



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CLEUSA WICHOSKI

**OFERTA INTERMITENTE DE DIETA DE CAFETERIA EM RATOS
DURANTE A ADOLESCÊNCIA: PARÂMETROS METABÓLICOS NA
ADOLESCÊNCIA E NA FASE ADULTA**

Londrina
2023

CLEUSA WICHOSKI

**OFERTA INTERMITENTE DE DIETA DE CAFETERIA EM RATOS
DURANTE A ADOLESCÊNCIA: PARÂMETROS METABÓLICOS NA
ADOLESCÊNCIA E NA FASE ADULTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra. Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia

Londrina

2023

Ficha Catalográfica

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

W635o. Wichoski, Cleusa .

OFERTA INTERMITENTE DE DIETA DE CAFETERIA EM RATOS DURANTE A ADOLESCÊNCIA: PARÂMETROS METABÓLICOS NA ADOLESCÊNCIA E NA FASE ADULTA / Cleusa Wichoski . - Londrina, 2023.
46 f.

Orientador: Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia.
Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2023.
Inclui bibliografia.

1. avaliação dos efeitos da dieta de cafeteria na adolescência e na vida adulta em parâmetros metabólicos de ratos machos e fêmeas - Tese. 2. avaliação do consumo alimentar e calórico - Tese. I. Zaia, Cássia Thaís Bussamra Vieira. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

CDU 574

CLEUSA WICHOSKI

**OFERTA INTERMITENTE DE DIETA DE CAFETERIA EM RATOS
DURANTE A ADOLESCÊNCIA: PARÂMETROS METABÓLICOS NA
ADOLESCÊNCIA E NA FASE ADULTA**

BANCA EXAMINADORA

Titulares:

Profa. Dra. Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia
Universidade Estadual de Londrina-UEL
Orientadora: Presidente da Banca

Profa. Dra. Priscila Cassola
Universidade Estadual de Londrina-UEL

Profa. Dra. Rosangela da Silva
Universidade Federal de Alfenas-UNIFAL

Suplentes:

Profa. Dra. Cláudia Bueno dos Reis Martinez
Universidade Estadual de Londrina-UEL

Profa. Dra. Fernanda Andrade Martins
Universidade Federal do Acre (UFAC)

Londrina, 2 de maio de 2023.

***Agradeço primeiramente a Deus, por me manter firme na fé,
alimentando a minha esperança e por ser meu refúgio nos
momentos difíceis.***

***Agradeço aos meus filhos, Gustavo e Nathalia: por me motivarem,
incentivarem, apoiar e me caminharem comigo.
É por vocês que a vida faz sentido e todo esforço vale a pena,
A Gabriela, filha de coração, que sempre esteve disposta a ajudar.***

***Agradeço a minha família por ser o meu alicerce.
Minha mãe por todo esforço e dedicação para me educar,
por ser meu exemplo força e superação.
Aos meus irmãos por torcerem por mim e vibrarem a cada conquista.***

***Aos meus amigos, que mesmo não entendendo o
motivo da minha ausência me compreendem e torcem
por mim.***

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia, minha orientadora. Minha gratidão especial pela pessoa e profissional que és, por todo conhecimento, dedicação, contribuição, sugestões, orientações ao longo do mestrado e no desenvolvimento desta dissertação. Obrigada por ter me aceito (de volta), por ter acreditado e depositado sua confiança em mim, especialmente por ter me feito acreditar que tudo daria certo. Sem seu suporte e orientação, durante o caminho até aqui, nada seria possível.

Ao Prof. Dr. Ernane Torres Uchoa, meu coorientador, que sempre esteve disponível para sanar as minhas dúvidas.

Meu agradecimento especial ao Fabiano pela ajuda nos experimentos, análise estatística e sugestões no texto. Agradeço também ao Lucas, Nicole, Andressa, Larissa, Polyana e Rhauany, todos foram essenciais para a execução e condução desse trabalho, alguns compartilhando seus conhecimentos, outros no cuidado com os animais, no tratamento experimental, na eutanásia ou durante as dosagens bioquímicas.

A todos os colegas de laboratório, pelo incentivo e palavras de apoio durante todo o percurso até aqui, pois todos contribuíram de alguma forma com o desenvolvimento desse trabalho.

Às professoras Dra. Priscila Cassolla, Dra. Rosangela da Silva, Dra. Cláudia Bueno dos Reis Martinez e Dra. Fernanda Andrade Martins, que aceitaram participar da banca de avaliação, em especial a Profa. Dra. Rosangela da Silva, que fez parte da minha graduação, contribuindo para minha formação acadêmica e me inserindo na iniciação científica. Minha inspiração para seguir na pesquisa e na docência.

Aos professores Dr. Fábio Goulart de Andrade e Dra. Maria Fernanda Graciano que aceitaram participar da minha banca de qualificação e contribuíram grandemente para a melhoria desse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas que, por todo conhecimento partilhado, despertaram em mim a paixão pela fisiologia.

À Fujiko, ao Afonso e à Thialla, funcionários do Departamento de Ciências Fisiológicas, pelo auxílio nas atividades do biotério e administrativas e à Universidade Estadual de Londrina, nas suas mais variadas funções, pela oportunidade.

*Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei!
Nenhum mal te sucederá, nem praga alguma chegará à tua tenda.
Porque aos seus anjos dará ordem a teu respeito,
para te guardarem em todos os teus caminhos,
Eles te sustentarão nas suas mãos,
para que não tropeces com o teu pé em pedra.*

(Salmos 91:2,10-12)

WICHOSKI, CLEUSA. **Oferta intermitente de dieta de cafeteria em ratos durante a adolescência: parâmetros metabólicos na adolescência e na fase adulta.** 2023. 46p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas, Londrina, 2023.

RESUMO

A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, associada ao desenvolvimento de doenças crônicas e ao maior risco para complicações cardiovasculares. Alimentos hiperpalatáveis e de alta densidade calórica fazem parte do hábito alimentar de crianças e adolescentes. Esse padrão dietético inadequado está associado ao excesso de peso e de gordura corporal, ao desenvolvimento da obesidade, além do desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta. Neste trabalho, ratos e ratas Wistar foram expostos, de forma intermitente, à dieta de cafeteria (DC) apenas durante o período da adolescência. Foram avaliadas as consequências dessa exposição, tanto na adolescência quanto na fase adulta sobre a ingestão alimentar, peso corpóreo e de órgãos, e sobre parâmetros metabólicos plasmáticos. Foram utilizados 72 animais, 36 machos e 36 fêmeas. Os animais foram tratados do dia pós-natal (DPN) 28 ao 51, com dieta padrão (DP) ou DC. No DPN 51, metade dos animais foi submetida à eutanásia, constituindo os grupos adolescentes, a outra metade foi submetida à eutanásia no DPN 100, constituindo os grupos adultos. Os resultados observados no presente estudo apontam para um aumento significativo tanto do consumo alimentar como da ingestão calórica dos ratos submetidos a DC na fase da adolescência com normalização do consumo dietético e calórico após a interrupção do fornecimento da dieta. Foi observado aumento de peso ($p=0,012$) para machos do grupo adulto, maior índice de Lee e de tecido adiposo para machos e fêmeas no grupo adolescente, sendo mantida essa diferença no índice de Lee entre as fêmeas do grupo adulto. Dos parâmetros metabólicos, foi observado aumento na concentração plasmática triacilglicerol entre fêmeas do grupo adolescente. Para o peso dos órgãos e no teste de tolerância a glicose (GTT) para ambos os grupos experimentais, não foram observadas alterações. Os resultados do presente estudo apontam que uma exposição esporádica à dieta hiperpalatável e de alta densidade calórica, é capaz de promover alterações na ingestão alimentar e calórica em ratos. Além disso, mesmo não promovendo alterações metabólicas e de peso corpóreo no período estudado, altera a composição corporal aumentando o volume de tecido adiposo, que está diretamente associado à incidência de distúrbios metabólicos de longo prazo.

Palavras-chave: obesidade, dieta hipercalórica, consumo alimentar, peso corpóreo, tecido adiposo

WICHOSKI, CLEUSA. **Intermittent supply of cafeteria diet in rats during adolescence: metabolic parameters in adolescence and adulthood.** 2023. 46p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas, Londrina, 2023.

ABSTRACT

Obesity is one of the main public health problems in the world, associated with the development of chronic diseases and increased risk for cardiovascular complications. Hyperpalatable foods with high caloric density are part of the eating habits of children and adolescents. This inadequate dietary pattern is associated with excess weight and body fat, the development of obesity, in addition to the development of chronic diseases in adult life. In this work, male and female Wistar rats were intermittently exposed to the cafeteria diet (DC) only during adolescence. The consequences of this exposure, both in adolescence and in adulthood, on food intake, body and organ weight, and on plasma metabolic parameters were evaluated. Seventy-two animals, 36 males and 36 females, were used. The animals were treated from postnatal day (DPN) 28 to 51, with standard diet (DP) or DC. In DPN 51, half of the animals were euthanized, constituting the adolescent groups, the other half were euthanized in DPN 100, constituting the adult groups. The results observed in the present study point to a significant increase in both food consumption and caloric intake in rats submitted to CD during adolescence, with normalization of dietary and caloric intake after interruption of diet supply. Weight gain ($p=0.012$) was observed for males in the adult group, higher Lee and adipose tissue index for males and females in the adolescent group, with this difference being maintained in the Lee index among females in the adult group. Of the metabolic parameters, an increase in plasma triacylglycerol concentration was observed among females in the adolescent group. For the weight of organs and the glucose tolerance test (GTT) for both experimental groups, no changes were observed. The results of the present study indicate that sporadic exposure to a hyperpalatable diet with high caloric density is capable of promoting changes in food and caloric intake in rats. In addition, even though it does not promote metabolic and body weight changes during the study period, it alters body composition by increasing the volume of adipose tissue, which is directly associated with the incidence of long-term metabolic disorders.

Key-words: obesity, hypercaloric diet, food intake, body weight, adipose tissue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Linha temporal do protocolo experimental de ratos e ratas (grupo dieta padrão - DP e grupo dieta de cafeteria - DC), constituindo os grupos adolescente (grupo DPN 51) e adulto (grupo DPN 100).	20
Figura 2.	Ingestão alimentar total (A1, C1) e de calorias (B1 e D1) de ratos tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do dia pós-natal (DPN) 28 ao 50 (grupo adolescente: A1 e B1), e de ratos que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto: C1 e D1). Área sob a curva (A.U.C.) da ingestão alimentar total (A2, B2) e calórica (C2, D2) dos grupos DP e DC.	25
Figura 3.	Ingestão alimentar total (A1, C1) e de calorias (B1 e D1) de ratos tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do dia pós-natal (DPN) 28 ao 50 (grupo adolescente: A1 e B1), e de ratos que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto: C1 e D1). Área sob a curva (A.U.C.) da ingestão alimentar total (A2, B2) e calórica (C2, D2) dos grupos DP e DC.	26
Figura 4.	Ingestão alimentar isolada da ração comercial (A1 e C1) e de calorias (B1 e D1) de ratos e de ratas respectivamente, tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do dia pós-natal (DPN) 28 ao 50. Área sob a curva (A.U.C.) da ingestão alimentar total (A2 e C2) e calórica (B2 e D2) de ratos e ratas dos grupos DP e DC.	27
Figura 5.	Δ do peso corpóreo (p.c.) de machos (A) e fêmeas (B) em gramas (g), tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto).	28
Figura 6.	Índice de Lee ($g^{1/3}/cm$) de machos (A) e fêmeas (B), tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto).	28
Figura 7.	Tecido adiposo de machos (A) e fêmeas (B) tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto).	29
Figura 8.	Concentração plasmática média de glicose, colesterol total e triacilglicerol de machos (A) e fêmeas (B) tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto).	30
Figura 9.	Teste de tolerância à glicose (GTT) realizado no DPN 90 e respectiva área sob a curva (A.U.C.) de machos (A1 e A2, respectivamente) e fêmeas (B1 e B2, respectivamente) tratados com ração padrão (DP) do DPN 51 ao 100 (grupo adulto).	31
Figura 10.	Peso da adrenal (A1 e B1) e do rim (A2 e B2), respectivamente de machos e fêmeas; testículos (A3), ovário (B3) e útero (B4), de ratos tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto).	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3 METODOLOGIA	19
3.1 Animal.....	19
3.2 Dietas DP e DC.....	19
3.3 Protocolo Experimental.....	19
3.4 Esfregaço Vaginal.....	21
3.5 Peso Corpóreo (g).....	21
3.6 Consumo Alimentar e Densidade Calórica.....	21
3.7 Índice de Lee	22
3.8 Dosagens Bioquímicas Plasmáticas.....	22
3.9 Teste de Tolerância a Glicose (GTT).....	22
3.10 Peso dos Órgãos	22
3.11 Análise Estatística	22
4 RESULTADOS.....	23
5 DISCUSSÃO.....	33
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
7 CONCLUSÃO	39
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO: Aprovação da CEUA.....	46

1 INTRODUÇÃO

O aumento de peso da população mundial e, conseqüentemente, dos índices de sobrepeso e obesidade em todas as faixas etárias, estão relacionados ao estilo de vida e hábitos alimentares inadequados. O desequilíbrio entre o consumo e gasto energético leva ao ganho de peso corporal. O sedentarismo e a ingestão hipercalórica, estão diretamente associados ao acúmulo excessivo de gordura corporal e aos danos à saúde (IBGE, 2010; BAYOL et al., 2010).

A obesidade tem sido tema de grande preocupação nas últimas décadas, sendo considerada uma epidemia global, pois contribui para o aumento das chamadas síndromes metabólicas: dislipidemias, diabetes, hipertensão arterial e câncer (WHO, 2021). Por consequência da má alimentação, tem-se observado mudança no perfil nutricional da população nos últimos anos, caracterizado recentemente pela presença simultânea de desnutrição, excesso de peso e obesidade. As alterações no comportamento alimentar ocidental contribuem com a expansão do perfil atual, pois baseia-se na ingestão calórica excessiva e de baixo valor nutritivo, que, além de não suprir as necessidades fisiológicas de micronutrientes, compromete o desempenho físico e cognitivo, a capacidade de trabalho, promove ganho de peso excessivo, obesidade e maior risco do desenvolvimento de doenças crônicas (FAO et al., 2020).

A Organização Mundial de Saúde divulgou relatório regional considerando a obesidade como uma das principais preocupações de saúde pública mundial, devido ao alto crescimento nos últimos anos, especialmente nos países em desenvolvimento. O relatório destaca que, em 2020, cerca de 155 milhões de crianças em todo o mundo apresentavam excesso de peso, sendo que a maioria delas estavam na faixa etária de 5 a 19 anos e que aproximadamente 40 milhões dessas crianças tinham menos de 5 anos de idade. Também estima que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estarão acima do peso com aproximadamente 700 milhões de indivíduos obesos (WHO, 2022).

Segundo a Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), realizada em 2019 pelo Ministério da Saúde, com objetivo de monitorar os principais fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis, a prevalência de obesidade no Brasil atinge mais de um quinto da população brasileira adulta, ou seja, 20,3% da população encontrava-se obesa. Esses dados apontam para um aumento de 72% nos casos,

quando comparados com a mesma pesquisa realizada em 2006, onde os índices eram em torno de 11,8%. A obesidade é maior entre as mulheres (22,2%) do que entre os homens (18,3%). A pesquisa também revelou que 16,6% das crianças brasileiras de 5 a 9 anos estavam acima do peso e, deste total, 5,9% eram consideradas obesas (MINISTÉRIO DA SAÚDE; VIGITEL BRASIL, 2021).

Estudos apontam que crianças e adolescentes obesos possuem cinco vezes mais chances de se tornarem adultos obesos e que o acúmulo de gordura ocorrido nessa fase, propicia as alterações metabólicas causadas pela obesidade na vida adulta (COCCURELLO et al., 2009; SIMMONDS et al., 2016). Entretanto, a preocupação com a obesidade infantil, não deve limitar-se a riscos futuros, uma vez que ela também apresenta riscos imediatos como: problemas respiratórios, distúrbios do sono e problemas ortopédicos, com impacto psicológico negativo na autoestima, imagem corporal e na saúde mental. Além disso, marcadores de doenças metabólicas, inicialmente observados apenas em adultos, estão sendo cada vez mais frequentes em crianças e adolescentes obesos, como hipertensão, resistência à insulina e marcadores precoces de doenças cardiovasculares (GILES; JACKMAN; MACLEAN, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE; VIGITEL BRASIL, 2021).

Em 2020, segundo dados do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN), a prevalência de obesidade em crianças menores de 5 anos no Brasil foi de 7,8%. Já o Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes (ERICA), apontou que 25,5% dos adolescentes brasileiros com faixa etária entre 12 e 17 anos, apresentam excesso de peso, com a prevalência de obesidade em 8,4%, sendo que esta condição é mais comum entre os meninos (9,2%) do que entre as meninas (7,6%). O estudo destaca ainda que a região Sul apresentou as maiores prevalências de obesidade correspondendo a 11,1%, seguida da região sudeste com 8,6% (BLOCH et al., 2016).

De acordo com dados da Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE) realizada pelo IBGE em parceria com o Ministério da Saúde e apoio do Ministério da Educação, que avaliou 11,8 milhões de estudantes entre 13 e 17 anos. Mostrou que 20,6% dos adolescentes consideram sua aparência como “gordos” ou “muito gordos”. A insatisfação com a autoimagem foi maior entre meninas do que entre os meninos, representando 25,2% e 15,9%, respectivamente. A prevalência de obesidade observada entre os estudantes foi de 8,4%, com predomínio no sexo feminino que foi de 10,4% e no masculino de 6,4% (IBGE, 2021).

A adiposidade promovida pela obesidade é multifatorial, associa o estilo de vida

inadequado, com ingestão alimentar excessiva e atividade física reduzida, à fatores genéticos (GILES; JACKMAN; MACLEAN, 2016). O consumo elevado de alimentos hiperpalatáveis e de alta densidade calórica, promove aumento dos índices de excesso de peso e, conseqüentemente, das desordens metabólicas, aumentando substancialmente o risco de eventos cardiovasculares e suas comorbidades (CUNHA, 2016). Assim, a composição da dieta desempenha um papel determinante no desenvolvimento da obesidade. O consumo frequente de lanches rápidos, bebidas açucaradas e doces, bem como de aditivos presentes nas refeições prontas e alimentos industrializados, são capazes de elevar a glicemia, a concentração plasmática de insulina e, conseqüentemente, o aumento de peso. (SAMPEY et al., 2011; KOPP, 2019)

Os dados da PeNSE, também mostram que os hábitos alimentares inadequados e o baixo índice de atividade física dos estudantes contribuem para o aumento da obesidade. Apesar de demonstrar que cerca de 59,0% dos alunos têm o hábito de ingerir arroz e feijão, foi alta a prevalência do consumo de doces e guloseimas (32,8%) em comparação com o consumo de legumes e verduras (28,8%) e de frutas (26,9%). Além disso, 45,5% dos estudantes afirmaram consumir refrigerantes e salgadinhos industrializados cinco ou mais vezes por semana, enquanto, apenas 20,6% praticam algum tipo de atividade física por pelo menos 60 minutos por dia (IBGE, 2021).

A substituição do consumo de alimentos *in natura* por alimentos industrializados ultraprocessados, por exemplo, embutidos, refrescos e congelados, tornou-se frequente. Os ultraprocessados são formulações industriais feitas a base de alimentos e de aditivos alimentares (corantes, emulsificantes, edulcorantes etc.) que alteram as percepções sensoriais originais do alimento, conferindo maior palatabilidade e, conseqüentemente, maior consumo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; LOUZADA et al., 2015). Esses alimentos caracterizam a dieta ocidental em hipercalórica e hiperlipídica pois apresentam densidade energética elevada, alto índice de carboidratos refinados e grande quantidade de gordura saturada e trans, além de um teor de fibras diminuído. Entretanto, não apresentam um aporte nutricional adequado, com conseqüências que podem ir além do excesso de peso oriundas do déficit nutricional (SCARANNI, 2020; UNC, 2021; POPKIN, 2022).

A exposição precoce a alimentos caloricamente densos, potencializa o aumento de peso. O padrão alimentar ocidental descrito, caracteriza o hábito

alimentar de crianças e adolescentes e seu consumo precoce compromete o aporte nutricional adequado, refletindo no desenvolvimento fisiológico e promovendo alterações biológicas, como aumento da adiposidade corporal e predisposição ao surgimento de doenças metabólicas (LEE et al., 2019).

Os impactos à saúde, causados por esse perfil alimentar, se relacionam com o aumento do apetite, hiperfagia e balanço energético positivo. O alto teor de açúcares livres, altera a resposta à insulina, aumenta sua secreção, potencializa a formação de depósitos de gordura em prejuízo da lipólise, assim, a hipersecreção de insulina e hiperinsulinemia, contribuem para o aumento gradativo da obesidade, resistência à insulina e diabetes (SAMPEY et al., 2011; KOPP, 2019; LOUZADA et al., 2022).

O excesso de peso adquirido nessa fase da vida está associado a alterações em parâmetros reprodutivos, pela antecipação da produção de hormônios sexuais. Estudos apontam relação entre índice de massa corporal elevado e puberdade precoce (CAVALCANTE et al., 2014; BRATKE et al., 2017), que é vista como fator de risco para acúmulo de gordura corporal (LAZZERI et al., 2018), obesidade, resistência à insulina, diabetes e síndrome metabólica na fase adulta (WILSON et al., 2015; NICOLAS et al., 2022). Para evitar a obesidade e as comorbidades associadas, o combate à obesidade deve estar pautado em políticas públicas eficazes e ações efetivas de saúde, que visem a promoção de hábitos alimentares saudáveis, prática de atividade física regular e políticas de informação nutricional e rotulagem de alimentos (WHO, 2022).

O problema da obesidade associa as pressões ambientais, biológicas e psicossociais. A pressão ambiental ocorre pela disponibilidade de dietas caloricamente densas, que promovem um ambiente obesogênico, caracterizado pela ingestão excessiva de energia e saciedade reduzida. Martire, Westbrook e Morris (2015) comentam que o consumo de alimentos hipercalóricos, por serem hedonicamente agradáveis, proporcionam prazer ao serem consumidos e, por apresentarem propriedades orosensoriais (cheiro, textura e palatabilidade) estimulantes, promovem consumo excessivo que se associa ao aumento de peso observado na população mundial.

Estudos com animais de experimentação tem sido usados para investigar os efeitos dessas dietas na saúde. Diferentes modelos dietéticos e períodos de tratamento foram propostos, na tentativa de elucidar os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da obesidade. Um dos modelos utilizados é a chamada dieta de

cafeteria (DC), pois reflete de forma mais precisa a ampla variedade de alimentos altamente palatáveis e caloricamente densos com elevado teor de carboidratos simples e gordura, prevalentes na sociedade ocidental (SAMPEY et al., 2011; GILES; JACKMAN; MACLEAN, 2016; KOPP, 2019).

As causas metabólicas e comportamentais relacionadas ao consumo de alimentos ultraprocessados são semelhantes em roedores e humanos. A preferência e a ingestão alimentar excessiva são desencadeadas não só pela composição nutricional dos alimentos, mas também pelas suas propriedades hedônicas. Desta forma, a DC contempla alimentos com tais características, que a diferem da dieta padrão (DP), alimentos esses que promovem um ambiente obesogênico semelhante ao praticado atualmente, sendo a DC apontada em diversos estudos como excelente modelo para o desenvolvimento da obesidade (BAYOL et al., 2010; SAMPEY et al., 2011; CASTRO et al., 2015; KOPP, 2019; LALANZA; SNOEREN, 2021).

Estudos também mostram que, além da obesidade, a alta densidade calórica proveniente de dietas ricas em gordura, açúcares (glicose, frutose, etc.), carboidratos refinados e pobres em micronutrientes, estão relacionadas a alterações metabólicas, fisiológicas e a desequilíbrios nutricionais com efeitos deletérios em diversos órgãos e tecidos, como: cardiovasculares, neurológicas (FERREIRA et al., 2018; FEIJÓ et al., 2019; NICOLAS et al., 2022), presença de estresse oxidativo, alterações gastrointestinais e endócrinas, com aumento da adiposidade abdominal e adipocinas (REIS et al., 2023; CEGLIA et al., 2023), alterações no perfil insulínico (hiperinsulinemia e resistência à insulina), glicêmico e lipídico (hiperglicemia e dislipidemia) (ALBUQUERQUE et al., 2006; BARTOLOMUCCI et al., 2009; SAMPEY et al., 2011; BATTÚ et al., 2012; JOHNSON et al., 2016; KOPP, 2019).

Lanza e Snoeren (2021), ao sistematizarem uma análise sobre os diversos protocolos utilizados na simulação da obesidade induzida por dieta, declaram que, devido à grande variedade de alimentos que compõem a DC, é importante combinar alimentos com alto teor de gordura e de carboidratos refinados e com sabores salgados e doces para induzir em animais as mesmas consequências metabólicas observadas em humanos (obesidade, síndrome metabólica e resistência à insulina).

Diferentes protocolos dietéticos são empregados em experimentos com dieta de cafeteria, alguns modelos permitem livre acesso à ração padrão e à água, sendo ofertados simultaneamente alimentos que compõem a dieta humana ocidental, outros promovem oferta de ração modificada, elaborada para atender a característica da

hiperpalatabilidade e alta densidade calórica, com oferta em períodos de intervalados ou contínuos (VANZELA et al., 2010; GOULARTE, 2015; LAUDEUX; KIM; NICOLA, 2013; MARTIRE; WESTBROOK; MORRIS, 2015; PASQUALOTTO et al., 2021; REIS et al., 2023).

A oferta intermitente ou cíclica de DC, também chamada de “dieta iôô”, é vista na literatura como um modelo capaz de gerar consumo alimentar excessivo nos animais. Na ausência da dieta hipercalórica em um dia, seu consumo torna-se excessivo no dia seguinte de oferta, ao passo que, ocorre redução do consumo de alimentos de baixo teor calórico, mesmo na ausência dos ultraprocessados. Protocolos experimentais estabelecem diferentes intervalos de oferta da dieta, intercalando-a em intervalos de dias, ou então, diariamente por algumas horas, e sugerem que esse modelo pode estar associado ao desenvolvimento de compulsão alimentar (LAUDEUX; KIM; NICOLA, 2013; MARTIRE; WESTBROOK; MORRIS, 2015; REIS et al., 2023). Embora ainda se tenham dúvidas sobre os efeitos a longo prazo desse tipo de dieta, esses estudos sugerem que a oscilação no fornecimento da dieta hiperpalatável, rica em energia, pode gerar estresse, consumo excessivo ou compulsão alimentar. Entretanto, ainda são necessários estudos que esclareçam as implicações à saúde promovidas pela oferta intermitente desse tipo de dieta.

Em modelos experimentais, a DC promove hiperfagia voluntária e ingestão excessiva de energia, induzidos pela variedade de alimentos ofertados. Essa hiperfagia produz alterações comportamentais irregulares associados à obesidade humana, sendo observada especialmente entre adolescentes. Castro et al. (2015) destacam que DC é um bom modelo de dieta para identificar as alterações metabólicas nessa fase da vida e suas consequências, pois promovem acúmulo de gordura persistente e as alterações observadas nesse período são mantidas após o retorno à DP.

Diversos estudos recentes destacam os efeitos negativos desse tipo de dieta na saúde física e mental dos ratos e podem ter implicações para a compreensão dos efeitos dessa dieta em humanos. Além das alterações em parâmetros metabólicos, mostram também alterações cognitivas (comportamento ansioso, agressividade, déficit de memória), hiperfagia, (LALANZA; SNOEREN, 2021; CEGLIA et al., 2023; SUBIAS-GUSILS et al., 2023) e alterações na composição da microbiota intestinal (FÜLLING et al., 2020; LEIGH et al., 2020; TSAN et al., 2022) associadas ao consumo desses alimentos.

Ratos alimentados com DC, apresentam maior peso corporal, alteração dos perfis

glicêmico e lipídico, bem como maior volume de tecido adiposo (SAMPEY et al., 2011; JOHNSON et al., 2016). O aumento do tecido adiposo promove alterações na produção de adipocinas, responsáveis pela regulação do apetite e sinalização inflamatória, além das alterações hormonais nos valores séricos de leptina e insulina (MACEDO et al., 2012). Foram observados também estresse oxidativo e resposta pró-inflamatória (alterações no fator de necrose tumoral alfa e a interleucina 6), que favorecem os distúrbios ligados à obesidade (WILSON et al., 2015; JOHNSON et al., 2016).

Por fim, a DC é o modelo dietético mais representativo do comportamento alimentar ocidental para desenvolvimento de doenças crônicas e síndrome metabólica, com várias evidências que apontam ao acúmulo persistente de gordura, inflamação sistêmica e complicações fisiológicas. Entretanto, em sua maioria, os estudos apontam para alterações metabólicas promovidas pela exposição contínua a DC e por longos períodos, sendo que o consumo intermitente e por períodos curtos são pouco abordados especialmente na adolescência, bem como suas consequências e implicações na vida adulta. Portanto, a hipótese levantada nesse estudo foi que, o consumo esporádico da DC seria suficiente para promover as alterações metabólicas descritas na literatura em ratos adolescentes e que estas alterações seriam persistentes na vida adulta. Assim, o modelo experimental aplicado nesse estudo, que contempla a fase da adolescência, pode ser útil na produção de conhecimento que auxilie de intervenção preventiva ou terapêutica no tratamento da obesidade humana.

Desta forma, considerando as implicações de saúde relacionadas à obesidade em consequência de hábitos alimentares inadequados adquiridos durante a adolescência, estudos que apontem as diversas alterações metabólicas ocorridas nessa fase e suas consequências na vida adulta, podem contribuir para conscientização e promoção do consumo alimentar saudável e reduzir os índices de obesidade e doenças crônicas, além de permitir ações mais efetivas no âmbito da saúde coletiva e no que diz respeito à prevenção das síndromes metabólicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, em ratos e ratas, os efeitos da DC, ofertada durante a adolescência, sobre o metabolismo energético, tanto na adolescência quanto na idade adulta.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar em animais tratados com DC durante a adolescência:

- o consumo alimentar e de calorias durante todo o protocolo experimental, para verificar alterações na ingestão dietética e calórica promovidas pela oferta intermitente da DC até o DPN 51 e comparar a manutenção dessas alterações após a interrupção da dieta ao final do protocolo experimental (DPN 100);
- o ganho de peso corpóreo e de tecido adiposo durante todo o protocolo experimental, para determinar as características antropométricas e verificar a influência da dieta na composição corporal dos animais na fase de tratamento e a evolução dessas características na fase adulta;
- o peso de órgãos, para verificar e comparar possíveis alterações macroscópicas promovidas pela dieta: nos rins, adrenais, testículos, ovários e útero, durante a exposição dietética e após sua interrupção;
- a concentração plasmática de metabólitos (glicose, colesterol e triacilglicerol), para detectar alterações metabólicas e funcionais promovidas pela dieta;
- teste de Tolerância à Glicose (GTT), pela administração intraperitoneal de glicose, para se verificar possível intolerância à glicose ou alterações na secreção de insulina.

3 METODOLOGIA

3.1 Animal

Foram utilizados ratos Wistar adultos (16 machos; peso entre 350 e 450 g; 16 fêmeas; peso entre 240 e 260 g), provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas (CIF), em ambiente controlado de luz (ciclo 12 horas claro/escuro) e temperatura (22 ± 2 °C) com água e alimentação à vontade. Os animais tiveram uma semana de adaptação no biotério antes do acasalamento. A procriação teve por objetivo a certificação do momento do desmame para dar início aos protocolos experimentais. As proles obtidas (n= 72), foram submetidas aos protocolos detalhados a seguir. Todos os experimentos foram realizados no LaFiNeM - Laboratório de Fisiologia Neuroendócrina e Metabolismo do CIF, sempre entre 9 e 11 h da manhã a fim de minimizar as interferências do ciclo circadiano entre os animais. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEL (processo Nº 058/2021, OF. CIRC. CEUA Nº 12/2022, documento no ANEXO).

3.2 Dietas DP e DC

Ração balanceada para roedores (AIN 93, Nuvilab CR1, Nuvital®) foi utilizada como DP e ofertada diariamente. A DC é normalmente composta por alimentos ultraprocessados e de elevado aporte calórico devido ao alto teor de carboidratos e/ou lipídeos. Alimentos e líquidos variados podem compor essa dieta, desta forma a escolha do protocolo é determinado pelo grupo de pesquisa de acordo com os objetivos a serem alcançados (SAMPEY et al., 2011; CASTRO et al., 2015; GILES; JACKMAN; MACLEAN, 2016; KOPP, 2019). Assim, nesse protocolo, para simular oferta esporádica e intermitente do comportamento humano, optou-se por oferecer a DC, acompanhada de DP, em dias alternados, seguindo recomendação proposta por Lanza e Snoeren (2021) sendo constituída de chocolate, biscoito recheado, salgadinho de pacote e salsicha. Os alimentos foram ofertados na forma de apresentação comercial para os animais, não havendo necessidade de peletizá-los.

3.3 Protocolo Experimental

Para o acasalamento, a partir da tarde do 7º dia de adaptação, foi realizado esfregaço vaginal e, uma vez detectada a fase de estro, as ratas passaram a noite com o

macho. No dia seguinte, novo esfregaço foi realizado para avaliar a presença de espermatozóides e então foi caracterizado o dia de gestação zero; as ratas que apresentaram no esfregaço a presença de espermatozóides foram colocadas em gaiolas individuais e acompanhadas até o momento do nascimento da prole (dia pós-natal zero, DPN 0). Após o desmame (DPN 22), as proles foram aleatoriamente organizadas em 2 grupos para cada sexo: grupo adolescente (DPN51, n=36) e grupo adulto (DPN100, n=36). Machos e fêmeas desses grupos foram organizados em: grupo controle (n=9) que recebeu DP; e grupo cafeteria (n=9) que recebeu tratamento de forma intermitente, isto é, DC foi adicionada à gaiola em dias alternados, por 22 dias, sendo mantida a oferta de DP durante o período de tratamento com a DC a fim de evitar carências nutricionais. Os animais, dos grupos adolescente e adulto, foram tratados do DPN 28 até o DPN 50. Para o grupo adolescente, os machos foram submetidos à eutanásia, por decapitação, no DPN 51, e as ratas entre o DPN 51 e o DPN 55, sempre na fase de estro, determinado por esfregaço vaginal. Para o grupo adulto, a partir do DPN 51, houve a interrupção do fornecimento da DC, sendo que os animais passaram a receber somente DP até o final do período experimental. No DPN 90 foi feito o teste de tolerância à glicose (GTT) e, então, as fêmeas foram decapitadas entre o DPN 95 e o DPN 100 (sempre na fase de estro) e os machos decapitados no DPN 100. Imediatamente após a eutanásia, sangue foi coletado em tubo heparinizado, centrifugado a $14.000 \times g$ por 20 min, a 4°C , e o plasma obtido armazenado em freezer (-20°C) para posteriores análises bioquímicas; foram também imediatamente retirados órgãos para pesagem (figura 1).

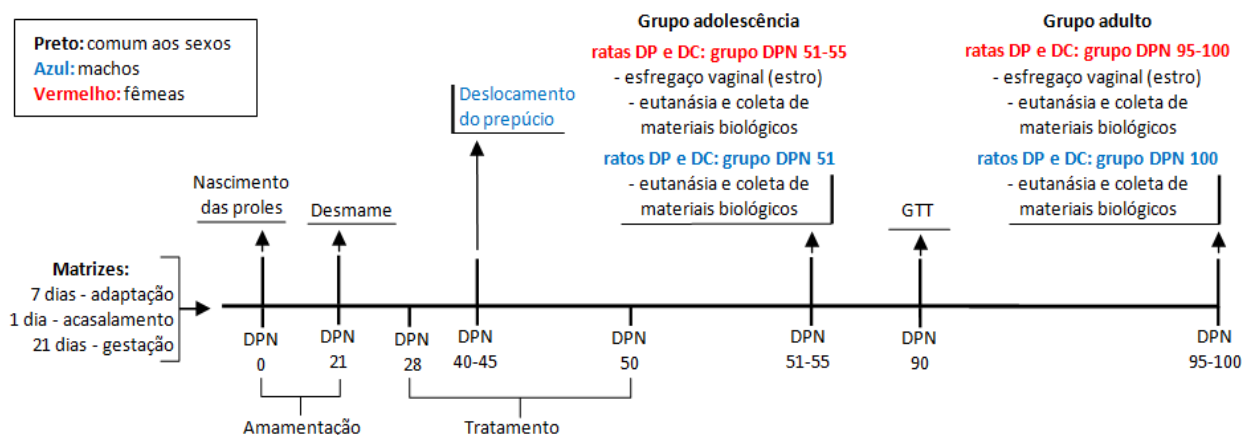


Figura 1. Linha temporal do protocolo experimental de ratos e ratas do grupo adolescente (grupo DPN 51) e do grupo adulto (grupo DPN 100). DP: dieta padrão. DC: dieta de cafeteria. DPN: dia pós-natal. GTT: teste de tolerância à glicose.

3.4 Esfregaço Vaginal

Células do canal vaginal (ZAIA, 2005) foram coletadas com auxílio de pipeta Pasteur descartável (1 mL; 1,0 mm de diâmetro; ponta fina), contendo 0,5 mL de salina 0,9%, sendo introduzida no canal vaginal na extensão de no máximo 5 mm, para evitar estimulação de gestação psicológica. Após injetado e aspirado, o material coletado foi imediatamente colocado em lâmina de histologia e observado em microscopia de luz (aumento de 400x). Os tipos celulares e a proporção entre eles permitiram definir a fase do ciclo estral. Baseado em Marcondes et al. (2002): o proestro tem predominância de células epiteliais nucleadas; o estro tem principalmente células cornificadas anucleadas; o metaestro contém a mesma proporção de leucócitos, células epiteliais cornificadas e células nucleadas; e o diestro tem predominância de leucócitos e presença de muco.

3.5 Peso Corpóreo (g)

Todos os ratos foram pesados diariamente durante o tratamento (entre às 9 e 11 horas), do DPN 28 ao DPN 51, e a partir do DPN 52 os animais foram pesados a cada cinco dias até o final do protocolo experimental (DPN 100). A partir dos valores obtidos, foi calculado o delta (Δ) do peso corpóreo (p.c.), onde: $\Delta = [\text{peso inicial (PI)} - \text{peso final (PF)}]$, sendo os resultados expressos em gramas (g).

3.6 Consumo Alimentar e Calórico

O consumo alimentar foi avaliado pelo método de resto-ingesta. Do DPN 28 ao DPN 51, os ratos ficaram em gaiolas metabólicas e o consumo alimentar individual diário foi avaliado. Quantidade conhecida de dieta foi ofertada e no dia seguinte a sobra, denominado "resto", foi pesada. A diferença entre a oferta e o resto representou o consumo alimentar diário expresso em g/100 g de p.c. (NERY et al., 2011). A partir do DPN 52, os ratos foram colocados em caixas coletivas (n=3) e o consumo alimentar foi avaliado a cada 5 dias até o final do protocolo experimental. Sabendo-se o "resto" do período, o consumo médio individual foi determinado pela divisão do resto/3 (número de ratos na caixa). Conhecida a média do consumo por rato no período avaliado, obteve-se o consumo diário dividindo esse valor/5 (número de dias do intervalo); o valor individual diário médio foi expressa em g/100 g de p.c.

Para o cálculo da ingestão calórica, utilizou-se a informação nutricional presente na embalagem do alimento. Para análise dos dados obtidos, foi calculada a área sob curva (A.U.C.) da ingestão alimentar e calórica.

3.7 Índice de Lee

No início da dieta de cafeteria (DNP 28) e antes da eutanásia (grupo adolescente, no DPN 51, e grupo adulto, no DPN 100), todos os ratos foram pesados e o comprimento naso-anal medido para o cálculo do Índice de Lee, pela fórmula: **[raiz cúbica de p.c. (g) / distância naso-anal (cm)]**, sendo expresso em $\text{g}^{1/3}/\text{cm}$ (BERNARDIS; PATTERSON, 1968).

3.8 Dosagens Bioquímicas Plasmáticas

Espectrofotometria foi utilizada para as determinações das concentrações plasmáticas de glicose e triacilglicerol, utilizando Kits comerciais (Laborclin, PR e Analisa, MG, respectivamente), baseado no método de Trinder (1969), e de colesterol total, utilizando Kit comercial Analisa (MG), baseado no método de Allain et al. (1974).

3.9 Teste de Tolerância a Glicose (GTT)

No DPN 90, os ratos foram submetidos à restrição de alimento por 6 horas (das 8 às 14 horas), mas com acesso livre à água. Após, foi coletada uma gota de sangue da veia da cauda (tempo 0) e determinada a concentração de glicose (Accu-Check Advantage II test strip, Roche); a seguir, receberam glicose 5% (1,0 g/kg p.c., i.p.) e amostras de sangue foram coletadas 15, 30, 60 e 120 min após a sobrecarga de glicose. Ao término do teste, o alimento foi recolocado (SOUZA et al., 2019). Para análise dos dados obtidos, foi calculada a área sob curva (A.U.C.) da variação de glicose plasmática.

3.10 Peso dos Órgãos

Imediatamente após a eutanásia, por decapitação, foi feita a retirada dos rins, adrenais, tecido adiposo (perigonadal, perirenal e retroperitoneal), útero, ovários e testículos para pesagem, sendo os dados expressos em g por 100 g de p.c.

3.11 Análise Estatística

Os dados que atenderam aos pressupostos de normalidade e de homogeneidade foram submetidos ao teste paramétrico *t* de Student e expressos em média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e representados por gráficos de barras. Os dados que não atenderam a esses pressupostos foram submetidos ao teste não paramétrico de Mann-Whitney, sendo os resultados foram expressos em gráficos de *boxplot* como mediana, primeiro e terceiro quartis. Foi considerado como nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

A ingestão alimentar total diária dos animais, incluindo a ração padrão (DP) e a dieta de cafeteria (DC), estão representadas na figura 2 para machos e na figura 3 para fêmeas. Pode-se observar que o consumo alimentar total e calórico do grupo adolescente foi superior ao do grupo controle, tanto para os machos (figura 2A1 e figura 2B1) quanto para as fêmeas (figura 3A1 e figura 3B1). Houve diferença significativa ($p < 0,001$) na área sob a curva (A.U.C.) do grupo adolescente de machos (figura 2A2 e figura 2B2) e fêmeas (figura 3A2 e figura 3B2).

Os ratos do grupo adolescente consumiram, em média, 59,6% gramas e 171,9% calorias a mais do que os do grupo controle, enquanto as ratas do grupo adolescente consumiram cerca de 30,8% gramas e 147,2% calorias a mais do que as ratas do grupo controle. Após a cessação da oferta da DC (grupo adulto), a ingestão alimentar total e de calorias dos ratos (figura 2C1 e figura 2D1) e das ratas (figura 3C1 e figura 3D1) não apresentou oscilação. A retirada da dieta promoveu normalização da ingestão alimentar total e calórica entre machos (figura 2C2 e figura 2D2) e fêmeas (figura 3C2 e figura 3D2) tratados com DC comparados com os respectivos controles, não sendo observada diferença significativa na A.U.C. para esses grupos.

Na figura 4 encontram-se as médias de ingestão alimentar isolada da ração comercial utilizada no experimento, apresentadas em gramas e em calorias por 100g de p.c. Verifica-se que durante a oferta da DC o consumo isolado da ração comercial pelo grupo experimental (DC) foi menor quando comparado com o grupo padrão (DP), tanto para machos (figura 4 A1 e figura 4 B1) quanto para fêmeas (figura 4 C1 e figura 4 D1).

A presença de alimentos hiperpalatáveis reduziu o consumo de ração padrão a 36% no início do protocolo experimental, chegando a 75% ao final do experimento para o grupo adolescente com diferenças estatística significava na área sob a curva (AUC) ($p < 0,001$), para ambos os grupos conforme representado na figura 4A2 e figura 4B2 para os machos, e figura 4C2 e figura 4D2 para fêmeas; para o grupo adulto, com a retirada dos alimentos hiperpalatáveis foi observada normalização no consumo de ração comercial conforme apresentado anteriormente nas figuras 2 (C1 e D1) para machos e figuras 3 (C1 e D1) para fêmeas.

Em relação ao peso corpóreo, foi possível observar que os machos (figura 5A) do grupo adulto DC, apresentaram o maior ganho de peso quando comparados com

o grupo DP ($p < 0,012$). Para os machos do grupo adolescente não foi obtida normalidade da amostra sendo utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para análise dos dados, ainda assim os valores medianos entre os dois grupos não foram grandes o suficiente para determinar diferença estatisticamente significativa ($p < 0,059$). Para as fêmeas (figura 5B), não houve diferenças (grupo adolescente: $p < 0,072$; grupo adulto: $p < 0,104$).

O índice de Lee (figura 6) foi avaliado no DPN28, DPN51 e DPN 100. Houve diferença significativa entre os grupos DC e DP para ambos os sexos no DPN 51 ($p < 0,001$), sendo mantida essa diferença estatística ($p < 0,001$) para o grupo das fêmeas no DPN 100.

A figura 7 apresenta os dados obtidos com relação a somatória do peso de tecido adiposo (perigonadal, perirrenal e retroperitoneal) dos machos (A) e fêmeas (B). Pôde-se observar maior acúmulo de gordura entre os ratos DC do grupo adolescente, para ambos os sexos, com significância estatística tanto para os machos ($p < 0,001$) quanto para as fêmeas ($p < 0,018$). Os ratos DC do grupo adulto (DPN 100) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, as fêmeas desse grupo apesar de apresentarem maior média de tecido adiposo (3,476 g) em comparação as ratas controle (2,951 g), não houve diferença estatística ($p < 0,053$).

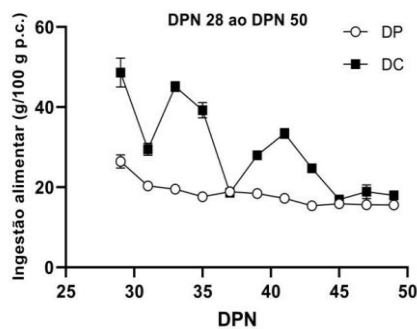
Os resultados dos parâmetros metabólicos se encontram na figura 8 (A1: glicose, A2: colesterol total e A3: triacilglicerol, para os machos, e B1: glicose, B2: colesterol total e B3: triacilglicerol, para as fêmeas). Não foram observadas alterações nos parâmetros plasmáticos analisados entre os machos dos grupos DP e DC, da mesma forma que nas fêmeas do grupo adulto, mas no grupo adolescente de fêmeas DC, houve aumento significativo ($p < 0,038$) da concentração de triacilglicerol plasmático, comparado com o grupo DP.

Na figura 9, podem ser analisados os resultados do GTT que foi realizado em todos os animais no DPN 90. Verifica-se que não houve diferença estatística na concentração plasmática de glicose e na A.U.C. tanto para os machos (figura 9A1 e figura 9A2, respectivamente) como para fêmeas (figura 9B1 e figura 9B2, respectivamente) em comparação com os respectivos controles (grupos DP).

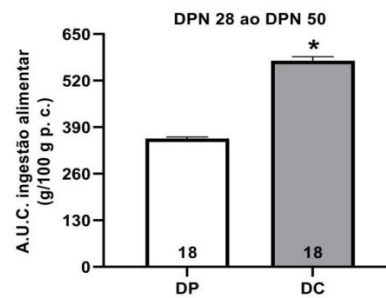
O peso dos órgãos encontra-se na figura 10, sendo: adrenais (A1), rins (A2) e testículos (A3) para os machos; e adrenais (B1), rins (B2), ovários (B3) e útero (B4) para as fêmeas. Não houve alteração significativa do peso dos órgãos estudados em ambos os sexos, quando comparados com os seus respectivos grupos DP.

GRUPO ADOLESCENTE

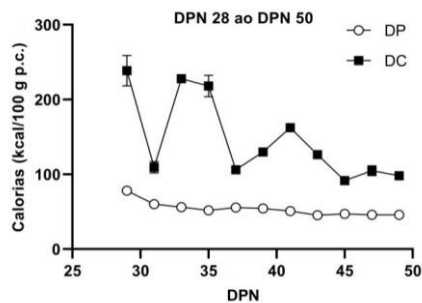
A1



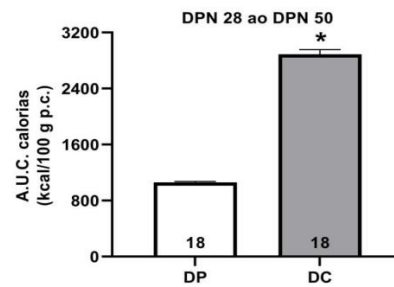
A2



B1

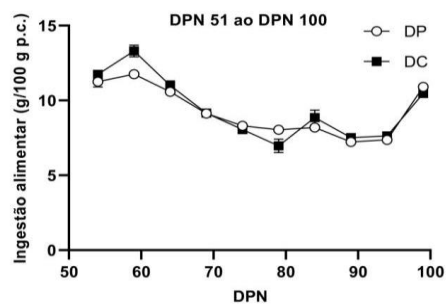


B2

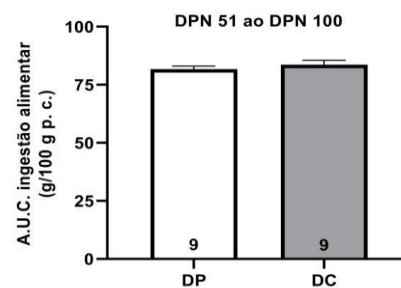


GRUPO ADULTO

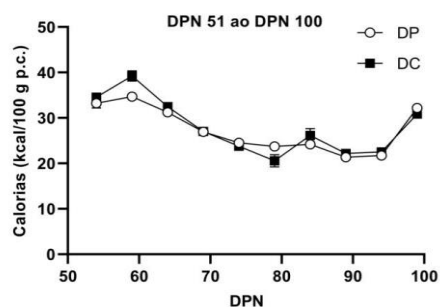
C1



C2



D1



D2

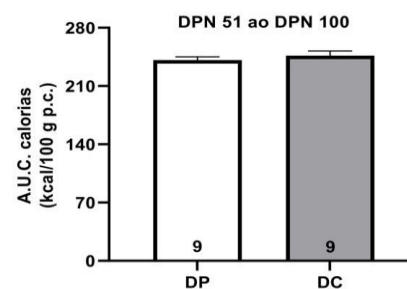
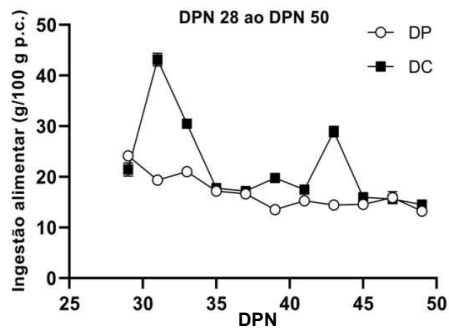


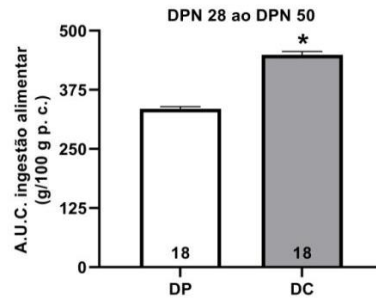
Figura 2. Ingestão alimentar total (A1, C1) e de calorias (B1 e D1) de ratos tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do dia pós-natal (DPN) 28 ao 50 (grupo adolescente: A1 e B1), e de ratos que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto: C1 e D1). Área sob a curva (A.U.C.) da ingestão alimentar total (A2, B2) e calórica (C2, D2) dos grupos DP e DC. Número de animais do grupo na respectiva barra. *Diferença entre o grupo DC e seu respectivo DP ($p < 0,001$).

GRUPO ADOLESCENTE

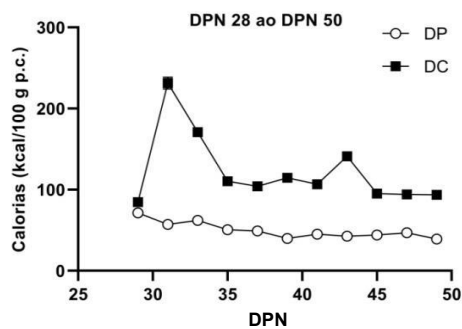
A1



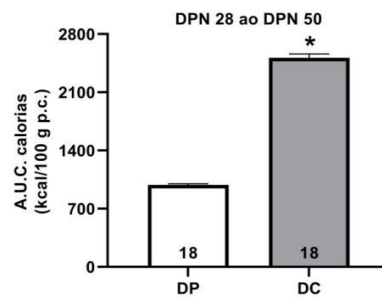
A2



B1

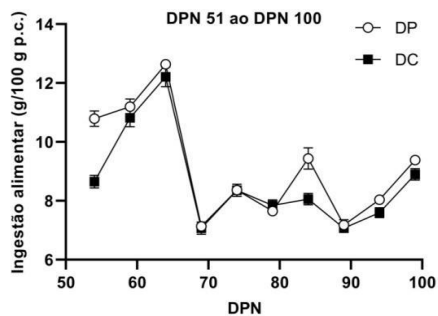


B2

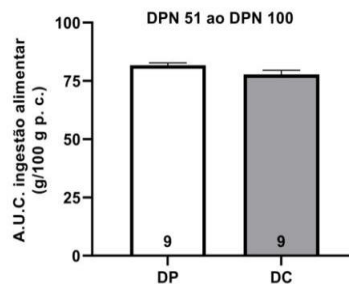


GRUPO ADULTO

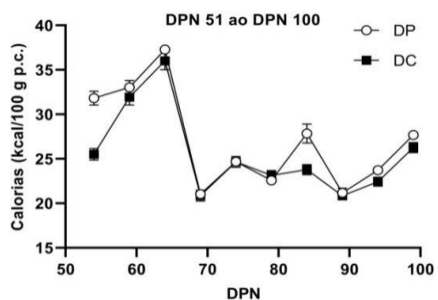
C1



C2



D1



D2

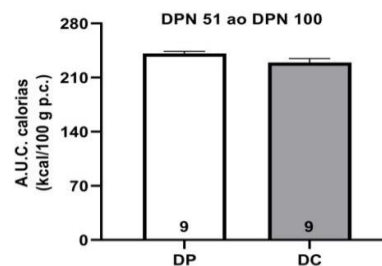
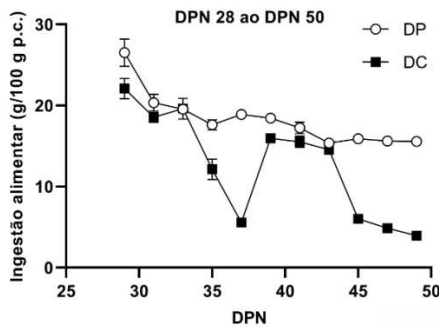


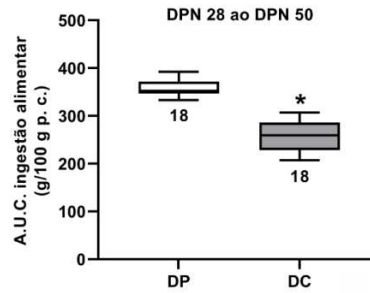
Figura 3. Ingestão alimentar total (A1, C1) e de calorias (B1 e D1) de ratos tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do dia pós-natal (DPN) 28 ao 50 (grupo adolescente: A1 e B1), e de ratos que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto: C1 e D1). Área sob a curva (A.U.C.) da ingestão alimentar total (A2, B2) e calórica (C2, D2) dos grupos DP e DC. Número de animais do grupo na respectiva barra. *Diferença entre o grupo DC e seu respectivo DP ($p < 0,001$).

GRUPO MACHOS

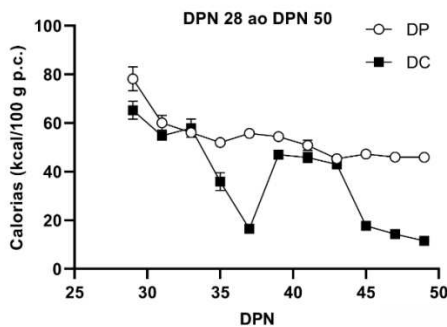
A1



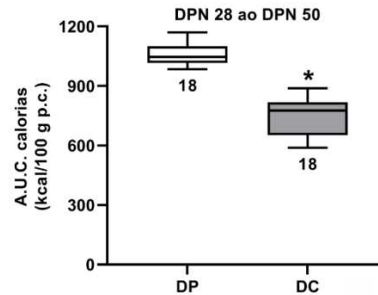
A2



B1

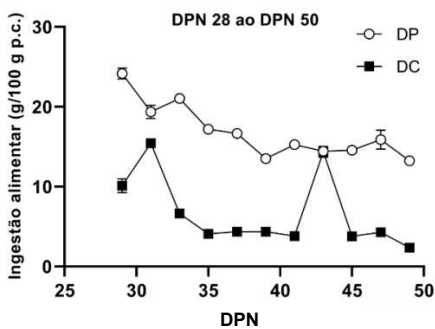


B2

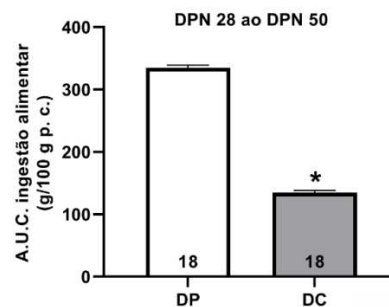


GRUPO FÊMEAS

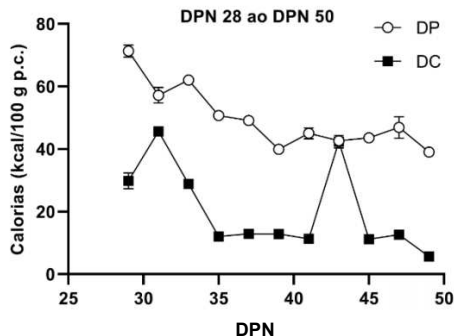
C1



C2



D1



D2

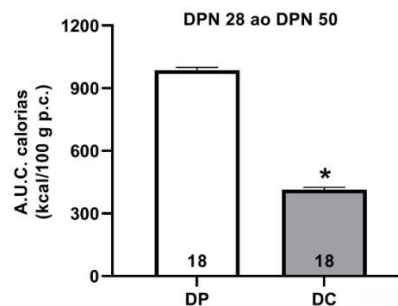


Figura 4. Ingestão alimentar isolada da ração comercial (A1 e C1) e de calorias (B1 e D1) de ratos e de ratas, respectivamente, tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do dia pós-natal (DPN) 28 ao 50. Área sob a curva (A.U.C.) da ingestão alimentar total (A2 e C2) e calórica (B2 e D2) de ratos e ratas dos grupos DP e DC. Gráficos de barras: média \pm EPM. Número de animais do grupo na respectiva barra. Gráficos *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. *Diferença entre o grupo DC e seu respectivo DP ($p < 0,001$).

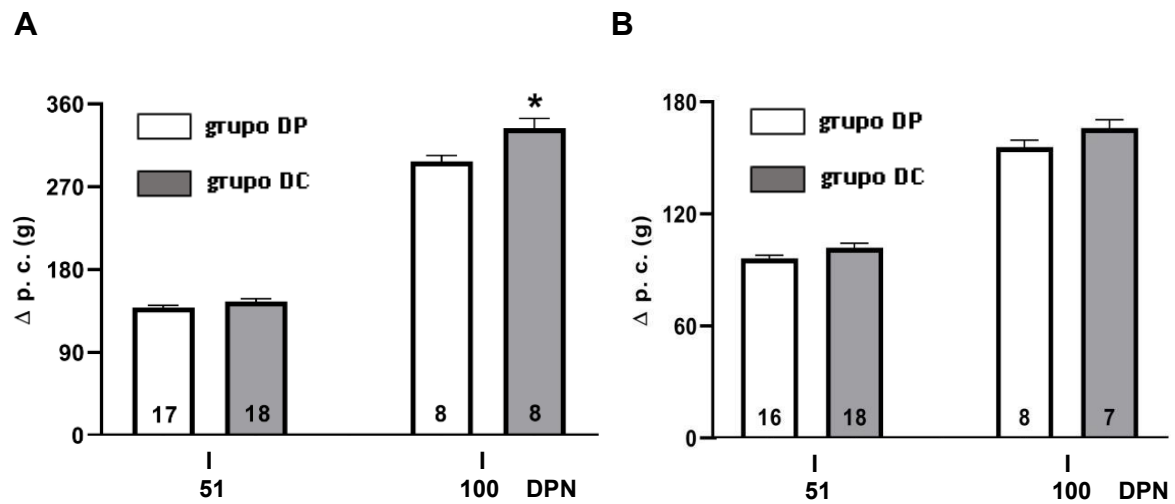


Figura 5. Δ do peso corpóreo (p.c.) de machos (A) e fêmeas (B) em gramas (g), tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto). Gráficos de barras: média \pm EPM. Número de animais do grupo na respectiva barra. *Diferente do grupo DP ($p < 0,012$).

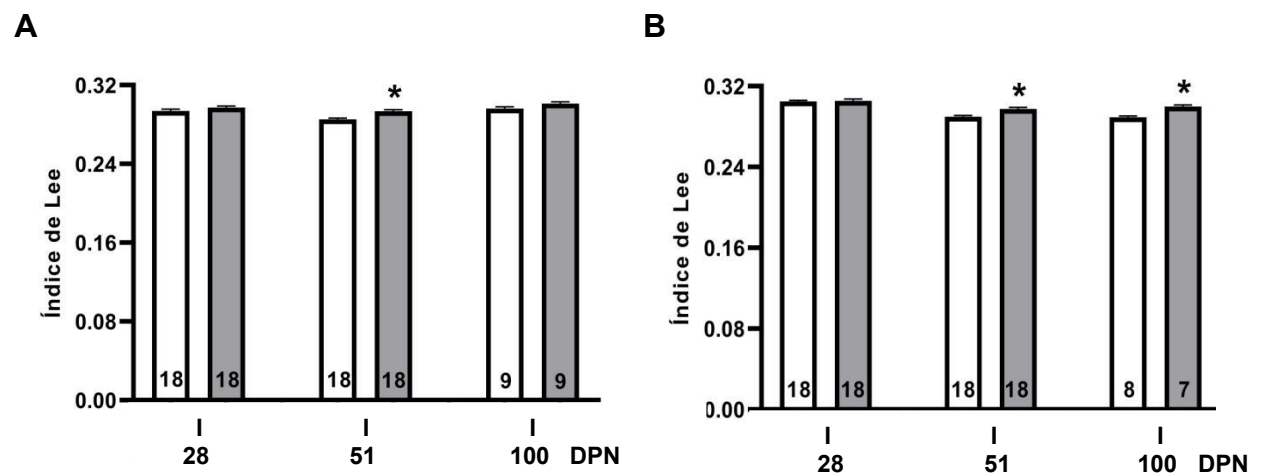


Figura 6. Índice de Lee ($g^{1/3}/cm$) de machos (A) e fêmeas (B), tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam DP do DPN 51 ao 100 (grupo adulto). Valores expressos como média \pm EPM. Número de animais do grupo na respectiva barra. *Diferente do respectivo grupo DP ($p < 0,001$).

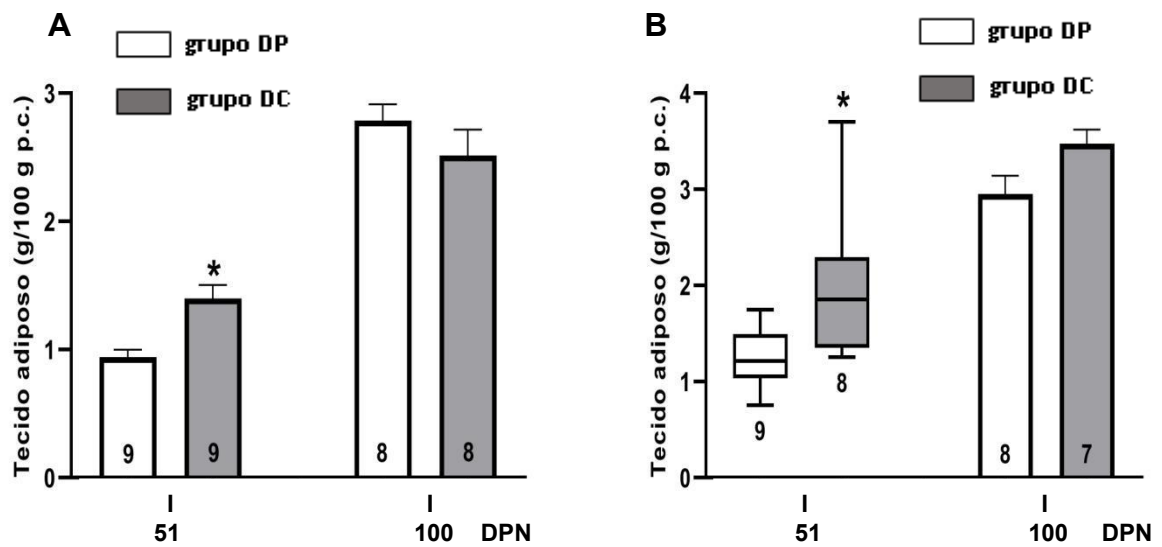


Figura 7. Tecido adiposo de machos (A) e fêmeas (B) tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto). Gráficos de barras: média \pm EPM. Gráficos *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. Número de animais do grupo na respectiva barra. *Diferente do grupo DP (machos: $p < 0,001$; fêmeas: $p < 0,018$).

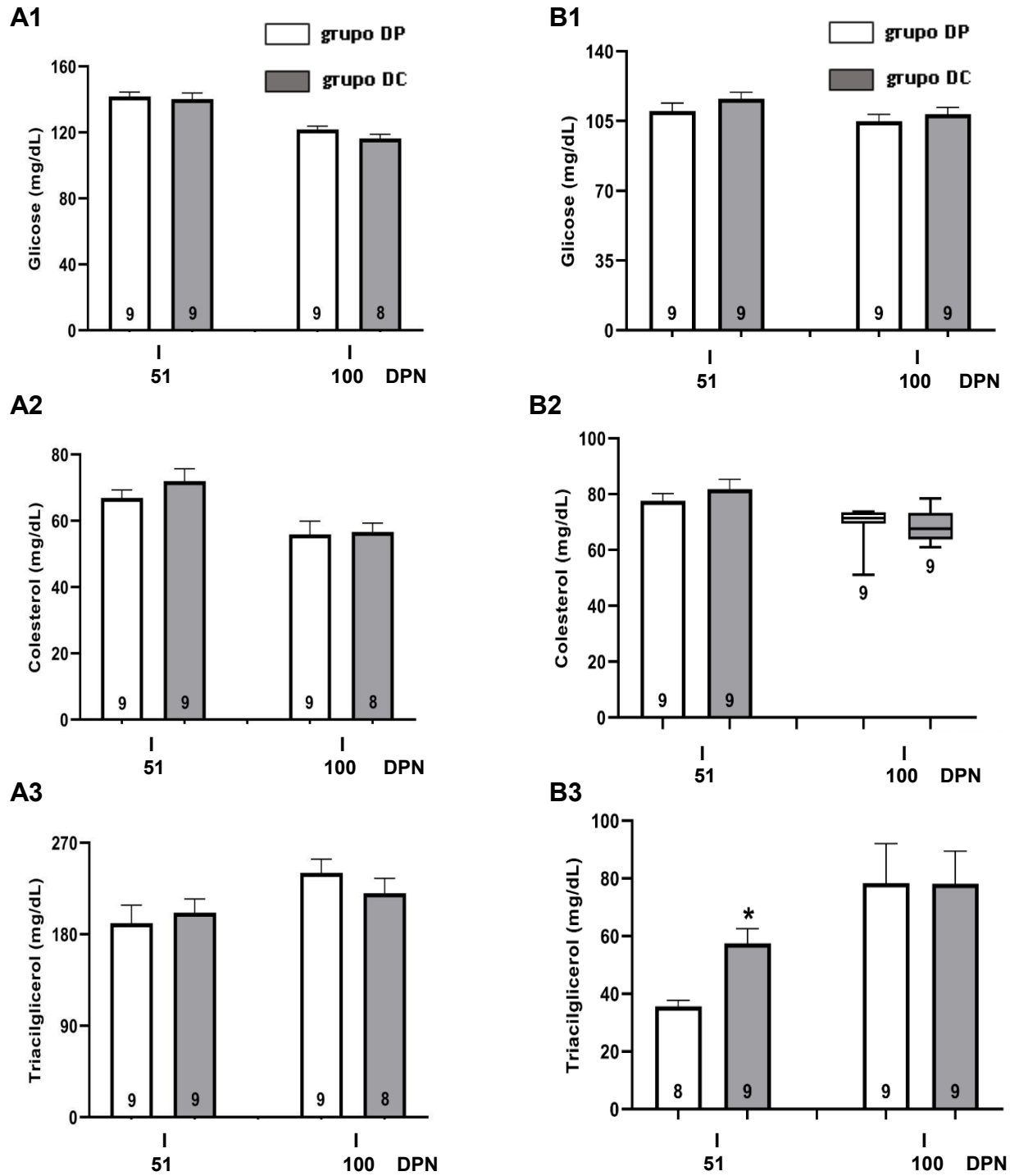
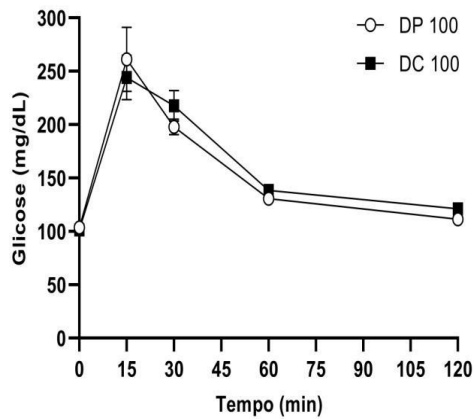
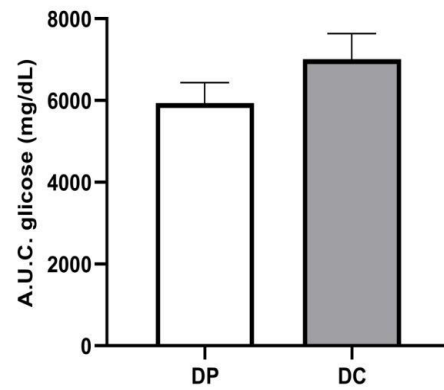


Figura 8. Concentração plasmática média de glicose, colesterol total e triacilglicerol de machos (A) e fêmeas (B) tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto). Gráficos de barras: média \pm EPM. Gráficos *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. Número de animais do grupo na respectiva barra. *Diferente do grupo DP ($p < 0,038$).

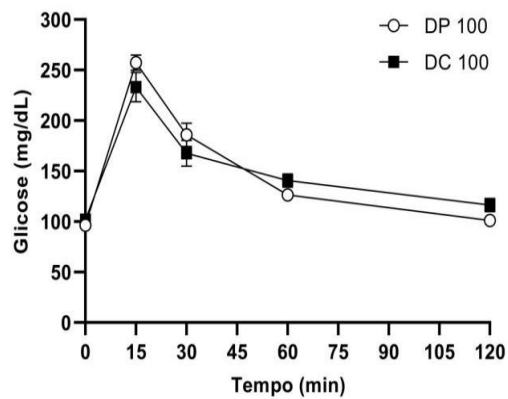
A1



A2



B1



B2

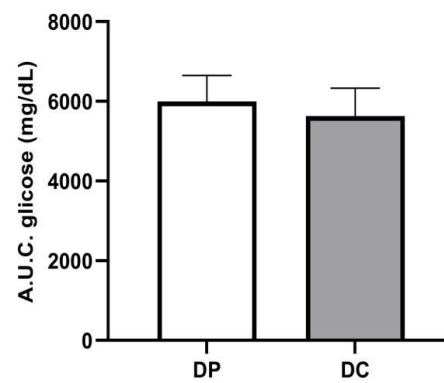


Figura 9. Teste de tolerância à glicose (GTT) realizado no DPN 90 e respectiva área sob a curva (A.U.C.) de machos (A1 e A2, respectivamente) e fêmeas (B1 e B2, respectivamente) tratados com ração padrão (DP) do DPN 51 ao DPN 100 (grupo adulto: DPN 100; n=9 animais/grupo). Valores expressos como média \pm EPM. Número de animais do grupo na respectiva barra.

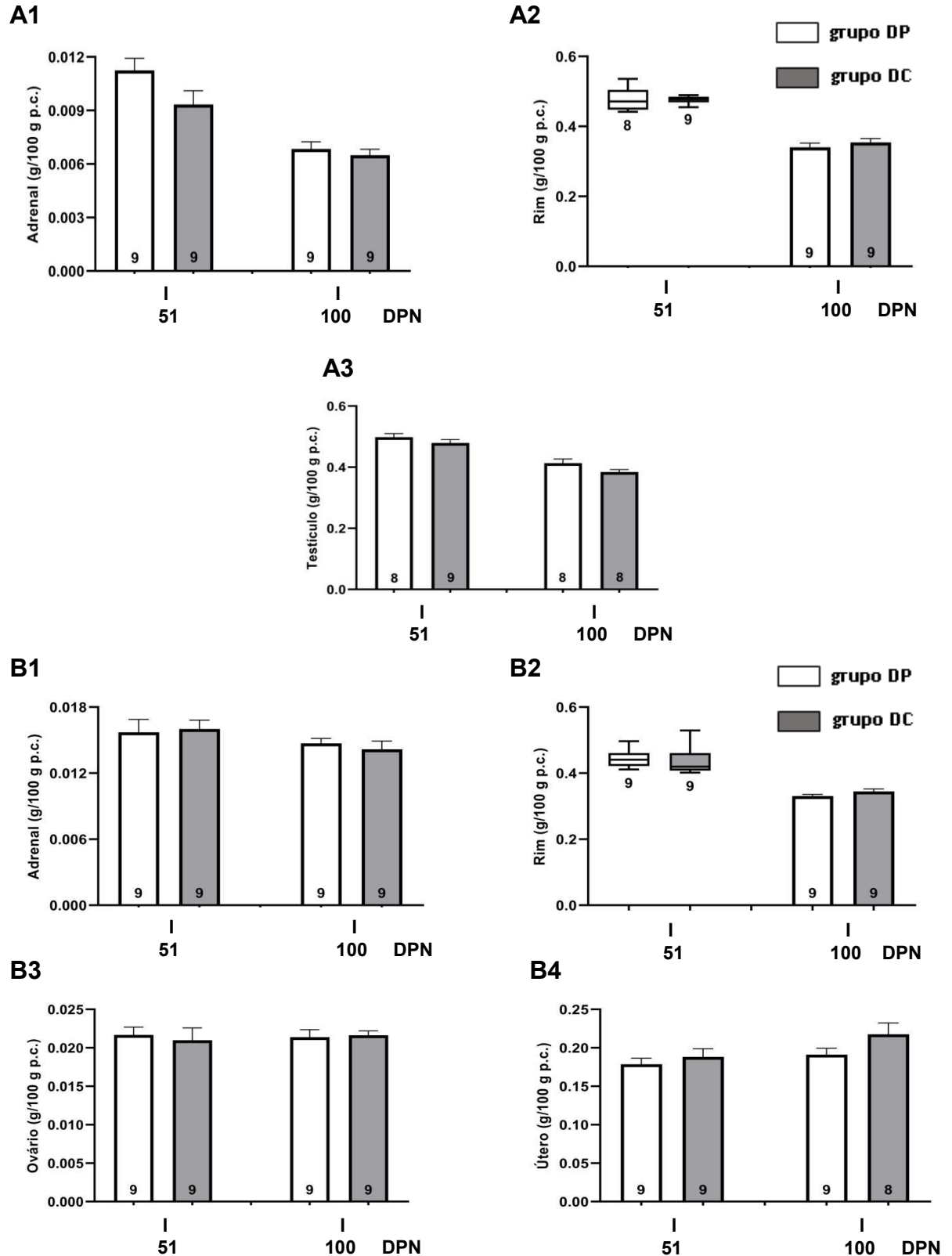


Figura 10. Peso da adrenal (A1 e B1) e do rim (A2 e B2), respectivamente de machos e fêmeas; testículos (A3), ovário (B3) e útero (B4), de ratos tratados com dieta padrão (DP) ou dieta de cafeteria (DC) do DPN 28 ao 50 (grupo adolescente) e de ratos e ratas que receberam ração padrão do DPN 51 ao 100 (grupo adulto). Gráficos de barras: média \pm EPM. Gráficos *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. Número de animais do grupo na respectiva barra.

5 DISCUSSÃO

A oferta intermitente de dieta de cafeteria foi utilizada para simular a exposição esporádica a alimentos hiperpalatáveis. Foi possível observar que, mesmo por um curto período, a dieta foi capaz de promover alterações no consumo alimentar desses animais.

A dieta de cafeteria tem sido utilizada há muitos anos como um modelo dietético capaz de promover adiposidade acentuada e aumento de peso corporal, caracterizada como bom modelo de estudo para o desenvolvimento da obesidade e das suas complicações metabólicas. Os protocolos experimentais são variados e estabelecem uma oferta dietética de forma contínua, associada ou não ao consumo de ração comercial, em períodos longos ou curtos (GILES; JACKMAN; MACLEAN, 2016; LALANZA; SNOEREN, 2021). No entanto, se considerarmos que, apesar de terem aquelas pessoas que substituem completamente a dieta saudável pelo consumo de alimentos palatáveis e ultraprocessados, existem aqueles que só consomem de forma esporádica, mantendo uma alimentação na medida do possível adequada, sem saber dos possíveis impactos deste comportamento para a saúde.

No presente estudo, avaliou-se o efeito da exposição intermitente da dieta de cafeteria por curto período, mantendo a oferta de dieta padrão (ração) durante a oferta dos alimentos hipercalóricos e hiperpalatáveis, na tentativa de aproximar ao máximo o comportamento alimentar humano que, concomitante ao consumo alimentar saudável, consome eventualmente alimentos ultraprocessados. Observou-se, nesse protocolo, predileção apresentada pelos animais, para o consumo dos alimentos de cafeteria, sendo prevalentes no consumo desses alimentos no dia da oferta com baixo consumo da ração padrão. O baixo consumo de ração padrão por animais do grupo experimental durante a oferta da DC observado neste estudo, corrobora com os estudos realizados por Goularte et al. (2012) e Goularte (2015). Em ambos, verificou-se redução significativa do consumo de ração comercial padrão em ratos alimentados com DC, com aumento do consumo e predileção sustentada dos alimentados hiperpalatáveis ao longo do tratamento contínuo por longo período. O maior consumo de alimentos hipercalóricos e baixa ingestão da ração padrão também foram observados por Laudeux, Kim e Nicola (2013) e Martire, Wetbrook e Morris (2015), em protocolos com oferta intermitente. O baixo consumo da ração nutricionalmente adequada, pode implicar em deficiências nutricionais de longo prazo com outras

implicações metabólicas oriundas do déficit nutricional, não consideradas nesse estudo. Nenhum dos estudos aqui analisados, avaliaram as consequências metabólicas associadas ao déficit nutricional promovido pelo consumo da dieta ocidental, que apesar de apresentar alto valor calórico é pobre em nutrientes essenciais para um desenvolvimento físico e metabólico adequado.

No estudo publicado por Vazquez-Herrera, Zepeda-Ruiz e Velazquez-Martinez (2021), durante exposição aguda de DC por 7 dias consecutivos, foi avaliado o comportamento alimentar, padrão de ingestão de alimentos e a sensibilidade dos ratos à recompensa alimentar (compara a preferência por um ambiente associado a alimentos em comparação ao neutro). Os resultados obtidos, sugerem que a dieta de cafeteria pode levar a um comportamento alimentar excessivo e afetar a motivação para comer. O estudo mostrou aumento na ingestão de alimentos associado ao momento de oferta da DC, semelhante ao observado em nosso estudo, o que sugere um padrão de preferência alimentar associado ao comportamento de comer excessivo.

Nesse contexto, Zepeda-Ruiz et al. (2022) investigaram os efeitos da exposição DC na motivação para buscar os alimentos. Os resultados mostraram que a DC levou à redução na motivação para buscar novos alimentos, mesmo após a normalização da dieta, com preferência por alimentos ricos em gordura. Além disso, os autores relataram que a exposição à dieta hipercalórica levou a mudanças estruturais no sistema nervoso central e sugerem que tais mudanças podem estar relacionadas à regulação da ingestão alimentar e podem explicar os efeitos duradouros desse tipo de dieta na motivação para buscar alimentos.

O estudo produzido por Reis et al. (2023), com oferta contínua de DC por 14 dias, destaca que a exposição à dieta por curto período de tempo foi suficiente para promover alterações na ingestão alimentar e promover um comportamento ansioso. Dados recentes apresentados por Ceglia et al. (2023), após oferta contínua de DC por 41 dias, mostram aumento significativo de peso e da ingestão alimentar dos animais, medidas que foram normalizadas após a interrupção da dieta por 28 dias, entretanto, também discutem a ansiedade promovida pela interrupção da dieta de cafeteria. Outros estudos sugerem que a escolha dos alimentos da DC também pode afetar a função cerebral, trazendo implicações para o desenvolvimento de doenças neurológicas sendo um fator crítico na indução da disfunção da memória relacionada à obesidade (ESTADELLA et. al., 2011; FEIJÓ et al., 2019; FERREIRA et. al., 2018;

NICOLAS et. al., 2022). Nossos estudos não avaliaram comportamento, mas é importante mencionar essas alterações.

Observou-se média de peso corpóreo maior apenas entre os machos do grupo DC adulto. Vale ressaltar que o modelo dietético aplicado neste estudo, com oferta da dieta por um curto período e de forma intermitente (dia sim – dia não) pode ter influenciado no ganho de peso final, uma vez que nos dias em que não ocorria a oferta da DC, os animais do grupo experimental apresentavam consumo alimentar reduzido. A maioria dos estudos apontam a efetividade da dieta de cafeteria no ganho de peso corporal, após exposição por longos períodos, sendo necessário de 6 a 8 semanas de dieta contínua para análise de parâmetros metabólicos e observação de alterações significativas (MARQUES et al., 2015; OLIVEIRA, 2017; FEIJÓ et al., 2019). Entretanto, Leigh et al. (2020) avaliaram as diferenças entre oferta contínua e intermitente por um período de 7 semanas, que qualquer padrão de exposição foi capaz de apresentar aumento no ganho de peso, maior volume de tecido adiposo e alterações metabólicas nas concentrações séricas de glicose, insulina, leptina e triacilglicerol. Estudos com exposição em curtos períodos (BONFIM et. al., 2021) ou com a interrupção dos fornecimentos da dieta (CUNHA, 2016), nem sempre apontam para ganho de peso significativo. Entretanto, esses estudos destacam aumento no volume de massa gorda e hiperfagia, também sugerem que, mesmo com a descontinuidade da dieta, a hiperfagia observada acarreta ganho de peso futuro. Em relação ao ganho de peso, situação semelhante foi observada no presente estudo, onde, mesmo não havendo hiperfagia, os machos apresentaram aumento significativo quando comparados ao controle, após a interrupção do fornecimento da dieta.

O presente estudo também mostrou que mesmo na exposição intermitente e por curto período, a DC foi capaz de promover aumento significativo no conteúdo de gordura corporal tanto para os machos quanto para as fêmeas do grupo adolescente, no entanto, a significância estatística não se manteve no grupo adulto. A falta de significância pode ter ocorrido por consequência da cessação do fornecimento da dieta. Estudos são divergentes quanto à interrupção do fornecimento dietético e ao comportamento alimentar, peso e conteúdo de gordura corporal; no estudo de Buchenauer et al. (2009), a interrupção da dieta não influenciou no ganho de peso e no conteúdo de gordura corporal. Por outro lado, Lanza et al. (2014) observaram aumento no peso corpóreo após a retirada da dieta depois de 7 semanas de tratamento contínuo. No mesmo sentido, Cunha (2016), em exposição contínua por

14 dias, observou, após 35 dias, que a interrupção do fornecimento da dieta de cafeteria durante a adolescência, promoveu ajuste nos padrões metabólicos alterados (hiperglicemia e hiperleptinemia) e no conteúdo de gordura corporal e reduziu a massa de gordura na vida adulta, porém não foi capaz de reduzir o ganho de peso. O presente estudo também mostrou que, após a interrupção da dieta, o volume de massa gorda não foi significativo na fase adulta tanto em machos quanto em fêmeas. Entretanto, entre os machos foi possível observar ganho de peso nessa fase.

Por meio do índice de Lee verificou-se que no início do protocolo experimental, no DPN 28, os animais de ambos os grupos (machos e fêmeas), não apresentaram diferenças. Apesar de ainda não serem classificados como obesos, apresentaram diferenças significativas no índice de Lee ao término do protocolo (grupo adolescente) em ambos os sexos; entretanto, após a retirada da dieta, a diferença significativa deste índice permaneceu apenas entre as ratas. Buyukdere, Gulec e Akyol (2019) compararam os efeitos da dieta cafeteria e da dieta hiperlipídica em ratos, para determinar o poder obesogênicos das dietas, comprovando que animais alimentados com dieta de cafeteria apresentaram índice Lee maiores que ratos controle e com dieta hiperlipídica. Alvarez-Monell et al. (2023) avaliaram os efeitos da dieta de cafeteria oferecidas em diferentes concentrações e o exercício físico por 9 semanas em ratos de ambos os sexos. Foi observado que a oferta livre de alimentos hipercalóricos aumentou tanto o peso corporal como o índice de Lee para ambos os sexos, enquanto a restrição no conteúdo de alimentos de cafeteria reduziu esses índices entre as fêmeas, divergente do que foi observado em nosso estudo, que mesmo após a retirada da dieta de cafeteria, mantiveram diferença estatística significativa no índice de Lee.

Não foram observadas alterações significativas nos parâmetros metabólicos avaliados (glicose, colesterol total e triacilglicerol) para os machos, entretanto, foi observada aumento significativo para nas concentrações plasmáticas de triacilglicerol entre as fêmeas do grupo adolescente. Pasqualotto et al. (2021) também não observaram alteração em parâmetros metabólicos de glicose, colesterol total e triacilglicerol, no estudo que avaliou os efeitos da suplementação de caseína na obesidade induzida por DC. Da mesma forma, Reis et. al. (2023) não observaram alterações nesses parâmetros ao avaliar os efeitos metabólicos da DC em machos por um período de 14 dias. Porém, Castro et al. (2014) encontraram alterações significativas nas concentrações de triglicérides em ratos submetidos a DC por 12 dias

consecutivos ainda na primeira infância (a partir dos 10 dias pós nascimento). Da mesma forma, Mballa et al. (2021) observaram que a DC ofertada durante 5 semanas provocou aumento das concentrações de glicose, triacilglicerol e colesterol total.

Não houve diferença estatística na área sob a curva do GTT realizado após a retirada da dieta. A maioria dos estudos já citados, apontam diferentes alterações metabólicas associadas ao consumo de dieta de cafeteria, porém, esses estudos se pautam no fornecimento crônico da dieta hipercalórica, de forma contínua e em alguns casos, como fonte alimentar exclusiva. No presente estudo, foi proposto um modelo intermitente, fornecendo a DC em dias intercalados, por um curto período, sempre acompanhado da ração padrão. Nesse modelo, a proposta foi simular a condição de escolha sobre os estímulos gerados pela dieta hipercalórica, mantendo a oferta da dieta completa e balanceada nutricionalmente. Outros modelos intermitentes propõem ciclos que intercalam ora oferta de ração padrão ora oferta de dieta de cafeteria, em ciclos contínuos de três a sete dias (LEIGH et al., 2020; REIS et al., 2023).

Essas variações nos protocolos experimentais podem influenciar nos dados obtidos dos parâmetros metabólicos observados nesse e em outros estudos. No modelo proposto por Oliveira (2017), comparando os efeitos da oferta contínua de dieta de cafeteria, após restrição alimentar de 4 horas, também não foram observadas alterações metabólicas nem variação de peso dos órgãos. Da mesma forma, não observamos alterações no peso dos órgãos. O autor sugere que o modelo experimental utilizado pode ter promovido ajustes metabólicos devido ao período de restrição alimentar (4 horas). Lanza e Snoeren (2021) discutem que a grande variedade nos protocolos experimentais que utilizam DC pode ser o fator que justifica as divergências e variabilidade nos resultados encontrados de diversos estudos.

Embora no presente estudo não tenha sido observada diferenças no peso dos órgãos reprodutores avaliados, Gastiazoro et al. (2018) mostraram que ratas alimentadas com dieta de cafeteria, apresentaram hiperplasia uterina, observando aumento significativo na proliferação de células do endométrio e inflamação no tecido uterino. No mesmo sentido, Fernandez (2011) não observou alteração no peso dos órgãos reprodutores de machos em seu estudo, entretanto constatou valores aumentados de estradiol e qualidade espermática reduzida em animais alimentados com dieta hipercalórica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foi possível verificar que a exposição intermitente e por curto período da dieta de cafeteria, foi suficiente para promover a alteração no comportamento alimentar de ratos e ratas com aumento da ingestão alimentar e calórica.

Foi possível verificar também alteração no conteúdo de gordura corporal e no índice de Lee de ratos e ratas mesmo sem alteração no ganho de peso corpóreo durante a adolescência. Não foram observadas alterações nos perfis bioquímicos associados ao desenvolvimento de síndrome metabólica.

A interrupção do fornecimento da dieta na vida adulta parece ter sido suficiente para normalizar a ingestão dietética e de energia dos animais de ambos os sexos, bem como dos demais parâmetros avaliados. No entanto, mesmo não tendo observado diferença estatística, parece haver uma tendência em acúmulo de gordura corporal entre as fêmeas e ganho de peso entre os machos.

O modelo experimental aplicado, simula o comportamento alimentar esporádico de alimentos hiperpalatáveis. Análises futuras que relacionem fatores neuroendócrinos podem elucidar melhor as divergências ocorridas entre os sexos, bem como, estudos que avaliem as implicações metabólicas relacionadas às deficiências nutricionais são necessários para compreensão das compensações fisiológicas que podem ocorrer nesse tipo de modelo dietético.

O presente estudo alerta para o risco do consumo, mesmo que eventual, de alimentos de alta densidade calórica e pode contribuir para o desenvolvimento de ações de conscientização e desenvolvimento de hábitos mais saudáveis.

7 CONCLUSÃO

Nesse estudo verificamos que a exposição intermitente à dieta hipercalórica e hiperpalatável, baseada em alimentos ultraprocessados, promoveu aumento da ingestão alimentar e calórica, e que, mesmo não tendo ocorrido aumento de peso, é capaz de aumentar o conteúdo de gordura corporal durante a oferta da dieta na adolescência, fato que pode aumentar o risco para o desenvolvimento de doenças crônicas e cardiovasculares na vida adulta.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, K. T.; SARDINHA, F. L.; TELLES, M. M.; WATANABE, R. L.; NASCIMENTO, C. M.; TAVARES DO CARMO, M. G.; RIBEIRO, E. B. Intake of trans fatty acid-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**, v. 22, n. 7-8, p. 820-829, 2006.
- ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.
- ALVAREZ-MONELL, A.; SUBIAS-GUSILS, A.; MARINÉ-CASADÓ, R.; BOQUÉ, N.; CAIMARI, A.; SOLANAS, M.; ESCORIHUELA, R. M. Impact of calorie-restricted cafeteria diet and treadmill exercise on sweet taste in diet-induced obese female and male rats. **Nutrientes**, v. 15, n. 1, art. 144, p 1-2, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu15010144>
- BARTOLOMUCCI, A.; CABASSI, A.; GOVONI, P.; CERESINI, G.; CERO, C.; BERRA, D.; DADOMO, H.; FRANCESCHINE, P.; DELL'OMO, G.; PARMIGIANI, S.; PALANZA, P. Metabolic consequences and vulnerability to diet-induced obesity in male mice under chronic social stress. **PLoS ONE**, v. 4, n. 1, p. 1-12, 2009.
- BATTÚ, C. E.; RIEGER, D.; LOUREIRO, S.; FURTADO, G. V.; BOCK, H.; PEREIRA, M. L. S.; PESSOA-PUREUR, R.; GONÇALVES, C. A.; PERRY, M. L. S. Alterations of PI3K and Akt signaling pathways in the hippocampus and hypothalamus of Wistar rats treated with highly palatable food. **Nutritional Neuroscience**, v. 15, n. 1, p. 10-17, 2012.
- BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; FOWKES, R. C.; STICKLAND, N. C. A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat offspring. **Endocrinology**, v. 151, n. 4, p. 1451-1461, 2010.
- BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between 'Lee Index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v. 40, p. 527-528, 1968.
- BLOCH, K. V.; KLEIN, C. H.; SZKLO, M.; KUSCHNIR, M. C. C.; ABREU, G. A.; BARUFALDI, L. A. ERICA: prevalências de hipertensão arterial e obesidade em adolescentes brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, supl. 1, p. 9s, 2016.
- BONFIM, T. H. F.; TAVARES, R. L.; VASCONCELOS, M. H. A.; GOUVEIA, M.; NUNES, P. C.; SOARES, N. L.; ALVES, R. C.; CARVALHO, J. L. P.; ALVES, A. F.; PEREIRA, R. A.; CARDOSO, G. A.; SILVA, A. S.; AQUINO, J. S. Potentially obesogenic diets alter metabolic and neurobehavioural parameters in Wistar rats: a comparison between two dietary models. **Journal of Affective Disorders**, v. 279, p. 451-461, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.10.034>
- BRATKE, H.; BRUSERUD, I. S.; BRANNSETH, B.; AßMUS, J.; BJERKNES, R.; ROELANTS, M.; JÚLÍUSSON, P. B. Timing of menarche in Norwegian girls: associations with body mass index, waist circumference and skinfold thickness. **BMC Pediatric**, v. 17, art. 138, p. 1-6, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0893-x>
- BUCHENAUER, T.; BEHREND, P.; BODE, F. J.; HORN, R.; BRABANT, G.; STEPHAN, M.; NAVE, H. Diet induced obesity alters behavior as well as serum levels of corticosterone in rats. **Physiology and Behavior**, v. 98, n. 5, p. 563-569, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.003>
- BUYUKDERE, Y.; GULEC, A.; AKYOL, A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. **PeerJ**, v. 7, art. e6656, 2019. DOI: [10.7717/peerj](https://doi.org/10.7717/peerj)

CASTRO, H.; POMAR, C. A.; PICÓ, C.; SÁNCHEZ, J.; PALOU, A. Cafeteria diet overfeeding in young male rats impairs the adaptive response to fed/fasted conditions and increases adiposity independent of body weight. **International Journal of Obesity**, v. 3, p. 430-437, 2015.

CAVALCANTE, C. J. V.; CORREIA, L. L.; DAMIANI, D. Puberdade Precoce: condições associadas. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 27, n. 2, p 153-162, 2014.

CEGLIA, M.; MISIONI DI BONAVENTURA, M. V.; ROMANO, A.; FRIULI, M.; MISIONI DI BONAVENTURA, E.; GAVITO, A. L.; BOTTICELLI, L.; GAETANI, S.; FONSECA, F. R.; CIFANI, C. Anxiety associated with palatable food withdrawal is reversed by the selective FAAH inhibitor PF-3845: a regional analysis of the contribution of endocannabinoid signaling machinery. **The International Journal of Eating Disorders**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/eat.23917>

COCCURELLO R.; D'AMATO F. R.; MOLES, A. Chronic social stress, hedonism and vulnerability to obesity: lessons from rodents. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 4, p. 537-550, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.05.018>

CUNHA, G. **A influência da exposição e retirada de uma dieta de cafeteria sobre os parâmetros comportamentais, metabólicos e neuroquímicos de ratos Wistar**. 2016. 80F. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; BUENO, A. A.; HABITANTE, C. A.; SOUZA, G. I.; RIBEIRO, E. B.; MOTOYAMA, C. S.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M. A palatable hyperlipidic diet causes obesity and affects brain glucose metabolism in rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, art. 168, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-168>

FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO. The state of food security and nutrition in the world 2020. Transforming food systems for affordable healthy diets. Rome, **FAO**. 2020. DOI: [10.4060/ca9692en](https://doi.org/10.4060/ca9692en)

FEIJÓ, G. D. S.; OLIVEIRA, S.; THOEN, R.; SCHAAB, E. E.; MOURA, A. C.; FRANCO, F.; GIOVENARDI, M.; PORAWSKI, M.; GUEDES, R. P. Food selection of cafeteria diet affects memory dysfunction related to obesity. **Neurochemical Research**, v. 44, n. 8, p. 1869-1877, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02821-5>

FERNANDEZ, C. D. B. **Função reprodutiva em ratos machos obesos por consumo de dieta hipercalórica**. 2011. 87 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1615331>. Acesso em: 23 mar. 2023.

FERREIRA, A.; CASTRO, J. P.; ANDRADE, J. P.; MADEIRA, M. D.; CARDOSO, A. Cafeteria-diet effects on cognitive functions, anxiety, fear response and neurogenesis in the juvenile rat. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 155, p. 197-207, 2018. DOI: [10.1016/j.nlm.2018.07.014](https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.07.014).

FÜLLING, C.; LACH, G.; BASTIAANSEN, T. F. S.; FOUHY, F.; O'DONOVAN, A. N.; VENTURA-SILVA, A. P.; STANTON, C.; DINANA, T. G.; CRYAN, J. F. Adolescent dietary manipulations differentially affect gut microbiota composition and amygdala neuroimmune gene expression in male mice in adulthood. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 87, p. 666-678, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.02.013>

GASTIAZORO, M. P.; GUERRERO-SCHIMPF, M.; DURANDO, M.; LAZZARINO, G. P.; ANDREOLI, M. F.; ZIERAU, O.; LUQUE, E. H.; RAMOS, J. G.; VARAYOUD, J. Induction of uterine hyperplasia after cafeteria diet exposure. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 477, p. 112-120, 2018. DOI: [10.1016/j.mce.2018.06.007](https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.06.007).

GILES, E.D.; JACKMAN, M. R.; MACLEAN, P. S. Modeling diet-induced obesity with obesity-prone rats: implications for studies in females. **Frontiers un Nutrition**, v. 3, art. 50. 2016 DOI: 10.3389/fnut.2016.00050

GOULARTE J. F.; FERREIRA, M. B.; SANVITTO, G. L. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria diet-induced obesity in female rats. **British Journal of Nutrition**,v.108. 2012. DOI: 10.1017/S0007114511006933

GOULARTE, J. F. **Efeito da dieta de cafeteria desde o desmame sobre fatores periféricos e centrais envolvidos com a instalação da puberdade em fêmeas de rato Wistar**. 2015. 151p. Tese (doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia. Porto Alegre, RS. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/117997>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. Diretoria de Pesquisas Coordenação de Trabalho e Rendimento Gerência da Pesquisa de Orçamentos Familiares. Rio de Janeiro: IBGE; 2010. http://www.saude.df.gov.br/wp-content/uploads/2018/08/PNAD_2008-2009.pdf

IBGE. **Pesquisa nacional de saúde do escolar: 2019**. Diretoria de Pesquisas Coordenação de População e Indicadores Sociais. – Rio de Janeiro: IBGE, 2021. 162 p.liv101852.pdf (ibge.gov.br)

KOPP, W. How western diet and lifestyle drive the pandemic of obesity and civilization diseases. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 12, p. 2221–2236, 2019.

JOHNSON, A. R.; WILKERSON, M. D.; SAMPEY, B. P.; TROESTER, M. A.; HAYES, D. N.; MAKOWSKI, L. Cafeteria diet-induced obesity causes oxidative damage in white adipose. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 473, p. 545-550. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.03.113>.

LALANZA, J. F.; CAIMARI, A.; del BAS, J. M.; TORREGROSA, D.; CIGARROA, I.; PALLÀS, M.; CAPDEVILA, L.; AROLA, L.; ESCORIHUELA, R. M. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. **PLoSOne**. v. 9, n. 1, e850492014, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085049>

LALANZA, J. F.; SNOEREN, E. M. S. The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior, **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 122, p. 92-119. 2021. DOI: [org/10.1016/j.neubiorev.2020.11.003](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.11.003).

LARDEUX, S.; KIM, J. J.; NICOLA, S. M. Intermittent access to sweet high-fat liquid induces increased palatability and motivation to consume in a rat model of binge consumption. **Physiology and Behavior**, v. 114–115, p. 21-31, 2013. DOI: [org/10.1016/j.physbeh.2013.03.005](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.03.005).

LAZZERI, G.; TOSTI, C.; PAMMOLLI, A.; TROIANO, G.; VIENO, A.; CANALE, N.; DALMASSO, P.; LEMMA, P.; BORRACCINO, A.; PETRAGLIA, F.; LUISI, S. Overweight and lower age at menarche: evidence from the Italian HBSC cross-sectional survey. **BMC Women Health**, v. 18, art. 168, p. 1-7, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12905-018-0659-0>

LEE, H. S.; LEEM, S.; OH, B.; PARK, T. Effect of interaction between early menarche and genetic polymorphisms on triglyceride. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 25, p. 914-920, 2019.

LEIGH, S. J.; KAAKOUSH, N. O.; BERTOLDO, M. J.; WESTBROOK, R. F.; MRRIS, M. J. Intermittent cafeteria diet identifies fecal microbiome changes as a predictor of spatial recognition memory impairment in female rats. **Translational Psychiatry**, v. 10, art. 36, p. 1-2, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0734-9>

LOUZADA M. L. D. C.; COSTA, C. D. S.; SOUZA, T. N.; CRUZ, G.L. D.; LEVY, R. B.; MONTEIRO, C. A. Impact of the consumption of ultra-processed foods on children, adolescents and adults' health: scope review. **Cadernos de Saúde Pública**, p. 20-37 (suppl 1), 2022. DOI: 10.1590/0102-311X00323020

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

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4a, p. 609-614, 2002.

MARQUES, A. C. R.; GABBIATTI, G. C.; GAVENA, A. A. F.; AMARAL, V. Influência das dietas hipercalóricas sobre os parâmetros de obesidade, dislipidemia e hiperglicemia em ratos. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 8, p.55-62, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17765/1983-1870.2015v8n1p55-62>

MARTIRE, S. I.; WESTBROOK, R. F.; MORRIS, M. J. Effects of long-term cycling between palatable cafeteria diet and regular chow on intake, eating patterns, and response to saccharin and sucrose. **Physiology & Behavior**, v. 139, p. 80–88. DOI: 10.1016/j.physbeh.2014.11.006

MBALLA, D. L. E.; YADANG, F. S. A.; TCHAMGOUE, A. D. ; MBA, J.R.; TCHOKOUAHA, L. R. Y.; BIANG, E. M.; TCHINDA, A. T.; DJOMENI-DZEUFUET, D. P.; AGBOR, G.A. Cafeteria diet-induced metabolic and cardiovascular changes in rats: the role of *piper nigrum* leaf extract. **Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências**, v. 2021, 14, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/5585650>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia alimentar para a população brasileira**. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/guia-alimentar-para-a-populacao-brasileira_2014.pdf/view>. Acesso em: 23 mar. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; VIGITEL BRASIL, 2021. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2021 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. Brasília: MS, 2021.

NERY, C. S.; PINHEIRO, I. L.; MUNIZ, G. S.; VASCONCELOS, D. A. A.; FRANÇA, S. P.; NASCIMENTO, E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 1, p. 49-55, 2011.

NICOLAS, S.; LÉIME, C. S. Ó.; HOBAN, A. E.; HUESTON, C. M.; CRYAN, J. F.; NOLAN, Y. M. Enduring effects of an unhealthy diet during adolescence on systemic but not neurobehavioural measures in adult rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 25, n. 4, p. 657-669 2022. DOI: 10.1080/1028415X.2020.1796041

OLIVEIRA, D. A. **Influência da omissão da primeira refeição da fase ativa de ratas adolescentes sobre o estado nutricional na vida adulta quando se alimentam subsequentemente de dieta padrão ou ocidentalizada.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Recife, 2017.

PASQUALOTTO, K. R.; BRUNOSKI, J.; ALMEIDA, A. C.; RIZZI, M.; RIBEIRO, R. A.; DA SILVA, M. P. B.; DA COSTA, M. G. V. Ações da suplementação com caseína sobre a obesidade e homeostase da glicose em ratas alimentadas com dieta de cafeteria. **Patologia: Molecular, Humana e Experimental**, cap.7 p.67-78, 2021. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.1632128067>.

POPKIN, B. M. Does excessive fast-food consumption impair our health? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 116, p. 11-12, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac110>

REIS, C. G. M.; GOMES, A. R.; TEIXEIRA, A. E.; OLIVEIRA, D. G.; SANTIAGO, C. M. O.; SILVA, A. A.; RIUL, T. R.; OLIVEIRA, E. J. Short-term cafeteria diet is associated with fat mass accumulation, systemic and amygdala inflammation, and anxiety-like behavior in adult male Wistar rats. **Neuroscience**, v. 515, p. 37-52, 2023. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2023.02.001

SAMPEY, B. P.; VANHOOSE, A. M.; WINFIELD, H. M.; FREEMERMAN, A. J.; MUEHLBAUER, M. J.; FUEGER, P. T.; NEWGARD, C. B.; MAKOWSKI, L. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. **Obesity**, v. 19, n. 6, p. 1109–1117, 2011.

SCARANNI, P. O. S. **Consumo de alimentos ultraprocessados e seus efeitos sobre os lipídios plasmáticos e a pressão arterial.** Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) / Tese (doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia em Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/49672/patricia_oliveira_silva_scaranni_en_sp_dout_2020.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Acesso em: 23 mar. 2023.

SIMMONDS, M.; LLEWELLYN, A.; OWEN, C.; WOOLACOTT, N. Predicting adult obesity from child obesity: A systematical review and meta-analysis. **Obesity Review**, v. 17, p. 95-107, 2016.

SOUZA, C. M., STOPA, L. R. S., SANTOS, G. F., TAKASUMI, L. C. N., MARTINS, A. B., GARNICA-SIQUEIRA, M. C., FERREIRA, R. N., DE ANDRADE, F. G., LEITE, C. M., ZAIA, D. A. M., ZAIA, C. T. B. V., UCHOA, E. T. Estradiol protects against ovariectomy-induced susceptibility to the anabolic effects of glucocorticoids in rats. **Life Sciences**, v. 218, p. 185-196, 2019.

SUBIAS-GUSILS, A.; ÁLVAREZ-MONELL, A.; BOQUÉ, N.; CAIMARI, A.; MARINÉ-CASADÓ, R.; ESCORIHUELA, R. M.; SOLANAS, M. Effects of a calorie-restricted cafeteria diet and oleuropein supplementation on adiposity and mRNA expression of energy balance related genes in obese male rats. **Metabolites**, v. 18, n. 2, p. 147, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo13020147>

TRINDER, P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. **Journal of Clinical Pathology**, v. 22, n. 2, p. 158-161, 1969.

TSAN, L.; SUN, S.; HAYES, A. M. R.; BRIDI, L.; CHIRALA, L. S.; NOBLE, E. E.; FODOR, A. A.; KANOSKI, S. E. Early life Western diet-induced memory impairments and gut microbiome changes in female rats are long-lasting despite healthy dietary intervention. **Nutritional Neuroscience**, v. 25, n. 12, p. 2490-2506, 2022. DOI: 10.1080/1028415X.2021.1980697

UNC. Ultra-processed foods: a global threat to public health. **The University of North Carolina at Chapel Hill. Global Food Research Program**, 2021. Disponível em: <https://www.globalfoodresearchprogram.org/wp-content/uploads/2021/04/UPF_ultra-processed_food_fact_sheet.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2023.

VANZELA, E. C.; RIBEIRO, R. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; RODRIGUES, F. B.; BONFLEUR, M. L.; CARNEIRO, E. M.; SOUZA, K. L. A.; BOSCHERO, A. C. Pregnancy restores insulin secretion from pancreatic islets in cafeteria diet-induced obese rats. **American Journal of Physiology**, v. 298, p. R320-R328, 2010.

VAZQUEZ-HERRERA, N. V.; ZEPEDA-RUIZ, W. A.; VELAZQUEZ-MARTINEZ, D. N.; Binge eating behavior and incentive motivation with a cafeteria diet. **Behavioural Processes**, v. 190, art. 104447, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2021.104447>

WHO. **European Regional Obesity Report 2022**. World Health Organization Regional Office for Europe, Copenhagen, 2022. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/353747/9789289057738-eng.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2023.

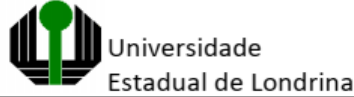
WHO. **Obesity and overweight**. World Health Organization, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 21 nov. 2020.

WILSON, D. A.; DERRAIK, J. G. B.; ROWE, D. L.; HOFMAN, P. L.; CUTFIELD, W. S. Earlier menarche is associated with lower insulin sensitivity and increased adiposity in young adult women. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, art. e0128427, p. 1-10, 2015.

ZAIA, C. T. B. V. **Visualizando citologicamente o ciclo estral**. In: Curi, R.; Procópio, J.; Fernandes, L. C. *Praticando Fisiologia*. São Paulo: Manole, 2005. p. 217-220.

ZEPEDA-RUIZ, W. A.; ABONZA-PÁEZ, H. A.; CERBÓN, M.; VELAZQUEZ-MARTINEZ, D. N. Exposure to a hypercaloric diet produces long lasting changes in motivation. **Behavioural Processes**, v. 202, art. 104737, 2022. DOI: [10.1016/j.beproc.2022.104737](https://doi.org/10.1016/j.beproc.2022.104737)

ANEXO: Aprovação da CEUA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 12/2022

Londrina, 22 de fevereiro de 2022.

Prezado (a) professor (a),

Certificamos que o projeto intitulado: “**Oferta da dieta de cafeteria na infância e adolescência: efeitos em parâmetros metabólicos e reprodutivos em ratos na adolescência e fase adulta**” protocolo CEUA nº 058.2021 sob a responsabilidade de Cássia Thais Bussamra Vieira Zaia, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL) no dia 22/02/2022.

Este projeto tem por objetivo avaliar, em ratos e ratas nas fases da adolescência e adulta, os efeitos da submissão de dieta de cafeteria, durante a adolescência sobre o metabolismo energético e sistema reprodutor.

Grau de invasividade: GI2.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa científica
Vigência da autorização	22/02/2022 a 31/12/2022
Espécie/ linhagem/ raça	<i>Ratus norvegicus</i> - Linhagem Wistar
Nº de animais	32
Peso/ Idade	Rato heterogênico Wistar 240-260g 16 Rato heterogênico Wistar 350-450g 16
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina - UEL
Amostras a serem coletadas	Sangue, cérebro com tronco encefálico, hipófise rim, adrenal, fígado, tecido adiposo, útero, ovários e testículos.

Cumprir orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Em cumprimento às exigências do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), em até 30 dias da finalização do projeto de pesquisa ou extensão envolvendo o uso de animais (verificar período de vigência expresso neste ofício), é necessário encaminhar relatório da descrição de uso de animais para ceua@uel.br, conforme modelo disponível no site da CEUA: <http://www.uel.br/comites/ceua/pages/relatorio-de-projetos.php>.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo-me, cordialmente,


Profª Drª Patricia Chimin Perandini
Coordenadora da CEUA/UEL

Ilmo.(a) Sr.(a)
Prof. (a) Dr. (a) Cássia Thais Bussamra Vieira Zaia
Responsável pelo projeto
C/C para a Chefia do Departamento de Ciências Fisiológicas
C/C para a Direção do Centro de Ciências Biológicas/CCB
C/C para o Biotério Central/ CCB