microglial.....	32
Figura 3. Imagem representativa do teste de enterrar esferas (MB).....	39
Figura 4. Imagem representativa do teste de alimentação suprimida pela novidade (NSF).....	40
Figura 5. Imagem representativa do teste do campo aberto.....	40
Figura 6. Esquema representativo da análise de Sholl.....	43
Figura 7. Esquema representativo dos grupos experimentais.....	47
Figura 8. O consumo da dieta HC por 4 semanas aumenta o índice de adiposidade corporal dos animais.....	48
Figura 9. O consumo da dieta HC por 8 e 12 semanas aumenta o índice de adiposidade corporal dos animais.....	49
Figura 10. O consumo da dieta HC não promove alterações no peso (A) e consumo alimentar médio diário (B) no decorrer das 12 semanas experimentais.....	49
Figura 11. O consumo da dieta HC por 4 semanas não promove comportamento de compulsão no teste de enterrar esferas.....	50
Figura 12. Apenas o consumo da dieta HC por 12 semanas promove comportamento de compulsão no teste de enterrar esferas.....	50
Figura 13. As três doses de minociclina testadas não altera comportamento de compulsão no teste de enterrar esferas.....	51
Figura 14. As três doses de minociclina testadas não altera comportamento de ansiedade no teste alimentação suprimida pela novidade.....	52

Figura 15. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 7 dias não modifica o comportamento de compulsão observado após o consumo da dieta HC no teste de enterrar esferas.....	53
Figura 16. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 7 dias não modifica o comportamento de ansiedade observado após o consumo da dieta HC no teste alimentação suprimida pela novidade	53
Figura 17. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 15 dias reverte o comportamento de compulsão observado após o consumo da dieta HC no teste de enterrar esferas	55
Figura 18. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 15 dias atenua o comportamento ansiogênico observado após consumo da dieta HC no teste de alimentação suprimida pela novidade	55
Figura 19. O consumo da dieta HC e o tratamento com minociclina não altera a atividade locomotora dos animais no teste campo aberto.....	56
Figura 20. Fotos representativas de expressão de células Iba-1 positivas nas subdivisões do córtex pré-frontal (A), hipocampo (B) e estriado (C) de animais expostos cronicamente a dieta controle ou HC e tratados com minociclina.....	58
Figura 21. Minociclina atenua alterações na morfologia microglial em subdivisões do córtex pré-frontal observado após consumo da dieta HC.....	61
Figura 22. Foto representativa da morfologia microglial nas subdivisões do córtex pré-frontal de animais alimentados cronicamente com dieta HC e submetidos ao tratamento crônico com a minociclina	62
Figura 23. Minociclina atenua alterações na morfologia microglial em subdivisões do hipocampo observado após consumo da dieta HC	64
Figura 24. Foto representativa da morfologia microglial nas subdivisões do hipocampo de animais alimentados cronicamente com dieta HC e submetidos ao tratamento crônico com a minociclina	65
Figura 25. Minociclina atenua alterações na morfologia microglial em subdivisões do núcleo accumbens do estriado observado após consumo da dieta HC	67

Figura 26. Foto representativa da morfologia microglial do núcleo accumbens de animais alimentados cronicamente com dieta HC e submetidos ao tratamento crônico com a minociclina	68
Figura 27. O tratamento crônico com minociclina não altera o consumo alimentar semanal (A) e peso (B) dos animais experimentais.....	70
Figura 28. Tratamento crônico com minociclina não altera a adiposidade corporal dos animais experimentais	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporções de macronutrientes presentes nas dietas padrão para roedores (Nuvilab) e rica em carboidratos refinados (HC).	38
Tabela 2. O consumo da dieta HC e o tratamento com minociclina não alteraram o número de células iba-1+ nas subdivisões do CPF (a) HIP (b) e NAc (c).	57
Tabela 3. O tratamento crônico com minociclina altera algumas citocinas encefálicas em animais alimentados com dieta HC por 12 semanas.....	69
Tabela 4. O tratamento crônico com minociclina não modifica parâmetros metabólicos e inflamatórios periféricos em animais alimentados com dieta HC por 12 semanas.....	72
Tabela 5. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias modifica a quantidade de TNF- α no estriado e IL-10 no hipocampo dos camundongos. ...	75
Tabela 6. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias não atenua a maioria dos metabólitos e adipocitocinas alterados após consumo da dieta HC.	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC: acetil-coA carboxilase
AIF: fator indutor de apoptose
ANOVA: análise de variância
BSA: albumina de soro bovino
ChREBP: proteína de ligação ao elemento responsivo ao carboidrato
CPF: córtex pré-frontal
DMS-5: manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais 5
E.P.M: erro padrão da média
ELISA: Enzyme Linked Immune Sorbent Assay
EROS: espécies reativas de oxigênio
GD: Giro denteado
GPx: glutathione peroxidase
H₂O₂: peróxido de hidrogênio
H₂SO₄: ácido sulfúrico
HC : High Carbohydrates
HIP: hipocampo
i.p: intraperitoneal
IAC: índice de adiposidade corporal
IBA-1: ionizing calcium-binding adaptor molecule 1
IDF: International Diabetes Federation
IL: porção infra-límbico do córtex pré-frontal
IL-6: interleucina-6
LLP: Lipase lipoproteica
LNP: laboratório de neuropsicofarmacologia
MeTS: síndrome metabólica
MMPs: metaloproteinases de matriz
NAc: núcleo accumbens
NO: óxido nítrico
NSF: teste de alimentação suprimida pela novidade
PBS: tampão fosfato salina
PFA: paraformaldeído
PrI: porção pré-límbico do córtex pré-frontal

PPAR: receptores ativados por proliferadores de peroxissoma

RI: resistência à insulina

SREBP-1: proteínas de ligação ao elemento regulatório de esterol

ST: estriado

TAE: tecido adiposo epididimal

TAM: tecido adiposo mesentérico

TAR: tecido adiposo retroperitoneal

TNF α : fator de necrose tumoral α

TOC: transtorno obsessivo compulsivo

SUMÁRIO

1. REVISAO BIBLIOGRÁFICA	13
1.1 Obesidade e sobrepeso	13
1.2 Síndrome metabólica	15
1.3 Transtorno obsessivo compulsivo e transtorno de ansiedade	17
1.4 Modelos experimentais de obesidade e transtornos psiquiátricos	20
1.5 Tecido adiposo, inflamação e transtornos psiquiátricos	25
1.6 Micróglia, obesidade e alterações comportamentais	29
1.7 Perda de peso e transtornos psiquiátricos	34
2.1 Objetivo Geral	36
2.2 Objetivos Específicos	36
3. METODOS	37
3.1 Animais	37
3.2 Composição das dietas	37
3.3 Drogas	38
3.4 Testes comportamentais	38
3.5 Procedimento para coleta dos tecidos	40
3.6 Índice de adiposidade corporal adaptado (IAC adaptado)	41
3.7 Imunohistoquímica para a marcação da proteína Iba-1	41
3.8 Análises dos metabólitos no soro	44
3.9 Análise de adipocitocinas no soro e citocinas no cérebro e TAE	44
3.10 Análise dos resultados	45
3.11 Delineamento experimental	45
4.0 RESULTADOS	48
4.1 O consumo da dieta HC aumentou a adiposidade corporal sem modificar o peso e consumo alimentar dos camundongos	48
4.2 Apenas o consumo por 12 semanas de dieta HC promoveu comportamento tipo compulsivo nos camundongos	49
4.3 O tratamento intraperitoneal por 7 dias com minociclina não atenuou os comportamentos de compulsão e ansiedade promovidos pelo consumo crônico da dieta HC	51

4.4 O tratamento com minociclina por 15 dias atenuou comportamentos de compulsão e ansiedade promovidos pelo consumo da dieta HC.....	54
4.5 O tratamento crônico com minociclina diminui ativação microglial e normalizou os níveis de algumas citocinas encefálicas de camundongos alimentados com dieta HC.....	56
4.6 O tratamento crônico com minociclina não alterou parâmetros metabólicos associados a obesidade.....	69
4.7 A troca da dieta HC pela dieta padrão por 15 dias não alterou o comportamento de compulsão, ocasionado pelo consumo crônico da dieta HC embora atenuou comportamento tipo ansioso e a adiposidade corporal	72
5. DISCUSSÃO.....	77
6. CONCLUSÕES.....	86
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
8.1 ANEXOS.....	120

1. REVISAO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Obesidade e sobrepeso

Desde 1930 a causa da obesidade foi atribuída a um desequilíbrio positivo a favor da energia ingerida em comparação com a energia gasta (NEWBURGH; JOHNSTON, 1930). E durante muito tempo, a recomendação para a diminuição do consumo de calorias e o aumento do aporte energético foram empregados em consultórios médicos como a solução terapêutica para o problema do sobrepeso e obesidade (HOCHBERG, 2018). Entretanto, apenas poucos pacientes apresentavam resultados satisfatórios com as recomendações empregadas e os sujeitos obesos eram culpados pelo seu fracasso terapêutico (HOCHBERG, 2018). Posteriormente, a resistência à insulina foi atribuída como uma nova explicação para a causa da obesidade, dessa forma, preconizava-se como tratamento a redução tanto do consumo de calorias quanto de carboidratos (KAHN; HULL; UTZSCHNEIDER, 2006). Entretanto mais uma vez, essa explicação dogmática sobre a etiologia da obesidade resultou em falhas terapêuticas, já que ela mencionava apenas um único fator responsável pela obesidade (HOCHBERG, 2018). Somente em 2008 a obesidade foi de fato reconhecida como uma doença e atribuída a condições complexas de etiologia multifatorial, incluindo aquelas que estão além do controle dos indivíduos (ALLISON *et al.*, 2008).

A organização Mundial da saúde (OMS) define a obesidade como um acúmulo excessivo de gordura corporal que promove prejuízos à saúde dos indivíduos (WHO, 2000). De maneira simplista, esta ocorre quando a homeostase energética é interrompida, em decorrência do aumento da ingestão de alimentos e armazenamento de energia em comparação com o gasto energético (HILL; WYATT; PETERS, 2012; SEONG *et al.*, 2019). Mudanças no estilo de vida ao longo dos anos, como por exemplo, aumento no consumo de alimentos altamente energéticos e palatáveis associado ao sedentarismo, estão entre os mais importantes fatores predisponentes epidemiológicos para esta doença (GALGANI; RAVUSSIN, 2008). Adicionalmente, a interação entre

a predisposição genética e os fatores sociais e econômicos estão claramente envolvidos na patogênese da obesidade (GONZÁLEZ-MUNIESA *et al.*, 2017).

O diagnóstico da obesidade ocorre através de vários métodos, como por exemplo, bioimpedância, imagem por ressonância magnética, medidas de pregas cutâneas, densitometria e índice de massa corpórea [IMC, (Barrios *et al.*, 2011)]. Este último, é o mais utilizado a nível populacional, e é calculado pela razão da massa corporal (em quilogramas) pela estatura (em metros) ao quadrado ($IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$). De acordo com essa fórmula, o indivíduo é considerado com obesidade grau I, II ou III, se o resultado dessa equação for entre 30 a 34,9; 35 a 39,9 ou ≥ 40 respectivamente (WHO, 2000).

Dados recentes mostram que a obesidade quase triplicou nos últimos 40 anos e passou a atingir não somente os países de alta renda assim como os de baixa e média renda (WHO, 2018). Atualmente, aproximadamente 40% da população mundial apresenta-se com sobrepeso ou obesidade, o que representa 1,9 bilhões de indivíduos adultos. Além disso, estima-se que 2,8 milhões de óbitos a cada ano seja em decorrência de doenças associadas ao sobrepeso e/ou obesidade (WHO, 2018). No Brasil, dados referentes da população residente nas 27 capitais, mostram que 55,4% dos entrevistados apresentam sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$), sendo esse número maior entre homens (57,1%) do que entre mulheres (53,9%); desse total, 20,3% dessas pessoas apresentam obesidade [$IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$, (VIGITEL, 2020)].

Nesse contexto, a obesidade encontra-se em uma situação preocupante, uma vez que está fortemente associada a diversas comorbidades, como por exemplo, doenças cardiovasculares (VAN DER LEEUW *et al.*, 2014), hipertensão arterial (KOTSIS *et al.*, 2010), diabetes mellitus (POWER *et al.*, 2014), osteoartrite (VISSER *et al.*, 2014) e diversos tipos de cânceres (ACKERMAN *et al.*, 2017). Além disso, a prevalência de condições neuropsiquiátricas aumentam com a obesidade (BAKER *et al.*, 2017). Indivíduos obesos têm risco 25% maior de desenvolver depressão e ansiedade (SIMON, G E *et al.*, 2006) assim como, apresentam aumento do tempo de hospitalização e episódios suicidas em decorrência da depressão (MANSUR; BRIETZKE; MCINTYRE, 2015). Adicionalmente, a obesidade é maior em indivíduos com distúrbios psiquiátricos o que indica que a obesidade pode tanto contribuir quanto ser consequência destes transtornos (ALLISON *et al.*, 2009;

MCINTYRE *et al.*, 2006). As taxas de obesidade são particularmente altas em pacientes deprimidos, e a depressão foi considerada um forte preditor do sobrepeso e obesidade, provavelmente devido mudanças no estilo de vida e comportamentos alimentares, assim como, aos efeitos de medicamentos antidepressivos (LASSERRE *et al.*, 2014). Além disso, o estresse psicossocial, o qual é um fator de risco para transtornos psiquiátricos (LUCASSEN *et al.*, 2008) pode também contribuir para o surgimento da obesidade e suas alterações metabólicas (SINHA; JASTREBOFF, 2013). Ainda, essa mútua influência apresenta impacto negativo no tratamento dessas doenças, uma vez que a obesidade diminui a eficácia no tratamento de transtornos de humor e vice versa (MANSUR; BRIETZKE; MCINTYRE, 2015). Os fatores envolvidos em tal associação ainda não são bem estabelecidos.

1.2 Síndrome metabólica

O *International Diabetes Federation* (IDF), define a síndrome metabólica (MetS), como um conjunto de sinais e sintomas que aumentam o risco do paciente de desenvolver diabetes mellitus e doenças cardíacas (IDF, 2006). Essa síndrome foi descrita pela primeira vez por Reaven (1988) o qual a nomeou como “Síndrome X” (REAVEN, 1988). Desde então, a definição e os critérios diagnósticos foram propostos e modificados várias vezes por diferentes organizações de saúde pública. A classificação mais atual foi estabelecida em 2009 em associação do *American Heart Association / National Heart, Lung and Blood Institute* (AHA / NHLBI) com o IDF, e é baseada na presença de 3 dos seguintes fatores (ALBERTI *et al.*, 2009):

- Circunferência da cintura aumentada de acordo com a população: étnico europeu ≥ 94 cm (homens) e ≥ 80 (mulheres) e sul-asiático ≥ 90 cm (homens) e 80 cm (mulheres);
- Glicemia superior a 5,6 mmol/L (100 mg /dl) ou diabetes diagnosticado;
- Colesterol HDL $< 1,0$ mmol/L (40 mg /dl) em homens, $< 1,3$ mmol/L (50 mg/dl) em mulheres ou tratamento medicamentoso para colesterol HDL baixo;
- Triglicerídeos no sangue $> 1,7$ mmol/L (150 mg/dl) ou tratamento medicamentoso para triglicerídeos elevados;

- Pressão arterial >130/85 mmHg ou tratamento medicamentoso para hipertensão.

Até o momento não temos dados globais da prevalência da MetS devido à dificuldade de mensuração dos seus constituintes. Porém, uma vez que a prevalência desta é cerca de três vezes mais comum que o diabetes mellitus (DM), estima-se que aproximadamente 20 a 25% da população adulta mundial apresente essa síndrome (SAKLAYEN, 2018).

Esses números são semelhantes a estudos regionais os quais mostraram prevalência da MetS de 25% no Oriente médio (ANSARIMOGHADDAM *et al.*, 2018), 24,5% na China (LI, RI *et al.*, 2016), 24,3% na Europa (SCUTERI *et al.*, 2015) e 33% nos Estados Unidos (AGUILAR *et al.*, 2015).

Esses valores variam de acordo com a população estudada e o método diagnóstico. No Brasil, um estudo com 1369 indivíduos adultos, mostrou que a prevalência estimada dessa síndrome foi de 22,7%, resultados similares àqueles encontrados em outros países em desenvolvimento (MOREIRA, GISELA CIPULLO *et al.*, 2014). Entretanto, independente do critério para o diagnóstico e população estudada, estudos populacionais mostraram que essa síndrome aumentou nos últimos anos tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento e tornou-se um sério problema de saúde pública em todo o mundo (SCUTERI *et al.*, 2015).

Assim como ocorre na obesidade, a etiologia da MetS é multicausal e está relacionada com a composição genética do indivíduo (FERGUSON-SMITH; PATTI, 2011) além de fatores ambientais como o desequilíbrio energético e qualidade e composição dos alimentos (ROCHLANI *et al.*, 2017; XU, HANG *et al.*, 2019).

A MetS é um estado fisiopatológico complexo e está correlacionada a comorbidades psiquiátricas como os transtornos de humor (MOREIRA, FERNANDA PEDROTTI *et al.*, 2019), ansiedade (TANG; WANG; LIAN, 2017) e compulsão (ALBERT *et al.*, 2013). O aumento do estresse oxidativo (VAN GUILDER *et al.*, 2006), mediadores inflamatórios, adipocitocinas e cortisol parece apresentar papel importante nessa forte associação (ANAGNOSTIS *et al.*, 2009; FRANCISCO *et al.*, 2019; KIR, S, 2019). A respeito da inflamação, as evidências sugerem envolvimento dessa condição na fisiopatologia dos

transtornos psiquiátricos (LEFF-GELMAN *et al.*, 2016; LEFF GELMAN *et al.*, 2019). Vários mediadores pró inflamatórios como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e Interleucina 6 (IL-6) e antiinflamatórios como interleucina 10 (IL-10) já foram identificados por se relacionar com a MetS (CHANG, JUNG-SU *et al.*, 2013; KIR, SEHER *et al.*, 2019; SUPRIYA *et al.*, 2018). O TNF- α pode induzir fosforilação em serina do substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1), e dessa forma atua como um inibidor da ação periférica da insulina promovendo resistência à insulina. Além disso, essa citocina reduz a expressão do transportador de glicose tipo 4 regulado pela insulina (GLUT4) o que acarreta em hiperglicemia (AKASH; REHMAN; LIAQAT, 2018). Adicionalmente, mediadores inflamatórios foram amplamente descritos como agentes causais na rede fisiopatológica da aterogênese e vulnerabilidade da placa (GOLIA *et al.*, 2014). Citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-1, podem induzir a expressão de molécula de adesão vascular (VCAM-1) em áreas com propensão à formação de placas ateroscleróticas (HANSSON; ROBERTSON; SÖDERBERG-NAUCLÉR, 2006) Como consequência ocorre a adesão precoce de leucócitos no endotélio vascular o que pode favorecer o surgimento de aterosclerose (TEAGUE; MEHTA, 2016).

1.3 Transtorno obsessivo compulsivo e transtorno de ansiedade

Tanto a ansiedade como as compulsões e obsessões são sentimentos vivenciados por todas as pessoas em determinadas situações (DSM-5, 2013; HOFFMAN, 2011). Entretanto se esses sentimentos acontecem de forma exagerada e constante e levam prejuízos na qualidade de vida de uma pessoa, pode ser considerado um transtorno (HUSAIN *et al.*, 2020; KLINGLER, 2014). O transtorno obsessivo compulsivo (TOC), segundo manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais 5 (DMS-5), caracteriza-se pela presença de dois principais fatores: obsessões e/ou compulsões. Obsessões consistem em pensamentos, impulsos ou imagens persistentes, recorrentes e indesejáveis, frequentemente perturbadores que podem gerar sentimentos de ansiedade (DSM-5, 2013). Compulsões são comportamentos motores ou mentais repetitivos, onde o um indivíduo sente-se compelido a executar uma determinada tarefa para reduzir a ansiedade causada pelas obsessões, ou por

uma crença e/ou convicção de que as coisas precisam ser feitas de determinada maneira (DRUBACH, 2015; DSM-5, 2013).

O TOC é um transtorno crônico, conhecido desde o século XVI (RUSCIO *et al.*, 2010). Entretanto, durante muitos anos, sua prevalência foi subnotificada devido à falta de busca de intervenção médica pelo paciente tanto pela vergonha do portador em relação aos sintomas ou pelo desconhecimento que esse transtorno é tratável (NESTADT; SAMUELS, 2009; SIMONDS; THORPE, 2003). Nos anos 80 um estudo conduzido com cerca de 20.000 pessoas obteve uma taxa de prevalência ao longo da vida de 1,9% a 3,3% em cinco regiões avaliadas, o que mostrou que esse transtorno era 25 a 60 vezes mais comum do que se supunha até então (KARNO, 1988). Posteriormente, levantamentos epidemiológicos em vários outros países, encontraram taxas semelhantes, chamando a atenção para uma possível “epidemia oculta” (JENIKE, 1989; STEIN, M B; *et al.*, 1997).

Atualmente, estudos populacionais mostram que o TOC possui prevalência mundial de 1 a 3% não diferindo entre os sexos na população adulta (RUSCIO *et al.*, 2010). No Brasil, estima-se que 0,7 a 2,1% da população sofra com essa doença (ALMEIDA-FILHO *et al.*, 1992). Entretanto, é difícil ter uma precisão desses números, devido a mudanças nos critérios para diagnóstico e pelo julgamento do que é um comportamento anormal ou excessivo (DRUBACH, 2015).

Segundo o DSM-5, os transtornos de ansiedade incluem aqueles que apresentam características excessivas de medo e ansiedade. Podem ser divididos em sete classes que incluem: ansiedade de separação, mutismo seletivo, ansiedade generalizada, transtorno de pânico, agorafobia, fobias específicas e transtornos de ansiedade social, que podem diferir entre si pelos tipos de situações ou objetos que induzem medo, ansiedade ou comportamento de esquiva (DSM-5, 2013).

Esse transtorno manifesta-se em diferentes níveis como o afetivo: representado por sentimento de estrangulamento e constrição; cognitivo: caracterizado por experiências subjetivas como pensamentos preocupados e tensão; e alterações fisiológicas: tais como ativação do sistema nervoso simpático e como consequência aumento na sudorese, pressão arterial e frequência cardíaca (CALHOON; TYE, 2015) e ativação do sistema nervoso

parassimpático vegetativo o que determina hipersecreção gástrica, aumento da motilidade intestinal e urgência para defecação e micção (GRAEFF; GUIMARÃES, 2021).

Segundo a OMS (2017), a prevalência dos transtornos de ansiedade no mundo é de 3,6%, sendo duas vezes mais prevalentes em mulheres do que nos homens. O Brasil, apresenta a maior prevalência mundial, com 9,3% da população afetada por essa doença. Além disso, esse transtorno aparece entre as dez principais causas de incapacidade em todas as regiões da OMS (WHO, 2017). Embora os transtornos de ansiedade e o TOC sejam classificados em categorias diferentes segundo o DMS-5 (DSM-5, 2013) essas duas patologias apresentam vias neurais em comum (STEIN, DJ, 2008). Nesse contexto, observa-se que pacientes que sofrem desses transtornos apresentaram hiperatividade frontal/estriatal, assim como disfunção no cíngulo anterior do córtex (KIM; GORMAN, 2005; STEIN, DJ, 2008). Ressalta-se que no TOC a necessidade de rituais ou comportamentos compulsivos geram sintomas de ansiedade nos indivíduos. Além disso, pessoas que possuem TOC são mais propensas a desenvolverem outros transtornos psiquiátricos e neurológicos como a ansiedade (DRUBACH, 2015; PALLANTI *et al.*, 2011), o que reforça a evidencia do envolvimento de circuitos neurais subjacentes.

O tratamento dos transtornos psiquiátricos pode ser realizado através de farmacoterapia. Para o TOC, os medicamentos mais utilizados na clínica são os antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e o antidepressivo tricíclico clomipramina (DRUBACH, 2015). Os ISRS são considerados agentes de primeira linha devido a sua segurança e menor incidência de efeitos colaterais em relação a cloripramina (KORAN *et al.*, 2007). Entretanto, esta deve ser utilizada se os ISRSs não forem eficazes ou tolerados (PITTENGER; BLOCH, 2014). Assim como no TOC, para a maioria dos transtornos de ansiedade, os antidepressivos são considerados tratamento farmacológico de primeira linha. Dentre eles, os mais comumente utilizados são os ISRS e os inibidores da recaptação de serotonina – noradrenalina [IRSNs, (CRASKE; STEIN, 2016)]. Além da abordagem farmacológica, a terapia cognitiva comportamental (TCC) tem sido amplamente utilizada de forma isolada ou em associação com o tratamento farmacológico e apresentou eficácia em alguns estudos (SOUSA *et al.*, 2006; VOLPATO CORDIOLI *et al.*,

2003). Entretanto, os tratamentos convencionais existentes não conseguem reduzir sintomatologia em uma porcentagem significativa de pacientes (PALLANTI; QUERCIOLI, 2006). A implicação clara é que esses transtornos constituem distúrbios complexos que envolvem múltiplos sistemas (EGASHIRA *et al.*, 2008), evidenciando a necessidade de uma melhor compreensão da neurobiologia desses transtornos e subsequente descoberta de novos alvos farmacológicos.

1.4 Modelos experimentais de obesidade e transtornos psiquiátricos

Os modelos animais auxiliam a compreensão das diversas fisiopatologias, incluindo a obesidade e os transtornos psiquiátricos. Especificamente para a obesidade, uma vez que em relação as alterações no peso corporal, 10 dias na vida de um rato equivale aproximadamente 1 ano em humano, a utilização de animais é uma excelente estratégia para se obter respostas em um menor tempo (VON DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006). Nesse contexto, diferentes modelos experimentais de obesidade foram desenvolvidos nos últimos anos, dos quais podemos destacar os genéticos (ASAKAWA *et al.*, 2003; WANG, B; CHANDRASEKERA; PIPPIN, 2014) e os induzidos por dietas (CHANG, H P *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013). O modelo genético mais comumente utilizado é o que envolve uma mutação no gene que codifica a leptina (ob/ob) ou seu receptor [db/db, (WANG, B; CHANDRASEKERA; PIPPIN, 2014)].

A leptina é uma proteína descoberta em 1994 codificada pelo gene ob e produzida principalmente pelos adipócitos (ZHANG, Y *et al.*, 1994). Após ser secretada na circulação atinge o encéfalo através do transporte na barreira hematoencefálica (BHE). No hipotálamo se liga ao seu receptor de forma longa (OB-RL), que contém um domínio intracelular acoplado a Janus quinase (JAK), que por sua vez fosforila transdutores de sinal e ativadores de transcrição 3 (STAT-3). O STAT-3 fosforilado migra para o núcleo, onde regula a transcrição de genes anorexígenos (COUCE *et al.*, 1997; MYERS; COWLEY; MUNZBERG, 2008). Como consequência, promove diminuição da ingestão alimentar além de incrementar o metabolismo de glicose e de lipídeos. Dessa forma os animais que não produzem leptina ou apresentam deficiência no seu

receptor, desenvolvem hiperfagia e acúmulo progressivo de gordura corporal (KERSHAW; FLIER, 2004).

Embora os modelos genéticos representem bem a obesidade extrema, o aumento da obesidade mundial em um curto período de tempo não pode ser explicado pela genética (ICHIHARA; YAMADA, 2008). Dessa forma os modelos experimentais de dieta mimetizam melhor a obesidade desenvolvida em humanos (HARROLD et al., 2000; LUTZ; WOODS, 2012). Além disso, a obesidade induzida por dieta pode ser uma opção mais simples e barata para ser utilizada, já que não necessita de alterações genéticas ou obtenção e/ou manutenção de colônias já estabelecidas. Adicionalmente, pode ser uma excelente escolha para testar estratégias terapêuticas tanto da obesidade quanto das suas comorbidades associadas.

O primeiro modelo de indução de obesidade através de dieta foi utilizado pela primeira vez em ratos em 1949 através da alimentação com dieta palatável semilíquida (INGLE, 1949). Desde então, vários modelos animais obtidos através de dietas hipercalóricas tem sido amplamente utilizados (LUTZ; WOODS, 2012). Dentre esses destacam-se as dietas rica em lipídeos ou *High fat* [HF, (SURWIT et al., 1988; VAN DER HEIJDEN et al., 2015)] e a de cafeteria [CAF, (LEIGH; KENDIG; MORRIS, 2019; OLIVEIRA et al., 2017)]. Tais dietas, denominadas obesogênicas, geralmente apresentam 45% a 60% das kcal provenientes de lipídeos principalmente saturados e podem promover acréscimo do consumo calórico e como consequência aumento de peso e gordura visceral a partir de 4 semanas de tratamento dietético (HARIRI; THIBAUT, 2010). Apesar do aumento progressivo da obesidade em humanos nos últimos anos, a ingestão de gordura diminuiu na última geração (GRAY-DONALD; JACOBS-STARKEY; JOHNSON-DOWN, 2000; IBGE, 2020; YANG, QUANHE et al., 2012). Em contrapartida o consumo de sacarose aumentou significativamente ao longo dos anos, fato que pode estar associado ao aumento da prevalência da obesidade (GROSS et al., 2004). De fato, o consumo de açúcar adicionado é superado pela maioria da população dos Estados Unidos quando se utiliza tanto a recomendação da *American Heart Association* (AHA) de 100 kcal por dia para mulheres e 150 para homens, quanto a recomendação da OMS a qual estabeleceu um limite máximo de 5% das kcal proveniente de açúcares adicionados (LOWNDES et al., 2014). No

Brasil, dados da pesquisa de orçamentos familiares (POF 2017-2018) mostraram que 9,3% do consumo calórico de homens adultos e 10,3% de mulheres são provenientes de adição de açúcar e 85,4% da população adicionam açúcar nas preparações (IBGE, 2020). Adicionalmente, dados em roedores mostram que dietas ricas em carboidratos e açúcares refinados (High carbohydrates – HC) são capazes de aumentar a adiposidade corporal dos animais sem necessariamente induzir ganho de peso (GOMES, J A S et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2013). Além disso, promoveu aumento de metabólitos como o colesterol total, glicose e triglicérides e adipocitocinas séricas como leptina, quemerina e resistina, assim como, um processo inflamatório sistêmico crônico de baixo grau compatível com as alterações em humanos, o que caracteriza esse modelo também como modelo de MetS (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Considerando que os carboidratos constituem o principal macronutriente das dietas, sobretudo em países ocidentais (IBGE, 2020; JEBB, 2015; LOUZADA *et al.*, 2018), a utilização da dieta HC como modelo de indução de obesidade pode reproduzir bem a etiologia da obesidade atual e portanto essa dieta foi utilizada no presente trabalho.

Além de modelos de obesidade, camundongos podem ser utilizados a fim de compreender a fisiopatologia de transtornos psiquiátricos (GRAEFF; GUIMARÃES, 2021). Esse conhecimento, se iniciou com a observação inicial de Charles Darwin (1872) de que a expressão da emoção em humanos era filogeneticamente parecida com de outros mamíferos (CAMPOS, ALLINE C *et al.*, 2013). Baseado nesse pressuposto esses modelos tentam reproduzir características desses transtornos como as alterações comportamentais e fisiológicas associadas a estados emocionais específicos (validade de face). Além disso, as validades construto teórico e preditiva, referentes a etiologia de doenças e as respostas a tratamentos farmacológicos respectivamente, são extremamente necessárias para a validação de um modelo (GRAEFF; GUIMARÃES, 2021). Diante disso, embora nenhum modelo seja capaz de reproduzir todas as características e sintomas dos transtornos psiquiátricos, vários modelos foram propostos nos últimos anos (HÖLTER *et al.*, 2015; KORFF; HARVEY, 2006).

Os modelos animais de ansiedade incluem os condicionados e os não condicionados. Os modelos condicionados, utilizam condicionamento para

treinar o animal a associar um estímulo neutro acústico ou visual com um estímulo aversivo, como por exemplo, choque elétrico nas patas, a fim de alterar um comportamento natural. Um exemplo, é o teste do medo condicionado ao som, no qual animais são expostos a uma caixa eletrificada e recebe um choque junto com um apito sonoro. Posteriormente esse animal é colocado na caixa apenas com o apito sonoro e é avaliado o tempo imóvel (congelamento) ou número de sobressaltos do animal, os quais são associados ao comportamento tipo ansioso (FANSELOW; WASSUM, 2016).

Já para os modelos não condicionados de ansiedade a premissa básica é a ocorrência de um conjunto de respostas comportamentais induzidas pela exposição a situações que podem gerar medo (IMAIZUMI; ONODERA, 2000). Dentre essas pode-se destacar um ambiente novo, que é capaz de gerar curiosidade e aversão ao mesmo tempo, criando um conflito. Esse local pode ser um lugar elevado e desprotegido como nos testes labirinto em zero (SHEPHERD *et al.*, 1994) e labirinto em cruz elevado (PELLOW; FILE, 1986); ou iluminado como no teste caixa claro escuro (CRAWLEY; GOODWIN, 1980). Dessa forma o comportamento tipo ansioso do animal será mensurado pelo menor tempo e número de entrada nesses ambientes. Adicionalmente, comportamentos defensivos básicos apresentados pelos camundongos na presença de predadores ou outros animais agressivos da sua espécie, pode ser utilizado para mensuração da ansiedade (BLANCHARD *et al.*, 1998), como nos teste de interação presa-predador (CAMPOS, KELCIANE FERREIRA CAETANO *et al.*, 2013).

Ainda a ansiedade pode ser avaliada de modo não condicionado através da interação social (FILE; HYDE, 1978). Testes baseados nesse comportamento, avaliam o tempo que o animal permanece em contato com outro animal de sua espécie e não em uma situação de conflito como os demais. Dessa forma, um menor tempo de interação é atribuído ao comportamento tipo ansioso (CRYAN; SWEENEY, 2011). O conflito pode ser gerado ainda através de um comportamento motivado, como comer ou beber, com um estímulo aversivo, como por exemplo no teste de conflito de Vogel, no qual ratos após privação de água, são expostos a bebedouros eletrificados e o comportamento de beber água é punido com um leve choque elétrico. Dessa forma, menor quantidade de lambidas punidas no bebedouro é atribuída ao comportamento tipo ansioso

desses animais (RODGERS *et al.*, 1997). Uma alternativa para os testes de conflito que minimizam os problemas éticos de expor os animais à dor, é substituir a punição dolorosa por um ambiente naturalmente aversivo, como no teste alimentação suprimida pela novidade [NSF, do inglês *novelty suppressed feeding*, (POSCHEL, 1971; POSCHEL *et al.*, 1974)].

O NSF foi originalmente desenvolvido por Poschel (1971) a partir da observação prévia de Hall (1934) que a exposição de roedores a um novo ambiente é capaz de suprimir a alimentação (HALL, 1934; POSCHEL, 1971; POSCHEL *et al.*, 1974). Esse teste foi inicialmente utilizado para estudar a eficácia dos benzodiazepínicos no tratamento da ansiedade (POSCHEL *et al.*, 1974; SHEPHARD; BROADHURST, 1982) e se baseia no medo inato de roedores à novidade e a ambientes claros. Dessa forma, mesmo submetidos ao jejum, os camundongos que apresentam um comportamento tipo ansioso levarão mais tempo para se alimentar quando expostos a um ambiente novo e iluminado (POSCHEL, 1971). Posteriormente, esse teste também foi validado farmacologicamente com os antidepressivos desipramina e amitriptilina. Após tratamento crônico, esses medicamentos diminuíram a latência para alimentação neste teste (BODNOFF *et al.*, 1988).

Além dos modelos supracitados, o teste de enterrar esferas (MB, do inglês, *marble burying*), foi originalmente proposto como um modelo de transtorno de ansiedade generalizada, uma vez que fármacos que diminuem a ansiedade em humanos como os benzodiazepínicos (BROEKKAMP *et al.*, 1986), e os inibidores da recaptação de serotonina [ISRS, (NJUNG'E; HANDLEY, 1991)] atenuaram o número de esferas enterradas pelos animais nesse teste. Entretanto, em 1995, Gyertyán *et al.*, observaram que os animais submetidos a repetidas sessões do MB não se habituavam ao teste. Além disso ele demonstrou que ao contrário dos modelos de ansiedade que geravam medo ou ansiedade, o enterro das esferas de vidro não ocorria devido a estímulo ansiogênico provocados por essas esferas, e sim pela presença de um terreno "escavável". Dessa forma sugeriu que o enterro de esferas de vidro, poderia ser uma forma de medir a intensidade da atividade de escavação (GYERTYÁN, 1995). Em 2002, Borsini *et al* mostraram que fármacos ansiolíticos só diminuíam o número de esferas enterradas, em doses que diminuíam a locomoção dos animais, criticando a validade farmacológica desse teste para

ansiedade (BORSINI; PODHORNA; MARAZZITI, 2002). Posteriormente, Thomas *et al* (2009) sugeriram que o enterro de esferas estava mais associado ao comportamento compulsivo ou repetitivo (THOMAS *et al.*, 2009). Assim, atualmente esse modelo é mais empregado para avaliar o comportamento tipo compulsivo em camundongos.

1.5 Tecido adiposo, inflamação e transtornos psiquiátricos

Durante muitos anos, o tecido adiposo branco foi considerado somente como um depósito de reserva energética (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013). Esse conceito mudou em 1993 com a identificação do aumento da expressão do fator de necrose tumoral α (TNF- α) no tecido adiposo de obesos (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993). Posteriormente, outras adipocitocinas foram subsequentemente encontradas no tecido adiposo como a leptina (ZHANG, Y *et al.*, 1994), adiponectina (MAEDA *et al.*, 1996), interleucina-6 (IL-6) (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997) e interleucina 10 (IL-10) (JUGEAUBRY *et al.*, 2005). Atualmente, mais de 600 proteínas secretadas por adipócitos com várias funções já foram identificadas (LEHR; HARTWIG; SELL, 2012) e o tecido adiposo é considerado um órgão metabolicamente ativo com funções na homeostase metabólica, e na regulação do balanço energético sistêmico (ROSEN; SPIEGELMAN, 2006). Assim, frequentemente um estado inflamatório crônico de baixa intensidade está associado a expansão desse tecido e o desenvolvimento da obesidade (SIKARIS, 2004).

Diversos mecanismos são responsáveis pelo desenvolvimento desse processo inflamatório, como por exemplo, composição da dieta (KARCZEWSKI *et al.*, 2018), alterações na permeabilidade intestinal (BILSKI *et al.*, 2019), além da hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos (SUN, K; KUSMINSKI; SCHERER, 2011).

Ácidos graxos livres derivados da dieta ou da lipólise podem se ligar indiretamente a receptores do tipo *Toll Like* (TLRs), como TLR2 e TLR4, em macrófago por meio da proteína adaptadora fetuína A (LEE *et al.*, 2004; NGUYEN *et al.*, 2007), e ativar vias de sinalização de quinase regulada por sinal extracelular (ERK) e o fator nuclear kappa B [NF κ -B, (WANG, CUIZHE *et al.*, 2017)]. O NF κ B controla a expressão de genes que codificam quimiocinas,

citocinas pró-inflamatórias, enzimas inflamatórias induzíveis, moléculas de adesão e algumas proteínas de fase aguda, favorecendo assim, o processo inflamatório (BACH KNUDSEN *et al.*, 2018). A alteração na microbiota intestinal também foi sugerida como um potencial gatilho da inflamação associada a obesidade. O intestino de indivíduos obesos apresentam uma microbiota com menor diversidade dos filos de bactérias que colonizam o trato gastrointestinal, além do aumento da proporção na quantidade relativa de firmicutes para bacteroidetes, as duas divisões bacterianas dominantes no intestino (ANGELAKIS *et al.*, 2012; JUMPERTZ *et al.*, 2011). Ainda, a obesidade favorece a diminuição na porcentagem de bactérias produtoras de butirato, um ácido graxo de cadeia curta que demonstrou ser capaz de bloquear a via do fator de transcrição κ B [NF κ B, (BACH KNUDSEN *et al.*, 2018; HORIE *et al.*, 2017)]. Além disso, em pessoas obesas há maior deposição de lipídeos no tecido adiposo mesentérico (BILSKI *et al.*, 2019). Em conjunto, esses fatores podem resultar em inflamação local, ruptura da mucosa e aumento da permeabilidade intestinal, o que favorece a passagem de lipopolissacarídeo (LPS) do lúmen para a corrente sanguínea. O LPS pode iniciar uma cascata inflamatória por meio da ativação de receptores de reconhecimento de padrão (PRRs), como o receptor TLR4 em adipócitos e macrófagos e como consequência, desencadeia uma resposta imune periférica e a inflamação sistêmica de baixa intensidade (BILSKI *et al.*, 2019). Por fim, a obesidade induz a hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos o que resulta em hipoperfusão e hipóxia tecidual e, conseqüentemente morte de adipócitos, recrutamento de macrófagos e inflamação sistêmica (SUN, K; KUSMINSKI; SCHERER, 2011).

As evidências atuais sugerem o envolvimento de citocinas pró-inflamatórias em transtornos psiquiátricos (LEFF-GELMAN *et al.*, 2016; LEFF GELMAN *et al.*, 2019). Essa hipótese é sustentada por observações clínicas de que o interferon Gama (IFN- γ), usado no tratamento de câncer e hepatite, favoreceu o surgimento de depressão em alguns pacientes (ZHENG, L S *et al.*, 2014). De forma semelhante, o aumento de vários mediadores inflamatórios como proteína C reativa [PCR, (CHOI; JOSEPH; PILOTE, 2013)] quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, proteínas de fase aguda e moléculas de adesão apresentam-se elevados em pessoas com sintomas depressivos (RAISON; CAPURON; MILLER, 2006). Adicionalmente, a administração de citocinas pró

inflamatórias induziu comportamentos tipo depressivo em camundongos (DANTZER *et al.*, 2008).

Durante muitos anos, o SNC foi considerado como um órgão protegido de fatores imunológicos periféricos devido a presença da barreira hematoencefálica (BHE), que protege e separa o SNC do sistema periférico (CHOW; GU, 2015). Entretanto, hoje já se sabe que o nervo vago, plexo coroide e vasos linfáticos representam vários canais de comunicação entre a periferia e o SNC (LOUVEAU *et al.*, 2015). Além disso, a BHE pode reagir a estímulos externos e secretar mediadores na circulação e no SNC. Esses e outros mediadores podem, por sua vez, alterar a permeabilidade da barreira e como consequência, facilitar a entrada direta de células e citocinas da periferia para o parênquima cerebral (GUILLEMOT-LEGRIS; MUCCIOLI, 2017). Uma vez no SNC, citocinas podem ativar vias de sinalização inflamatórias como NF- κ B, proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e a indolamina 2,3 dioxigenase (IDO), sendo essa última uma enzima responsável pela degradação do triptofano, um aminoácido essencial na biossíntese de serotonina. Como consequência, haverá um esgotamento deste aminoácido e redução subsequente da disponibilidade de serotonina (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015). Além disso, a ativação dessa via ocasiona a liberação de metabólitos neurotóxicos da quinurenina, como o ácido quinolínico (QUIN) e 3- hidroxiquinurenina [3HK, (GILLES, 2012)]. QUIN é um agonista do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), e tem uma alta potência *in vivo* como excitotoxina (STONE; PERKINS, 1981) enquanto 3HK é um gerador de radicais livres (OKUDA *et al.*, 2002) que favorece a neurodegeneração. Além disso, ativação de vias inflamatórias pode reduzir os níveis de dopamina (DA) e noradrenalina [NE, (LEFF-GELMAN *et al.*, 2016)] pela redução de tetrahydrobiopterina (BH₄), um cofator obrigatório para a atividade das enzimas fenilalanina hidroxilase, tirosina hidroxilase e triptofano hidroxilase sendo fundamental na síntese desses neurotransmissores (KAUFMAN, 1963).

Adicionalmente, o excesso de citocinas pró-inflamatórias pode regular negativamente a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em áreas envolvidas no comportamento de depressão, ansiedade e compulsão, como córtex pré-frontal (CPF), estriado (ST) e hipocampo (HIP). A redução dessa neurotrofina está associada à apoptose neuronal e, como

consequência, o favorecimento de distúrbios psiquiátricos, principalmente a depressão (HASHIMOTO, 2010). Além dos fatores supracitados, as citocinas apresentam um importante papel na ativação microglial (HANISCH, 2002). Uma ativação microglial exacerbada pode prejudicar a neurogênese hipocampal devido ao aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, e reduzir a neuroplasticidade o que pode favorecer o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (SIERRA *et al.*, 2014).

Uma vez que a inflamação parece participar da fisiopatologia de transtornos neuropsiquiátricos, a inflamação crônica de baixa intensidade induzida pela expansão do tecido adiposo, parece ter papel fundamental no surgimento das comorbidades neuropsiquiátricas (CAPURON *et al.*, 2011; CAPURON; LASSELIN; CASTANON, 2016; JAREMKA; PACANOWSKI, 2019). Essa hipótese foi sustentada inicialmente por experimentos realizados por Souza *et al.* (2005) que demonstraram que a dieta rica em gordura (HF) ativou os fatores de transcrição pró inflamatórios como c-Jun N-terminal quinase (JNK) e NFκB e elevou a expressão das citocinas pró-inflamatórias TNF-α, IL-6 e IL-1β no hipotálamo (DE SOUZA *et al.*, 2005). Várias outras investigações mostraram que a dieta HF pode causar não só inflamação hipotalâmica como também em outras áreas encefálicas (DUTHEIL *et al.*, 2016; JEON *et al.*, 2012; WANG, SEN *et al.*, 2016). Ainda, dados pré-clínicos mostram que a inflamação crônica de baixa intensidade que ocorre nos quadros de obesidade em roedores, associa-se com prejuízos cognitivos e comportamentos tipo depressivo (CHAN; CATHOMAS; RUSSO, 2019). Dados do nosso grupo observaram comportamentos de ansiedade e depressão após consumo crônico da dieta HC (SANTOS *et al.*, 2018). O bloqueio de mediadores inflamatórios como o TNF-α e a isoforma induzida da enzima óxido nítrico sintase (iNOS), atenuou alterações comportamentais em outros estudos (FOURRIER *et al.*, 2019; GOMES, J A S *et al.*, 2018).

Além desses estudos experimentais, investigações populacionais, mostraram que o estado inflamatório decorrente da obesidade apresenta relação com transtorno de ansiedade (JAREMKA; PACANOWSKI, 2019) e depressão (DANTZER *et al.*, 2008). Além disso, a diminuição da ansiedade observada após perda de peso foi associada à redução da inflamação (CAPURON *et al.*, 2011). Assim, embora outros mecanismos provavelmente liguem a obesidade e

os transtornos psiquiátricos e cognitivos, a conversão das vias inflamatórias centrais e periféricas que resultam no comprometimento das vias regulatórias hipotalâmicas da alimentação, mas também de outras regiões encefálicas, apresenta importante papel nesses transtornos (MILLER; SPENCER, 2014).

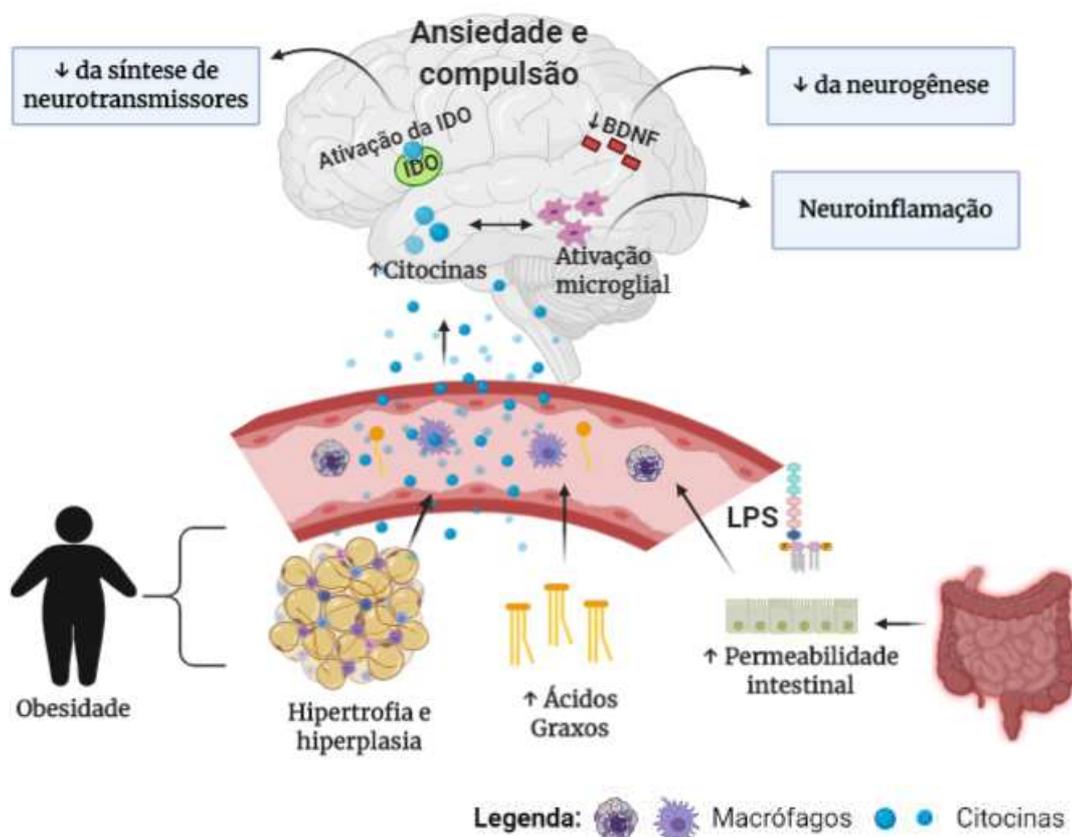


Figura 1. Possível mecanismo que liga a obesidade, inflamação e transtornos de ansiedade e compulsão.

A obesidade favorece a inflamação através de várias vias, como por exemplo, hipertrofia e hiperplasia de adipócitos, aumento de ácidos graxos saturados e aumento da permeabilidade intestinal. Por sua vez, citocinas pro inflamatórias sistêmicas decorrentes da inflamação crônica oriunda da obesidade podem acessar o SNC e favorecer ativação da enzima IDO, diminuição de fatores neurotróficos como o BDNF e ativação de células microgliais. Todos esses eventos podem estar associados à redução da síntese de neurotransmissores e da neurogênese e aumento da neuroinflamação, favorecendo o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos. BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro IDO: indolamina 2,3 dioxigenase; LPS: Lipopolissacarídeo. Figura do autor criada no site biorender.com.

1.6 Micróglia, obesidade e alterações comportamentais

O sistema nervoso possui diversas células não neuronais denominadas neuroglia. O termo glia foi citado pela primeira vez em 1856 por Rudorlf

Virchow, sendo considerada toda a porção que não são neurônios do SNC (PRINZ; JUNG; PRILLER, 2019). Atualmente as células gliais são reconhecidas como células morfológica e funcionalmente distintas, que apresentam inúmeras funções como manutenção da homeostase e regulação da transmissão do sinal neural. Além disso, evidências crescentes mostraram que as células gliais também funcionam como células-tronco neurais progenitoras e contribuem para a neurogênese em adultos (TAN *et al.*, 2017).

As células gliais podem ser classificadas de acordo com sua localização em glia do sistema nervoso periférico (SNP) e do SNC (VERKHRATSKY *et al.*, 2019). No SNP são representadas principalmente pelas células de Schwann e gliais satélite (BERNE; LEVY, 2018). No SNC essas células são classificadas em dois grupos de acordo com o seu tamanho em micróglia e macróglia, sendo a última representada pelos astrócitos, células endoteliais, oligodendrócitos e células progenitoras de oligodendrócitos (ZUCHERO; BARRES, 2015).

Os astrócitos são as principais células da glia do SNC e promovem a sobrevivência neuronal através do suporte metabólico, uma vez que possui comunicação tanto com os vasos sanguíneos quanto com os neurônios, permitindo assim uma passagem de nutrientes para essas células (PELLERIN *et al.*, 2007). Os oligodendrócitos no SNC e células de Schwann no SNP apresentam função primordial na velocidade de transdução de sinais, uma vez que formam a bainha de mielina, um isolante elétrico que permite a transmissão rápida de sinais (ZUCHERO; BARRES, 2015). Já as células endoteliais constituem o epitélio de revestimento dos ventrículos cerebrais (BERNE; LEVY, 2018).

As células micróglia foram identificadas em 1924, após análises histológicas detalhadas realizadas por Rio del Hortiga. São as menores células da glia no SNC, e correspondem apenas 10% de todas as células encefálicas (TREMBLAY *et al.*, 2015). Entretanto são as principais células imunes no SNC que medeiam a neuroinflamação (REIS; CASTEEN; ILARDI, 2019; XU, L; HE; BAI, 2016). Podem ser consideradas como macrófagos residentes do cérebro, porém, ao contrário dos macrófagos perivasculares, meníngeo e plexo coroide, as micróglia se originam a partir de uma única célula progenitora no saco vitelino e povoam o SNC antes de sua vasculogênese (GINHOUX *et al.*, 2010). Já os macrófagos, apresentam um desenvolvimento mais tardio e passam pelo

fígado do feto antes de sua migração para tecidos específicos (PERDIGUERO; GEISSMANN, 2016).

Após a migração dos progenitores da micróglia para o SNC ela se torna autossuficiente e durante a homeostasia não ocorre infiltração significativa de macrófagos/monócitos da circulação para o cérebro (PERDIGUERO; GEISSMANN, 2016; RM, 2011). Além disso, em condições fisiológicas, essas células apresentam-se em estado quiescente com morfologia específica, representada por um corpo celular menor e várias ramificações alongadas (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015).

Micróglia são células multifuncionais e apresentam papel importante na manutenção da homeostasia do SNC devido a sua função fisiológica na produção de neurotrofinas, fagocitose e poda sináptica (ARCURI *et al.*, 2017). Monitoram o ambiente ao redor proporcionando tanto a sobrevivência quanto a morte dos neurônios (CHUNCHAI; CHATTIPAKORN; CHATTIPAKORN, 2017). Quando ativada por estímulos fisiológicos ou patológicos ocorrem mudanças morfológicas e funcionais nessas células. Nessas condições, as micróglia possuem ramificações reduzidas e grossas e tamanho do corpo celular maior, o que é característico de uma ativação inflamatória. Micróglia ativadas, passam a produzir maior quantidade de citocinas pró-inflamatórias potencializando o processo inflamatório (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015). Esse processo pode promover um rompimento da BHE e como consequência, a entrada de monócitos provenientes da periferia para o parênquima do SNC (AJAMI *et al.*, 2011). Os monócitos infiltrados, por sua vez, podem se converter em células com semelhanças morfológicas a micróglia, aumentando o número dessas células no local da infecção ou lesão (GOPINATH *et al.*, 2020). Quando os fragmentos celulares ou substâncias antigênicas são removidos, a micróglia retorna ao estado de repouso e as células infiltradas no SNC desaparecem (AJAMI *et al.*, 2011).

Vários agentes patogênicos infecciosos são descritos por induzirem ativação microglial (FIGARELLA *et al.*, 2019; OZARSLAN; ROBINSON; GAW, 2019). Além disso, outros fatores não infecciosos como o estresse (WALKER; NILSSON; JONES, 2013) e dieta rica em lipídeos (VINUESA *et al.*, 2016) mostraram-se capazes de induzir inflamação e consequente ativação microglial em várias regiões encefálicas envolvidas com os transtornos psiquiátricos.

Dados prévios do nosso grupo, observaram resposta neuroinflamatória após o consumo da dieta HC representado pelo aumento da ativação microglial e óxido nítrico (NO) no CPF e HIP (GOMES, JULIA A.S. *et al.*, 2020).

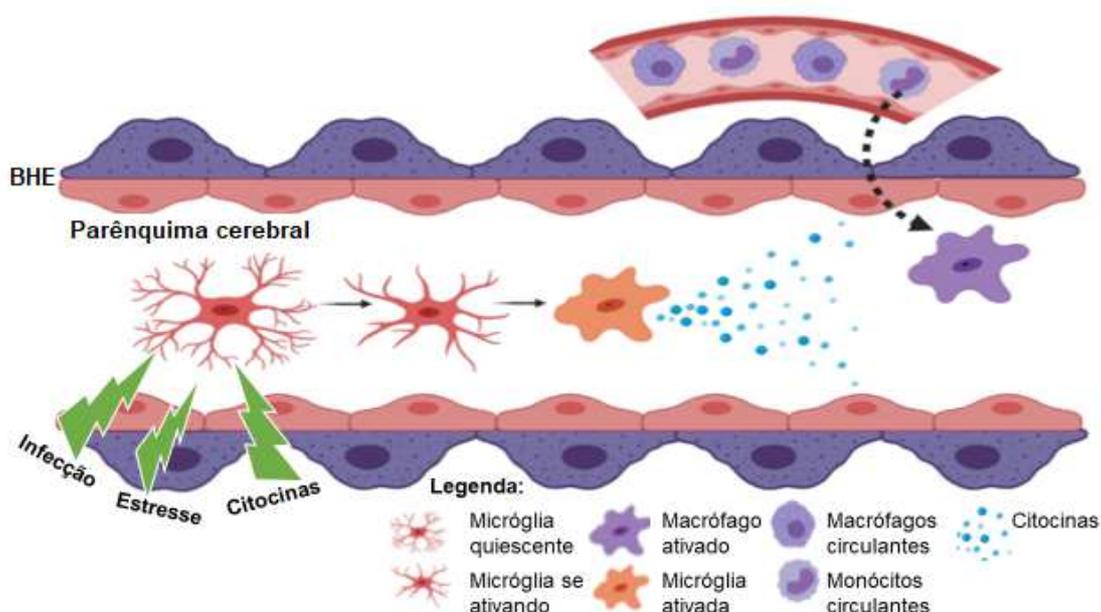


Figura 2. Processo de ativação microglial

Vários agentes infecciosos e não infecciosos podem promover a ativação microglial caracterizada por alterações na morfologia microglial. Uma vez ativada, a micróglia passa a produzir várias citocinas pró inflamatórias caracterizando o processo de neuroinflamação. A neuroinflamação por sua vez, diminui a permeabilidade da barreira hematoencefálica e como consequência, a entrada de monócitos provenientes da periferia no parênquima encefálico, o que potencializará o processo neuroinflamatório. BHE: barreira hematoencefálica. Figura do autor criada no site biorender.com.

As evidências atuais apoiam que a obesidade pode favorecer o desenvolvimento de déficits cognitivos (ALOSCO *et al.*, 2014; DYE *et al.*, 2017) e doenças neurodegenerativas (DANAT *et al.*, 2019; PUGAZHENTHI; QIN; REDDY, 2017). De fato, estudos de neuroimagem revelaram uma redução neuronal e do volume cerebral em indivíduos obesos (WARD *et al.*, 2005). A micróglia pode apresentar um papel fundamental nessas alterações uma vez que essas células moldam circuitos neurais fagocitando sinapses fracas (ARCURI *et al.*, 2017). Dessa forma a obesidade pode interferir nas sinapses o que causa a eliminação dessas sinapses pela micróglia (HAO *et al.*, 2016). Uma interpretação alternativa é que a obesidade faz com que a micróglia se

torne patologicamente reativa, e como consequência ocorre a fagocitose de sinapses funcionais (COPE *et al.*, 2018).

Embora as mudanças funcionais e morfológicas que ocorrem pela ativação microglial sejam de suma importância para lidar com os desafios patogênicos, essas alterações podem comprometer o funcionamento fisiológico da micróglia, que podem alterar respostas cognitivas, comportamento e humor (TAY; BÉCHADE; *et al.*, 2017; TAY; SAVAGE; *et al.*, 2017). Nesse contexto, diversos estudos mostram que a neuroinflamação induzida pela ativação microglial está relacionada a sintomas do tipo depressivos em roedores (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015).

De fato, um estado de ativação microglial é encontrado tanto na obesidade (BOCARSLY *et al.*, 2015) quanto nos transtornos psiquiátricos (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015) o que mostra um elo entre essas duas patologias. Dessa forma, a inibição da ativação microglial pode ser um alvo importante para atenuar as alterações comportamentais originadas de um processo de neuroinflamação como por exemplo, inflamação decorrente da obesidade.

Nesse contexto estudos mostraram que a minociclina, um fármaco capaz de inibir a ativação microglial atenuou o comportamento tipo depressivo ocasionados pelo consumo de uma dieta rica em lipídeos em camundongos (REIS; CASTEEN; ILARDI, 2019; ZHANG, CAI *et al.*, 2019).

A minociclina (7-dimetilamino-6-dimetil-6-desoxitetraciclina) é um fármaco semissintético análogo da tetraciclina com propriedades anti-inflamatórias, antibióticas, antifúngica e antiapoptótica (SOCZYNSKA *et al.*, 2012) . Apresenta uma alta permeabilidade na barreira hematoencefálica devido sua lipofilicidade e tamanho reduzido (LI, C; YUAN; SCHLUESENER, 2013; MURROUGH *et al.*, 2015). A minociclina é amplamente utilizada como um antibiótico de amplo espectro com ação bacteriostática através da inibição da síntese proteica e apresenta ação contra bactérias gram-negativas e gram-positivas (GARRIDO-MESA; ZARZUELO; GÁLVEZ, 2013). É completamente absorvida quando tomada oralmente, clinicamente bem tolerada em dosagens de até 200 mg/dia e é considerado segura para seres humanos pelo *Food and Drug Administration* [FDA, (BARZA *et al.*, 1975)]. Além disso, tem sido utilizada no tratamento de várias doenças inflamatórias e foi reportado um efeito

neuroprotetor dessa droga e melhorias no perfil de doenças neurodegenerativas (KIM, H S; SUH, 2009; LI, C; YUAN; SCHLUESENER, 2013). De fato, os principais efeitos biológicos da minociclina estão envolvidos na patogênese de vários distúrbios neurológicos e suas vias de atuação ocorre através da atenuação da apoptose e da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), assim como a inibição da ativação microglial e como consequência atenuação da liberação subsequente de metaloproteinases de matriz (MMPs), óxido nítrico (NO) e citocinas (PLANE *et al.*, 2010).

Ainda, estudos mostraram potencial ação antidepressiva e ansiolítica dessa droga (AN *et al.*, 2015; SCHMIDTNER, ANNA K. *et al.*, 2019). Como evidenciado por Zheng *et al* (2015) e Saeedi Saravi *et al* (2016), os quais mostraram que a minociclina reduziu o comportamento tipo depressivo, induzidos por citocinas pró-inflamatórias e pesticidas organofosforados respectivamente (SAEEDI SARAVI *et al.*, 2016; ZHENG, LS; KANEKO; SAWAMOTO, 2015). Em humanos, alguns estudos testaram a eficácia da minociclina em pacientes com ansiedade e depressão, com resultados promissores (DEAN *et al.*, 2017; GAJBHIYE *et al.*, 2018; MURROUGH *et al.*, 2015; SOCZYNSKA *et al.*, 2012).

1.7 Perda de peso e transtornos psiquiátricos

A relação entre obesidade e saúde mental tem recebido destaque na literatura nos últimos anos, especialmente no que se refere aos transtornos psiquiátricos. Dessa forma, vários estudos têm procurado compreender se a perda de peso pode melhorar esses transtornos em indivíduos obesos (BURGMER *et al.*, 2007; CAPURON *et al.*, 2011). Grande parte desses estudos focam em vias psicossociais e comportamentais, e baseiam-se no fato das pessoas com obesidade serem alvos de preconceito e discriminação, fato que contribui no desenvolvimento de distúrbios psicossociais (TEICHMANN *et al.*, 2006). Nesse sentido, a perda de peso do indivíduo pode promover melhora nos sintomas psiquiátricos também considerando-se a melhora da autoestima.

Embora muitos fatores psicológicos sejam importantes contribuintes para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos (TEICHMANN *et al.*, 2006), fatores biológicos, também são sugeridos em influenciar no aparecimento

desses distúrbios (CAPURON *et al.*, 2011; CAPURON; LASSELIN; CASTANON, 2016; JAREMKA; PACANOWSKI, 2019). Nesse contexto, a diminuição da resposta ao estresse pode ser um importante fator contribuinte para a redução de comportamento ansioso após a perda de peso. Foi demonstrado por Butler *et al.* (1990) que a infusão de do fator de liberação de corticotropina (CRF) aumentou o comportamento tipo ansioso em camundongos (BUTLER *et al.*, 1990). Por outro lado, a restrição alimentar promoveu diminuição do receptor de glicocorticóides e CRF (LINDBLOM *et al.*, 2005).

O tecido adiposo é a principal fonte de adipocinas que podem modular múltiplas respostas imunes e metabólicas (FONTANA *et al.*, 2021). Dessa forma, a perda de peso e consequente diminuição do estado inflamatório crônico de baixa intensidade pode apresentar um importante papel para melhoria dos sintomas depressivos e ansiosos em humanos (BURGMER *et al.*, 2007; CAPURON *et al.*, 2011) e alterações comportamentais em camundongos (KIM, HWAJIN *et al.*, 2016; LEVAY *et al.*, 2007; YAMAMOTO *et al.*, 2009; ZEMDEGS *et al.*, 2016). Adicionalmente, foi demonstrado por Berkseth *et al.* (2014) que a perda de peso induzida pela troca de dieta HF para ração padrão em camundongos reverteu a ativação microglial no núcleo arqueado (ARC) do hipotálamo, uma região chave para a regulação da homeostase energética e da adiposidade o que sugere que a perda de peso pode melhorar a reatividade microglial (BERKSETH *et al.*, 2014).

Assim, verificamos no presente trabalho a hipótese de que o tratamento com minociclina ou a perda de peso induzida por intervenção dietética atenuará os comportamentos de ansiedade e compulsão e as respostas inflamatórias central e periférica observados após o consumo da dieta HC.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar se o tratamento com minociclina ou intervenção dietética atenuará os comportamentos de ansiedade e compulsão e as respostas inflamatórias central e periférica observados após o consumo da dieta HC.

2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Verificar o tempo necessário de consumo da dieta HC para induzir comportamento tipo compulsivo.

- ❖ Verificar se o pré-tratamento com minociclina atenua as consequências comportamentais, ativação microglial e alterações sistêmicas observadas após o consumo crônico da dieta HC.

- ❖ Verificar se a troca da dieta HC pela dieta padrão atenua as alterações comportamentais e sistêmicas decorrente do consumo crônico da dieta HC.

3. METODOS

3.1 Animais

Camundongos Balb/C, machos, com 6 a 7 semanas de vida provenientes do Centro de Bioterismo da UFMG (CEBIO – UFMG) foram mantidos agrupados (7 a 8 animais por caixa) em suas respectivas caixas em uma das salas do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas-2 (BICBIO-2) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), com ciclo claro-escuro 12h (7 as 19 horas) e ração e água *ad libitum*. Os procedimentos descritos a seguir foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFMG) sob o número de protocolo 065/2017.

3.2 Composição das dietas

Os animais foram alimentados com ração padrão para roedores (Nuvilab-CR1) ou dieta rica em carboidratos refinados (HC).

A dieta HC é constituída de 45% de leite condensado, 45% de uma dieta comercial para roedores (Nuvilab-CR1) e 10% de açúcar refinado (OLIVEIRA *et al.*, 2013). A confecção da dieta HC foi realizada da seguinte forma: Em uma vasilha, foi colocado a água e o leite condensado e misturou-se bem. Em seguida, foi adicionado aos poucos o açúcar refinado e o pó da ração previamente peneirado até formar uma massa homogênea. Esperou-se aproximadamente 1 hora para a confecção do *pellet* de ração. Cada *pellet* tinha formato arredondado e pesava aproximadamente 50g. A dieta HC foi mantida em freezer por um período máximo de 3 meses. As composições de macronutrientes de ambas as dietas estão expressas na tabela abaixo.

Macronutrientes	Dieta Padrão	Dieta HC
Proteína (%)	31,1	20
Lipídeo (%)	3,1	5,8
Carboidrato total (%)	65,8	74,2
- Sacarose (%)	-----	30,0
Kcal/g	4,0	4,4

(OLIVEIRA *et al.*, 2013)

Tabela 1. Proporções de macronutrientes presentes nas dietas padrão para roedores (Nuvilab) e rica em carboidratos refinados (HC).

3.3 Drogas

Minociclina (Galena®, SP, Brasil) na dose de 50 mg/Kg, padronizada após curva dose resposta, foi diluída em salina na concentração 5mg/ml para administração via intraperitoneal (i.p) ou 10mg/ml para administração via gavagem; e administrada via.ip por 7 dias ou via gavagem por 15 dias nas últimas semanas anteriores aos testes comportamentais.

3.4 Testes comportamentais

Todos os testes comportamentais foram executados no período da manhã e os animais foram colocados na sala de experimentação do laboratório de Neuropsicofarmacologia (LNP) do Departamento de Farmacologia, previamente mantidos por um período mínimo de 40 minutos para habituação do local. Após os testes os animais foram colocados em uma nova caixa e não tiveram contato com os animais que ainda não tinha passado pelos experimentos comportamentais.

- Teste de enterrar esferas (Marble Burying):

Os animais foram individualmente colocados em uma caixa de policarbonato (30 x 40 x 12 cm) com cinco cm de serragem durante cinco minutos para habituação (Figura 3 A); logo após, foram retirados da caixa e colocados em uma nova caixa por 30 minutos. Em seguida os camundongos foram

reexpostos à mesma caixa contendo 25 esferas de vidro (1,5 cm de diâmetro) distribuídas de forma equidistante por 30 minutos (Figura 3 B). Após esse período, os animais foram retirados da caixa e o número de esferas enterradas foi contabilizado manualmente por um experimentador que desconhecia os grupos experimentais (Figura 4 C). Foram consideradas como esferas enterradas aquelas que apresentaram, no mínimo, dois terços de sua área cobertas pela serragem (DEACON, 2006).

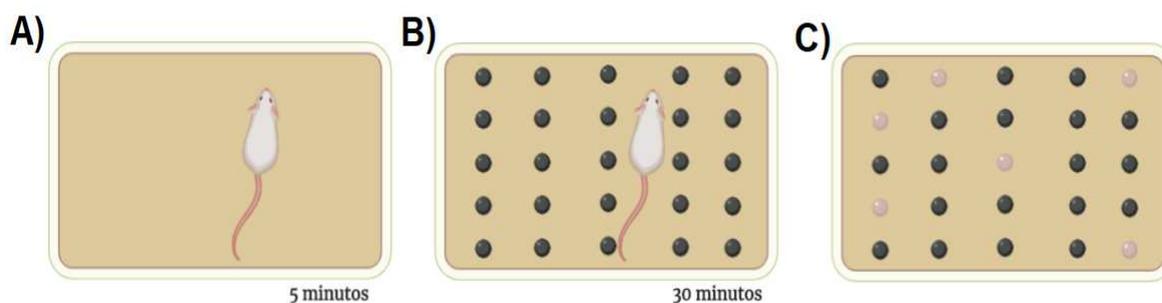


Figura 3. Imagem representativa do teste de enterrar esferas (MB)

A) período de ambientação na caixa; B) Teste de enterrar esferas; C) Caixa com algumas esferas enterradas. Figura do autor criada no site biorender.com

- Teste de alimentação suprimida pela novidade (Novelty Suppressed Feeding):

Os animais foram colocados em jejum 24 horas antes do teste comportamental. Para isso, a ração foi removida e trocou-se também a maravalha e as tampas das caixas, para que nenhum resquício de ração ficasse disponível. No dia do teste, os animais foram transferidos para uma sala do LNP, com controle de temperatura e luz. Após a habituação de 1 hora, os camundongos foram colocados individualmente em uma caixa (caixa 1) no escuro, contendo um único *pellet* de ração padrão ou dieta HC, de acordo com o grupo experimental. Esse *pellet* foi colocado sob um foco de luz no centro da caixa criando um ambiente aversivo e os camundongos permaneceram lá até que eles mordessem a ração ou pelo tempo máximo de 10 minutos (Figura 4 A). A latência para o primeiro episódio de se alimentar foi mensurada com o auxílio de um cronômetro. Os animais que apresentaram latência igual ou superior a dez minutos, foram eliminados do teste. No teste NSF, os animais são privados de alimento por 24 horas. Assim, após o teste, os animais foram colocados por 5 minutos em uma caixa contendo ração controle ou dieta HC pré-pesados

(caixa 2) e foi quantificado o consumo alimentar durante 5 minutos nessa caixa [Figura 4 B (YANG, L P *et al.*, 2015)].

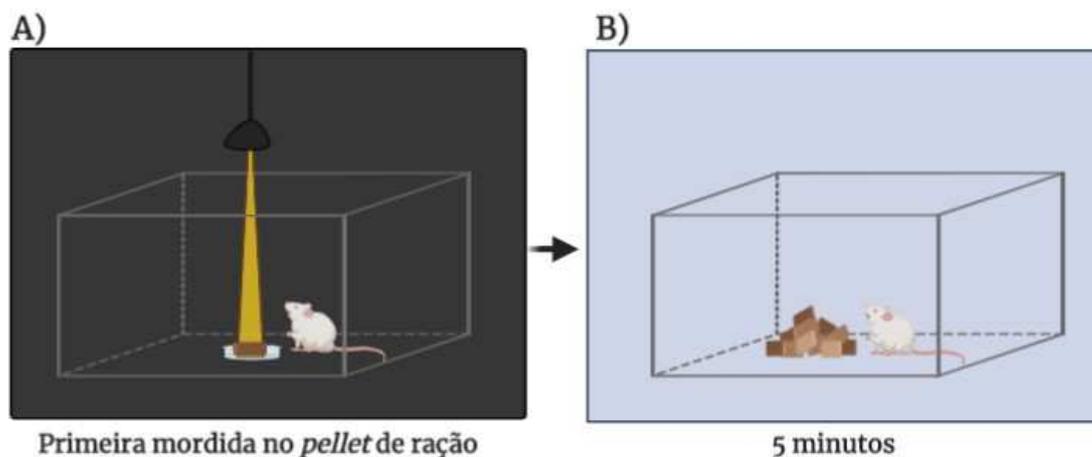


Figura 4. Imagem representativa do teste de alimentação suprimida pela novidade (NSF)

A) Latência para se alimentação no NSF; B) Consumo alimentar nos 5 minutos subsequentes ao teste. Figura do autor criada no site biorender.com

- Teste do campo aberto:

Os animais foram expostos a uma arena circular (30 cm X 30 cm) durante 30 minutos, o comportamento foi filmado e a distância percorrida pelos animais foi determinada com o auxílio do software ANY-MAZE vídeo tracking system [versão 4.5; Stoelting® (figura 5)].

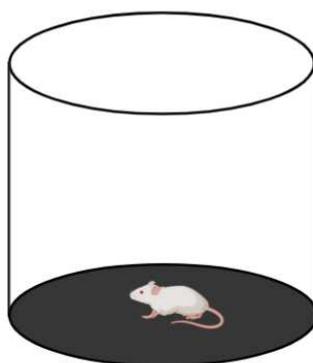


Figura 5. Imagem representativa do teste do campo aberto

Figura do autor criada no site biorender.com

3.5 Procedimento para coleta dos tecidos

Após os experimentos comportamentais, os animais foram anestesiados com Quetamina (80 mg/Kg) e Xilazina (15 mg/kg). Logo em seguida, parte dos camundongos tiveram suas cavidades abdominais expostas e foram

perfundidos transcardialmente com 100 ml de tampão fosfato salina (PBS 0,01M, pH 7,4) seguido de 50 ml de paraformaldeído (PFA) 4% fosfatado e tamponado em PBS. Os encéfalos foram removidos e posteriormente processados, para os ensaios de imuno-histoquímica para a proteína Iba-1. Os demais animais foram eutanasiados por exsanguinação para coleta de amostras do sangue, para análises sorológicas dos metabolitos (colesterol, glicose e triglicerídeos) e adipocitocinas (leptina, quemerina, adiponectina e resistina). Também foram removidos o encéfalo e as seguintes regiões dissecadas: córtex pré-frontal (CPF), estriado (ST) e hipocampo (HIP). Os tecidos adiposos retroperitoneal (TAR), mesentérico (TAM) e epididimal (TAE) foram dissecados e pesados. Os tecidos foram imediatamente congelados em gelo seco e armazenados em freezer -80°C para análises de citocinas. Os pesos dos tecidos adiposos foram utilizados para o cálculo do índice de adiposidade.

3.6 Índice de adiposidade corporal adaptado (IAC adaptado)

Os animais que foram eutanasiados e submetidos à perfusão tiveram acúmulo de líquidos no TAM, conseqüentemente observamos alteração no peso desse tecido. Assim, o cálculo da adiposidade corporal foi adaptado (Oliveira, 2013) pela soma dos tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal dividido pela massa corporal vezes cem, conforme a equação abaixo:

$$\text{IAC adaptado} = \frac{\text{TAE} + \text{TAR}}{\text{Massa corporal}} \times 100$$

Fórmula 1. Índice de adiposidade corporal adaptado (IAC adap)

IAC: Índice de adiposidade; TAE: Tecido adiposo epididimal; TAR: Tecido adiposo retroperitoneal.

3.7 Imunohistoquímica para a marcação da proteína Iba-1

Após o processo de perfusão, os encéfalos foram removidos e armazenados em PFA 4%. Após 2 horas, foram armazenados sob refrigeração em solução de sacarose 30% por aproximadamente 30 horas para crioproteção do tecido e posteriormente, congelados em isopentano previamente resfriados em gelo seco e mantidos em freezer -80. Os encéfalos congelados foram cortados no

criostato (Leica Biosystems Inc., Buffalo Grove, IL, EUA) e armazenados em meio crioprotetor (30% de etilenoglicol, 30% de glicerol em Krebs PBS) a -20 °C até processamento posterior. Foram utilizadas no mínimo três fatias de 30 µm/animal de cada região encefálica a ser investigada: Córtex cingulado anterior (Cg1), pré-límbico (Prl) e infra-límbico (IL) do CPF; CA1, CA3 e Giro denteado (GD) do HIP e Core e Shell do núcleo accumbens (NAc) do ST ventral. A escolha dos cortes foi baseada no atlas anatômico de encéfalo de camundongo de Paxinos e Franklin (2001) com as seguintes referências: CPF: Bregma 1,98 a 1,78mm, HIP: Bregma -1,34 a -2,06mm e ST: Bregma 1,54 a 1,34 mm (PAXINOS; FRANKLIN, 2001). Utilizou-se técnicas indiretas de imunohistoquímica para marcação de uma proteína citoplasmática específica para micróglia, Iba-1 [*ionizing calcium-binding adaptor molecule 1*, (RANGARAJU *et al.*, 2015)]. Inicialmente, as fatias foram lavadas com solução salina tamponada com Tris (TBS) três vezes por 5 min. Em seguida, incubadas com: tampão citrato a 70°C durante 1 hora, peróxido de hidrogênio (H₂O₂ 1%) durante 15 minutos, solução de bloqueio (1% de BSA e 0,5% de Triton-X 100 em TBS) por 1 hora e com anticorpo primário anti Iba-1 a 4°C (1:500, Wako Chemicals USA, Inc., Richmond, VA, EUA) por aproximadamente 48 horas. Após esse período as fatias foram incubadas com: Anticorpo secundário (1: 500, VECTASTAIN Elite ABC Kit No. PK- 4001 - VECTOR Laboratories, Burlingame, CA, EUA) durante 2h, Complexo Avidina Biotina (1:200, Vector, Vectastain® ABC Kit No. PK- 40014001 - VECTOR Laboratories, Burlingame, CA, EUA) por 1 hora e reveladas com solução de 10 mg de 3,3 Diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) + 16 ml de TBS e 6,4µL de H₂O₂ 30%. Durante todo o procedimento os cortes foram lavados com TBS por três vezes, durante 5 minutos entre as etapas. Após o processo de imunohistoquímica, os cortes foram colocados em lâminas gelatinizadas, aguardou-se, no mínimo, 24 horas para que as mesmas estivessem secas e, logo após, as lâminas foram submetidas ao processo de diafanização e montagem com lamínula. Para a diafanização, as lâminas foram colocadas em um suporte e foram imersas por três minutos nas seguintes soluções: água destilada, álcool 50%, álcool 75%, álcool absoluto I e II. Esperou-se aproximadamente 10 minutos para que as lâminas estivessem secas e submeteu as em xilol absoluto por 30 minutos. As montagens das

lâminas foram realizadas logo em seguida com lamínulas previamente higienizadas com ácido acético glacial e álcool absoluto. As lamínulas foram coladas sobre as lâmina com Entellan®. As fatias foram analisadas por microscopia (Zeiss Microscopy) e as imagens capturadas por câmera digital no aumento de 20x e 40x. Posteriormente, a quantificação das células marcadas e a análise de Sholl foram realizados com o auxílio do software Image J (Image J 1.4q National Institute of Health, USA).

Contagem de células:

Para a análise do número de células iba-1+, foi realizado uma contagem manual do número total de micróglia marcadas em 3 fotos (aumento 20x) de fatias distintas em cada região investigada (Cg1, Pr e IL do CPF; CA1, CA3, GD do HIP e Core e Shell do NAc).

Análise de Sholl:

Para análises de Sholl, foram utilizadas células Iba1+ individuais obtidas de 3 fotos (aumento 40x) de fatias distintas em cada região investigada. Primeiramente, através do software Image J (Image J 1.4q National Institute of Health, USA), as imagens foram transformadas em imagens binárias. Logo após, através da função “análise de Sholl”, círculos concêntricos (raios) espaçados em 3 μm foram traçados a partir do centro do corpo celular até o ponto mais distante da maior ramificação. Foram medidos o comprimento da maior ramificação da micróglia, o número total de intersecções (total de ramificações), o número de intersecções ao longo dos raios (pontos de ramificações) e a área do corpo celular, [figura 6, (KONGSUI *et al.*, 2014; SHOLL, 1956)].

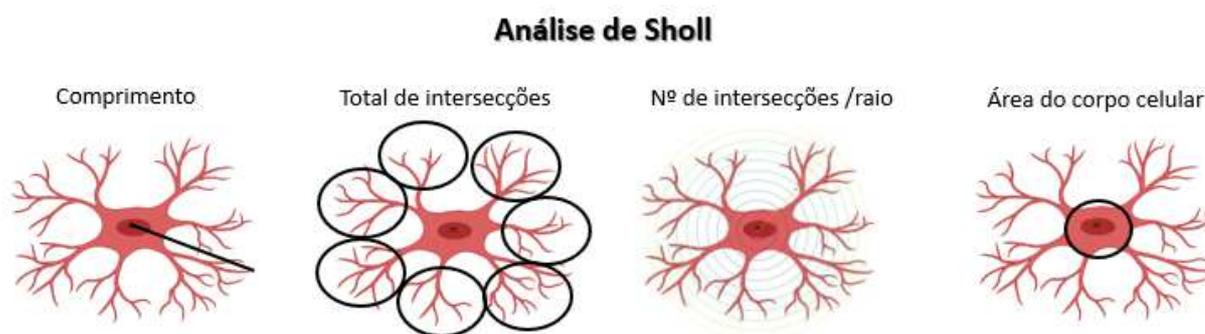


Figura 6. Esquema representativo da análise de Sholl

Imagem criada pelo autor no site biorender.com

3.8 Análises dos metabólitos no soro

Colesterol total, triacilglicerol, e glicose presentes no soro foram quantificados por Kit enzimático (KATAL, Belo Horizonte, MG) segundo as instruções do fabricante.

3.9 Análise de adipocitocinas no soro e citocinas no cérebro e TAE

Para análises de adipocitocinas no soro (leptina, quemerina, adiponectina e resistina) e para análises teciduais do TNF- α , IL-10 e IL-6 no TAE, CPF, HIP e ST utilizou-se o método de ELISA (*Enzyme Linked Immune Sorbent Assay*).

Para as amostras teciduais, inicialmente foi realizado um protocolo de homogeneização no qual 100 mg de tecido adiposo ou toda a região dissecada do CPF, HIP e ST foram homogeneizados com 1ml (TAE) ou 100 μ L (encéfalo) de solução de extração de citocinas (NaCl 0,4M, Tween 20 0,05%, albumina de soro bovino (BSA,0,5%), Cloreto de benzetônio 0,1Mm, fluoreto de fenilmetilsufonila 0,1Nm, EDTA 10NM, 20UI de aprotinina) diluídos em (PBS 0,8%, KCl 0,02% e Na₂HPO₄.12H₂O 0,289% diluídos em água destilada). Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10000 rotações por minuto (rpm) a 4°C. Foi retirado o infranadante (TAE) ou sobrenadante (demais tecidos) que foram congelados a -20°C para análise por meio do método de ELISA como descrito a seguir: Primeiramente foi colocado em placas de 96 poços (C96 MicroWell™ Plates, Nunc, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 50 μ L/poço de anticorpo de captura (R&D System, Inc., Minneapolis, USA) previamente diluído em tampão PBS (5,55 μ L/ml) para cada citocina/adipocina testada. Após 24 horas, foi adicionado 100 μ L/poço de solução de bloqueio (BSA1% em PBS1x) e deixou sob agitação por 1 hora. Em seguida foi adicionado 50 μ L/poço das amostras, diluídas em BSA 0,1%, curva padrão ou branco e incubou-se por 24 horas. Após esse período, adicionou-se 50 μ L/poço do anticorpo de detecção previamente diluído em (BSA 0,1%) em PBS e incubou-se por 2 horas. Adicionou 50 μ L/poço de solução de streptavidina (5 μ L/ml) e incubou-se sob agitação por 20 minutos. Adicionou-se 100 μ L/poço do substrato fenilenodiamina (OPD, Simga) (0,4mg de OPD+ 0,2 μ L

de H₂O₂ (30%)/ml de tampão citrato). Após alguns minutos, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1M. O produto de oxidação do OPD foi detectado por colorimetria a 490nm. Durante todo o procedimento as placas foram lavadas com 200µL/poço de solução de lavagem por três vezes entre cada etapa.

3.10 Análise dos resultados

Os dados foram testados quanto sua normalidade de distribuição através do teste Kolmogorov-Smirnov e foram expressos como média + erro padrão da média (E.P.M.). Foram utilizadas análises de variância (ANOVA) seguidas pelo pós-teste de Bonferroni e o teste t de Student não pareado. Foi considerado como diferença significativa o valor de $p < 0,05$.

3.11 Delineamento experimental

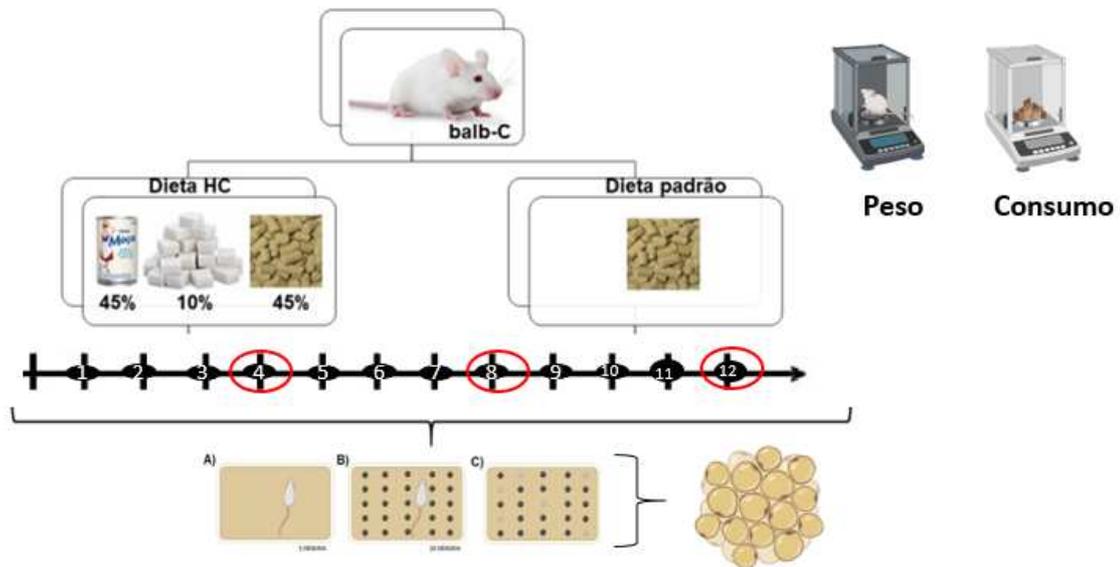
Para os experimentos que avaliaram o progresso das alterações metabólicas e comportamentais após o consumo de dieta HC, os animais foram separados em quatro grupos: Um grupo recebeu ração padrão para roedores (Nuvilab-CR1) e os outros receberam dieta HC por 4,8 ou 12 semanas. Durante todo o período experimental os animais tiveram controle do peso e da ingesta alimentar avaliados semanalmente. Após esse período, os animais foram submetidos ao teste MB e eutanasiados para retirada do tecido adiposo para o cálculo do IAC adaptado (Figura 7A).

Para os experimentos com a minociclina, os animais foram divididos em dieta HC ou controle por 10 ou 11 semanas. Posteriormente subdivididos em 2 grupos: salina e minociclina. Após o tratamento farmacológico os animais foram submetidos aos testes comportamentais, MB e NSF, e eutanasiados para retirada do encéfalo, tecido adiposo e soro para análises (figura 7B).

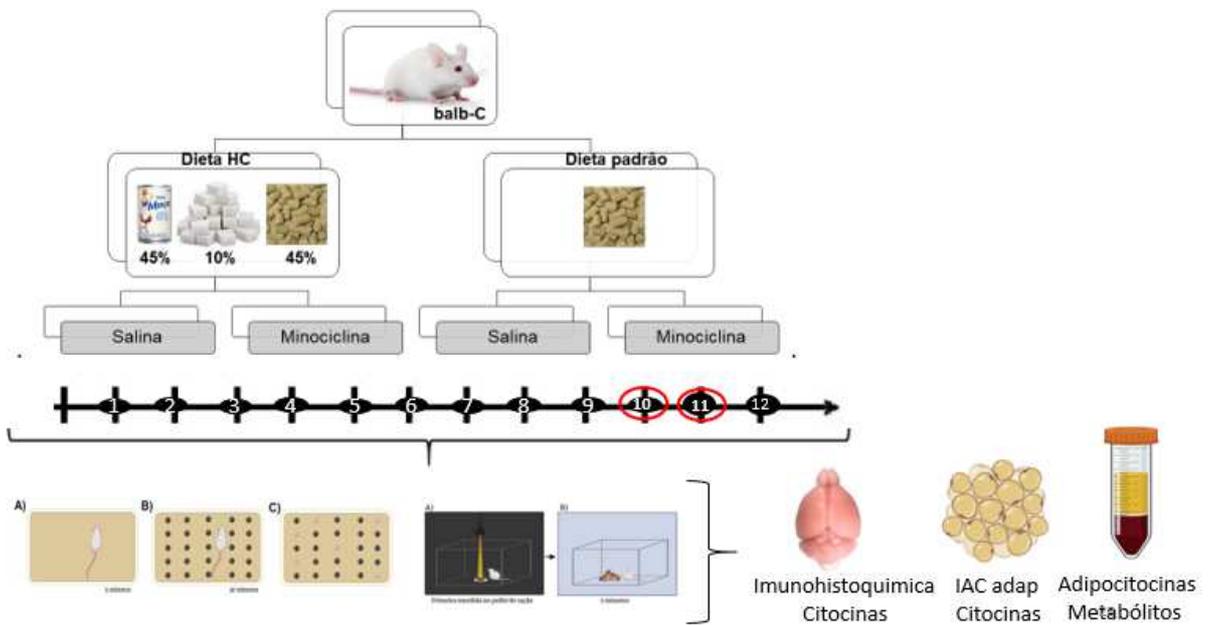
Para os experimentos de troca da dieta padrão para dieta HC os animais foram divididos em 3 grupos. Dois receberam dieta HC e um dieta padrão. Na 10^a semana um grupo de dieta HC foi substituído pela dieta padrão e permaneceram nessas dietas até completar 12 semanas. Após esse período os animais foram submetidos aos testes comportamentais, MB e NSF, e

eutanasiados para retirada do encéfalo, tecido adiposo e soro para análises (figura 7C).

a) Delineamento experimental dieta HC por 4,8 ou 12 semanas



b) Delineamento experimental dieta HC + minociclina



c) Delineamento experimental substituição da dieta HC por dieta padrão

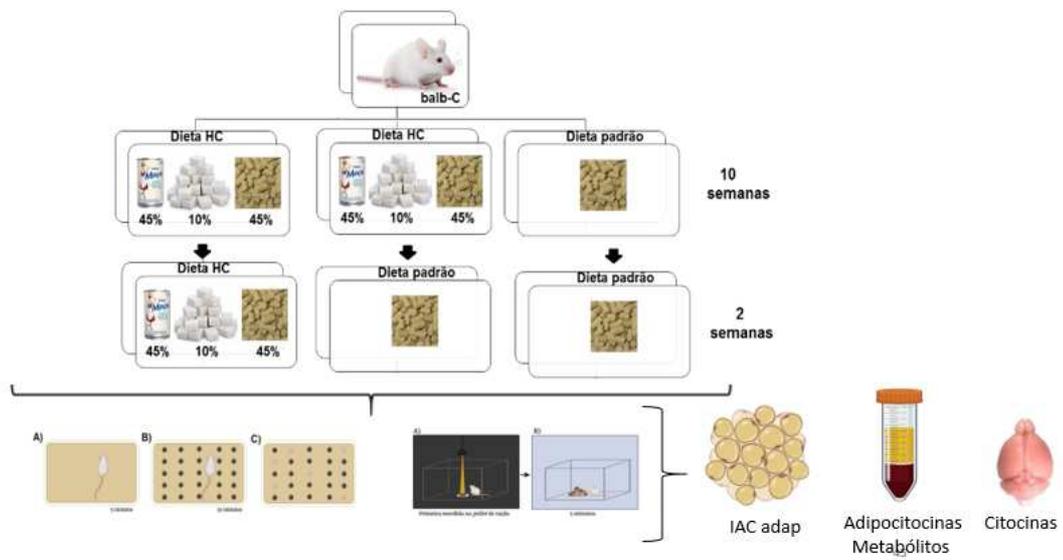


Figura 7. Esquema representativo dos grupos experimentais

Figura do autor criada no site biorender.com

4.0 RESULTADOS

4.1 O consumo da dieta HC aumentou a adiposidade corporal sem modificar o peso e consumo alimentar dos camundongos

Com objetivo de verificar o progresso das alterações metabólicas após o consumo de dieta HC por 4, 8 e 12 semanas, foram avaliados a adiposidade corporal, o peso e consumo dos animais nesse período. Observou-se aumento do índice de adiposidade após 4 ($t_{(30)} = 5,85$; $p < 0,001$; teste t de Student, figura 8), 8 e 12 semanas ($F_{(2,41)} = 11,37$; $p = 0,001$; ANOVA de uma via, figura 9). Porém, não houve diferença no peso (fator dieta $F_{(1,96)} = 0,14$; $p = 0,71$; ANOVA de duas vias, figura 10A) e no consumo alimentar durante as 12 semanas de tratamento (fator dieta: $F_{(1,48)} = 0,09$; $p = 0,77$; fator tempo: $F_{(1,48)} = 0,55$; $p = 0,86$; interação dieta x tempo: $F_{(11, 48)} = 0,31$; $p = 0,98$; ANOVA de duas vias, figura 10B).

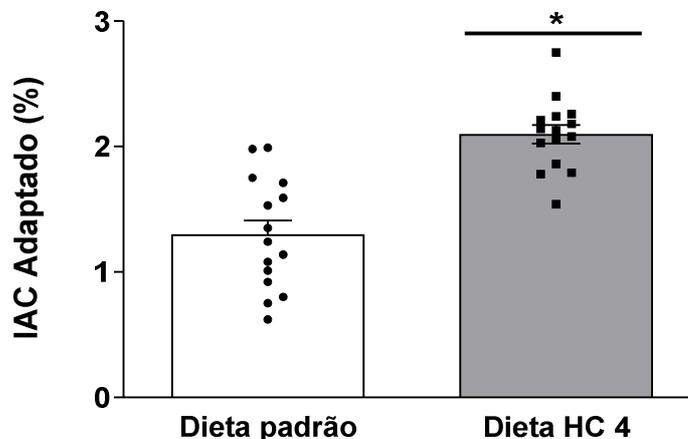


Figura 8. O consumo da dieta HC por 4 semanas aumenta o índice de adiposidade corporal dos animais

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas, $n = 15$ /grupo (Teste t de Student; $*p < 0,05$).

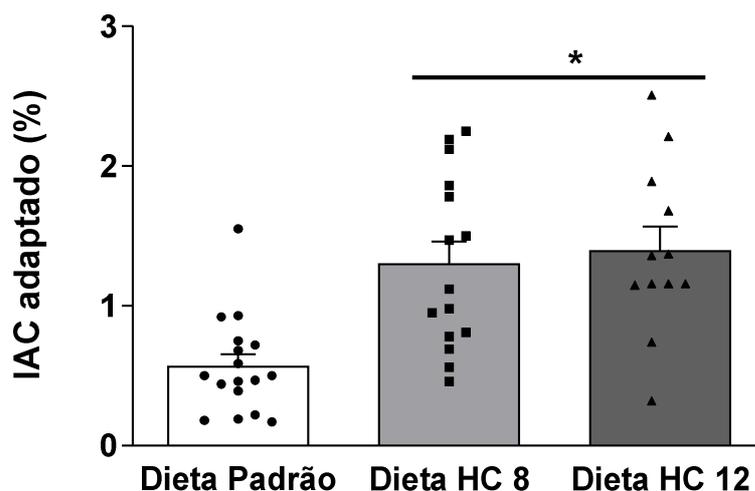


Figura 9. O consumo da dieta HC por 8 e 12 semanas aumenta o índice de adiposidade corporal dos animais

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão, $n = 12-17$ /grupo (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

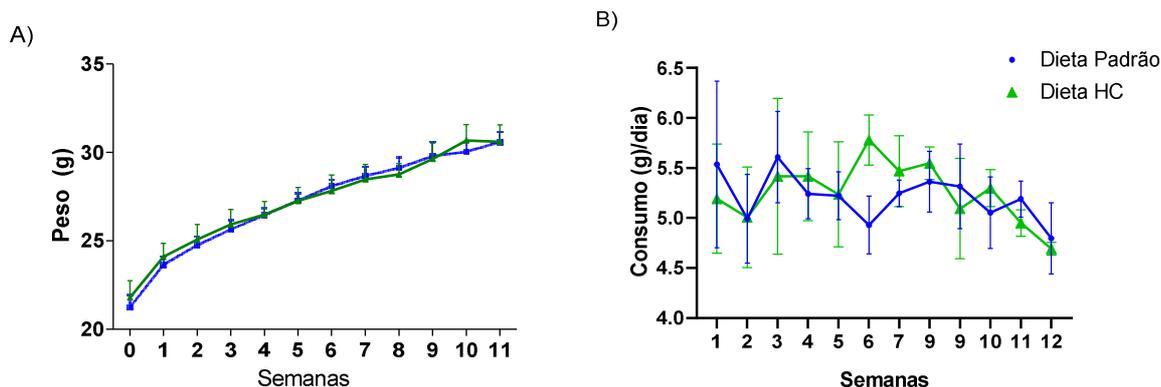


Figura 10. O consumo da dieta HC não promove alterações no peso (A) e consumo alimentar médio diário (B) no decorrer das 12 semanas experimentais

As barras representam a média + E.P.M. $n = 7-8$ /grupo/caixa (ANOVA de duas vias).

4.2 Apenas o consumo por 12 semanas de dieta HC promoveu comportamento tipo compulsivo nos camundongos

Com intuito de verificar o momento que as alterações comportamentais decorrentes do consumo da dieta HC começam a se manifestar, foi avaliado o efeito do consumo da dieta HC no comportamento compulsivo após 4, 8 e 12 semanas. Apenas o consumo por 12 semanas aumentou o número de esferas enterradas no teste MB ($t_{(30)} = 0,73$; $p = 0,47$; teste t de Student, figura 11) e

($F_{(46)} = 6,06$; $p=0,004$; ANOVA de uma via, figura 12). Assim, apenas o protocolo de 12 semanas de dieta HC foi empregado nos experimentos subsequentes.

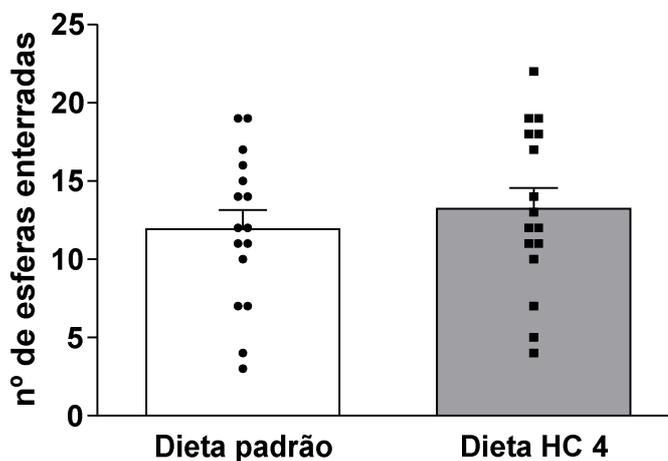


Figura 11. O consumo da dieta HC por 4 semanas não promove comportamento de compulsão no teste de enterrar esferas

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas, $n=15$ /grupo (Teste t de Student).

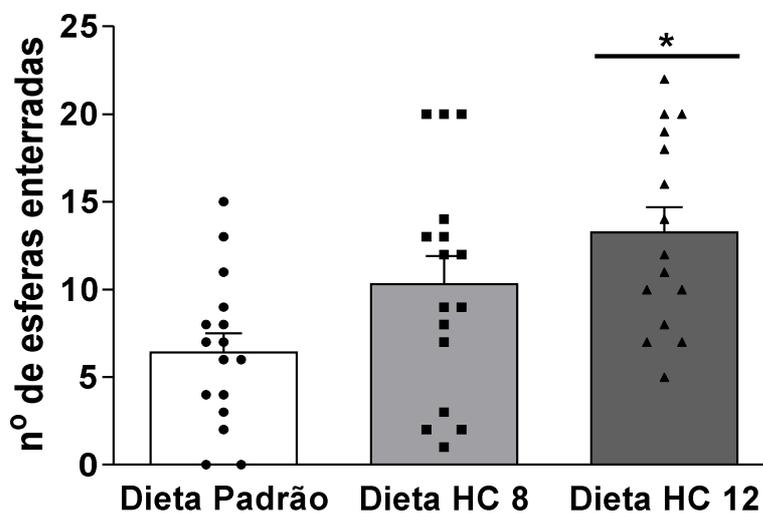


Figura 12. Apenas o consumo da dieta HC por 12 semanas promove comportamento de compulsão no teste de enterrar esferas

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas.

* $p<0,05$ em relação ao grupo dieta padrão, $n=15-16$ /grupo (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

4.3 O tratamento intraperitoneal por 7 dias com minociclina não atenuou os comportamentos de compulsão e ansiedade promovidos pelo consumo crônico da dieta HC

A fim de determinar qual dose de minociclina seria utilizada nos experimentos, verificou-se, inicialmente, o efeito dessa droga nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg, pela via intraperitoneal, nos testes MB e NSF que receberam a dieta padrão. A administração de minociclina nas diferentes doses não modificou o número de esferas enterradas ($F_{(3,26)} = 0,36$; $p=0,78$; ANOVA de uma via, figura 13) latência para se alimentar ($F_{(3,32)} = 1,41$; $p=0,25$; ANOVA de uma via, figura 14) e quantidade de ração consumida após o NSF dos animais ($F_{(3,29)} = 0,53$; $p>0,66$; ANOVA de uma via, figura suplementar 1). Entretanto, os camundongos que receberam a dose de 75mg/kg apresentaram como efeito colateral, diarreia e perda de peso. Desta forma, para os experimentos subsequentes a dose utilizada foi de 50 mg/Kg.

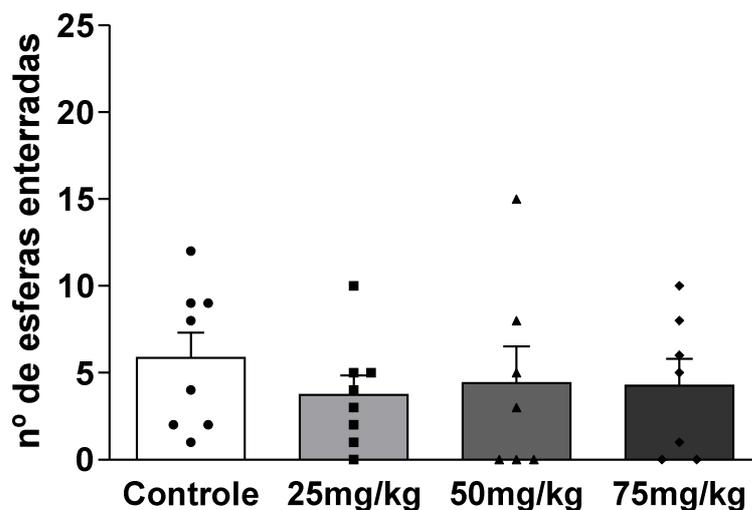


Figura 13. As três doses de minociclina testadas não altera comportamento de compulsão no teste de enterrar esferas

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas, $n=7-8$ /grupo (ANOVA de uma via).

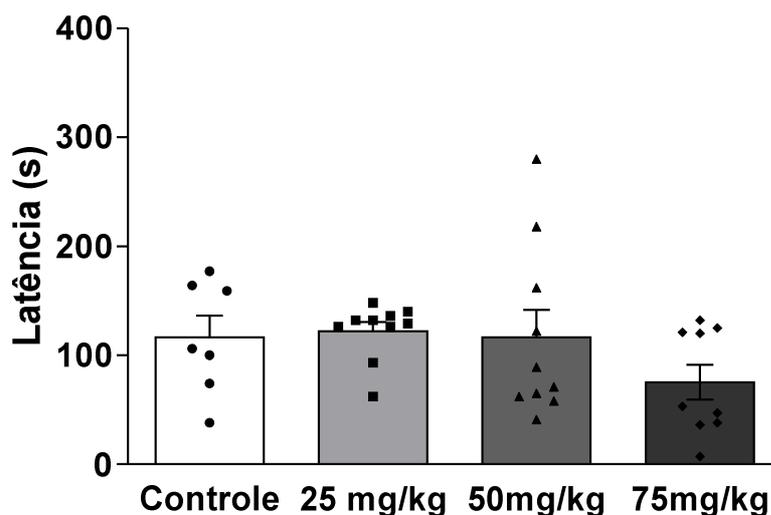


Figura 14. As três doses de minociclina testadas não altera comportamento de ansiedade no teste alimentação suprimida pela novidade

As barras representam a média + E.P.M. da latência para se alimentar, n=9-12/grupo (ANOVA de uma via).

Inicialmente, verificamos se o tratamento com a minociclina por 7 dias, influenciaria o comportamento tipo compulsivo e ansioso decorrentes do consumo da dieta HC. Conforme mostra as figuras 15 e 16, os animais que consumiram a dieta HC enterraram um maior número de esferas no teste do MB e apresentaram maior latência para se alimentar no teste do NSF. O tratamento com a minociclina não modificou tais alterações observadas no teste do MB (fator dieta $F_{(1,23)} = 5,60$; $p=0,03$; fator droga $F_{(1,23)} = 0,06$; $p=0,80$; interação dieta X droga $F_{(1,23)} = 0,001$; $p=0,97$; ANOVA de duas vias, seguida de Bonferroni) e NSF (fator dieta $F_{(1,53)} = 6,73$; $p=0,01$; fator droga $F_{(1,53)} = 0,07$; $p=0,79$; fator dieta X droga $F_{(1,53)} = 0,56$; $p=0,46$; ANOVA de duas vias, figura 16). Adicionalmente, foi observado um aumento do consumo nos 5 minutos subsequentes ao NSF nos animais que consumiram a dieta HC (fator dieta $F_{(1,38)} = 9,50$; $p=0,0038$; fator droga $F_{(1,38)} = 0,54$; $p=0,46$; interação dieta X droga $F_{(1,38)} = 1,17$; $p=0,28$; ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni, figura suplementar 2).

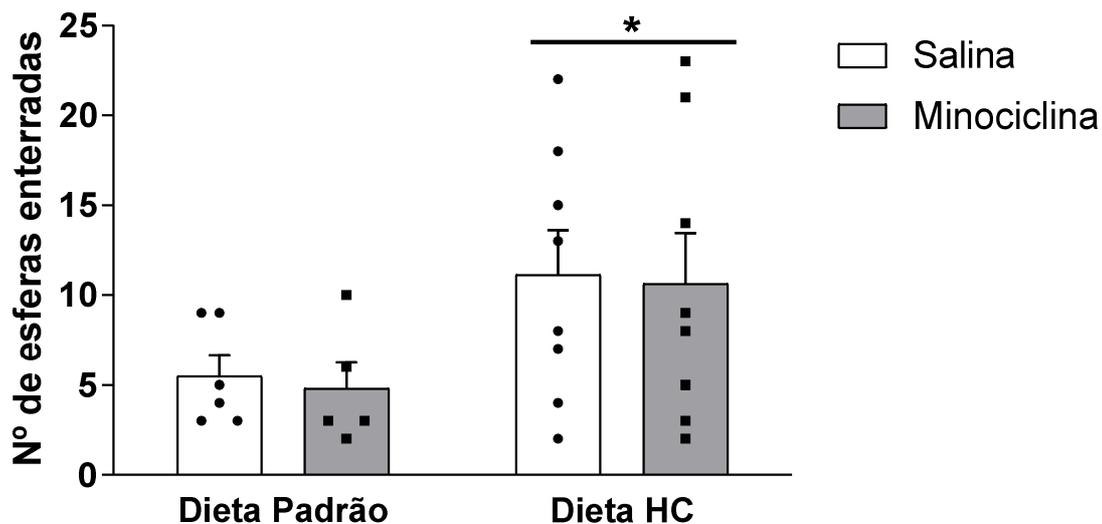


Figura 15. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 7 dias não modifica o comportamento de compulsão observado após o consumo da dieta HC no teste de enterrar esferas

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão; $n = 6-8$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

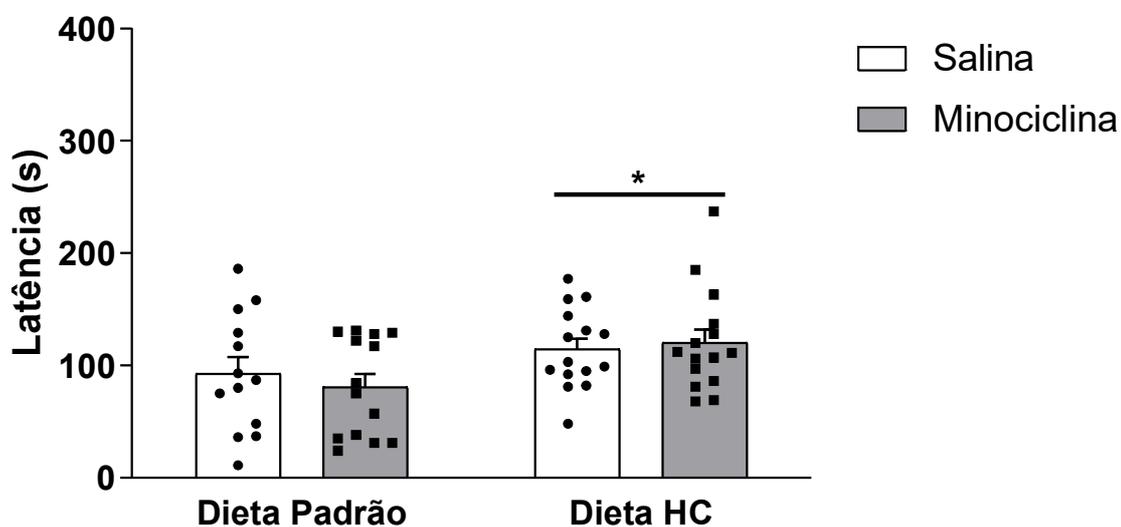


Figura 16. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 7 dias não modifica o comportamento de ansiedade observado após o consumo da dieta HC no teste alimentação suprimida pela novidade

As barras representam a média + E.P.M. do consumo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão, $n = 10-12$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

4.4 O tratamento com minociclina por 15 dias atenuou comportamentos de compulsão e ansiedade promovidos pelo consumo da dieta HC.

Uma vez que a minociclina na dose de 50mg/kg administrada por 7 dias não modificou as respostas comportamentais associadas ao consumo da dieta HC, optamos por aumentar o período de tratamento com minociclina para 15 dias. No entanto, observamos que a administração i.p de minociclina por um tempo prolongado promoveu dor e irritação local. Assim, substituímos a via de administração pela via oral.

A administração de minociclina por 15 dias atenuou o número de esferas enterradas nos animais alimentados com dieta HC em comparação aos animais que receberam dieta HC e salina (fator dieta $F_{(1,52)} = 3,65$; $p=0,06$; fator droga $F_{(1,52)} = 7,28$; $p=0,0094$; interação dieta X droga $F_{(1,52)} = 4,14$; $p=0,04$; ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni, figura 17). A minociclina também atenuou a latência para se alimentar no teste do NSF nos animais pertencentes à dieta HC (fator dieta $F_{(1,54)} = 4,71$; $p=0,03$; fator droga $F_{(1,54)} = 4,52$; $p=0,04$; interação dieta X droga $F_{(1,54)} = 0,22$; $p=0,64$; ANOVA de duas vias seguido de Bonferroni, figura 18). Os efeitos referentes à minociclina não são atribuídos à diminuição do apetite dos animais, uma vez que a diferença no consumo alimentar durante 5 minutos subsequentes ao teste foi observada nos dois grupos que receberam a dieta HC (fator dieta $F_{(1,55)} = 4,40$; $p=0,04$; fator droga $F_{(1,55)} = 0,11$; $p=0,74$; interação dieta X droga $F_{(1,55)} = 1,01$ $p=0,32$; ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni, figura suplementar 3).

Adicionalmente, os efeitos referentes à minociclina não são atribuídos a alteração na locomoção dos animais, pois não observamos alterações da atividade locomotora após o tratamento com minociclina (fator dieta $F_{(1,26)} = 7,348^{005}$, $p=0,93$; fator droga $F_{(1,26)} = 0,06$; $p=0,80$; interação dieta X droga $F_{(1,26)} = 3,84$; $p=0,06$; ANOVA de duas vias, figura 19).

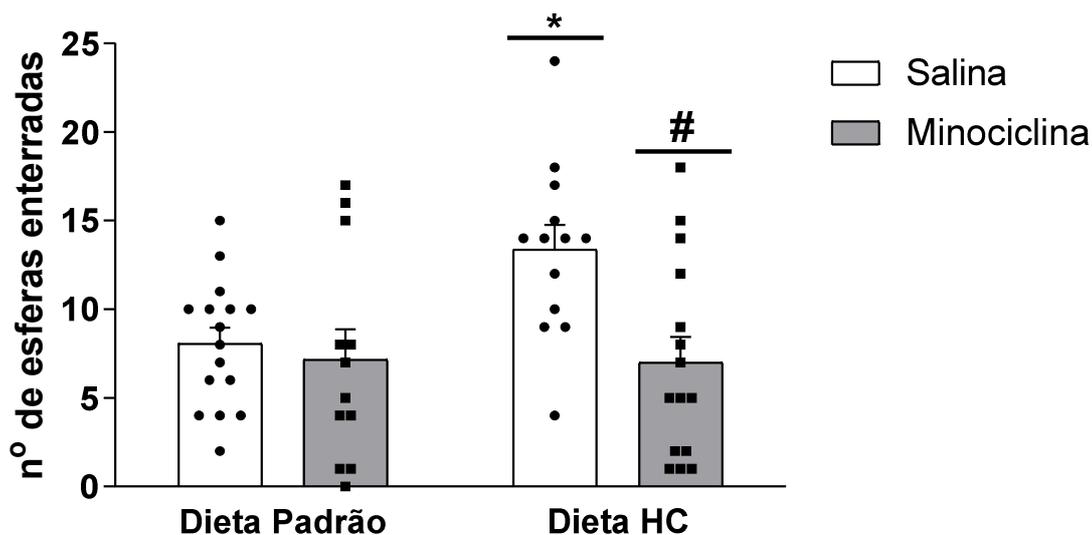


Figura 17. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 15 dias reverte o comportamento de compulsão observado após o consumo da dieta HC no teste de enterrar esferas

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão salina, # $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta HC salina, $n = 13-16$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

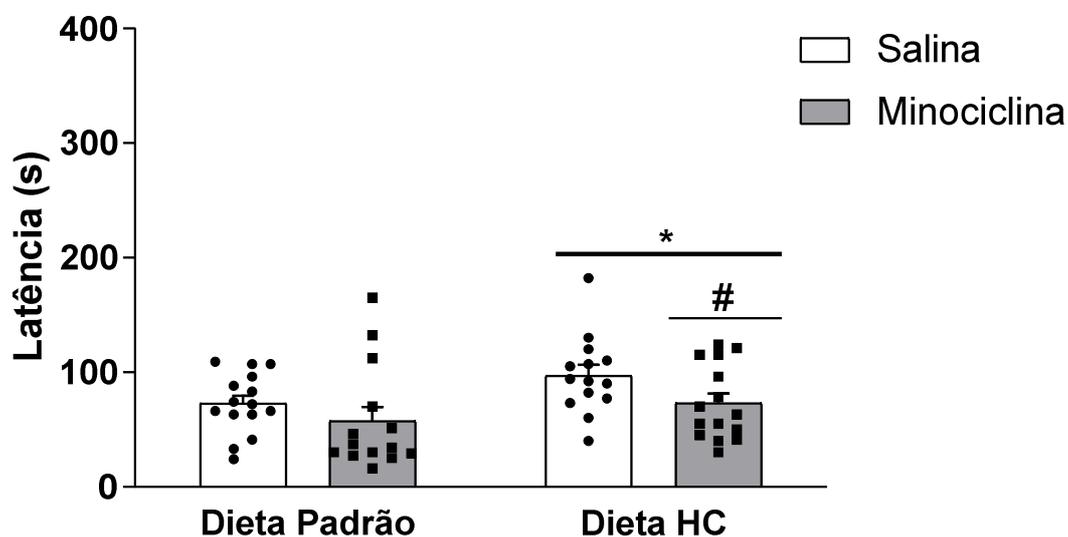


Figura 18. Tratamento com minociclina 50 mg/Kg por 15 dias atenua o comportamento ansiogênico observado após consumo da dieta HC no teste de alimentação suprimida pela novidade

As barras representam a média + E.P.M. do consumo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão; # $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta HC salina, $n = 14-15$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

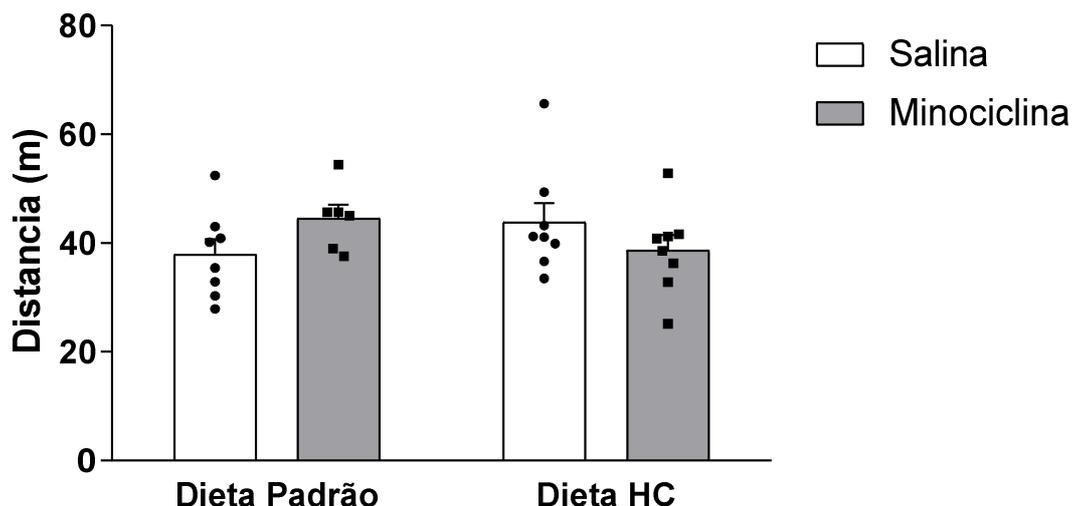


Figura 19. O consumo da dieta HC e o tratamento com minociclina não altera a atividade locomotora dos animais no teste campo aberto

As barras representam a média + E.P.M. da distância percorrida em metros. n=6-8/grupo (ANOVA de duas vias).

4.5 O tratamento crônico com minociclina diminui ativação microglial e normalizou os níveis de algumas citocinas encefálicas de camundongos alimentados com dieta HC

Dados prévios do nosso grupo mostraram que o consumo crônico da dieta HC promove uma resposta neuroinflamatória em regiões encefálicas associadas com os comportamentos de compulsão e ansiedade, sugerindo que essa resposta possa estar associada a tais comportamentos. Assim, avaliou-se o tratamento crônico com a minociclina modificaria o recrutamento, alterações morfológicas de células micróglia e perfil de citocinas. Conforme mostra a tabela 2, não houve diferença no número de células iba-1 positivas nas regiões **CG1** (efeito dieta $F_{(1,13)} = 0,0001$; $p=0,99$; fator droga $F_{(1,13)} = 0,15$; $p=0,70$; interação dieta X droga $F_{(1,13)} = 0,15$; $p=0,70$; ANOVA de duas vias), **IL** (fator dieta $F_{(1,13)} = 0,49$; $p=0,49$; fator droga $F_{(1,13)} = 0,014$; $p=0,91$; interação dieta X droga $F_{(1,13)} = 0,08$; $p=0,78$; ANOVA de duas vias) e **PL** (fator dieta $F_{(1,15)} = 1,29$; $p=0,31$; fator droga $F_{(1,15)} = 0,0004$; $p=0,98$; interação dieta X droga $F_{(1,15)} = 0,07$; $p=0,80$; ANOVA de duas vias) do CPF; **CA1** (fator dieta $F_{(1,14)} = 0,30$; $p=0,59$; fator droga $F_{(1,14)} = 0,01$; $p=0,91$; interação dieta X droga $F_{(1,14)} = 0,34$; $p=0,57$; ANOVA de duas vias), **CA3** (fator dieta $F_{(1,14)} = 0,0006$; $p=0,98$; fator droga

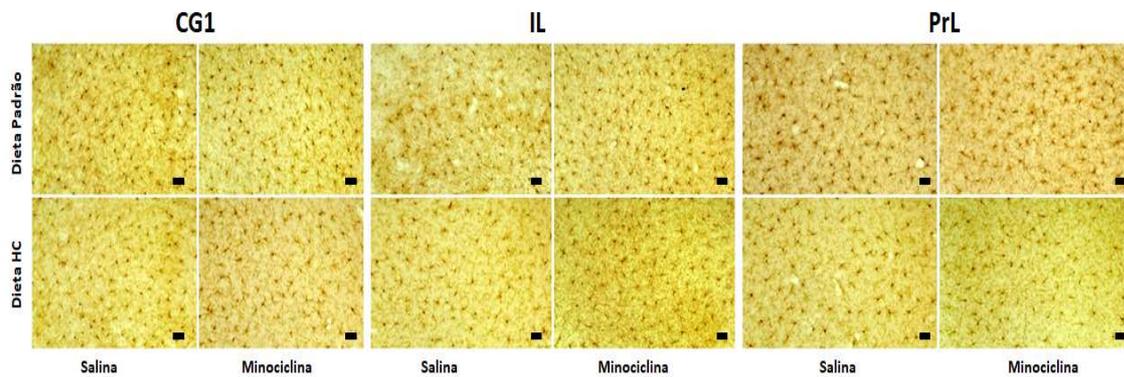
$F_{(1,14)} = 0,07$; $p=0,79$; fator dieta X droga $F_{(1,14)} = 0,05$; $p=0,82$; ANOVA de duas vias) e **GD** (fator dieta $F_{(1,14)} = 0,23$; $p=0,63$; fator droga $F_{(1,14)} = 0,38$; $p=0,54$; fator dieta X droga $F_{(1,14)} = 0,14$; $p=0,71$; ANOVA de duas vias) do HIP e **core** (fator dieta $F_{(1,13)} = 0,62$; $p=0,44$; fator droga $F_{(1,13)} = 0,20$; $p=0,66$; interação dieta X droga $F_{(1,13)} = 0,10$; $p=0,75$; ANOVA de duas vias) e **shell** (fator dieta $F_{(1,13)} = 0,49$; $p=0,50$; fator droga $F_{(1,13)} = 0,40$; $p=0,54$; fator dieta X droga $F_{(1,13)} = 0,02$; $p=0,89$; ANOVA de duas vias) do núcleo accumbens (NAc) do ST ventral.

	Dieta Padrão + Salina	Dieta Padrão + Minociclina	Dieta HC + Salina	Dieta HC + Minociclina
CG1 (CPF)	92,25 ± 11,40	99,50 ± 7,18	95,80 ± 9,62	95,75 ± 7,77
PL (CPF)	98,25 ± 11,08	96,00 ± 6,36	87,60 ± 8,10	89,50 ± 4,92
IL (CPF)	93,75 ± 12,62	92,00 ± 13,17	83,60 ± 8,07	87,75 ± 6,34
CA1 (HIP)	71,75 ± 12,95	76,50 ± 5,05	72,00 ± 3,96	68,80 ± 3,42
CA3 (HIP)	67,75 ± 8,57	70,75 ± 7,12	69,00 ± 4,76	69,2 ± 3,78
GD (HIP)	69,25 ± 10,25	75,00 ± 4,45	68,6 ± 4,36	70,00 ± 3,11
Core (NAc)	89,25 ± 15,73	87,87 ± 10,94	84,00 ± 9,11	75,4 ± 8,69
Shell (NAc)	93,37 ± 11,38	87,79 ± 12,21	87,08 ± 11,44	78,3 ± 10,18

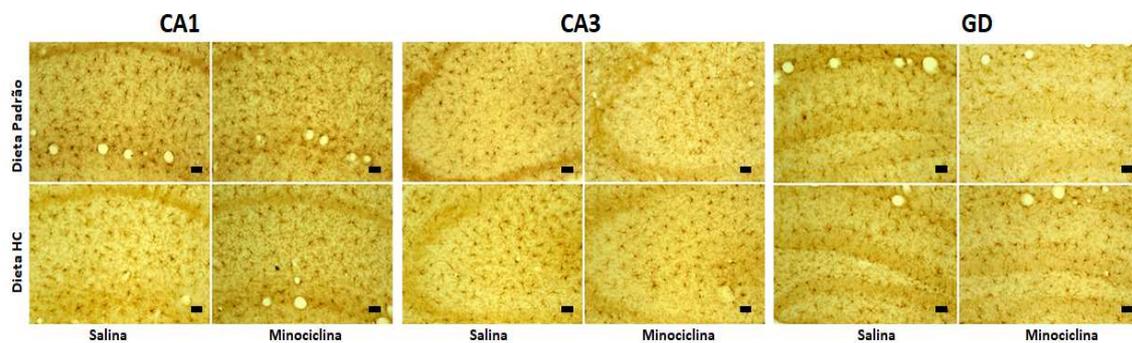
Tabela 2. O consumo da dieta HC e o tratamento com minociclina não alteraram o número de células iba-1+ nas subdivisões do CPF (a) HIP (b) e NAc (c).

As barras representam a média + E.P.M. do número de células iba-1, n=4-7/grupo (ANOVA de duas vias). DP: Dieta Padrão, DH: Dieta rica em carboidratos refinados, CG: córtex cingulado; IL: infra-límbico; PrL: pré-límbico; GD: giro denteado.

a) CÓRTEX PRE FRONTAL



b) HIPOCAMPO



c) NÚCLEO ACCUMBENS DO ESTRIADO

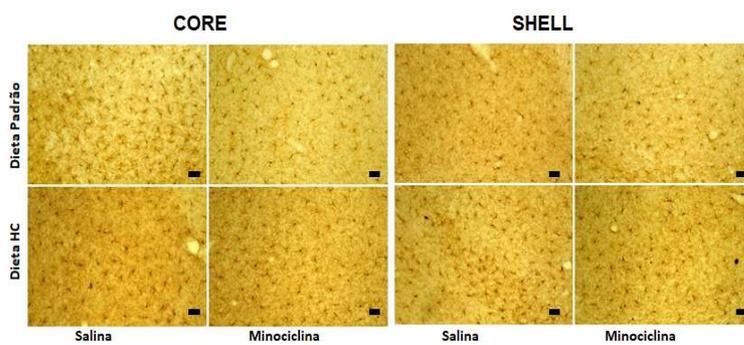
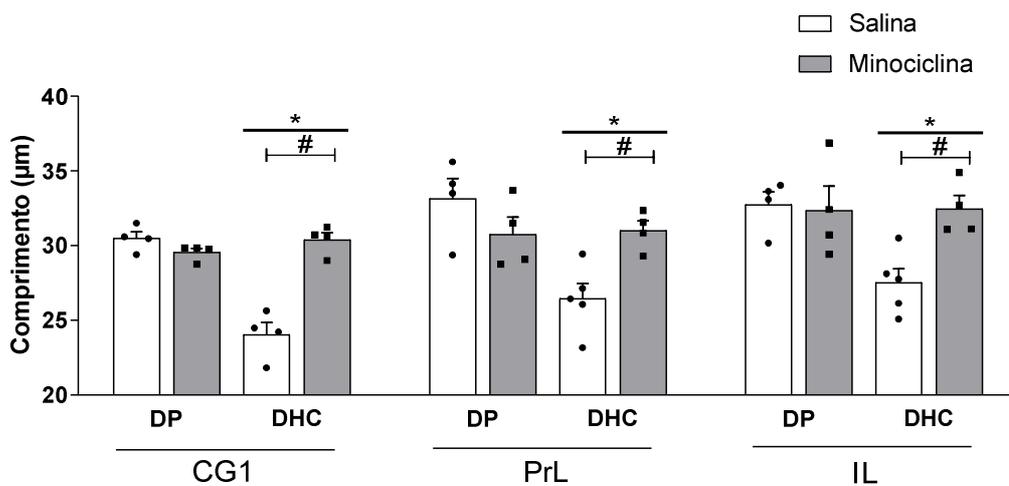


Figura 20. Fotos representativas de expressão de células Iba-1 positivas nas subdivisões do córtex pré-frontal (A), hipocampo (B) e estriado (C) de animais expostos cronicamente a dieta controle ou HC e tratados com minociclina.

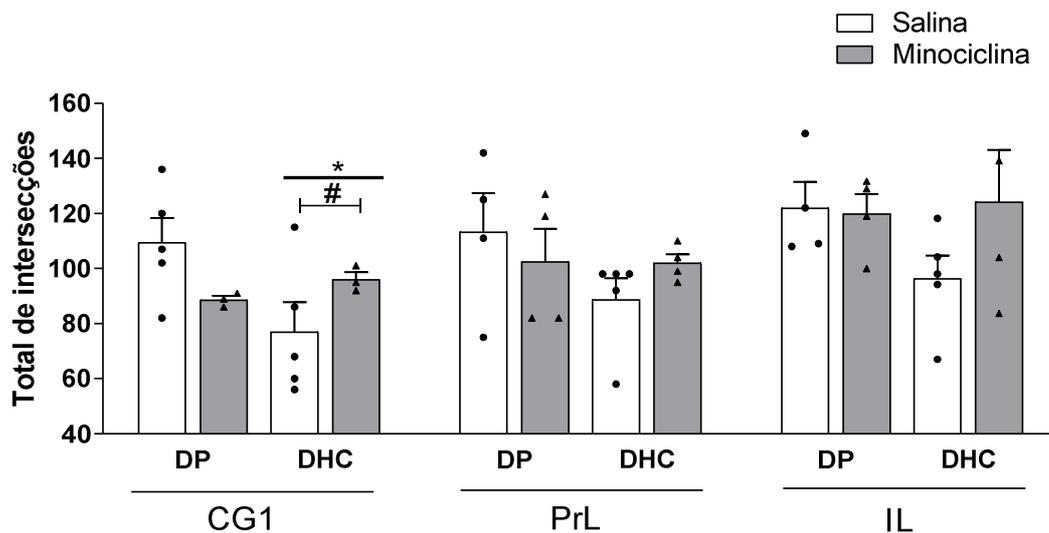
A barra representa: 100 μ M. Aumento de 20X. CG: córtex cingulado; IL: infra-límbico; PrL: pré-límbico; GD: giro denteado

Entretanto, conforme apresentado na figura 21, o tratamento com a minociclina alterou a morfologia microglial no CPF representados pelo: Aumento do comprimento microglial nas regiões **CG1** (efeito dieta $F_{(1,12)} = 25,79$; $p=0,0002$; fator droga $F_{(1,12)} = 25,70$; $p=0,0003$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 46,65$; $p<0,001$; ANOVA de duas vias), **PrL** (fator dieta $F_{(1,13)} = 9,06$; $p=0,01$; fator droga $F_{(1,13)} = 1,01$; $p=0,33$; fator dieta X droga $F_{(1,13)} = 10,65$ $p=0,006$; ANOVA de duas vias) e **IL** (fator dieta $F_{(1,13)} = 5,29$; $p=0,039$; fator droga $F_{(1,13)} = 4,19$; $p=0,061$; fator dieta X droga $F_{(1,13)} = 5,69$; $p=0,03$; ANOVA de duas vias). Aumento do número de ramificações microgliais nas regiões **CG1** (efeito dieta $F_{(1,12)} = 5,38$; $p=0,04$; fator droga $F_{(1,12)} = 1,19$; $p=0,29$; fator dieta X droga $F_{(1,12)} = 10,98$; $p=0,006$; ANOVA de duas vias), **PrL** (fator dieta $F_{(1,13)} = 1,55$; $p=0,23$; fator droga $F_{(1,13)} = 0,01$; $p=0,90$; fator dieta X droga $F_{(1,13)} = 1,43$ $p>0,25$; ANOVA de duas vias) e **IL** (fator dieta $F_{(1,13)} = 0,84$; $p=0,37$ fator droga $F_{(1,13)} = 1,21$; $p=0,29$; fator dieta X droga $F_{(1,13)} = 1,63$; $p=0,02$; ANOVA de duas vias). Aumento do número de ramificações nas regiões terminais da micróglia nas regiões **Cg1**, [raio 24 CxD $p< 0,01$; DxDM $p=0,0003$; raio 27 CxCM $p=0,02$; CxD $p<0,01$; DxDM $p<0,0001$; Raio 27 CXCM $p=0,02$ CxD $p< 0,01$; CMxD $p=0,001$ DxDM $<0,0001$; Raio 30 CxD $p= 0,04$; DxDM $=0,0005$; raio 33, CxD $p=0,019$; CMxD $p=0,004$ DxDM $=0,0004$; **PrL** [Raio 30 CXCM $p=0,10$ CxD $p= 0,0007$; Raio 33, CXCM $p=0,03$ CxD $p= 0,0002$]; e **IL** [Raio 33, CxD $p=0,0004$; CMxD $p=0,0006$ DxDM $0,0261$]; sendo C=grupo dieta padrão salina, CM= grupo dieta padrão minociclina, D=grupo dieta HC salina e DM= grupo dieta HC minociclina. E diminuição do corpo celular microglial no **CG1** (efeito dieta $F_{(1,17)} = 14,61$; $p=0,001$; fator droga $F_{(1,17)} = 6,31$; $p=0,02$; fator dieta X droga $F_{(1,17)} = 3,52$; $p=0,08$; ANOVA de duas vias), **PrL** (fator dieta $F_{(1,16)} = 4,29$; $p=0,05$; fator droga $F_{(1,16)} = 8,56$; $p=0,01$; fator dieta X droga $F_{(1,16)} = 3,45$; $p=0,08$; ANOVA de duas vias) e **IL** (fator dieta $F_{(1,17)} = 6,65$; $p=0,02$ fator droga $F_{(1,17)} = 4,33$; $p=0,05$; fator dieta X droga $F_{(1,17)} = 4,69$; $p=0,04$; ANOVA de duas vias).

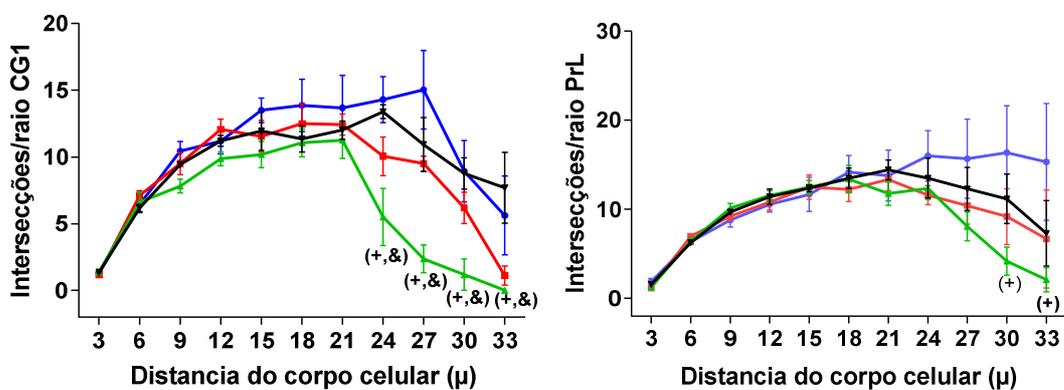
a)

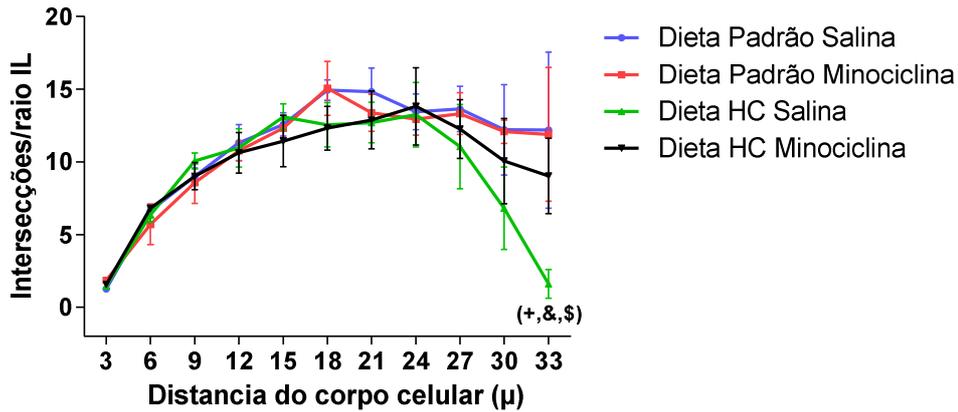


b)



c)





d)

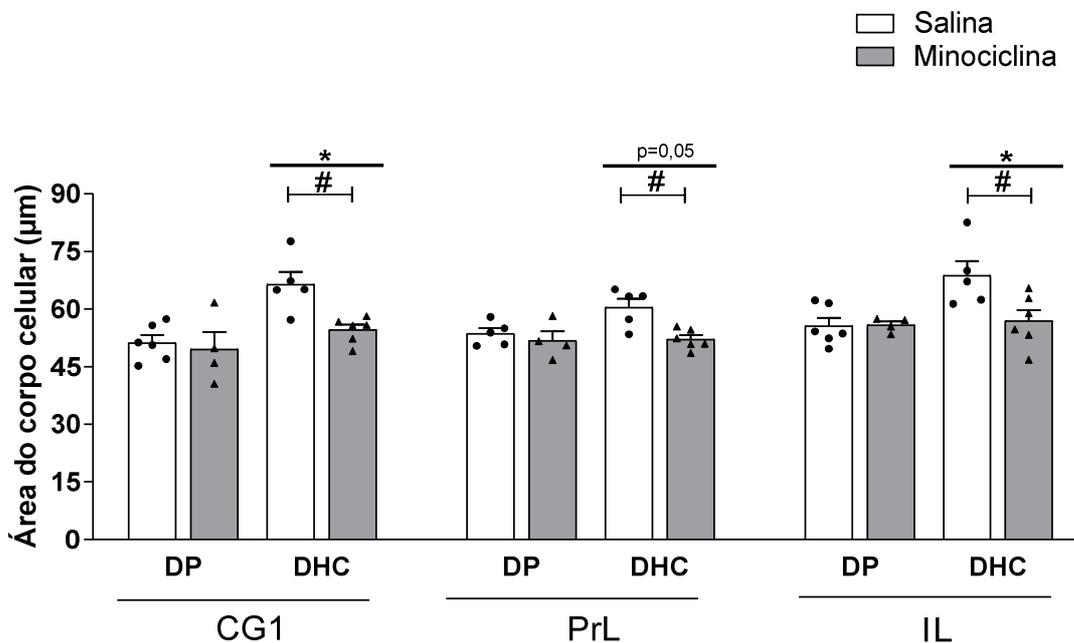


Figura 21. Minociclina atenua alterações na morfologia microglial em subdivisões do córtex pré-frontal observado após consumo da dieta HC

As barras representam a média \pm E.P.M. do comprimento da maior ramificação microglial (a), total de ramificações (b), interseções/raio (c) e área do corpo celular (d). * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão; (#), (+), (&) e (\$) = $p < 0,05$ no pós teste em relação aos grupos dieta HC salina, dieta padrão salina, dieta HC minociclina e dieta padrão minociclina respectivamente, $n = 4-5$ animais/grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). DP: Dieta padrão; DHC: Dieta HC; CG: córtex cingulado; IL: infra-límbico; PrL: pré-límbico

CÓRTEX PRE FRONTAL

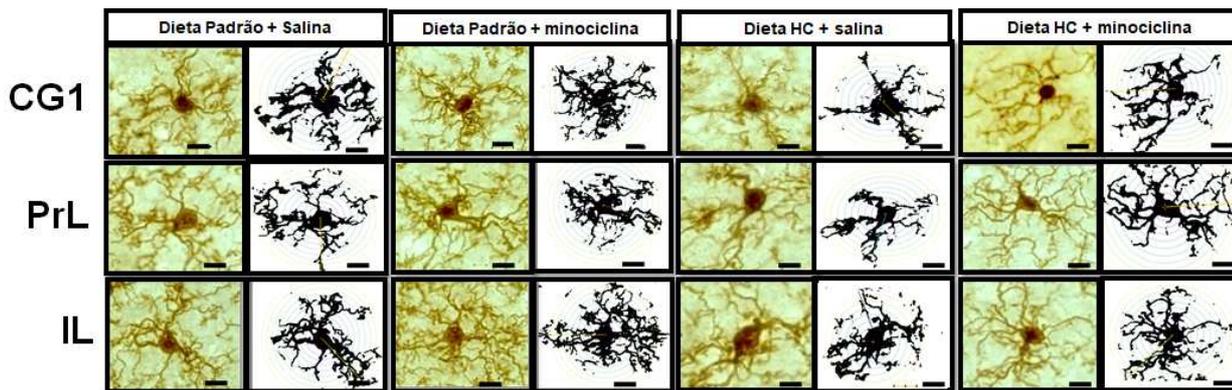


Figura 22. Foto representativa da morfologia microglial nas subdivisões do córtex pré-frontal de animais alimentados cronicamente com dieta HC e submetidos ao tratamento crônico com a minociclina

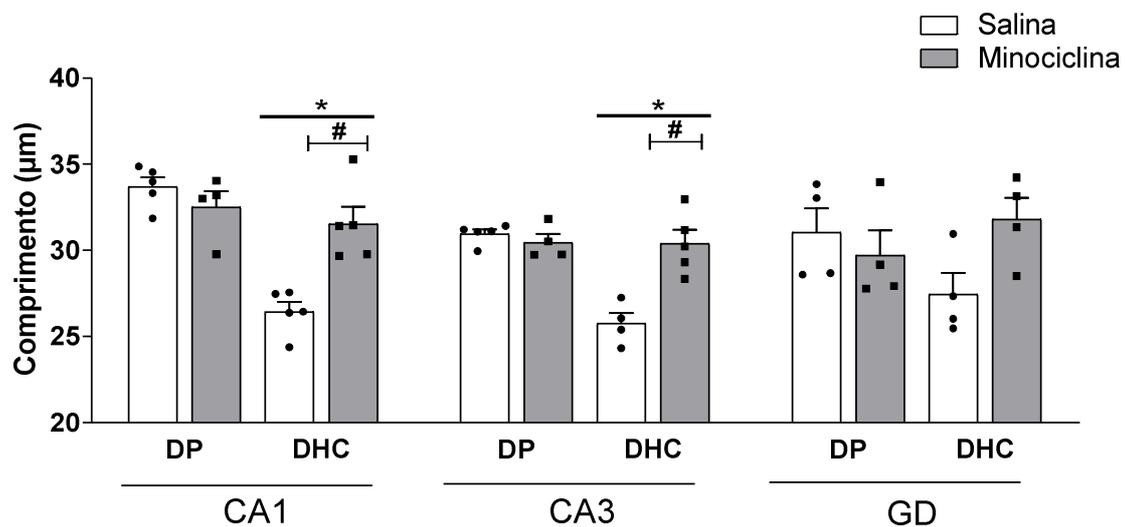
CG: córtex cingulado; IL: infra-límbico; PrL: pré-límbico

Além disso, a minociclina reverteu várias alterações da morfologia microglial ocasionadas pelo consumo da dieta HC nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo. Nenhum efeito da dieta ou da minociclina foi encontrada na região giro denteado, conforme mostra os resultados abaixo:

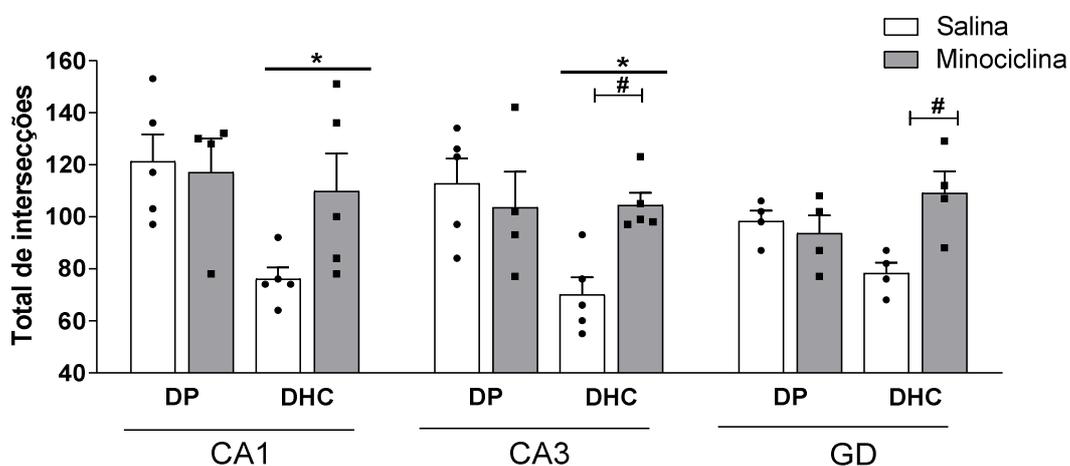
Comprimento microglial nas regiões **CA1** (efeito dieta $F_{(1,15)} = 27,73$; $p < 0,0001$; fator droga $F_{(1,15)} = 6,07$; $p = 0,03$; fator dieta X droga $F_{(1,15)} = 16,08$; $p = 0,001$; ANOVA de duas vias), **CA3** (fator dieta $F_{(1,14)} = 20,20$; $p = 0,0005$; fator droga; $F_{(1,14)} = 12,61$; $p = 0,003$; fator dieta X droga $F_{(1,14)} = 19,28$; $p = 0,0006$; ANOVA de duas vias) e **GD** (fator dieta $F_{(1,12)} = 0,31$; $p = 0,59$; fator droga $F_{(1,12)} = 1,28$; $p = 0,28$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 4,52$; $p = 0,05$; ANOVA de duas vias). Número de ramificações microgliais nas regiões **CA1** (efeito dieta $F_{(1,15)} = 5,528$; $p = 0,03$; fator droga $F_{(1,15)} = 1,76$; $p = 0,20$; fator dieta X droga $F_{(1,15)} = 2,907$; $p = 0,1088$; ANOVA de duas vias), **CA3** (fator dieta $F_{(1,15)} = 5,653$, $p = 0,03$; fator droga $F_{(1,15)} = 2,03$; $p = 0,17$; fator dieta X droga $F_{(1,15)} = 6,15$; $p = 0,02$; ANOVA de duas vias) e **GD** (fator dieta $F_{(1,12)} = 0,13$; $p = 0,72$ fator droga $F_{(1,12)} = 4,379$; $p = 0,58$; fator dieta X droga $F_{(1,12)} = 8,16$; $p = 0,01$; ANOVA de duas vias). Número de ramificações nas regiões terminais da micróglia nas regiões **CA1**, [raio 24, CMxD $p = 0,01$; DxDM $p = 0,01$, raio 27, CxD $p = 0,0004$; CMxD $p = 0,001$; DXDM $p = 0,0007$; raio 30 CXD $p < 0,0001$, CMXD $p = 0,0002$, raio 33, CXD $p < 0,0001$, CMXD $p = 0,0002$, DxDM $p = 0,003$],

CA3 [raio 24 CXD $p=0,003$, CMXD $p=0,009$, DXDM $p=0,001$; raio 27 raio 30 CXD $p<0,0001$, CMXD $p=0,01$, DXDM $p=0,0005$, raio 30 CXCM $p=0,02$, CXD $<0,0001$, CMXD $p=0,01$, DXDM $p=0,0005$] e **GD** [raio 33, DXDM $p=0,01$]; sendo C=grupo dieta padrão salina, CM= grupo dieta padrão minociclina, D=grupo dieta HC salina e DM= grupo dieta HC minociclina E corpo celular microglial no **CA1** (efeito dieta $F_{(1,15)}=3,31$; $p=0,0889$; fator droga $F_{(1,15)}=8,07$; $p=0,01$; fator dieta X droga $F_{(1,15)}=6,45$; $p=0,02$; ANOVA de duas vias), **CA3** (fator dieta $F_{(1,15)}=0,68$; $p=0,42$ fator droga $F_{(1,15)}=0,81$; $p=0,38$; fator dieta X droga $F_{(1,15)}=0,85$; $p=0,37$; ANOVA de duas vias) e **GD** (fator dieta $F_{(1,12)}=0,71$; $p=0,42$ fator droga $F_{(1,12)}=0,52$; $p=0,48$; fator dieta X droga $F_{(1,12)}=0,58$; $p=0,46$; ANOVA de duas vias, figura 23).

a)



b)



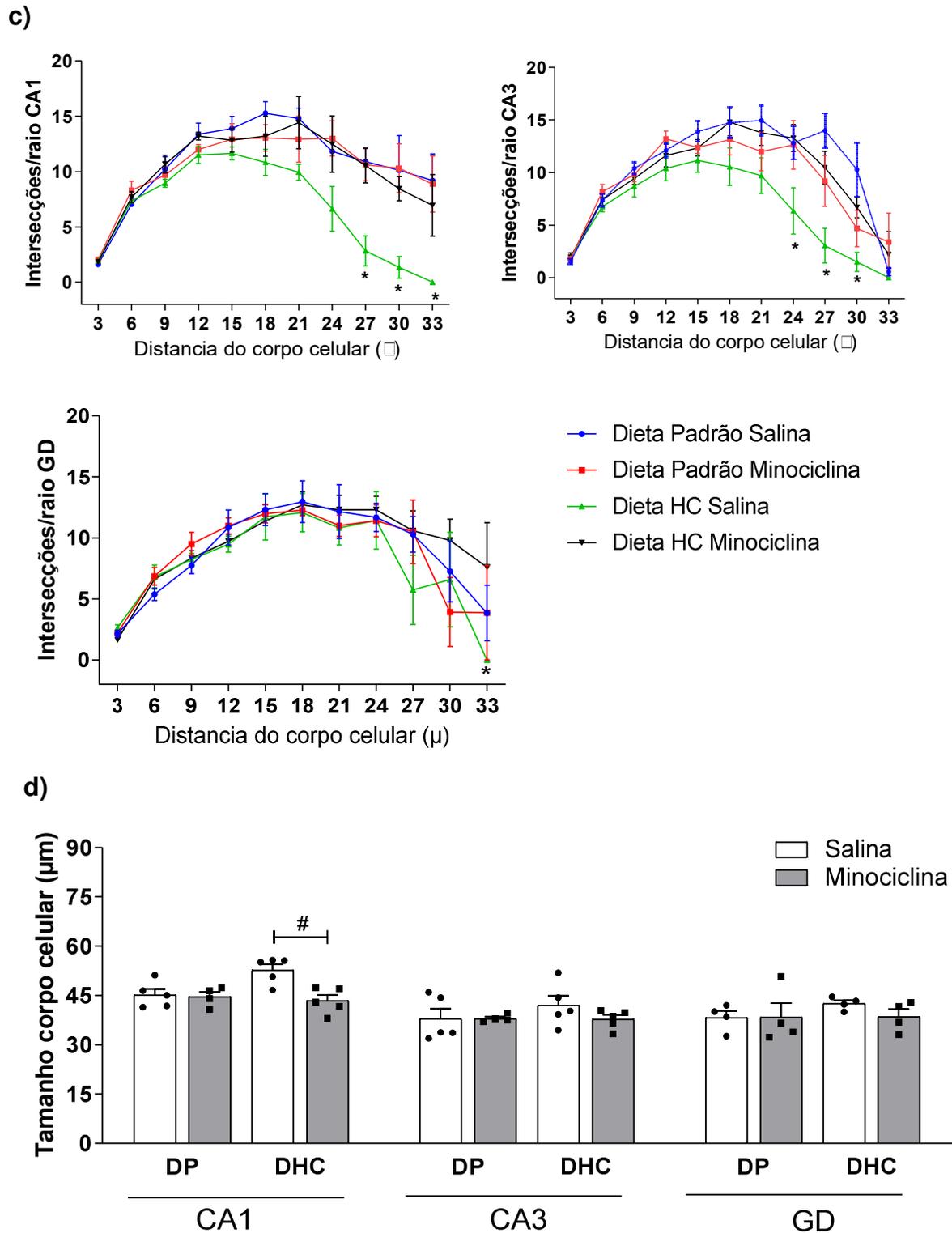


Figura 23. Minociclina atenua alterações na morfologia microglial em subdivisões do hipocampo observado após consumo da dieta HC

As barras representam a média \pm E.P.M. do comprimento da maior ramificação microglial (a), total de ramificações (b), interseções/raio (c) e área do corpo celular (d). * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão; (#), (+), (&) e (\$) = $p < 0,05$ no pós teste em relação aos grupos dieta HC

salina, dieta padrão salina, dieta HC minociclina e dieta padrão minociclina respectivamente n=4-5animais/grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). DP: Dieta padrão; DHC: Dieta HC; GD: Giro denteado.

HIPOCAMPO

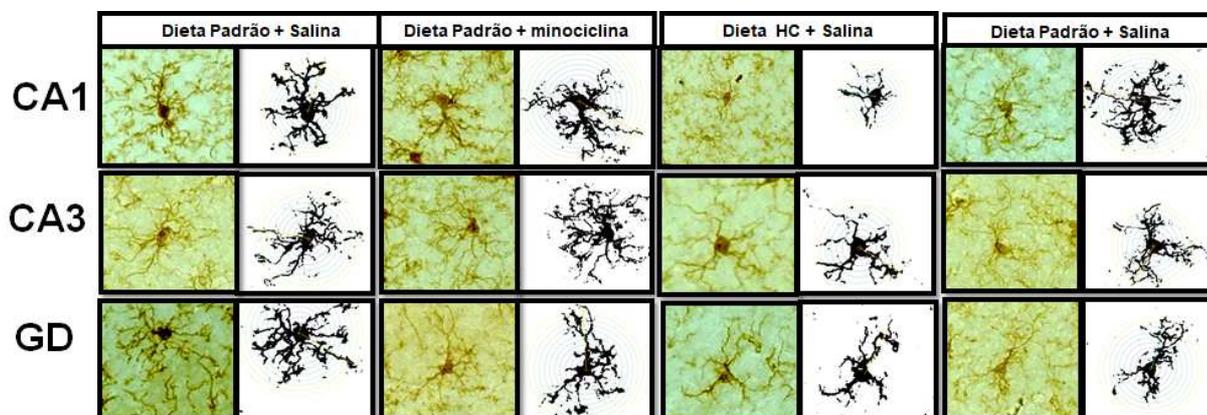


Figura 24. Foto representativa da morfologia microglial nas subdivisões do hipocampo de animais alimentados cronicamente com dieta HC e submetidos ao tratamento crônico com a minociclina

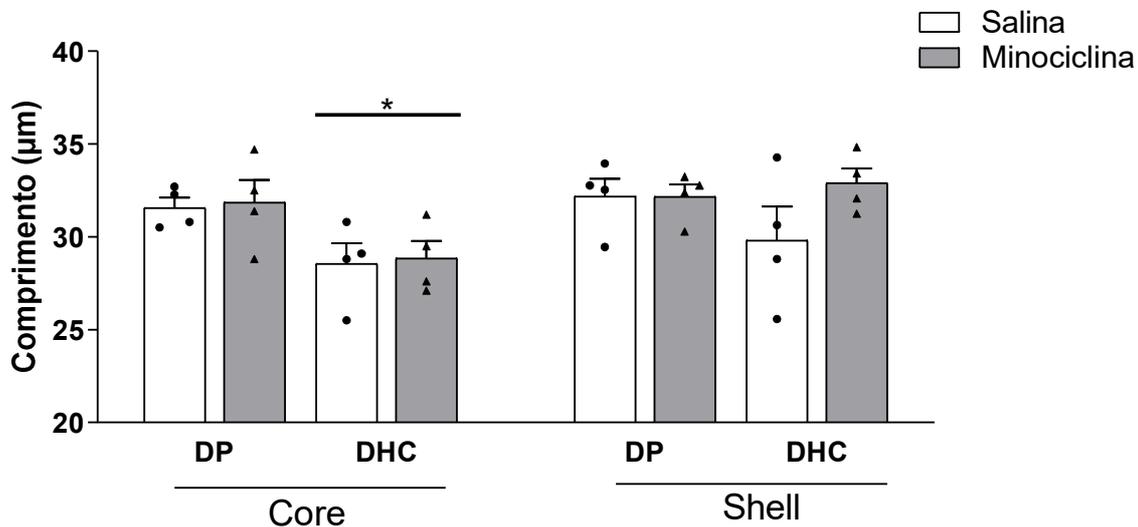
GD: Giro denteado. As barras representam 10 μ M. Aumento de 40X.

Entretanto, conforme apresentado na figura 25 o consumo da dieta HC alterou apenas o comprimento microglial da região **core** do NAc do estriado (fator dieta $F_{(1,12)} = 9,29$; $p=0,01$; fator droga $F_{(1,12)} = 0,08$; $p=0,78$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 0,0002$; $p=0,99$; ANOVA de duas vias). Não houve diferença no comprimento microglial da região **Shell** (fator dieta $F_{(1,12)} = 0,51$; $p=0,49$; fator droga $F_{(1,12)} = 1,79$; $p=0,20$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 1,82$; $p=0,20$; ANOVA de duas vias). No número de ramificações microgliais nas regiões **core** (fator dieta $F_{(1,12)} = 0,39$; $p=0,54$; fator droga $F_{(1,12)} = 0,39$; $p=0,54$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 0,21$; $p=0,20$; ANOVA de duas vias) e **shell** (fator dieta $F_{(1,12)} = 0,24$; $p=0,63$; fator droga $F_{(1,12)} = 2,42$; $p=0,13$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 3,24$; $p=0,10$; ANOVA de duas vias) e do corpo celular microglial no **core** (fator dieta $F_{(1,12)} = 1,00$; $p=0,34$; fator droga $F_{(1,12)} = 0,13$; $p=0,73$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 0,003$; $p=0,96$; ANOVA de duas vias) e **shell** fator dieta $F_{(1,12)} = 0,84$; $p=0,38$; fator droga $F_{(1,12)} = 0,36$; $p=0,56$; interação dieta X droga $F_{(1,12)} = 1,02$; $p=0,33$; ANOVA de duas vias).

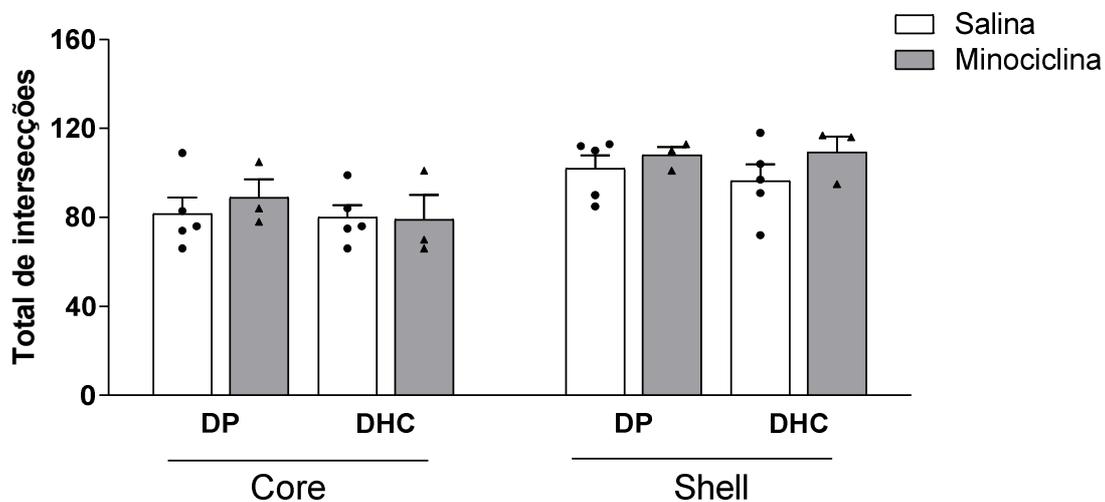
Mais uma vez, o aumento do número de ramificações microgliais foi observado apenas nas regiões terminais da micróglia nas regiões **core** [raio 33 CXD $p=0,04$, CXDM $p=0,02$] e **shell** [raio 24, DXDM $p=0,02$, raio 27 DXDM $p=0,003$;

raio 30, CXDM $p=0,01$, CMXD $p=0,01$, DXDM $p<0,0001$] do NAc. Sendo C=grupo dieta padrão salina, CM= grupo dieta padrão minociclina, D=grupo dieta HC salina e DM= grupo dieta HC minociclina.

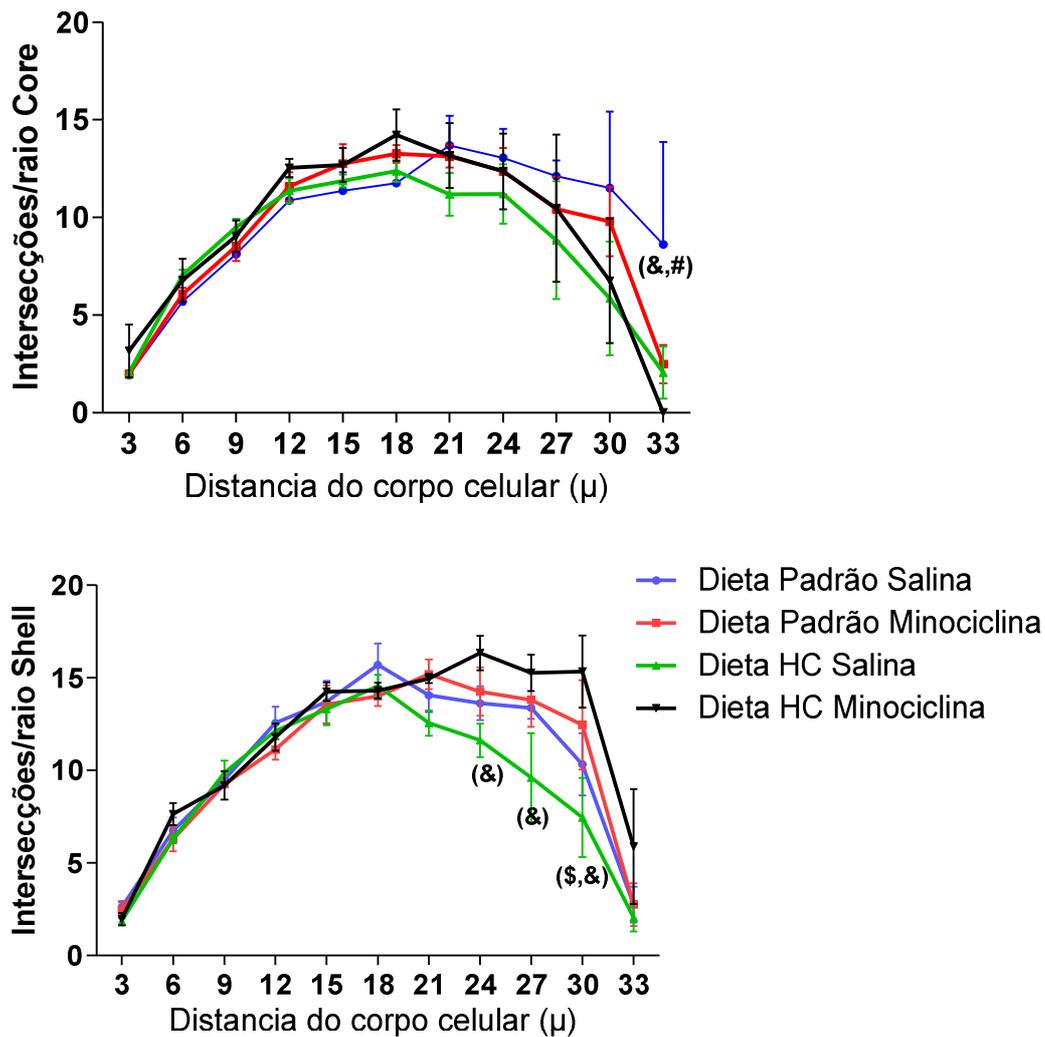
a)



b)



c)



d)

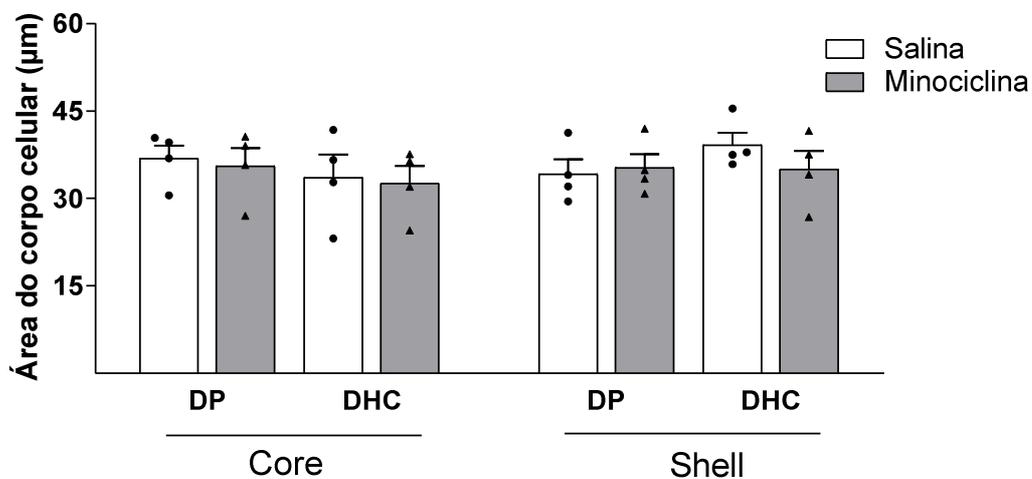


Figura 25. Minociclina atenua alterações na morfologia microglial em subdivisões do núcleo accumbens do estriado observado após consumo da dieta HC

As barras representam a média \pm E.P.M. do comprimento da maior ramificação microglial (a), total de ramificações (b), intersecções/raio (c) e área do corpo celular (d). (#), (+), (&) e (\$) = $p < 0,05$ no pós teste em relação aos grupos dieta HC salina, dieta padrão salina, dieta HC minociclina e dieta padrão minociclina respectivamente, $n=4-5$ animais/grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). DP: Dieta padrão; DHC: Dieta HC; CG: córtex cingulado; IL: infra-límbico; PrL: pré-límbico.

NÚCLEO ACCUMBENS DO ESTRIADO

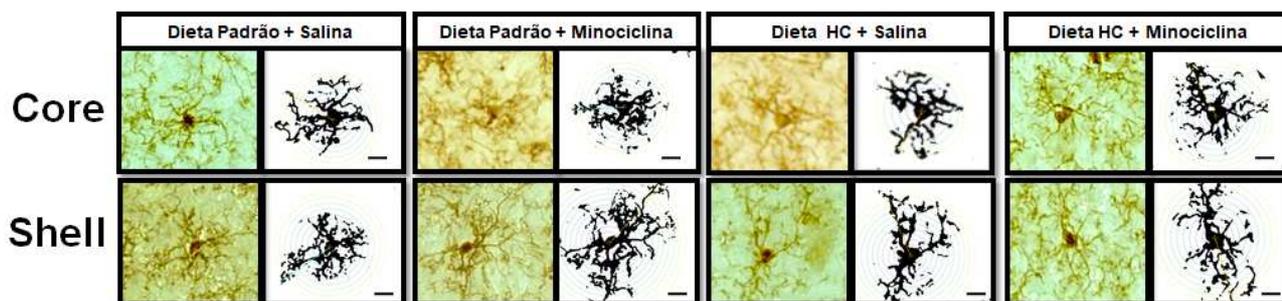


Figura 26. Foto representativa da morfologia microglial do núcleo accumbens de animais alimentados cronicamente com dieta HC e submetidos ao tratamento crônico com a minociclina

CG=córtex cingulado; IL= infra-límbico; PrL= pré-límbico

Além do efeito da minociclina nas alterações microgliais, esse fármaco normalizou os níveis de IL-6 (fator dieta $F_{(1,22)} = 5,02$; $p=0,35$; fator droga $F_{(1,22)} = 14,58$; $p=0,0009$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 13,36$; $p=0,001$; ANOVA de duas vias) e TNF- α (fator dieta $F_{(1,22)} = 0,22$; $p=0,64$; fator droga $F_{(1,22)} = 4,67$; $p=0,04$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 4,27$; $p=0,05$; ANOVA de duas vias no ST, assim como IL-10 no CPF (fator dieta $F_{(1,21)} = 0,16$; $p=0,69$; fator droga $F_{(1,21)} = 0,86$; $p=0,36$; interação dieta X droga $F_{(1,21)} = 8,01$; $p=0,01$; ANOVA de duas vias). Nenhum efeito da dieta ou da minociclina foi encontrado nos níveis de IL-6 no CPF (fator dieta $F_{(1,22)} = 4,18$; $p=0,53$; fator droga $F_{(1,22)} = 0,58$; $p=0,45$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 0,34$; $p=0,57$; ANOVA de duas vias) e HIP (fator dieta $F_{(1,24)} = 3,21$; $p=0,31$; fator droga $F_{(1,24)} = 0,79$; $p=0,38$; interação dieta X droga $F_{(1,24)} = 0,14$; $p=0,71$; ANOVA de duas vias); no TNF- α do CPF (fator dieta $F_{(1,22)} = 0,02$; $p=0,88$; fator droga $F_{(1,22)} = 0,64$; $p=0,43$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 0,49$; $p=0,49$; ANOVA de duas vias) e HIP (fator dieta $F_{(1,22)} = 4,20$; $p=0,05$; fator droga $F_{(1,22)} = 1,84$; $p=0,19$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 0,23$; $p=0,64$; ANOVA de duas vias) e IL-10 do HIP (fator dieta $F_{(1,24)} = 0,04$; $p=0,83$; fator droga $F_{(1,24)} = 0,82$; $p=0,37$; interação dieta X droga

$F_{(1,24)} = 0,94$; $p=0,34$; ANOVA de duas vias) e ST (fator dieta $F_{(1,22)} = 0,33$; $p=0,57$; fator droga $F_{(1,22)} = 0,40$; $p=0,53$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 0,25$; $p=0,62$; ANOVA de duas vias) conforme apresentado na tabela abaixo:

Citocinas (pg/ml)	Dieta Padrão + Salina	Dieta Padrão + Minociclina	Dieta HC + Salina	Dieta HC + Minociclina
TNF-α (CPF)	365,1 \pm 88,4	373,3 \pm 93,7	319,0 \pm 18,5	445,9 \pm 82,1
TNF-α (ST)	1773 \pm 475,4	1736 \pm 201,0	2780 \pm 438,7	1100 \pm 362,3 [#]
TNF-α (HIP)	1165 \pm 353,1	1851 \pm 518,1	577,4 \pm 353,1	905,5 \pm 353,1
IL-6 (CPF)	471,7 \pm 87,6	459,7 \pm 75,6	374,9 \pm 49,3	285,8 \pm 29,9
IL-6 (ST)	923,2 \pm 125,9	867,8 \pm 107,4	2919 \pm 705,8 [*]	389,7 \pm 49,7 [#]
IL-6 (HIP)	384,1 \pm 63,5	536,0 \pm 71,9	552,0 \pm 112,1	613,5 \pm 164,7
IL-10 (CPF)	257,3 \pm 25,6	203,5 \pm 15,3	158,8 \pm 36,2	284,7 \pm 48,0 [#]
IL-10 (ST)	337,2 \pm 51,3	330,1 \pm 45,2	397,9 \pm 33,3	334,2 \pm 98,9
IL-10 (HIP)	405,1 \pm 51,9	401,7 \pm 59,8	361,8 \pm 32,7	469,0 \pm 66,3

Tabela 3. O tratamento crônico com minociclina altera algumas citocinas encefálicas em animais alimentados com dieta HC por 12 semanas.

Os dados estão apresentados como média \pm erro padrão de 4-8 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão; # $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta HC salina, $n=14-15$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). TNF- α = fator de necrose tumoral alfa, IL= interleucina, ST= estriado, HIP= hipocampo, CPF= córtex pré-frontal, dieta HC= dieta rica em carboidratos refinados.

4.6 O tratamento crônico com minociclina não alterou parâmetros metabólicos associados a obesidade

Uma vez que a minociclina apresenta propriedades anti-inflamatórias, foi investigado se o tratamento crônico com este fármaco poderia interferir em parâmetros metabólicos que geralmente estão alterados na obesidade. Conforme mostra a figura 27, o tratamento crônico de minociclina não alterou o

consumo, (fator tempo $F_{(1,8)} = 3,26$; $p=0,11$; fator tratamento $F_{(3,8)} = 0,52$; $p=0,52$; interação tempo X tratamento $F_{(3,8)} = 0,13$; $p=0,94$; ANOVA de duas vias, figura 27A), peso (fator tempo $F_{(4,100)} = 1,06$; $p=0,38$; fator tratamento $F_{(3,25)} = 0,63$; $p=0,60$; interação tempo X tratamento $F_{(12,100)} = 7,6$ $p<0,0001$; ANOVA de duas vias, figura 27B) e adiposidade corporal dos animais (fator dieta $F_{(1,26)} = 89,42$; $p<0,0001$; fator droga $F_{(1,26)} = 0,02$; $p=0,88$; interação dieta X droga $F_{(1,26)} = 0,03$; $p=0,87$; ANOVA de duas vias, figura 28).

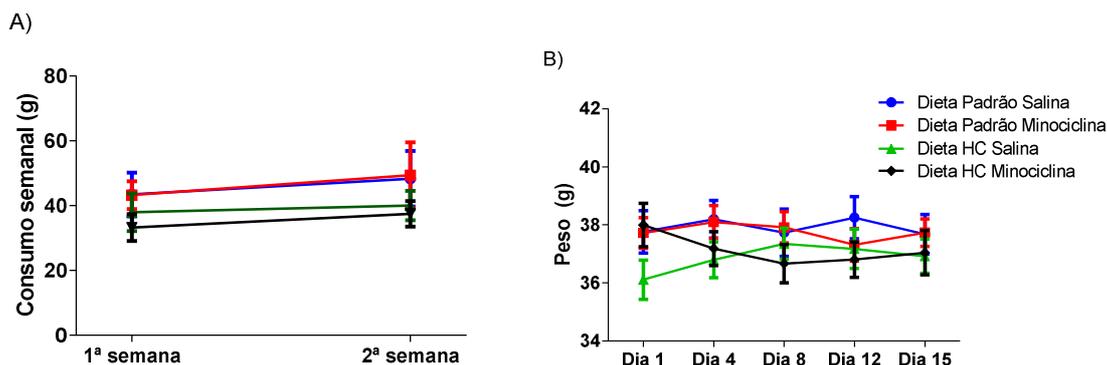


Figura 27. O tratamento crônico com minociclina não altera o consumo alimentar semanal (A) e peso (B) dos animais experimentais

As barras representam a média \pm E.P.M. $n=8$ /grupo/caixa (ANOVA de duas vias). DP: Dieta Padrão; DHC: Dieta HC; SAL: Salina; MINO: Minociclina.

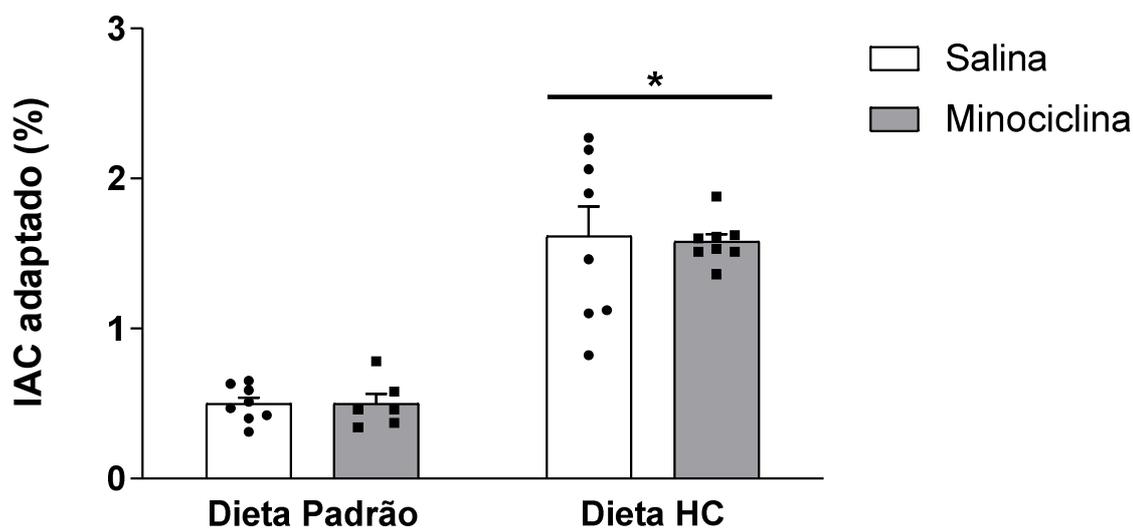


Figura 28. Tratamento crônico com minociclina não altera a adiposidade corporal dos animais experimentais

As barras representam a média + E.P.M. do consumo. * $p < 0,05$ em relação a dieta padrão; # $p < 0,05$ entre dieta HC+salina e dieta HC+minociclina, $n=13-15$ /grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

Adicionalmente, a minociclina não modificou os seguintes parâmetros: glicose (fator dieta $F_{(1,26)} = 14,57$; $p=0,0008$; fator droga $F_{(1,26)} = 1,25$; $p=0,27$ interação dieta X droga $F_{(1,26)} = 0,98$; $p=0,33$; ANOVA de duas vias), colesterol (fator dieta $F_{(1,26)} = 7,94$; $p=0,009$; fator droga $F_{(1,26)} = 0,47$; $p=0,50$; interação dieta X droga $F_{(1,26)} = 0,63$; $p > 0,43$; ANOVA de duas vias), quemerina (fator dieta $F_{(1,27)} = 4,76$; $p=0,04$; fator droga $F_{(1,27)} = 1,006$; $p=0,32$; interação dieta X droga $F_{(1,27)} = 0,43$; $p=0,51$; ANOVA de duas vias), leptina sérica (fator dieta $F_{(1,25)} = 15,25$; $p=0,0006$; fator droga $F_{(1,25)} = 0,42$; $p=0,52$; interação dieta X droga $F_{(1,25)} = 0,40$; $p=0,53$; ANOVA de duas vias), TNF- α (fator dieta $F_{(1,26)} = 4,91$; $p=0,04$; fator droga $F_{(1,26)} = 0,009$; $p=0,93$; interação dieta X droga $F_{(1,26)} = 1,65$; $p=0,21$; ANOVA de duas vias) e IL-10 (fator dieta $F_{(1,25)} = 9,84$; $p=0,004$; fator droga $F_{(1,25)} = 1,09$; $p=0,31$; interação dieta X droga $F_{(1,25)} = 0,18$; $p=0,67$; ANOVA de duas vias). Entretanto diminuiu resistina sérica nos animais que receberam dieta HC (fator dieta $F_{(1,27)} = 25,34$; $p < 0,001$; fator droga $F_{(1,27)} = 8,05$; $p=0,008$; interação dieta X droga $F_{(1,27)} = 0,01$; $p=0,91$; ANOVA de duas vias). Nenhum efeito da dieta ou da minociclina foi observado nos níveis séricos de triglicerídeos (fator dieta $F_{(1,22)} = 1,10$; $p=0,30$; fator droga $F_{(1,22)} = 3,18$; $p=0,09$; interação dieta X droga $F_{(1,22)} = 2,46$; $p=0,13$; ANOVA de duas vias), adiponectina (fator dieta $F_{(1,24)} = 0,44$; $p=0,51$; fator droga $F_{(1,24)} = 0,42$; $p=0,52$; interação dieta X droga $F_{(1,24)} = 0,03$; $p=0,85$; ANOVA de duas vias) e IL-6 (fator dieta $F_{(1,27)} = 1,44$; $p=0,24$; fator droga $F_{(1,27)} = 12,36$; $p=0,27$; interação dieta X droga $F_{(1,27)} = 0,39$; $p=0,53$; ANOVA de duas vias, tabela 4).

	Dieta Padrão + Salina	Dieta Padrão + Minociclina	Dieta HC + Salina	Dieta HC + Minociclina
Glicose (mg/dl)	69,98 ± 11,42	46,20 ± 16,87	101,90 ± 8,02*	100,40 ± 7,00*
Colesterol (mg/dl)	47,28 ± 4,09	46,81 ± 5,98	56,20 ± 2,44*	62,71 ± 4,39*
TAG (mg/dl)	60,00 ± 7,59	57,91 ± 5,70	85,46 ± 13,84	52,88 ± 2,40
Resistina (ng/ml)	25,36 ± 4,31	14,81 ± 3,14	42,98 ± 3,85*	33,22 ± 2,83*
Quemerina (ng/ml)	11,16 ± 2,53	11,72 ± 1,35	13,64 ± 1,32*	16,34 ± 0,56*
Leptina (ng/ml)	6,61 ± 0,95	6,52 ± 1,63	32,71 ± 9,66*	25,27 ± 5,73*
Adipo (mcg/ml)	4,97 ± 1,26	4,54 ± 2,04	5,57 ± 1,11	6,61 ± 0,57
TNF-α (pg/mg)	3,21 ± 0,36	4,22 ± 0,65	5,76 ± 0,43*	4,89 ± 1,27*
IL-6 (pg/mg)	2,31 ± 0,42	2,02 ± 0,54	3,41 ± 0,97	2,37 ± 0,42
IL-10 (pg/mg)	5,28 ± 1,35	3,71 ± 1,91	1,47 ± 0,53*	0,80 ± 0,19*

Tabela 4. O tratamento crônico com minociclina não modifica parâmetros metabólicos e inflamatórios periféricos em animais alimentados com dieta HC por 12 semanas.

Os dados são apresentados como média ± erro padrão de 7 a 8 animais por grupo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni). Adipo: adiponectina, TAG: triglicérides, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa, IL-6: interleucina 6, IL-10: interleucina 10. As citocinas foram mensuradas no tecido adiposo epididimal e os metabolitos e adipocitocinas no soro.

4.7 A troca da dieta HC pela dieta padrão por 15 dias não alterou o comportamento de compulsão, ocasionado pelo consumo crônico da dieta HC embora atenuou comportamento tipo ansioso e a adiposidade corporal

Uma vez que verificou-se que é necessário um tempo maior de consumo de dieta HC para promover comportamentos tipo compulsivo nos camundongos, investigou-se a retirada da dieta HC por 15 dias, seria capaz de reverter alterações comportamentais do tipo ansiedade e compulsão. Conforme mostra

a figura 28, a troca da dieta a HC por dieta padrão por 15 dias não diminuiu o número de esferas enterradas ($F_{(2,23)} = 4,75$ $p=0,20$; ANOVA de uma via) embora diminuiu a latência para se alimentar ($F_{(2,23)} = 6,21$ $p=0,008$; ANOVA, figura 29) e a adiposidade corporal dos animais ($F_{(2,21)} = 11,62$; $p=0,0004$; ANOVA, figura 30).

Mais uma vez, o aumento na latência para se alimentar dos animais que receberam a dieta HC, não pode ser atribuído a diminuição do apetite, uma vez que os animais que receberam dieta HC consumiram maior quantidade de ração nos 5 minutos subsequentes em relação aos animais que receberam dieta padrão por 12 semanas e por 15 dias ($F_{(2,23)} = 15,78$; $p<0,001$; ANOVA, figura suplementar 3).

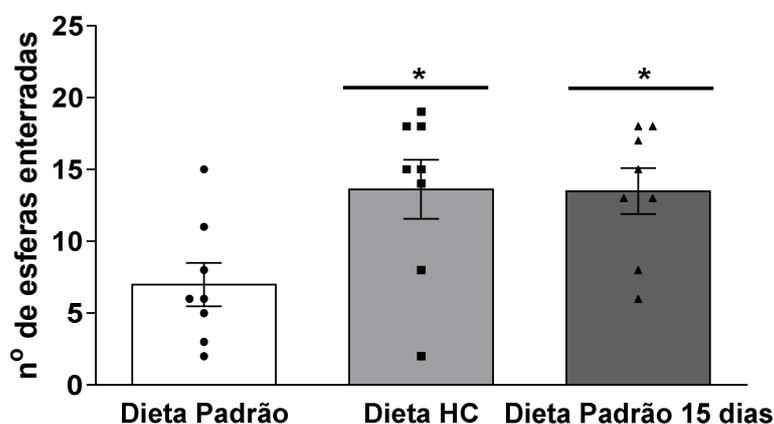


Figura 28. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias não atenuou comportamento de compulsão observado após consumo da dieta HC no teste de enterrar esferas.

As barras representam a média + E.P.M. do número de esferas enterradas. * $p<0,05$ em relação ao grupo dieta padrão, $n=8$ /grupo (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

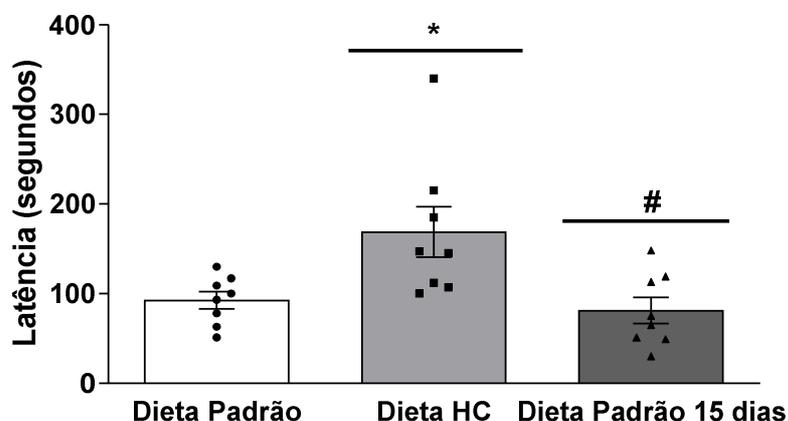


Figura 29. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias atenua comportamento de compulsão observado após consumo da dieta HC no teste alimentação suprimida pela novidade

As barras representam a média + E.P.M. do consumo, (*) e (#) = $p < 0,05$ em relação ao grupo Dieta Padrão e dieta HC respectivamente, $n=8$ animais/grupo (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

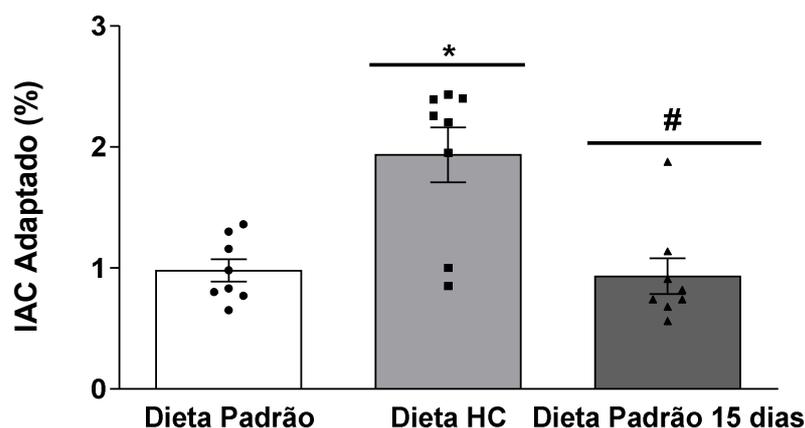


Figura 30. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias atenua o aumento da adiposidade corporal observada após consumo crônico da dieta HC

As barras representam a média + E.P.M. do consumo, (*) e (#) = $p < 0,05$ em relação ao grupo Dieta Padrão e dieta HC respectivamente, $n=8$ animais/grupo (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

Observamos ainda que a intervenção dietética atenuou os níveis de TNF- α no ST ($F_{(2,18)} = 17,65$ $p < 0,0001$; ANOVA), e IL-10 no HIP ($F_{(2,18)} = 3,71$ $p = 0,04$; ANOVA), entretanto não interferiu nos níveis de IL-10 no ST que estavam diminuídos devido ao consumo da dieta HC ($F_{(2,17)} = 4,78$ $p = 0,02$; ANOVA). Nenhum efeito do consumo crônico da dieta HC ou da intervenção dietética, foram observados nos níveis de IL-10 no CPF ($F_{(2,18)} = 2,32$ $p = 0,13$; ANOVA). IL-6 no CPF ($F_{(2,17)} = 0,32$ $p = 0,72$; ANOVA), ST ($F_{(2,16)} = 1,62$ $p = 0,22$; ANOVA) e HIP ($F_{(2,16)} = 1,53$ $p = 0,25$; ANOVA). E TNF- α no CPF ($F_{(2,18)} = 0,33$ $p = 0,72$; ANOVA) e HIP ($F_{(2,17)} = 0,18$ $p = 0,83$; ANOVA, tabela 5).

Adicionalmente, a troca da dieta HC pela dieta padrão por 15 dias não restaurou os níveis de glicose ($F_{(2,21)} = 5,33$ $p = 0,01$; ANOVA), resistina ($F_{(2,24)} = 3,49$ $p = 0,05$; ANOVA), quemerina ($F_{(2,20)} = 4,07$ $p = 0,03$; ANOVA) e IL-10 ($F_{(2,18)} = 4,33$ $p = 0,03$; ANOVA) que estavam alterados devido o consumo da dieta HC embora reduziu o TAG ($F_{(2,18)} = 8,52$ $p = 0,002$; ANOVA), leptina ($F_{(2, 19)} = 10,1$

$p=0,001$; ANOVA) e $\text{TNF-}\alpha$ ($F_{(2, 19)} = 4,76$ $p=0,02$; ANOVA). Nenhum efeito da dieta ou troca da dieta foi observado nos níveis séricos de colesterol ($F_{(2,21)} = 0,51$ $p=0,61$; ANOVA), adiponectina $F_{(2,14)} = 0,12$ $p=0,89$; ANOVA) e IL-6 ($F_{(2,20)} = 0,40$; $p=0,40$; ANOVA, tabela 6).

Citocinas (pg/ml)	Dieta Padrão	Dieta HC	Troca da dieta HC pela padrão
TNF-α (CPF)	49,5 \pm 5,5	44,2 \pm 2,7	46,8 \pm 4,3
TNF-α (ST)	45,5 \pm 2,1	493,0 \pm 87,7*	86,3 \pm 26,4#
TNF-α (HIP)	52,7 \pm 5,1	49,1 \pm 3,0	51,4 \pm 3,2
IL-6 (CPF)	558,0 \pm 42,7	471,4 \pm 104,9	481,4 \pm 72,0
IL-6 (ST)	352,1 \pm 62,4	601,3 \pm 138,6	723,6 \pm 246,0
IL-6 (HIP)	422,8 \pm 53,4	367,5 \pm 36,6	556,0 \pm 131,4
IL-10 (CPF)	424,3 \pm 83,7	420,5 \pm 56,8	251,6 \pm 30,4
IL-10 (ST)	400,9 \pm 26,4	259,9 \pm 18,9*	304,2 \pm 53,1
IL-10 (HIP)	338,7 \pm 35,6	243,6 \pm 61,7	472,3 \pm 74,8#

Tabela 5. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias modifica a quantidade de TNF- α no estriado e IL-10 no hipocampo dos camundongos.

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão de 4-8 animais por grupo. (*) e (#) representam diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao grupo Dieta Padrão e dieta HC respectivamente (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

	Dieta Padrão	Dieta HC	Troca da dieta HC pela padrão
Glicose (mg/dl)	58,20 ± 7,91	88,86 ± 6,04*	80,30 ± 6,46
Colesterol (mg/dl)	47,69 ± 3,05	52,74 ± 3,84	49,90 ± 3,67
Triglicérides (mg/dl)	55,27 ± 3,01	78,96 ± 5,43*	61,94 ± 4,08#
Resistina (ng/ml)	19,66 ± 3,41	33,36 ± 3,22*	25,31 ± 4,32
Quemerina (ng/ml)	11,21 ± 2,14	16,85 ± 0,70	12,84 ± 1,30
Leptina (ng/ml)	12,99 ± 2,89	31,17 ± 4,87*	11,37 ± 1,91#
Adiponectina (mcg/ml)	7,29 ± 1,58	6,06 ± 0,69	6,90 ± 2,72
TNF-α (pg/mg)	1,01 ± 0,16	1,43 ± 0,14	0,80 ± 0,15#
IL-6 (pg/mg)	1,80 ± 0,32	2,00 ± 0,26	2,15 ± 0,25
IL-10 (pg/mg)	5,11 ± 1,84	1,5 ± 1,65*	1,65 ± 0,35*

Tabela 6. A troca da dieta HC por dieta padrão por 15 dias não atenua a maioria dos metabólitos e adipocitocinas alterados após consumo da dieta HC.

Os dados são apresentados como média ± erro padrão de 4-8 animais por grupo. (*) e (#) representam diferenças significativas no pós teste ($p < 0,05$) em relação ao grupo Dieta Padrão e dieta HC respectivamente (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

5. DISCUSSÃO

Nesse estudo confirmamos dados obtidos na literatura que mostraram que o consumo de uma dieta rica em carboidratos refinados por 4, 8 e 12 semanas promoveu obesidade nos animais (OLIVEIRA *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2016, 2018).

O efeito dos carboidratos sobre a expansão do tecido adiposo pode ser explicado por alguns mecanismos. Em primeiro lugar, em decorrência do seu alto índice glicêmico, a dieta HC aumenta os níveis de insulina, o que favorece a oxidação de glicose e incorporação de lipídios, resultando em aumento da adiposidade (CAMPBELL; SENIOR; BELL-ANDERSON, 2017). Além disso, os carboidratos acionam enzimas como a acetil-coA carboxilase (ACC) e Lipase lipoproteica (LLP) e fatores de transcrição, como receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR), proteína de ligação ao elemento responsivo ao carboidrato (ChREBP), e proteínas de ligação ao elemento regulatório de esterol (SREBP-1), que apresentam papel fundamental na lipogênese e armazenamento de gorduras (AL-HASANI; JOOST, 2005; BENHAMED; POUPEAU; POSTIC, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Entretanto, devido a dieta HC ser isocalórica em relação a dieta padrão (OLIVEIRA *et al.*, 2013) e o consumo alimentar nos animais não diferir, não há diferença no consumo calórico e ganho de peso dos animais (GOMES, J A S *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2013; PENA *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2016).

Diversos estudos têm se dedicado a investigar a associação entre a obesidade e suas comorbidades, como os transtornos neuropsiquiátricos (ANDERSEN *et al.*, 2010; JAREMKA; PACANOWSKI, 2019; MANSUR; BRIETZKE; MCINTYRE, 2015; SANCHEZ; GUERIN; FONKEN, 2019). E várias dietas são utilizadas em roedores para reproduzir o sobrepeso e/ou obesidade com o objetivo de compreender a fisiopatologia dessas comorbidades. Identificamos, no presente estudo que é necessário um período superior a 8 semanas de consumo da dieta HC para que as alterações neuroquímicas encefálicas promovam comportamento compulsivo nos camundongos. Esses resultados corroboram dados na literatura os quais demonstraram que camundongos alimentados com dieta HC por 12 semanas apresentaram comportamento

ansioso no teste labirinto em cruz elevado, após estresse (SANTOS *et al.*, 2018) e comportamentos tipo ansioso e compulsivo nos testes alimentação suprimida pela novidade e teste de enterrar esferas, respectivamente (GOMES, J A S *et al.*, 2018). Observou-se entretanto, que o consumo por 3 dias da dieta HC aumentou a adiposidade dos animais sem promover alterações nos comportamentos de ansiedade e compulsão (GOMES, J A S *et al.*, 2018).

Embora o mecanismo exato pelo qual a obesidade promove tais alterações ainda não é totalmente estabelecido, várias evidências sugerem a inflamação como um potencial candidato (MILANESCHI *et al.*, 2019). De fato, a inflamação apresenta relação tanto com a fisiopatologia da obesidade (SIKARIS, 2004; SUN, K; KUSMINSKI; SCHERER, 2011) quanto da suas comorbidades como os transtornos de ansiedade, compulsão e depressão (LEFF GELMAN *et al.*, 2019; SCHACHTER *et al.*, 2018). Adicionalmente, estudos realizados em modelos de obesidade em roedores, mostraram o envolvimento do processo neuroinflamatório, particularmente em áreas envolvidas na regulação do humor e na formação da memória, como o hipocampo (DUTHEIL *et al.*, 2016; JEON *et al.*, 2012; WANG, SEN *et al.*, 2016).

A neuroinflamação é caracterizada tanto pelo aumento do número de células microgлияis como também por alterações morfológicas da micrógлия, promovendo maior produção e secreção de mediadores inflamatórios e aumento da atividade fagocítica dessas células (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015).

Identificamos no presente estudo que animais alimentados com dieta HC apresentaram diminuição do comprimento, número total de ramificações microgлияis e número de ramificações nas regiões distais da micrógлия, assim como, aumento na área do corpo celular microgлияl em algumas regiões do CPF e HIP, o que sugere que essa dieta promoveu um estado de ativação microgлияl nessas regiões. Um efeito bem menor foi encontrado no núcleo accumbens do estriado. Esses resultados corroboram dados prévios do laboratório que mostraram que a dieta HC por 12 semanas aumentou o índice de ativação microgлияl no CPF e HIP enquanto nenhuma alteração foi observada no estriado (GOMES, J A S *et al.*, 2018; GOMES, JULIA A.S. *et al.*, 2020). Ainda, Bocarsly *et al.* (2015), demonstraram que o consumo crônico da dieta com alto

teor de lipídeos (HF), alterou a morfologia microglial no hipocampo de camundongos (BOCARSLY *et al.*, 2015).

Embora o HIP, CPF e ST apresentarem envolvimento nos comportamentos avaliados nesse estudo, a menor ativação microglial no ST pode ser justificada em decorrência da região analisada. O núcleo accumbens (NAc), analisado no presente trabalho, está localizado no estriado ventral e apresenta envolvimento no comportamento emocional, enquanto, o estriado dorsal está relacionado a execução de atos motores (HABER; KNUTSON, 2010). Uma vez que o modelo MB mimetiza apenas a compulsão nos animais e logo, o envolvimento da área dorsal, os resultados de ativação microglial nessa área pode ser diferente dos encontrados no estriado ventral. Essa hipótese é sustentada pelas alterações observadas no perfil das citocinas do estriado em animais que receberam dieta HC. Essa análise, foi realizada em todo o estriado e incluiu portanto regiões envolvidas na fisiopatologia do TOC, como o caudado, putamem e globo pálido do estriado dorsal (GOODMAN *et al.*, 2014). Dessa forma, são necessárias mais análises da morfologia microglial para verificar a ativação microglial no estriado dorsal.

Observamos ainda que a dieta HC por 12 semanas não alterou o recrutamento de células microgliais em nenhuma porção do CPF, HIP ou ST. Esses dados corroboram um estudo prévio do nosso grupo, o qual demonstrou que o consumo da dieta HC por 12 semanas aumentou o índice de ativação microglial no CPF e HIP de camundongos, mas não modificou o número de células Iba-1+ nessas regiões (GOMES, JULIA, 2017). Adicionalmente, uma dieta rica em ácidos graxos saturados promoveu ativação microglial, sem alterar o número de células Iba-1+ (DÉCARIE-SPAIN *et al.*, 2018). Essa diferença apenas na morfologia microglial, pode ser justificada, pelo fato da obesidade induzida por dieta ter um caráter de inflamação de baixa intensidade. Essa hipótese é sustentada pelos resultados de Norden *et al* (2016) e Wofford *et al* (2017) que mostraram que a injeção de LPS, ou lesão cerebral traumática, fatores que podem desencadear uma inflamação acentuada, alteram tanto a densidade ou número de células Iba-1+, quanto a morfologia microglial (NORDEN *et al.*, 2016; WOFFORD *et al.*, 2017). Entretanto, a exposição por três semanas ao estresse crônico, aumentou a capacidade fagocítica microglial, enquanto nenhuma alteração no número

microglial foi observada (BASSETT *et al.*, 2021). Assim, sugerimos, que as alterações microgliais na obesidade induzida por dieta podem ser diferentes das induzidas por fatores pró inflamatórios de alta intensidade, ou ainda que essas modificações na morfologia microglial após o consumo crônico da dieta HC, precedem as alterações em número microglial previamente observado em modelos de ansiedade e compulsão (T *et al.*, 2014; TONG *et al.*, 2017).

A minociclina é um antibiótico de amplo espectro que apresenta propriedades anti-inflamatórias. É uma molécula altamente lipofílica que pode atravessar a barreira hematoencefálica, se depositar nas células no SNC (BROGDEN; SPEIGHT; AVERY, 1975) e exercer um papel antiinflamatório, uma vez que modula a produção de várias citocinas (BERKIKS *et al.*, 2018; GAO *et al.*, 2017; HAN *et al.*, 2020; LEVKOVITZ *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2018; MAJIDI; KOSARI-NASAB; SALARI, 2016; SCHMIDTNER, A K *et al.*, 2019; SUN, RAO *et al.*, 2016; WANG, YA LIN *et al.*, 2018; ZHANG, C *et al.*, 2018). Ainda, foi demonstrado que esse fármaco diminui a ativação da micróglia em vários estudos experimentais (BERKIKS *et al.*, 2018; FAN *et al.*, 2006; HAN *et al.*, 2020; KOVESDI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2018; ROONEY *et al.*, 2020; SCHMIDTNER, A K *et al.*, 2019; SHIGEMORI *et al.*, 2015; SUN, RAO *et al.*, 2016; WALLACE *et al.*, 2007; ZHANG, C *et al.*, 2018). Os mecanismos de neuroproteção induzida pela inibição da ativação microglial ainda não foram totalmente estabelecidos (SIMON, DENNIS W. *et al.*, 2018). Alguns estudos observaram que a minociclina reduziu a translocação e a ativação extracelular do grupo de alta mobilidade box-1 [HMGB1, (HAYAKAWA *et al.*, 2008; KIKUCHI *et al.*, 2009)]. Esse padrão molecular associado ao dano pode se ligar a receptores de reconhecimento de padrões, como o receptor TLR4 e o receptor para glicosilação avançada de produtos finais (RAGE), resultando em ativação microglial (SIMON, DENNIS W. *et al.*, 2018).

No presente estudo, a administração subcrônica (7 dias) de minociclina não modificou o comportamento tipo ansioso e compulsivo causado pelo consumo da dieta HC. Porém, o tratamento crônico (15 dias) reverteu tais alterações comportamentais. Os resultados obtidos a partir dos testes comportamentais não são decorrentes de efeitos da minociclina sobre a locomoção, uma vez que a mesma não reduziu a atividade locomotora dos animais no teste do campo aberto. Nossos dados corroboram com vários estudos, os quais mostraram que

a minociclina administrada de forma crônica reduziu o comportamento tipo ansioso em camundongos (BILOUSOVA *et al.*, 2009; DANSIE *et al.*, 2013; KUMAR, ANIL *et al.*, 2012; LOCKE *et al.*, 2015; MAJIDI; KOSARI-NASAB; SALARI, 2016; SHIGEMORI *et al.*, 2015; ZHANG, CAI *et al.*, 2019). Além disso, Rooney, *et al* (2020) demonstraram que a administração hipocampal por 10 dias de minociclina diminuiu o comportamento tipo ansioso, evidenciado por uma diminuição no tempo e número de entradas no lado claro da caixa claro escuro. Esses resultados não foram observados quando a minociclina foi administrada por apenas 5 dias (ROONEY *et al.*, 2020).

Em contraste com os nossos resultados, alguns estudos encontraram que administração única ou aguda de minociclina reverteu comportamentos de ansiedade em modelos experimentais (BERKIKS *et al.*, 2018; FAN *et al.*, 2006; KOVESDI *et al.*, 2012; SUN, RAO *et al.*, 2016; WANG, WEI *et al.*, 2018b). Entretanto, a maioria desses estudos utilizaram a minociclina de forma profilática ou imediatamente após o protocolo de indução de ansiedade. Dessa forma é possível que nesses estudos a minociclina preveniu a ativação microglial ao invés de reverte-la e por isso o tratamento agudo atenuou o comportamento ansioso nesses animais.

Esse é o primeiro trabalho a avaliar o efeito da minociclina no comportamento tipo compulsivo e ansioso induzidos pela obesidade. Entretanto, outros estudos demonstraram que o tratamento com minociclina reverteu o declínio cognitivo de animais induzidos por dieta rica em gordura e frutose (MUKHERJEE *et al.*, 2018) e diabetes mellitos (MEHTA; BANERJEE, 2019).

Em concordância com nossos resultados comportamentais, a administração por 15 dias de minociclina, reverteu às alterações na morfologia microglial encontradas após o consumo da dieta HC. Esses dados corroboram com vários estudos que mostraram que a minociclina alterou marcadores microgliais (BERKIKS *et al.*, 2018; FAN *et al.*, 2006; HAN *et al.*, 2020; KOVESDI *et al.*, 2012; ROONEY *et al.*, 2020; SCHMIDTNER, A K *et al.*, 2019; SHIGEMORI *et al.*, 2015; SUN, RAO *et al.*, 2016; WALLACE *et al.*, 2007; WANG, WEI *et al.*, 2018a; ZHANG, CAI *et al.*, 2019). Além disso, esse fármaco promoveu diminuição dos níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α no ST e aumento da citocina anti-inflamatória IL-10 no CPF. Ressalta-se que até o momento, esse é o primeiro trabalho a demonstrar o efeito da minociclina na

morfologia microglial de camundongos com obesidade induzida por dieta rica em carboidratos.

Embora esses dados forneçam um mecanismo de como a minociclina possivelmente reduza as alterações comportamentais induzidas pelo consumo crônico da dieta HC, a associação de uma ou mais vias não podem ser descartadas. No nosso estudo por exemplo, não verificamos o efeito da minociclina no estresse oxidativo de animais que receberam cronicamente a dieta HC. Entretanto, é possível que a minociclina possa atuar na redução do desequilíbrio redox de animais alimentados com a dieta HC, uma vez que foi demonstrado por Santana *et al* (2021) que a obesidade induzida por dieta aumentou os níveis de enzimas encefálicas relacionadas ao desequilíbrio redox como a glutathione peroxidase (GPx) e catalase em camundongos (SANTANA *et al.*, 2021). A minociclina por sua vez, mostrou-se eficaz em reduzir esses parâmetros em outros estudos (KUMAR, ANIL *et al.*, 2012; KUMAR, HARIOM; SHARMA, 2016). Além disso, a minociclina pode prevenir a morte celular por bloqueio de cascatas apoptóticas (X. Wang *et al.*, 2003). O envolvimento da apoptose celular mostrou-se presente tanto na fisiopatologia da obesidade (MORAES *et al.*, 2009) como de transtornos neuropsiquiátricos (LUCASSEN *et al.*, 2008). Logo, a atenuação do comportamento tipo ansioso e compulsivo pela minociclina, pode ter relação com a diminuição da apoptose neuronal em regiões relacionadas com esses comportamentos. Por último, mudanças na microbiota intestinal podem apresentar um papel importante na interação entre dieta e humor. Alterações em comunidades microbianas intestinais induzidas por dietas foram relatadas em múltiplos estudos (BROWN *et al.*, 2012; C. VAUGHN *et al.*, 2017; DE LA SERRE *et al.*, 2010). A minociclina por sua vez restaurou o perfil da microbiota e melhorou transtornos psiquiátricos (SCHMIDTNER, ANNA K. *et al.*, 2019; YANG, QI *et al.*, 2020) e déficit cognitivo (LEIGH *et al.*, 2020) em outros estudos.

A síndrome metabólica (MetS) é caracterizada por vários fatores de risco para doenças cardiovasculares, incluindo obesidade central, hipertensão, hiperglicemia e dislipidemias (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2006). Além disso, um estado inflamatório crônico, mostrou-se correlacionar com essa síndrome em diversos estudos (CHANG, JUNG-SU *et al.*, 2013; KIR, SEHER *et al.*, 2019; SUPRIYA *et al.*, 2018). Nossos dados, confirmaram dados prévios na literatura

que mostraram que a dieta HC por 12 semanas alterou além da adiposidade corporal os níveis de adipocitocinas e metabólicos séricos e citocinas antiinflamatória (IL-10) e próinflamatória (TNF- α) o que sugere que camundongos alimentados com dieta HC desenvolveram sinais de MetS (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Essas alterações podem ser explicadas devido a obesidade interferir diretamente no metabolismo da glicose, uma vez que a hipertrofia dos adipócitos pode levar prejuízo da translocação do GLUT-4 para a membrana e causar resistência à insulina (RI) na obesidade (KIM, JONG IN *et al.*, 2015). Além disso, o TA hipertrófico apresenta diminuição na produção de citocinas regulatórias como a IL-10 e aumento na secreção de citocinas pró inflamatórias como IL-6 e TNF- α que é descrito na literatura por comprometer a sinalização da insulina e potencializar a hiperglicemia (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993; SCHENK; SABERI; OLEFSKY, 2008).

Complementarmente, o tratamento com minociclina no nosso estudo, não alterou o consumo alimentar, peso, adiposidade corporal, níveis de adipocitocinas e metabólitos séricos e citocinas no TAE dos animais. Nossos resultados corroboram Leigh *et al* (2020) os quais não mostraram efeitos na adiposidade ou na ingestão alimentar durante tratamento com minociclina (LEIGH *et al.*, 2020). Esses dados sustentam a hipótese de que os efeitos da minociclina na diminuição da ansiedade e compulsão não são devidos a alterações sistêmicas dos constituintes da MetS.

Evidências sugerem que a perda de peso pode melhorar o humor em pacientes obesos (BURGMER *et al.*, 2007; CAPURON *et al.*, 2011) e comportamentos tipo ansioso, depressivo e déficit cognitivo em modelos animais (KIM, HWAJIN *et al.*, 2016; LEVAY *et al.*, 2007; YAMAMOTO *et al.*, 2009; ZEMDEGS *et al.*, 2016). Adicionalmente, a perda de peso promoveu redução da inflamação e da MetS em outros estudos (BHARDWAJ *et al.*, 2019; MORGAN; WONG; FINCH, 2006; OTT *et al.*, 2017). Dessa forma, investigamos também se a redução da adiposidade promoveria melhora no comportamento compulsivo e ansioso dos animais e se essas alterações teriam relação com melhora no perfil metabólico sistêmico e nos mediadores inflamatórios periféricos e centrais. Identificamos no presente estudo que a troca da dieta HC pela dieta padrão por 15 dias, não modificou o comportamento tipo compulsivo, ocasionado pelo consumo crônico

da dieta HC apesar de ter reduzido a adiposidade dos animais testados. Hipotetizamos, que assim como, é necessário um maior tempo de administração de dieta HC para que o comportamento tipo compulsivo desenvolva, também é necessário um maior tempo para que ele seja atenuado. Adicionalmente, verificamos que embora a troca da dieta HC pela padrão melhorou o perfil das citocinas TNF- α no ST e TAE e IL-10 no HIP não houve melhoras no perfil de IL-10 no ST e TAE. Esse tempo de intervenção também não promoveu melhoras em fatores associados ao diabetes mellitus, como hiperglicemia e níveis séricos de resistina. Essa incapacidade da intervenção dietética modificar todos os parâmetros metabólicos e inflamatórios, pode ter contribuído para que a intervenção dietética não interferisse no comportamento compulsivo dos camundongos. De fato, estudos epidemiológicos indicam que há uma relação bidirecional entre diabetes e transtornos psiquiátricos (GOLDEN, 2008; KATON, 2008). Adicionalmente, foi demonstrado por Zemdegs *et al* (2016), que a abstinência de dieta HF reverteu completamente os comprometimentos metabólicos e melhorou o escore de emocionalidade em camundongos. Em conjunto, esses dados apoiam a proposição de que a obesidade *per se* não é o principal fator contribuinte para o desenvolvimento do comportamento compulsivo desenvolvido após consumo da dieta HC, e sim todas as alterações metabólicas decorrentes da obesidade.

Por outro lado, a troca da dieta reverteu o comportamento tipo ansioso ocasionado pelo consumo crônico da dieta HC. Apesar da fisiopatologia dos transtornos de ansiedade e compulsão compartilharem várias regiões cerebrais (STEIN, DJ, 2008), os circuitos neurais subjacentes a esses dois transtornos diferem em alguns pontos (HOFFMAN, 2011). Os neurotransmissores mais comumente relacionado ao TOC são as monoaminas (SZECHTMAN *et al.*, 2020) e o glutamato (GOODMAN *et al.*, 2014; MARAZZITI *et al.*, 2018; SZECHTMAN *et al.*, 2020), enquanto no transtorno de ansiedade, o GABA parece ser o mais envolvido (KALUEFF; NUTT, 2007; MÖHLER, 2012). Dessa forma, hipotetizamos que a dieta HC pode alterar mais vias e circuitos relacionados ao TOC do que da ansiedade e dessa forma levar um comportamento tipo compulsivo mais persistente. No entanto, essa possibilidade não foi verificada em nosso trabalho.

Além disso, esse contraste nos resultados dos testes comportamentais, pode ser atribuído também a diferenças metodológicas nos dois modelos, uma vez que no teste NSF os animais são mantidos em jejum por um período de 24 horas. Foi demonstrado por Towers *et al* (2017) e Li *et al* (2019) que o jejum alimentar por 24 horas reduziu o comportamento tipo ansioso em camundongos (LI, CHANGHONG *et al.*, 2019; TOWERS *et al.*, 2017). Além disso, Fourrier *et al*, (2018) demonstram que camundongos *db/db* submetidos a restrição calórica tiveram uma redução no peso, níveis de corticosterona, TNF- α no hipocampo e no comportamento tipo ansioso (FOURRIER *et al.*, 2019). Ainda Capuron *et al* (2011) mostraram que a redução da inflamação induzida pela perda de peso estava associada à diminuição da ansiedade (CAPURON *et al.*, 2011).

Nossos resultados mostraram que os animais submetidos ao NSF apresentaram adiposidade corporal menor em relação aos animais submetidos ao MB (figura suplementar 5). Adicionalmente, Zemdegs *et al* (2016) demonstraram que a substituição da dieta HF por dieta padrão reverteu comportamento tipo ansioso no NSF enquanto no teste campo aberto, outro teste utilizado para avaliar comportamento tipo ansioso, nenhuma alteração foi observada (ZEMDEGS *et al.*, 2016). Dessa forma uma hipótese alternativa é que a redução acentuada da adiposidade corporal ocasionada por duas intervenções dietéticas (jejum e troca da dieta), poderia facilitar a redução do comportamento tipo ansioso nos animais, talvez pela redução da inflamação ou da MetS. Entretanto, a avaliação desses parâmetros comparando os dois modelos experimentais não foi realizado no presente trabalho.

6.CONCLUSÕES

Nossos resultados confirmaram as alterações metabólicas após o consumo da dieta HC observados após 4 semanas de consumo. No entanto, alterações no comportamento compulsivo dos animais só foram observadas após 12 semanas de consumo da dieta HC.

Os efeitos da minocilina no comportamento, ativação microglial e citocinas nos permitem sugerir que os comportamentos de compulsão e ansiedade observados após o consumo da dieta HC podem ser atribuídos ao processo neuroinflamatório. Tais efeitos não foram decorrentes de alterações de parâmetros metabólicos periféricos.

Além disso, inferimos que a diminuição da obesidade sem reverter todas as alterações metabólicas associadas a obesidade não é suficiente para redução do comportamento compulsivo. Em contra partida, a perda de adiposidade acentuada induzida pelo jejum de 24 horas pode ter contribuído para a diminuição da resposta de ansiedade.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, S E *et al.* Insights into the Link Between Obesity and Cancer. *Curr Obes Rep*, v. 6, n. 2, p. 195–203, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s13679-017-0263-x>>.

AGUILAR, Maria *et al.* Prevalence of the Metabolic Syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*, v. 313, n. 19, p. 1973, 19 maio 2015. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2015.4260>>.

AJAMI, B *et al.* Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nature neuroscience*, v. 14, n. 9, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21804537>>.

AKASH, Muhammad Sajid Hamid; REHMAN, Kanwal; LIAQAT, Aamira. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 119, n. 1, p. 105–110, 22 jan. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcb.26174>>.

AL-HASANI, H; JOOST, H G. Nutrition-/diet-induced changes in gene expression in white adipose tissue. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, v. 19, n. 4, p. 589–603, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2005.07.005>>.

ALBERT, Umberto *et al.* Metabolic syndrome and obsessive-compulsive disorder: A naturalistic Italian study. *General Hospital Psychiatry*, v. 35, n. 2, p. 154–159, mar. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23158675/>>. Acesso em: 11 dez. 2020.

ALBERTI, K. G.M.M. *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International . *Circulation*. [S.l: s.n.], out. 2009

ALBERTI, K. G.M.M.; ZIMMET, P.; SHAW, J. *Metabolic syndrome - A new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. Diabetic Medicine*. [S.l.]: Diabet Med. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16681555/>>. Acesso em: 9 dez. 2020. , maio 2006

ALLISON, D B *et al.* Obesity among those with mental disorders: a National Institute of Mental Health meeting report. *Am J Prev Med.* Netherlands: [s.n.], 2009. v. 36. p. 341–350. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.amepre.2008.11.020>>.

ALLISON, D B *et al.* Obesity as a disease: a white paper on evidence and arguments commissioned by the Council of the Obesity Society. *Obesity (Silver Spring)*, v. 16, n. 6, p. 1161–1177, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/oby.2008.231>>.

ALMEIDA-FILHO *et al.* Estudo multicêntrico de morbidade psiquiátrica em áreas urbanas brasileiras. *Revista ABP-APAL*, v. 3, n. 14, 1992.

ALOSCO, Michael L. *et al.* Improved memory function two years after bariatric surgery. *Obesity*, v. 22, n. 1, p. 32–38, jan. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23625587/>>. Acesso em: 15 fev. 2021.

AN, L *et al.* Effects of the total flavonoid extract of Xiaobuxin-Tang on depression-like behavior induced by lipopolysaccharide and proinflammatory cytokine levels in mice. *J Ethnopharmacol*, v. 163, p. 83–87, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.01.022>>.

ANAGNOSTIS, Panagiotis *et al.* The Pathogenetic Role of Cortisol in the Metabolic Syndrome: A Hypothesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 94, n. 8, p. 2692–2701, 1 ago. 2009. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jcem/article/94/8/2692/2596309>>.

ANDERSEN, John R. *et al.* Anxiety and depression in association with morbid obesity: Changes with improved physical health after duodenal switch. *Health and Quality of Life Outcomes*, v. 8, 21 maio 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20492663/>>. Acesso em: 15 fev. 2021.

ANGELAKIS, Emmanouil *et al.* The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiology*, v. 7, n. 1, p. 91–109, jan. 2012. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.11.142>>.

ANSARIMOGHADDAM, Alireza *et al.* Prevalence of metabolic syndrome in Middle-East countries: Meta-analysis of cross-sectional studies. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, v. 12, n. 2, p. 195–201, abr. 2018. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871402117303508>>.

ARCURI, C *et al.* The Pathophysiological Role of Microglia in Dynamic Surveillance, Phagocytosis and Structural Remodeling of the Developing CNS. *Front Mol Neurosci*, v. 10, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fnmol.2017.00191>>.

ASAKAWA, A *et al.* Leptin treatment ameliorates anxiety in ob/ob obese mice. *J Diabetes Complications*, v. 17, n. 2, p. 105–107, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.

BACH KNUDSEN, Knud *et al.* Impact of Diet-Modulated Butyrate Production on Intestinal Barrier Function and Inflammation. *Nutrients*, v. 10, n. 10, p. 1499, 13 out. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2072-6643/10/10/1499>>.

BAKER, K D *et al.* The impact of obesity and hypercaloric diet consumption on anxiety and emotional behavior across the lifespan. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 83, p. 173–182, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.10.014>>.

BARZA, M *et al.* Relation Between Lipophilicity and Pharmacological Behavior of Minocycline, Doxycycline, Tetracycline, and Oxytetracycline in Dogs. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 8, n. 6, p. 713–720, 1975. Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.

BASSETT, Ben *et al.* Minocycline alleviates depression-like symptoms by rescuing decrease in neurogenesis in dorsal hippocampus via blocking microglia activation/phagocytosis. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 91, p. 519–530, jan. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159120323850>>.

BENHAMED, F; POUPEAU, A; POSTIC, C. The transcription factor ChREBP: a key modulator of insulin sensitivity? *Med Sci (Paris)*, v. 29, n. 8–9, p. 765–771, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/medsci/2013298016>>.

BERKIKS, I. *et al.* Postnatal melatonin treatment protects against affective disorders induced by early-life immune stimulation by reducing the microglia cell activation and oxidative stress. *International Journal of Neuroscience*, v. 128, n. 6, p. 495–504, 3 jun. 2018.

BERKSETH, Kathryn E. *et al.* Hypothalamic Gliosis Associated With High-Fat Diet Feeding Is Reversible in Mice: A Combined Immunohistochemical and Magnetic Resonance Imaging Study. *Endocrinology*, v. 155, n. 8, p. 2858–2867,

- 1 ago. 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article/155/8/2858/2433295>>.
- BERNE, R. M.; LEVY, M.N. *Berne and Levy FISILOGIA*. 7. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 2018. Disponível em: <<http://rcnpublishing.com/doi/abs/10.7748/ns2010.04.24.31.31.b1041>>.
- BHARDWAJ, Priya *et al.* Supplemental estrogen and caloric restriction reduce obesity-induced periprostatic white adipose inflammation in mice. *Carcinogenesis*, v. 40, n. 7, p. 914–923, 20 jul. 2019. Disponível em: <<https://academic.oup.com/carcin/article/40/7/914/5487180>>.
- BILOUSOVA, T. V. *et al.* Minocycline promotes dendritic spine maturation and improves behavioural performance in the fragile X mouse model. *Journal of Medical Genetics*, v. 46, n. 2, p. 94–102, fev. 2009.
- BILSKI, J *et al.* Role of Obesity, Mesenteric Adipose Tissue, and Adipokines in Inflammatory Bowel Diseases. *Biomolecules*, v. 9, n. 12, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/biom9120780>>.
- BLANCHARD, Robert J *et al.* Defensive behaviors in wild and laboratory (Swiss) mice: the mouse defense test battery. *Physiology & Behavior*, v. 65, n. 2, p. 201–209, nov. 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938498000122>>.
- BOCARSLY, M E *et al.* Obesity diminishes synaptic markers, alters microglial morphology, and impairs cognitive function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 112, n. 51, p. 15731–15736, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1511593112>>.
- BODNOFF, Shari R. *et al.* The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. *Psychopharmacology*, v. 95, n. 3, p. 298–302, jul. 1988. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3137614/>>. Acesso em: 17 dez. 2020.
- BORSINI, F; PODHORNA, J; MARAZZITI, D. Do Animal Models of Anxiety Predict Anxiolytic-Like Effects of Antidepressants? *Psychopharmacology*, v. 163, n. 2, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12202959>>.
- BROEKKAMP, CL *et al.* Major Tranquillizers Can Be Distinguished From Minor Tranquillizers on the Basis of Effects on Marble Burying and Swim-Induced Grooming in Mice. *European journal of pharmacology*, v. 126, n. 3, 1986.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2875886>>.

BROGDEN, R. N.; SPEIGHT, T. M.; AVERY, G. S. Minocycline: A review of its antibacterial and pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, v. 9, n. 4, 1975.

BROWN, Kirsty *et al.* Diet-Induced Dysbiosis of the Intestinal Microbiota and the Effects on Immunity and Disease. *Nutrients*, v. 4, n. 8, p. 1095–1119, 21 ago. 2012. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2072-6643/4/8/1095>>.

BURGMER, Ramona *et al.* Psychological Outcome Two Years after Restrictive Bariatric Surgery. *Obesity Surgery*, v. 17, n. 6, p. 785–791, 2 jun. 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11695-007-9144-9>>.

BUTLER, PD *et al.* Corticotropin-releasing factor produces fear-enhancing and behavioral activating effects following infusion into the locus coeruleus. *The Journal of Neuroscience*, v. 10, n. 1, p. 176–183, 1 jan. 1990. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.10-01-00176.1990>>.

C. VAUGHN, Alexandra *et al.* Energy-dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganization of gut-brain vagal communication and increases body fat accumulation. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, v. 77, n. 1, p. 18–30, 2017. Disponível em: <https://www.exeley.com/acta_neurobiologiae_experimentalis/doi/10.21307/ane-2017-033>.

CALHOON, Gwendolyn G; TYE, Kay M. Resolving the neural circuits of anxiety. *Nature Neuroscience*, v. 18, n. 10, p. 1394–1404, 25 out. 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nn.4101>>.

CAMPBELL, G J; SENIOR, A M; BELL-ANDERSON, K S. Metabolic Effects of High Glycaemic Index Diets: A Systematic Review and Meta-Analysis of Feeding Studies in Mice and Rats. *Nutrients*, v. 9, n. 7, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/nu9070646>>.

CAMPOS, Alline C *et al.* Animal models of anxiety disorders and stress. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, v. 35, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbp/v35s2/1516-4446-rbp-1516-4446-2013-S101.pdf>>.

CAMPOS, Kelciane Ferreira Caetano *et al.* Ethopharmacological evaluation of the rat exposure test: A prey–predator interaction test. *Behavioural Brain Research*, v. 240, p. 160–170, mar. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432812007450>>.

- CAPURON, L *et al.* Relationship between adiposity, emotional status and eating behaviour in obese women: role of inflammation. *Psychol Med*, v. 41, n. 7, p. 1517–1528, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/s0033291710001984>>.
- CAPURON, L; LASSELIN, J; CASTANON, N. Role of Adiposity-Driven Inflammation in Depressive Morbidity. *Neuropsychopharmacology*, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/npp.2016.123>>.
- CHAN, Kenny L.; CATHOMAS, Flurin; RUSSO, Scott J. Central and Peripheral Inflammation Link Metabolic Syndrome and Major Depressive Disorder. *Physiology*, v. 34, n. 2, p. 123–133, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/physiol.00047.2018>>.
- CHANG, H P *et al.* Antiobesity activities of indole-3-carbinol in high-fat-diet-induced obese mice. *Nutrition*, v. 27, n. 4, p. 463–470, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2010.09.006>>.
- CHANG, Jung-Su *et al.* Association between interleukin 1 β and interleukin 10 concentrations: a cross-sectional study in young adolescents in Taiwan. *BMC Pediatrics*, v. 13, n. 1, p. 123, 14 dez. 2013. Disponível em: <<http://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2431-13-123>>.
- CHOI, J; JOSEPH, L; PILOTE, L. Obesity and C-reactive protein in various populations: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*, v. 14, n. 3, p. 232–244, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/obr.12003>>.
- CHOW, Brian Wai; GU, Chenghua. The Molecular Constituents of the Blood–Brain Barrier. *Trends in Neurosciences*, v. 38, n. 10, p. 598–608, out. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223615001782>>.
- CHUNCHAI, T; CHATTIPAKORN, N; CHATTIPAKORN, S C. The possible factors affecting microglial activation in cases of obesity with cognitive dysfunction. *Metab Brain Dis*, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11011-017-0151-9>>.
- COELHO, Marisa; OLIVEIRA, Teresa; FERNANDES, Ruben. State of the art paper Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of Medical Science*, v. 2, p. 191–200, 2013. Disponível em: <<http://www.termedia.pl/doi/10.5114/aoms.2013.33181>>.
- COPE, E C *et al.* Microglia Play an Active Role in Obesity-Associated Cognitive

Decline. *J Neurosci*, v. 38, n. 41, p. 8889–8904, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.0789-18.2018>>.

COUCE, M E *et al.* Localization of leptin receptor in the human brain. *Neuroendocrinology*, v. 66, n. 3, p. 145–150, 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1159/000127232>>.

CRASKE, 2016; STEIN, MB. Anxiety. *Lancet (London, England)*, v. 388, n. 10063, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27349358>>.

CRAWLEY, Jacqueline; GOODWIN, Frederick K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 13, n. 2, p. 167–170, ago. 1980. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0091305780900672>>.

CRYAN, John F; SWEENEY, Fabian F. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, v. 164, n. 4, p. 1129–1161, out. 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x>>.

DANAT, Isaac M. *et al.* Impacts of Overweight and Obesity in Older Age on the Risk of Dementia: A Systematic Literature Review and a Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 70, n. s1, p. S87–S99, 13 ago. 2019. Disponível em: <<https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JAD-180763>>.

DANSIE, L. E. *et al.* Long-lasting effects of minocycline on behavior in young but not adult Fragile X mice. *Neuroscience*, v. 246, p. 186–198, 29 ago. 2013.

DANTZER, R *et al.* From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, v. 9, n. 1, p. 46–56, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18073775>>.

DE LA SERRE, Claire Barbier *et al.* Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 299, n. 2, p. G440–G448, ago. 2010. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00098.2010>>.

DE SOUZA, Cláudio T. *et al.* Consumption of a Fat-Rich Diet Activates a Proinflammatory Response and Induces Insulin Resistance in the

Hypothalamus. *Endocrinology*, v. 146, n. 10, p. 4192–4199, out. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2004-1520>>.

DEACON, Robert M J. Digging and marble burying in mice: simple methods for in vivo identification of biological impacts. *Nature Protocols*, v. 1, n. 1, p. 122–124, 27 jun. 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nprot.2006.20>>.

DEAN, Olivia M. *et al.* Adjunctive minocycline treatment for major depressive disorder: A proof of concept trial. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, v. 51, n. 8, p. 829–840, 1 ago. 2017.

DÉCARIE-SPAIN, Léa *et al.* Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. *Molecular Metabolism*, v. 10, p. 1–13, abr. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877817309389>>.

DRUBACH, DA. Obsessive-compulsive Disorder. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, v. 21, n. 3 Behavioral Neurology and Neuropsychiatry, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26039854>>.

DSM-5. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)*. . [S.l.: s.n.], 2013. Disponível em: <<https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=JivBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT18&ots=cfNP74MNxd&sig=4EkSajlt4KBSir40q1VuBcWMY7A>>. Acesso em: 20 nov. 2020.

DUTHEIL, Sophie *et al.* High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology*, v. 41, n. 7, p. 1874–1887, 14 jun. 2016. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/npp2015357>>.

DYE, Louise *et al.* The relationship between obesity and cognitive health and decline. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 76, n. 4, p. 443–454, 11 nov. 2017. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665117002014/type/journal_article>.

EGASHIRA, N *et al.* Aripiprazole Inhibits Marble-Burying Behavior via 5-hydroxytryptamine (5-HT)1A Receptor-Independent Mechanisms. *European journal of pharmacology*, v. 592, n. 1–3, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18644366>>.

- FAN, Lir Wan *et al.* Minocycline attenuates hypoxia-ischemia-induced neurological dysfunction and brain injury in the juvenile rat. *European Journal of Neuroscience*, v. 24, n. 2, p. 341–350, jul. 2006.
- FANSELOW, Michael S.; WASSUM, Kate M. The Origins and Organization of Vertebrate Pavlovian Conditioning. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 8, n. 1, p. a021717, jan. 2016. Disponível em: <<http://cshperspectives.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a021717>>.
- FERGUSON-SMITH, Anne C.; PATTI, Mary Elizabeth. *You are what your dad ate. Cell Metabolism*. [S.l.]: Cell Press. , 2 fev. 2011
- FIGARELLA, K *et al.* Microglia in neuropathology caused by protozoan parasites. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/brv.12566>>.
- FILE, SANDRA E.; HYDE, J.R.G. CAN SOCIAL INTERACTION BE USED TO MEASURE ANXIETY? *British Journal of Pharmacology*, v. 62, n. 1, p. 19–24, jan. 1978. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.1978.tb07001.x>>.
- FONTANA, Luigi *et al.* Effects of dietary restriction on neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *The Journal of experimental medicine*, v. 218, n. 2, 1 fev. 2021. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33416892>>.
- FOURRIER, C *et al.* Brain tumor necrosis factor-alpha mediates anxiety-like behavior in a mouse model of severe obesity. *Brain Behav Immun*, v. 77, p. 25–36, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2018.11.316>>.
- FRANCISCO, Vera *et al.* Adipokines: Linking metabolic syndrome, the immune system, and arthritic diseases. *Biochemical Pharmacology*, v. 165, p. 196–206, jul. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006295219301169>>.
- GAJBHIYE, SV *et al.* Minocycline in Alcohol Withdrawal Induced Anxiety and Alcohol Relapse in Rats. *Current clinical pharmacology*, v. 13, n. 1, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29493462>>.
- GALGANI, J; RAVUSSIN, E. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *International Journal of Obesity*, v. 32, n. S7, p. S109–S119, 12 dez. 2008. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/ijo2008246>>.
- GAO, Rong *et al.* Neuroinflammation-Induced Downregulation of

- Hippocampal Neuregulin 1-ErbB4 Signaling in the Parvalbumin Interneurons Might Contribute to Cognitive Impairment in a Mouse Model of Sepsis-Associated Encephalopathy. *Inflammation*, v. 40, n. 2, p. 387–400, 1 abr. 2017.
- GARRIDO-MESA, N.; ZARZUELO, A.; GÁLVEZ, J. *Minocycline: Far beyond an antibiotic*. *British Journal of Pharmacology*. [S.l.]: Br J Pharmacol. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23441623/>>. Acesso em: 14 dez. 2020. , 2013
- GILLES, Guillemin J. Quinolinic acid, the inescapable neurotoxin. *FEBS Journal*, v. 279, n. 8, p. 1356–1365, 1 abr. 2012. Disponível em: <<https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1742-4658.2012.08485.x>>. Acesso em: 16 jan. 2021.
- GINHOUX, F *et al.* Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science (New York, N.Y.)*, v. 330, n. 6005, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20966214>>.
- GOLDEN, Sherita Hill. Examining a Bidirectional Association Between Depressive Symptoms and Diabetes. *JAMA*, v. 299, n. 23, p. 2751, 18 jun. 2008. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.299.23.2751>>.
- GOLIA, Enrica *et al.* Inflammation and Cardiovascular Disease: From Pathogenesis to Therapeutic Target. *Current Atherosclerosis Reports*, v. 16, n. 9, p. 435, 19 set. 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11883-014-0435-z>>.
- GOMES, J A S *et al.* A high-refined carbohydrate diet facilitates compulsive-like behavior in mice through the nitric oxide pathway. *Nitric Oxide*, v. 80, p. 61–69, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2018.08.008>>.
- GOMES, Julia. *Consumo crônico de dieta rica em carboidratos induz alterações comportamentais em camundongos via óxido nítrico*. 2017. 2017.
- GOMES, Julia A.S. *et al.* High-refined carbohydrate diet consumption induces neuroinflammation and anxiety-like behavior in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 77, p. 108317, mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286319306990>>.
- GONZÁLEZ-MUNIESA, Pedro *et al.* Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, n. 1, p. 17034, 21 dez. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrdp201734>>.

GOODMAN, Wayne K. *et al.* Obsessive-Compulsive Disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, v. 37, n. 3, p. 257–267, set. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0193953X14000586>>.

GOPINATH, Adithya *et al.* Microglia and Other Myeloid Cells in Central Nervous System Health and Disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 375, n. 1, p. 154–160, out. 2020. Disponível em: <<http://jpet.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/jpet.120.265058>>.

GRAEFF, F G; GUIMARÃES, F S. *Fundamentos da Psicofarmacologia*. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2021.

GRAY-DONALD, Katherine; JACOBS-STARKEY, Linda; JOHNSON-DOWN, Louise. Food Habits of Canadians: Reduction in Fat Intake Over a Generation. *Canadian Journal of Public Health*, v. 91, n. 5, p. 381–385, 1 set. 2000. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF03404812>>.

GROSS, L S *et al.* Increased consumption of refined carbohydrates and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. *Am J Clin Nutr*, v. 79, n. 5, p. 774–779, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/79.5.774>>.

GUILLEMOT-LEGRIS, Owein; MUCCIOLI, Giulio G. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends in Neurosciences*, v. 40, n. 4, p. 237–253, abr. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223617300255>>.

GYERTYÁN, I. Analysis of the Marble Burying Response: Marbles Serve to Measure Digging Rather Than Evoke Burying. *Behavioural pharmacology*, v. 6, n. 1, 1995. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11224308>>.

HABER, Suzanne N; KNUTSON, Brian. The Reward Circuit: Linking Primate Anatomy and Human Imaging. *Neuropsychopharmacology*, v. 35, n. 1, p. 4–26, 7 jan. 2010. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/npp2009129>>.

HALL, C S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. - PsycNET. *Journal of Comparative Psychology*, v. 18, n. 3, p. 385–403, 1934. Disponível em: <<https://psycnet.apa.org/record/1935-01733-001>>.

HAN, Yuan Yuan *et al.* Microglial activation in the dorsal striatum participates in anxiety-like behavior in Cyld knockout mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 89, p. 326–338, 1 out. 2020.

HANISCH, Uwe-Karsten. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia*, v. 40, n. 2, p. 140–155, nov. 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/glia.10161>>.

HANSSON, Göran K.; ROBERTSON, Anna-Karin L.; SÖDERBERG-NAUCLÉR, Cecilia. INFLAMMATION AND ATHEROSCLEROSIS. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, v. 1, n. 1, p. 297–329, fev. 2006. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pathol.1.110304.100100>>.

HAO, Shuai *et al.* Dietary obesity reversibly induces synaptic stripping by microglia and impairs hippocampal plasticity. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 51, p. 230–239, jan. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159115300076>>.

HARIRI, Niloofar; THIBAUT, Louise. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, v. 23, n. 2, p. 270–299, 27 dez. 2010. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0954422410000168/type/journal_article>.

HARROLD, J A *et al.* Individual severity of dietary obesity in unselected Wistar rats: relationship with hyperphagia. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 279, n. 2, p. E340-7, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10913034>>.

HASHIMOTO, K. Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions. *Psychiatry Clin Neurosci*, v. 64, n. 4, p. 341–357, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1819.2010.02113.x>>.

HAYAKAWA, Kazuhide *et al.* Delayed Treatment With Minocycline Ameliorates Neurologic Impairment Through Activated Microglia Expressing a High-Mobility Group Box1–Inhibiting Mechanism. *Stroke*, v. 39, n. 3, p. 951–958, mar. 2008. Disponível em: <<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.107.495820>>.

HILL, James O.; WYATT, Holly R.; PETERS, John C. Energy balance and obesity. *Circulation*, 2012.

HOCHBERG, Z. An Evolutionary Perspective on the Obesity Epidemic. *Trends Endocrinol Metab*, 2018. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2018.09.002>>.

HOFFMAN, KL. Animal Models of Obsessive Compulsive Disorder: Recent Findings and Future Directions. *Expert opinion on drug discovery*, v. 6, n. 7, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22650979>>.

HÖLTER, Sabine M. *et al.* Tests for Anxiety-Related Behavior in Mice. *Current Protocols in Mouse Biology*, v. 5, n. 4, p. 291–309, dez. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/9780470942390.mo150010>>.

HORIE, Masanori *et al.* Comparative analysis of the intestinal flora in type 2 diabetes and nondiabetic mice. *Experimental Animals*, v. 66, n. 4, p. 405–416, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28701620/>>. Acesso em: 22 dez. 2020.

HOTAMISLIGIL, GS; SHARGILL, NS; SPIEGELMAN, BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science (New York, N.Y.)*, v. 259, n. 5091, 1993. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7678183>>.

HUSAIN, Muhammad Ishrat *et al.* Minocycline as adjunctive treatment for treatment-resistant depression: Study protocol for a double blind, placebo-controlled, randomized trial (MINDEP2). *BMC Psychiatry*, v. 20, n. 1, 15 abr. 2020.

IBGE. *Pesquisa de orçamentos familiares 2017-2018 (POF): análise do consumo alimentar pessoal no Brasil*. Rio de Janeiro: [s.n.], 2020.

ICHIHARA, S.; YAMADA, Y. Genetic factors for human obesity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 65, n. 7–8, p. 1086–1098, 22 abr. 2008. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00018-007-7453-8>>.

IDF. *The IDF consensus worldwide definition of the METABOLIC SYNDROME*. [S.l.: s.n.], 2006. Disponível em: <<https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html>>. Acesso em: 12 dez. 2020.

IMAIZUMI, M; ONODERA, K. [Animal models of 'anxiety']. *Nihon yakurigaku zasshi. Folia pharmacologica Japonica*, v. 115, n. 1, p. 5–12, 2000. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10876810/>>. Acesso em: 27 ago. 2021.

INGLE, D. J. A Simple Means of Producing Obesity in the Rat. *Experimental Biology and Medicine*, v. 72, n. 3, p. 604–605, 1 dez. 1949. Disponível em: <<http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-72-17513>>.

JAREMKA, L M; PACANOWSKI, C R. Social anxiety symptoms moderate the link between obesity and metabolic function. *Psychoneuroendocrinology*, v. 110, p. 104425, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31542635>>.

JEBB, Susan A. Carbohydrates and obesity: from evidence to policy in the UK. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 74, n. 3, p. 215–220, 17 ago. 2015. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665114001645/type/journal_article>.

JENIKE, Michael A. Obsessive–Compulsive and Related Disorders. *New England Journal of Medicine*, v. 321, n. 8, 24 ago. 1989.

JEON, B. T. *et al.* Resveratrol Attenuates Obesity-Associated Peripheral and Central Inflammation and Improves Memory Deficit in Mice Fed a High-Fat Diet. *Diabetes*, v. 61, n. 6, p. 1444–1454, 1 jun. 2012. Disponível em: <<http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db11-1498>>.

JUGEAUBRY, C *et al.* Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10. *Cytokine*, 17 fev. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S104346660500013X>>.

JUMPERTZ, Reiner *et al.* Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 94, n. 1, p. 58–65, 1 jul. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21543530/>>. Acesso em: 22 dez. 2020.

KAHN, SE; HULL, RL; UTZSCHNEIDER, KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, v. 444, n. 7121, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17167471>>.

KALUEFF, Allan V.; NUTT, David J. Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, v. 24, n. 7, p. 495–517, 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/da.20262>>.

KARCZEWSKI, Jacek *et al.* Obesity and inflammation. *European Cytokine Network*, v. 29, n. 3, p. 83–94, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30547890/>>. Acesso em: 22 dez. 2020.

KARNO, Marvin. The Epidemiology of Obsessive-Compulsive Disorder in Five US Communities. *Archives of General Psychiatry*, v. 45, n. 12, 1 dez. 1988.

KATON, Wayne J. The Comorbidity of Diabetes Mellitus and Depression. *The*

American Journal of Medicine, v. 121, n. 11, p. S8–S15, nov. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934308008632>>.

KAUFMAN, S. The structure of the phenylalanine-hydroxylation cofactor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 50, n. 6, p. 1085–93, 1963.

KERSHAW, E E; FLIER, J S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 89, n. 6, p. 2548–2556, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2004-0395>>.

KIKUCHI, Kiyoshi *et al.* Minocycline attenuates both OGD-induced HMGB1 release and HMGB1-induced cell death in ischemic neuronal injury in PC12 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 385, n. 2, p. 132–136, jul. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X09007414>>.

KIM, H S; SUH, Y H. Minocycline and neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res*, v. 196, n. 2, p. 168–179, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.040>>.

KIM, Hwajin *et al.* Caloric restriction improves diabetes-induced cognitive deficits by attenuating neurogranin-associated calcium signaling in high-fat diet-fed mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v. 36, n. 6, p. 1098–1110, 5 jun. 2016. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X15606724>>.

KIM, Jean; GORMAN, Jack. The psychobiology of anxiety. *Clinical Neuroscience Research*, v. 4, n. 5–6, p. 335–347, 2005.

KIM, Jong In *et al.* Lipid-Overloaded Enlarged Adipocytes Provoke Insulin Resistance Independent of Inflammation. *Molecular and Cellular Biology*, v. 35, n. 10, p. 1686–1699, 15 maio 2015. Disponível em: <<https://mcb.asm.org/content/35/10/1686>>.

KIR, S. The Association Between Pro and Anti-Inflammatory Markers with the Components of Metabolic Syndrome. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*, v. 15, n. 4, p. 430–435, 2019. Disponível em: <<http://www.acta-endo.ro/Archive/Abstract?doi=2019.430>>.

KIR, Seher *et al.* The association between pro and anti-inflammatory markers with the components of metabolic syndrome. *Acta Endocrinologica*, v. 15, n. 4, p. 430–435, 1 out. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32377238/>>. Acesso em: 23 dez. 2020.

KLINGLER, Amy M. Generalized anxiety disorder. *JAAPA : official journal of the American Academy of Physician Assistants*, v. 27, n. 8, p. 42–43, 1 ago. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25054793/>>. Acesso em: 18 nov. 2020.

KONGSUI, Ratchaniporn *et al.* Quantitative assessment of microglial morphology and density reveals remarkable consistency in the distribution and morphology of cells within the healthy prefrontal cortex of the rat. *Journal of Neuroinflammation*, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2014. Disponível em: <<https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-014-0182-7>>.

KORAN, Lorrin M *et al.* Practice guideline for the treatment of patients with obsessive-compulsive disorder. *The American journal of psychiatry*, v. 164, n. 7 Suppl, p. 5–53, jul. 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17849776>>.

KORFF, Schaun; HARVEY, Brian H. Animal Models of Obsessive-Compulsive Disorder: Rationale to Understanding Psychobiology and Pharmacology. *Psychiatric Clinics of North America*, v. 29, n. 2, p. 371–390, jun. 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0193953X06000207>>.

KOTSIS, V *et al.* Mechanisms of obesity-induced hypertension. *Hypertens Res*, v. 33, n. 5, p. 386–393, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/hr.2010.9>>.

KOVESDI, Erzsebet *et al.* Acute minocycline treatment mitigates the symptoms of mild blast-induced traumatic brain injury. *Frontiers in Neurology*, v. JUL, 2012.

KUMAR, Anil *et al.* Potential role of licofelone, minocycline and their combination against chronic fatigue stress induced behavioral, biochemical and mitochondrial alterations in mice. *Pharmacological Reports*, v. 64, n. 5, p. 1105–1115, 2012.

KUMAR, Hariom; SHARMA, Bhupesh. Minocycline ameliorates prenatal valproic acid induced autistic behaviour, biochemistry and blood brain barrier impairments in rats. *Brain Research*, v. 1630, p. 83–97, 2016.

LASSERRE, Aurélie M. *et al.* Depression With Atypical Features and Increase in Obesity, Body Mass Index, Waist Circumference, and Fat Mass. *JAMA*

Psychiatry, v. 71, n. 8, p. 880, 1 ago. 2014. Disponível em: <<http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamapsychiatry.2014.411>>.

LEE, Joo Y. *et al.* Saturated Fatty Acid Activates but Polyunsaturated Fatty Acid Inhibits Toll-like Receptor 2 Dimerized with Toll-like Receptor 6 or 1. *Journal of Biological Chemistry*, v. 279, n. 17, p. 16971–16979, 23 abr. 2004. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14966134/>>. Acesso em: 19 fev. 2021.

LEFF-GELMAN, P *et al.* The Immune System and the Role of Inflammation in Perinatal Depression. *Neurosci Bull*, v. 32, n. 4, p. 398–420, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12264-016-0048-3>>.

LEFF GELMAN, P. *et al.* The cytokine profile of women with severe anxiety and depression during pregnancy. *BMC Psychiatry*, v. 19, n. 1, p. 104, 3 dez. 2019. Disponível em: <<https://bmcp psychiatry.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12888-019-2087-6>>.

LEHR, Stefan; HARTWIG, Sonja; SELL, Henrike. *Adipokines: A treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. Proteomics - Clinical Applications*. [S.l.]: Proteomics Clin Appl. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22213627/>>. Acesso em: 22 dez. 2020. , jan. 2012

LEIGH, Sarah-Jane *et al.* Minocycline-induced microbiome alterations predict cafeteria diet-induced spatial recognition memory impairments in rats. *Translational Psychiatry*, v. 10, n. 1, p. 92, 13 dez. 2020. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41398-020-0774-1>>.

LEIGH, Sarah-Jane; KENDIG, Michael D.; MORRIS, Margaret J. Palatable Western-style Cafeteria Diet as a Reliable Method for Modeling Diet-induced Obesity in Rodents. *Journal of Visualized Experiments*, n. 153, 1 nov. 2019. Disponível em: <<https://www.jove.com/video/60262/palatable-western-style-cafeteria-diet-as-reliable-method-for>>.

LEVAY, Elizabeth A. *et al.* Effects of adult-onset calorie restriction on anxiety-like behavior in rats. *Physiology & Behavior*, v. 92, n. 5, p. 889–896, dez. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938407002648>>.

LEVKOVITZ, Yechiel *et al.* Early post-stressor intervention with minocycline, a

second-generation tetracycline, attenuates post-traumatic stress response in an animal model of PTSD. *European Neuropsychopharmacology*, v. 25, n. 1, p. 124–132, 1 jan. 2015.

LI, C; YUAN, K; SCHLUESENER, H. Impact of minocycline on neurodegenerative diseases in rodents: a meta-analysis. *Rev Neurosci*, v. 24, n. 5, p. 553–562, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1515/revneuro-2013-0040>>.

LI, Changhong *et al.* AGRP neurons modulate fasting-induced anxiolytic effects. *Translational Psychiatry*, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41398-019-0438-1>>.

LI, Ri *et al.* Prevalence of metabolic syndrome in mainland china: a meta-analysis of published studies. *BMC Public Health*, v. 16, n. 1, p. 296, 1 dez. 2016. Disponível em: <<http://bmcpublikealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12889-016-2870-y>>.

LINDBLOM, Jonas *et al.* Differential regulation of nuclear receptors, neuropeptides and peptide hormones in the hypothalamus and pituitary of food restricted rats. *Molecular Brain Research*, v. 133, n. 1, p. 37–46, jan. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169328X04004577>>.

LIU, Hai Yan *et al.* Chronic minocycline treatment reduces the anxiety-like behaviors induced by repeated restraint stress through modulating neuroinflammation. *Brain Research Bulletin*, v. 143, p. 19–26, 1 out. 2018.

LOCKE, A. E. *et al.* Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*, v. 518, n. 7538, p. 197–206, 12 fev. 2015.

LOUVEAU, Antoine *et al.* Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, v. 523, n. 7560, p. 337–341, 16 jul. 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nature14432>>.

LOUZADA, Maria Laura da Costa *et al.* The share of ultra-processed foods determines the overall nutritional quality of diets in Brazil. *Public Health Nutrition*, v. 21, n. 1, p. 94–102, 17 jan. 2018. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1368980017001434/type/journal_article>.

LOWNDES, Joshua *et al.* The Effects of Fructose-Containing Sugars on

Weight, Body Composition and Cardiometabolic Risk Factors When Consumed at up to the 90th Percentile Population Consumption Level for Fructose. *Nutrients*, v. 6, n. 8, p. 3153–3168, 8 ago. 2014. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2072-6643/6/8/3153>>.

LUCASSEN, Paul *et al.* Stress, Depression and Hippocampal Apoptosis. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, v. 5, n. 5, p. 531–546, 18 abr. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17073656/>>. Acesso em: 17 fev. 2021.

LUTZ, T A; WOODS, S C. Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*, v. Chapter 5, p. Unit5.61, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/0471141755.ph0561s58>>.

MAEDA, Kazuhisa *et al.* cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 221, n. 2, p. 286–289, 16 abr. 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8619847/>>. Acesso em: 22 dez. 2020.

MAJIDI, Jafar; KOSARI-NASAB, Morteza; SALARI, Ali Akbar. Developmental minocycline treatment reverses the effects of neonatal immune activation on anxiety- and depression-like behaviors, hippocampal inflammation, and HPA axis activity in adult mice. *Brain Research Bulletin*, v. 120, p. 1–13, 1 jan. 2016.

MANSUR, R B; BRIETZKE, E; MCINTYRE, R S. Is there a “metabolic-mood syndrome”? A review of the relationship between obesity and mood disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 52, p. 89–104, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.017>>.

MARAZZITI, Donatella *et al.* The Glutamate and the Immune Systems: New Targets for the Pharmacological Treatment of OCD. *Current Medicinal Chemistry*, v. 25, n. 41, p. 5731–5738, 19 abr. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29119912/>>. Acesso em: 25 abr. 2021.

MCINTYRE, R S *et al.* Obesity in bipolar disorder and major depressive disorder: results from a national community health survey on mental health and well-being. *Can J Psychiatry*, v. 51, n. 5, p. 274–280, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/070674370605100502>>.

MEHTA, Bina K.; BANERJEE, Sugato. Minocycline reverses diabetes-associated cognitive impairment in rats. *Pharmacological Reports*, v. 71, n. 4, p.

- 713–720, ago. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1734114018304754>>.
- MILANESCHI, Yuri *et al.* Depression and obesity: evidence of shared biological mechanisms. *Molecular Psychiatry*, v. 24, n. 1, p. 18–33, 16 jan. 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41380-018-0017-5>>.
- MILLER, A A; SPENCER, S J. Obesity and neuroinflammation: a pathway to cognitive impairment. *Brain Behav Immun*, v. 42, p. 10–21, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.04.001>>.
- MOHAMED-ALI, V. *et al.* Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 82, n. 12, p. 4196–4200, 1997. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9398739/>>. Acesso em: 22 dez. 2020.
- MÖHLER, Hanns. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*, v. 62, n. 1, p. 42–53, jan. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002839081100373X>>.
- MORAES, Juliana C. *et al.* High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons. *PLoS ONE*, v. 4, n. 4, 2 abr. 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19340313/>>. Acesso em: 17 fev. 2021.
- MOREIRA, Fernanda Pedrotti *et al.* Metabolic syndrome, depression and anhedonia among young adults. *Psychiatry Research*, v. 271, p. 306–310, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30522000/>>. Acesso em: 11 dez. 2020.
- MOREIRA, Gisela Cipullo *et al.* Prevalence of metabolic syndrome: Association with risk factors and cardiovascular complications in an urban population. *PLoS ONE*, v. 9, n. 9, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25180496/>>. Acesso em: 12 dez. 2020.
- MORGAN, T.E.; WONG, A.M.; FINCH, C.E. Anti-Inflammatory Mechanisms of Dietary Restriction in Slowing Aging Processes. *Mechanisms of Dietary Restriction in Aging and Disease*. Basel: KARGER, 2006. p. 83–97. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/96557>>.
- MUKHERJEE, A *et al.* Metabolic syndrome-associated cognitive decline in mice: Role of minocycline. *Indian J Pharmacol*, v. 50, n. 2, p. 61–68, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4103/ijp.IJP_110_18>.

MURROUGH, JW *et al.* Emerging drugs for the treatment of anxiety. *Expert opinion on emerging drugs*, v. 20, n. 3, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26012843>>.

MYERS, M G; COWLEY, M A; MUNZBERG, H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol*, v. 70, p. 537–556, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100707>>.

NESTADT, Gerald; SAMUELS, Jack. Epidemiology and genetics of obsessive-compulsive disorder. *International Review of Psychiatry*, v. 9, n. 1, 11 jan. 2009.

NEWBURGH, L H; JOHNSTON, M W. THE NATURE OF OBESITY. *The Journal of clinical investigation*, v. 8, n. 2, 1930. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16693891>>.

NGUYEN, M. T. Audrey *et al.* A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *Journal of Biological Chemistry*, v. 282, n. 48, p. 35279–35292, 30 nov. 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17916553/>>. Acesso em: 19 fev. 2021.

NJUNG'E, K; HANDLEY, SL. Effects of 5-HT Uptake Inhibitors, Agonists and Antagonists on the Burying of Harmless Objects by Mice; A Putative Test for Anxiolytic Agents. *British journal of pharmacology*, v. 104, n. 1, 1991. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1686200>>.

NORDEN, Diana M. *et al.* Sequential activation of microglia and astrocyte cytokine expression precedes increased iba-1 or GFAP immunoreactivity following systemic immune challenge. *Glia*, v. 64, n. 2, p. 300–316, fev. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/glia.22930>>.

OKUDA, Shoki *et al.* 3-Hydroxykynurenine, an endogenous oxidative stress generator, causes neuronal cell death with apoptotic features and region selectivity. *Journal of Neurochemistry*, v. 70, n. 1, p. 299–307, 2002.

OLIVEIRA, M C *et al.* Acute and sustained inflammation and metabolic dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. *Obesity (Silver Spring)*, v. 21, n. 9, p. E396-406, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/oby.20230>>.

OLIVEIRA, M C *et al.* Two opposite extremes of adiposity similarly reduce inflammatory response of antigen-induced acute joint inflammation. *Nutrition*, v. 33, p. 132–140, 2017. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2016.05.008>>.

OTT, Beate *et al.* Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 11955, 20 dez. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-12109-9>>.

OZARSLAN, N; ROBINSON, J F; GAW, S L. Circulating Monocytes, Tissue Macrophages, and Malaria. *J Trop Med*, v. 2019, p. 3720838, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2019/3720838>>.

PALLANTI, S *et al.* Obsessive–Compulsive Disorder Comorbidity: Clinical Assessment and Therapeutic Implications. *Front Psychiatry*, v. 2, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpsy.2011.00070>>.

PALLANTI, S; QUERCIOLO, L. Treatment-refractory obsessive-compulsive disorder: methodological issues, operational definitions and therapeutic lines. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, v. 30, n. 3, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16503369>>.

PAXINOS, George; FRANKLIN, Keith B J. *The Mouse Brain in stereotaxic coordinates*. Second ed. [S.l.]: Academic Press, 2001.

PELLERIN, Luc *et al.* Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: An update. *Glia*, v. 55, n. 12, p. 1251–1262, set. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/glia.20528>>.

PELLOW, Sharon; FILE, Sandra E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 24, n. 3, p. 525–529, 1986. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2871560/>>. Acesso em: 13 maio 2021.

PENA, K B *et al.* The administration of a high refined carbohydrate diet promoted an increase in pulmonary inflammation and oxidative stress in mice exposed to cigarette smoke. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, v. 11, p. 3207–3217, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2147/copd.s119485>>.

PERDIGUERO, EG; GEISSMANN, F. The development and maintenance of resident macrophages. *Nature immunology*, v. 17, n. 1, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26681456>>.

PITTENGER, Christopher; BLOCH, Michael H. Pharmacological Treatment of Obsessive-Compulsive Disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, v. 37, n.

3, p. 375–391, set. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0193953X14000549>>.

PLANE, J M *et al.* Prospects for Minocycline Neuroprotection. *Arch Neurol*, v. 67, n. 12, p. 1442–1448, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2010.191>>.

POSCHER, BP. A simple and specific screen for benzodiazepine-like drugs. *Psychopharmacologia*, v. 19, n. 2, 1971. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5565739>>.

POSCHER, BP *et al.* Pyrazapon (CI-683): a new antianxiety agent. *Psychopharmacologia*, v. 35, n. 3, 1974. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4208323>>.

POWER, C *et al.* Obesity and risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes: investigating the role of physical activity and sedentary behaviour in mid-life in the 1958 British cohort. *Atherosclerosis*, v. 233, n. 2, p. 363–369, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.032>>.

PRINZ, M; JUNG, S; PRILLER, J. Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts. *Cell*, v. 179, n. 2, p. 292–311, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31585077>>.

PUGAZHENTHI, Subbiah; QIN, Limei; REDDY, P. Hemachandra. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, v. 1863, n. 5, p. 1037–1045, maio 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443916300977>>.

RAISON, C L; CAPURON, L; MILLER, A H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*, v. 27, n. 1, p. 24–31, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2005.11.006>>.

RANGARAJU, S *et al.* Potassium channel Kv1.3 is highly expressed by microglia in human Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, v. 44, n. 3, p. 797–808, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3233/jad-141704>>.

REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, v. 37, n. 12, p. 1595–1607, 1988. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3056758/>>. Acesso em: 27 dez. 2020.

REIS, D J; CASTEEN, E J; ILARDI, S S. The antidepressant impact of minocycline in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, v. 9, n.

1, p. 261, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-36507-9>>.

RM, Ransohoff. Microglia and monocytes: 'tis plain the twain meet in the brain. *Nature neuroscience*, v. 14, n. 9, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21878923>>.

ROCHLANI, Yogita *et al.* Metabolic syndrome: Pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*, v. 11, n. 8, p. 215–225, 1 ago. 2017. Disponível em: <</pmc/articles/PMC5933580/?report=abstract>>. Acesso em: 27 dez. 2020.

RODGERS, R.J. *et al.* Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 30, n. 3, p. 289–304, mar. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X1997000300002&lng=en&tlng=en>.

ROONEY, Sinead *et al.* Neuroinflammatory alterations in trait anxiety: modulatory effects of minocycline. *Translational Psychiatry*, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

ROSEN, ED; SPIEGELMAN, BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, v. 444, n. 7121, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17167472>>.

RUSCIO, AM *et al.* The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in the National Comorbidity Survey Replication. *Molecular psychiatry*, v. 15, n. 1, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18725912>>.

SAEEDI SARAVI, SS *et al.* On the effect of minocycline on the depressive-like behavior of mice repeatedly exposed to malathion: interaction between nitric oxide and cholinergic system. *Metabolic brain disease*, v. 31, n. 3, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26581675>>.

SAKLAYEN, Mohammad G. *The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. Current Hypertension Reports*. [S.l.]: Current Medicine Group LLC 1. Disponível em: <</pmc/articles/PMC5866840/?report=abstract>>. Acesso em: 9 dez. 2020. , 1 fev. 2018

SANCHEZ, K; GUERIN, S P; FONKEN, L K. Anxiety in obesity: Is neuroinflammation the critical link? *Brain Behav Immun*, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2019.01.008>>.

- SANTANA, Jose M Santiago. *et al.* Oxidative stress and neuroinflammation in a rat model of co-morbid obesity and psychogenic stress. *Behavioural Brain Research*, v. 400, 26 fev. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33301815/>>. Acesso em: 17 fev. 2021.
- SANTOS, C J *et al.* Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutr Neurosci*, v. 21, n. 1, p. 33–39, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/1028415x.2016.1213529>>.
- SANTOS, C J *et al.* Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutr Neurosci*, v. 21, n. 1, p. 33–39, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/1028415x.2016.1213529>>.
- SCHACHTER, J *et al.* Effects of obesity on depression: A role for inflammation and the gut microbiota. *Brain Behav Immun*, v. 69, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2017.08.026>>.
- SCHENK, Simon; SABERI, Maziyar; OLEFSKY, Jerrold M. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *Journal of Clinical Investigation*, v. 118, n. 9, p. 2992–3002, 2 set. 2008. Disponível em: <<http://www.jci.org/articles/view/34260>>.
- SCHMIDTNER, A K *et al.* Minocycline alters behavior, microglia and the gut microbiome in a trait-anxiety-dependent manner. *Transl Psychiatry*, v. 9, n. 1, p. 223, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41398-019-0556-9>>.
- SCHMIDTNER, Anna K. *et al.* Minocycline alters behavior, microglia and the gut microbiome in a trait-anxiety-dependent manner. *Translational Psychiatry*, v. 9, n. 1, 1 dez. 2019.
- SCUTERI, Angelo *et al.* Metabolic syndrome across Europe: Different clusters of risk factors. *European Journal of Preventive Cardiology*, v. 22, n. 4, p. 486–491, 19 abr. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/eurjpc/article/22/4/486-491/5926599>>.
- SEONG, J *et al.* Hypothalamic inflammation and obesity: a mechanistic review. *Archives of pharmacal research*, v. 42, n. 5, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30835074>>.
- SHEPHARD, RA; BROADHURST, PL. Effects of diazepam and of serotonin agonists on hyponeophagia in rats. *Neuropharmacology*, v. 21, n. 4, 1982. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7088266>>.
- SHEPHERD, Jon K. *et al.* Behavioural and pharmacological characterisation of

the elevated “zero-maze” as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology*, v. 116, n. 1, p. 56–64, set. 1994. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF02244871>>.

SHIGEMORI, Tomoko *et al.* Altered microglia in the amygdala are involved in anxiety-related behaviors of a copy number variation mouse model of autism. *Journal of Nippon Medical School*, v. 82, n. 2, p. 92–99, 2015.

SHOLL, DA. The measurable parameters of the cerebral cortex and their significance in its organization. *Progress in neurobiology*, n. 2, 1956. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13441807>>.

SIERRA, Amanda *et al.* Surveillance, Phagocytosis, and Inflammation: How Never-Resting Microglia Influence Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neural Plasticity*, v. 2014, p. 1–15, 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/np/2014/610343/>>.

SIKARIS, K A. The Clinical Biochemistry of Obesity. *Clin Biochem Rev*, v. 25, n. 3, p. 165–181, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.

SIMON, Dennis W. *et al.* Minocycline Attenuates High Mobility Group Box 1 Translocation, Microglial Activation, and Thalamic Neurodegeneration after Traumatic Brain Injury in Post-Natal Day 17 Rats. *Journal of Neurotrauma*, v. 35, n. 1, p. 130, 1 jan. 2018. Disponível em: <[pmc/articles/PMC5757077/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30111111/)>. Acesso em: 31 ago. 2021.

SIMON, G E *et al.* Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry*, v. 63, n. 7, p. 824–830, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.63.7.824>>.

SIMONDS, Laura M.; THORPE, Susan J. Attitudes toward obsessive-compulsive disorders. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, v. 38, n. 6, jun. 2003.

SINHA, Rajita; JASTREBOFF, Ania M. Stress as a Common Risk Factor for Obesity and Addiction. *Biological Psychiatry*, v. 73, n. 9, p. 827–835, maio 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322313001340>>.

SOARES, N P *et al.* The Effects of the Combination of a Refined Carbohydrate Diet and Exposure to Hyperoxia in Mice. *Oxid Med Cell Longev*, v. 2016, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2016/1014928>>.

SOCZYNSKA, JK *et al.* Novel Therapeutic Targets in Depression: Minocycline

as a Candidate Treatment. *Behavioural brain research*, v. 235, n. 2, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22963995>>.

SOUSA, Marcelo B. *et al.* A Randomized Clinical Trial of Cognitive-Behavioral Group Therapy and Sertraline in the Treatment of Obsessive-Compulsive Disorder. *The Journal of Clinical Psychiatry*, v. 67, n. 07, p. 1133–1139, 15 jul. 2006. Disponível em:

<<http://article.psychiatrist.com/?ContentType=START&ID=10002617>>.

STEIN, DJ. Psychobiology of Anxiety Disorders and Obsessive-Compulsive Spectrum Disorders. *CNS spectrums*, v. 13, n. 9 Suppl 14, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18849908>>.

STEIN, M B; *et al.* Obsessive-compulsive disorder in the community: an epidemiologic survey with clinical reappraisal. *American Journal of Psychiatry*, v. 154, n. 8, ago. 1997.

STONE, T. W.; PERKINS, M. N. Quinolinic acid: A potent endogenous excitant at amino acid receptors in CNS. *European Journal of Pharmacology*, v. 72, n. 4, p. 411–412, 10 jul. 1981. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6268428/>>. Acesso em: 16 jan. 2021.

SUN, K; KUSMINSKI, C M; SCHERER, P E. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest*, v. 121, n. 6, p. 2094–2101, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1172/jci45887>>.

SUN, Rao *et al.* Hippocampal activation of microglia may underlie the shared neurobiology of comorbid posttraumatic stress disorder and chronic pain. *Molecular Pain*, v. 12, 1 nov. 2016.

SUPRIYA, Rashmi *et al.* Adipokines demonstrate the interacting influence of central obesity with other cardiometabolic risk factors of metabolic syndrome in Hong Kong Chinese adults. *PLOS ONE*, v. 13, n. 8, p. e0201585, 16 ago. 2018. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0201585>>.

SURWIT, R. S. *et al.* Diet-Induced Type II Diabetes in C57BL/6J Mice. *Diabetes*, v. 37, n. 9, p. 1163–1167, 1 set. 1988. Disponível em: <<http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diab.37.9.1163>>.

SZECHTMAN, Henry *et al.* The psychopharmacology of obsessive-compulsive disorder: A preclinical roadmap. *Pharmacological Reviews*, v. 72, n. 1, p. 80–151, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1124/pr.119.017772>>. Acesso em: 25 abr. 2021.

T, Kreisel *et al.* Dynamic Microglial Alterations Underlie Stress-Induced Depressive-Like Behavior and Suppressed Neurogenesis. *Molecular psychiatry*, v. 19, n. 6, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24342992>>.

TAN, Zi-Jian *et al.* [Glial cells function as neural stem cells and progenitor cells]. *Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]*, v. 69, n. 2, p. 207–217, 25 abr. 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28435980>>.

TANG, Fang; WANG, Gangpu; LIAN, Ying. *Association between anxiety and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies*. *Psychoneuroendocrinology*. [S.l.]: Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28027497/>>. Acesso em: 11 dez. 2020. , 1 mar. 2017

TAY, T L; SAVAGE, J C; *et al.* Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition. *J Physiol*, v. 595, n. 6, p. 1929–1945, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1113/jp272134>>.

TAY, T L; BÉCHADE, C; *et al.* Microglia Gone Rogue: Impacts on Psychiatric Disorders across the Lifespan. *Front Mol Neurosci*, v. 10, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fnmol.2017.00421>>.

TEAGUE, H.; MEHTA, Nehal N. The Link Between Inflammatory Disorders and Coronary Heart Disease: a Look at Recent Studies and Novel Drugs in Development. *Current Atherosclerosis Reports*, v. 18, n. 1, p. 3, 6 jan. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11883-015-0557-y>>.

TEICHMANN, Luciana *et al.* Fatores de risco associados ao sobrepeso e a obesidade em mulheres de São Leopoldo, RS. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 9, n. 3, p. 360–373, set. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2006000300010&lng=pt&tlng=pt>.

THOMAS, A *et al.* Marble Burying Reflects a Repetitive and Perseverative Behavior More Than Novelty-Induced Anxiety. *Psychopharmacology*, v. 204, n. 2, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19189082>>.

TONG, L *et al.* Microglia Loss Contributes to the Development of Major Depression Induced by Different Types of Chronic Stresses. *Neurochem Res*, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11064-017-2270-4>>.

TOWERS, AE *et al.* Acute Fasting Inhibits Central caspase-1 Activity Reducing

Anxiety-Like Behavior and Increasing Novel Object and Object Location Recognition. *Metabolism: clinical and experimental*, v. 71, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28521881>>.

TREMBLAY, ME *et al.* From the Cajal alumni Achúcarro and Río-Hortega to the rediscovery of never-resting microglia. *Frontiers in neuroanatomy*, v. 9, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25926775>>.

VAN DER HEIJDEN, Roel A *et al.* High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging*, v. 7, n. 4, p. 256–268, 23 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.aging-us.com/lookup/doi/10.18632/aging.100738>>.

VAN DER LEEUW, J *et al.* The separate and combined effects of adiposity and cardiometabolic dysfunction on the risk of recurrent cardiovascular events and mortality in patients with manifest vascular disease. *Heart*, v. 100, n. 18, p. 1421–1429, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1136/heartjnl-2014-305490>>.

VAN GUILDER, Gary P. *et al.* Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. *Obesity*, v. 14, n. 12, p. 2127–2131, dez. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17189537/>>. Acesso em: 23 dez. 2020.

VERKHRATSKY, Alexei *et al.* *The Concept of Neuroglia*. [S.l.: s.n.], 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-9913-8_1>.

VIGITEL. *surveillance of risk and protective factors for chronic diseases by telephone survey: estimates of frequency and sociodemographic distribution of risk and protective factors for chronic diseases in the capitals of the 26 Brazilian states and the Federal District in 2019*. . BRASÍLIA: Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf>. Acesso em: 4 dez. 2020.

VINUESA, A *et al.* Juvenile exposure to a high fat diet promotes behavioral and limbic alterations in the absence of obesity. *Psychoneuroendocrinology*, v. 72, p. 22–33, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.06.004>>.

VISSER, A W *et al.* Adiposity and hand osteoarthritis: the Netherlands Epidemiology of Obesity study. *Arthritis Res Ther*, v. 16, n. 1, p. R19, 2014.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/ar4447>>.

VOLPATO CORDIOLI, Aristides *et al.* Cognitive-Behavioral Group Therapy in Obsessive-Compulsive Disorder: A Randomized Clinical Trial. *Psychotherapy and Psychosomatics*, v. 72, n. 4, 2003.

VON DIEMEN, Vinicius; TRINDADE, Eduardo Neubarth; TRINDADE, Manoel Roberto Maciel. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 21, n. 6, p. 425–429, dez. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502006000600013&lng=en&tIng=en>.

WALKER, F R; NILSSON, M; JONES, K. Acute and chronic stress-induced disturbances of microglial plasticity, phenotype and function. *Curr Drug Targets*, v. 14, n. 11, p. 1262–1276, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2174/13894501113149990208>>.

WALLACE, Victoria C.J. *et al.* Characterization of rodent models of HIV-gp120 and anti-retroviral- associated neuropathic pain. *Brain*, v. 130, n. 10, p. 2688–2702, out. 2007.

WANG, B; CHANDRASEKERA, P C; PIPPIN, J J. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rev*, v. 10, n. 2, p. 131–145, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.

WANG, Cuizhe *et al.* Correlation of TLR4 and KLF7 in Inflammation Induced by Obesity. *Inflammation*, v. 40, n. 1, p. 42–51, 1 fev. 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10753-016-0450-z>>. Acesso em: 19 fev. 2021.

WANG, Sen *et al.* Chronic rhein treatment improves recognition memory in high-fat diet-induced obese male mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 36, p. 42–50, out. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286316303199>>.

WANG, Wei *et al.* Minocycline Attenuates Stress-Induced Behavioral Changes via Its Anti-inflammatory Effects in an Animal Model of Post-traumatic Stress Disorder. *Frontiers in psychiatry*, v. 9, n. NOV, p. 558, 6 nov. 2018a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30459654>>. Acesso em: 18 nov. 2020.

WANG, Wei *et al.* Minocycline attenuates stress-induced behavioral changes via its anti-inflammatory effects in an animal model of post-traumatic stress

disorder. *Frontiers in Psychiatry*, v. 9, n. NOV, 6 nov. 2018b.

WANG, Ya Lin *et al.* Microglial activation mediates chronic mild stress-induced depressive- and anxiety-like behavior in adult rats. *Journal of Neuroinflammation*, v. 15, n. 1, 17 jan. 2018.

WARD, Michael A *et al.* The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: a cross sectional study. *BMC Neurology*, v. 5, n. 1, p. 23, 2 dez. 2005. Disponível em: <<http://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2377-5-23>>.

WHO. *No Title*. . [S.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. , 2018

WHO. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. geneva: World Health Organization, 2000. Disponível em: <[https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=AvnqOsqv9doC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+World+Health+Organization.+Obesity:+Preventing+and+Managing+the+Global+Epidemic:+Report+on+a+WHO+Consultation+\(WHO+Technical+Report+Series+894\).+Geneva,+Switzerland:+World+Health+Organization%3B+2000.&ots=6WD79jWW3I&sig=INzUTGWlCuEb5xnBfsdB-YxjOE0](https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=AvnqOsqv9doC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+World+Health+Organization.+Obesity:+Preventing+and+Managing+the+Global+Epidemic:+Report+on+a+WHO+Consultation+(WHO+Technical+Report+Series+894).+Geneva,+Switzerland:+World+Health+Organization%3B+2000.&ots=6WD79jWW3I&sig=INzUTGWlCuEb5xnBfsdB-YxjOE0)>. Acesso em: 9 dez. 2020.

WOFFORD, Kathryn L. *et al.* Rapid neuroinflammatory response localized to injured neurons after diffuse traumatic brain injury in swine. *Experimental Neurology*, v. 290, p. 85–94, abr. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014488617300043>>.

XU, Hang *et al.* Etiology of metabolic syndrome and dietary intervention. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 1, 1 jan. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36337367/>?report=abstract>. Acesso em: 27 dez. 2020.

XU, L; HE, DE; BAI, Y. Microglia-Mediated Inflammation and Neurodegenerative Disease. *Molecular neurobiology*, v. 53, n. 10, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26659872>>.

YAMAMOTO, Yuta *et al.* Changes in behavior and gene expression induced by caloric restriction in C57BL/6 mice. *Physiological Genomics*, v. 39, n. 3, p. 227–235, nov. 2009. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/physiolgenomics.00082.2009>>.

YANG, L P *et al.* Acute Treatment with a Novel TRPC4/C5 Channel Inhibitor Produces Antidepressant and Anxiolytic-Like Effects in Mice. *PLoS One*, v. 10,

n. 8, p. e0136255, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0136255>>.

YANG, Qi *et al.* Chronic minocycline treatment exerts antidepressant effect, inhibits neuroinflammation, and modulates gut microbiota in mice. *Psychopharmacology*, v. 237, n. 10, p. 3201–3213, 1 out. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32671421/>>. Acesso em: 11 jan. 2021.

YANG, Quanhe *et al.* Trends in cardiovascular health metrics and associations with all-cause and CVD mortality among us adults. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, v. 307, n. 12, p. 1273–1283, 21 mar. 2012.

YIRMIYA, R; RIMMERMAN, N; RESHEF, R. Depression as a microglial disease. *Trends Neurosci*, v. 38, n. 10, p. 637–658, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2015.08.001>>.

ZEMDEGS, Juliane *et al.* High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice. *British Journal of Pharmacology*, v. 173, n. 13, p. 2095–2110, jul. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/bph.13343>>.

ZHANG, C *et al.* Minocycline ameliorates depressive behaviors and neuro-immune dysfunction induced by chronic unpredictable mild stress in the rat. *Behav Brain Res*, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2018.07.001>>.

ZHANG, Cai *et al.* Minocycline ameliorates depressive behaviors and neuro-immune dysfunction induced by chronic unpredictable mild stress in the rat. *Behavioural Brain Research*, v. 356, p. 348–357, 1 jan. 2019.

ZHANG, Y *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, v. 372, n. 6505, p. 425–432, 1994. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/372425a0>>.

ZHENG, L S *et al.* Mechanisms for interferon-alpha-induced depression and neural stem cell dysfunction. *Stem Cell Reports*, v. 3, n. 1, p. 73–84, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.05.015>>.

ZHENG, LS; KANEKO, N; SAWAMOTO, K. Minocycline Treatment Ameliorates Interferon-Alpha- Induced Neurogenic Defects and Depression-Like Behaviors in Mice. *Frontiers in cellular neuroscience*, v. 9, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25674053>>.

ZUCHERO, J. Bradley; BARRES, Ben A. Glia in mammalian development and

disease. *Development*, v. 142, n. 22, p. 3805–3809, 15 nov. 2015. Disponível em: <<https://journals.biologists.com/dev/article/142/22/3805/47050/Glia-in-mammalian-development-and-disease>>.

8.1 ANEXOS



UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

Protocolo CEUA: 65/2017

Título do projeto: Papel da neuroinflamação e leptina nas alterações comportamentais promovidas pelo consumo de dieta palatável rica em carboidratos em camundongos

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Daniele Cristina de Aguiar

Unidade: Instituto de Ciências Biológicas

Departamento: Departamento de Farmacologia

Situação atual: [Decisão Final - Aprovado](#)

Aprovado na reunião do dia 05/06/2017. Validade: 05/06/2017 à 04/06/2022

Belo Horizonte, 05/06/2017.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br

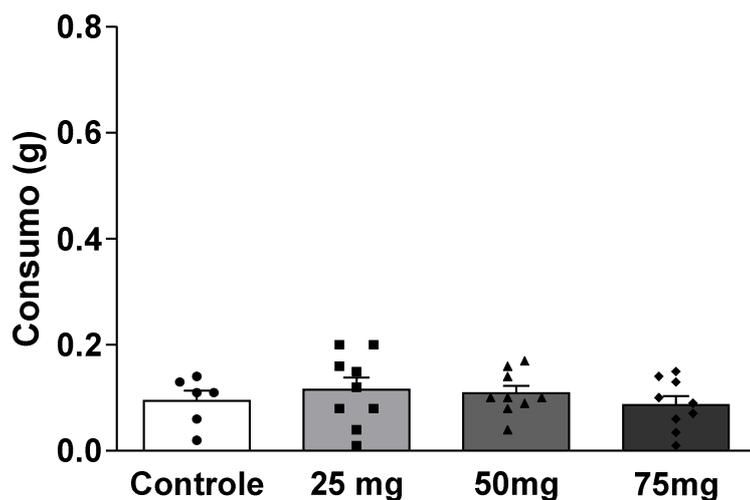


Figura suplementar 1. Efeito de três doses de minociclina na quantidade ingerida (g) após o teste de Alimentação suprimida pela novidade.

As barras representam a média + E.P.M. do consumo, n=7-11/grupo (ANOVA de uma via).

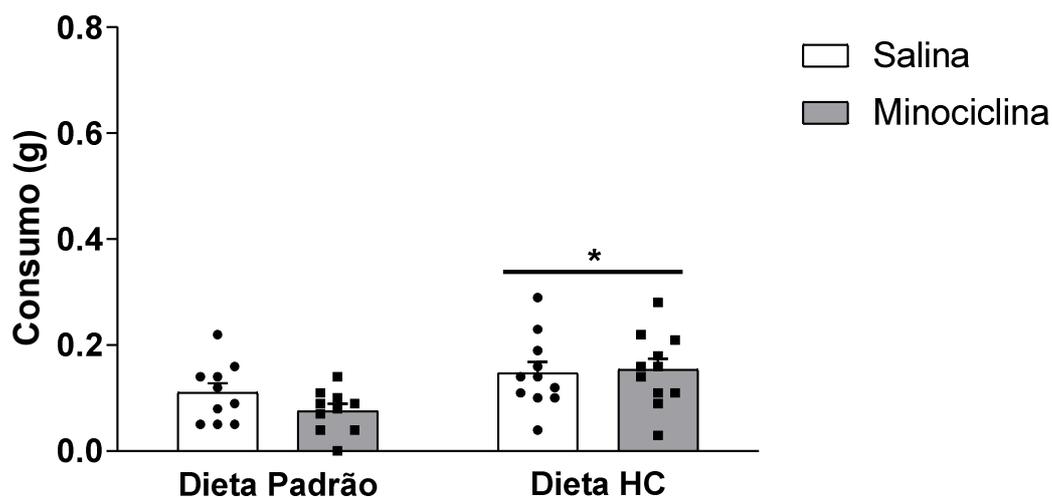


Figura suplementar 2. Efeito da Minociclina por 7 dias na quantidade ingerida (g) após o teste de Alimentação suprimida pela Novidade.

As barras representam a média + E.P.M. do consumo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão, n=9-12/grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

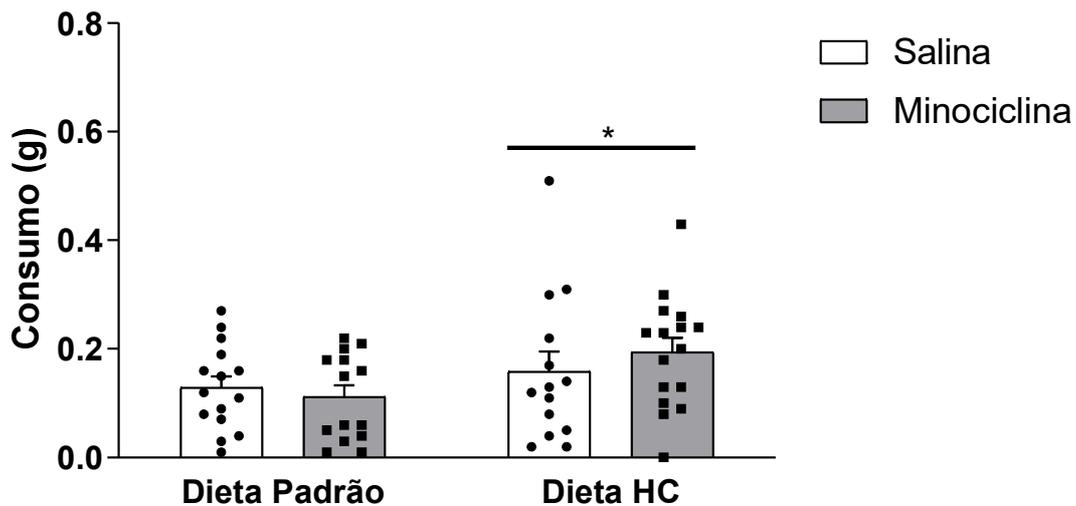


Figura suplementar 3. Efeito da Minociclina por 15 dias na quantidade ingerida (g) após o teste de Alimentação suprimida pela Novidade.

As barras representam a média + E.P.M. do consumo, n=9-12/grupo (f de duas As barras representam a média + E.P.M. do consumo. * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão, n=10-12/grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).

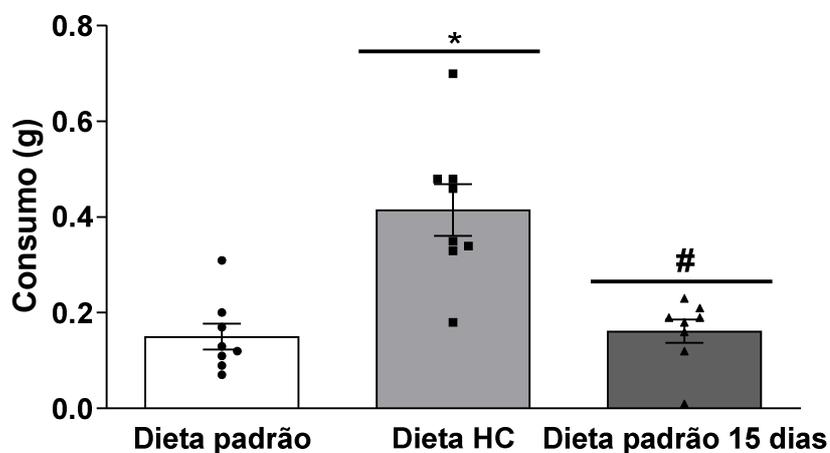


Figura suplementar 4. Efeito da troca da dieta HC pela padrão na quantidade ingerida (g) após o teste de alimentação suprimida pela novidade.

As barras representam a média + E.P.M. do consumo, (*) e (#) = $p < 0,05$ em relação ao grupo Dieta Padrão e dieta HC respectivamente, n=8 animais/grupo (ANOVA de uma via seguida de Bonferroni).

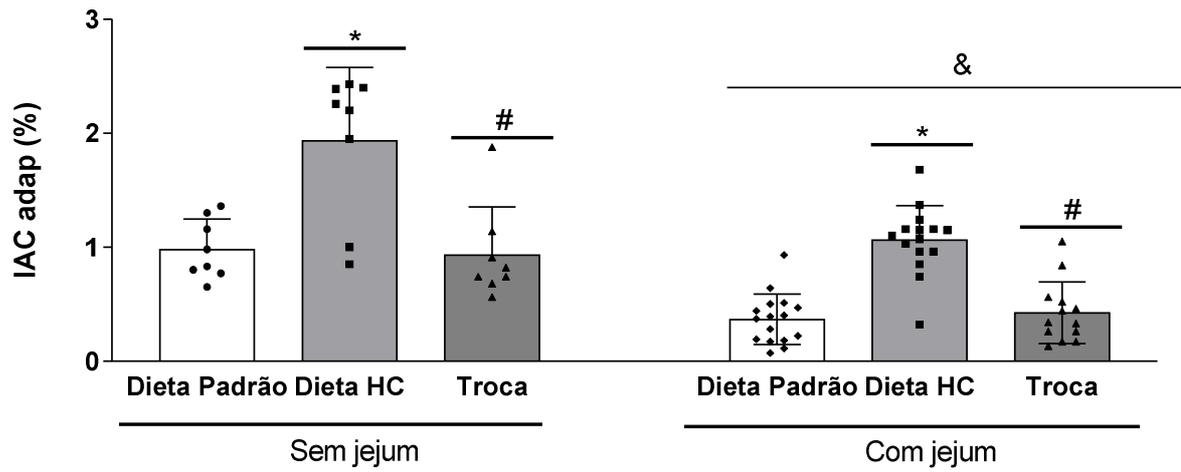


Figura suplementar 5. Efeito do jejum no índice de adiposidade corporal dos animais.

As barras representam a média + E.P.M. do consumo, * $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta padrão. # $p < 0,05$ em relação ao grupo dieta HC, & $p < 0,05$ em relação ao grupo sem jejum, $n=8-14$ animais/grupo (ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni).