UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

“Efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas sobre parâmetros comportamentais e biológicos em ratos da linhagem *Wistar*”.

Renata Tavares Beschizza Pini

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Psicobiologia.

Ribeirão Preto - SP

2016

RENATA TAVARES BESCHIZZA PINI

“Efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas sobre parâmetros comportamentais e biológicos em ratos da linhagem *Wistar*”.

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião de Sousa Almeida.

Co-Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Telma Maria Braga Costa.

Ribeirão Preto - SP

2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Pini, Renata Tavares Beschizza

Efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas sobre parâmetros comportamentais e biológicos em ratos da linhagem *Wistar*. Ribeirão Preto, 2016.

125 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Psicobiologia.

Orientador: Almeida, Sebastião de Sousa.

1. Dietas Hipercalóricas. 2. Análises Metabólicas. 3. Ansiedade. 4. Aprendizagem. 5. Memória.

PINI, Renata Tavares Beschizza

Efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas sobre parâmetros comportamentais e biológicos em ratos da linhagem *Wistar*

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Psicobiologia.

Orientador: Sebastião de Sousa Almeida.

Co-Orientadora: Telma Maria Braga Costa.

Aprovação em:

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me carregar em seus braços na presença de obstáculos e também por trilhar meu caminho de oportunidades e realizações maravilhosas.

Agradeço aos meus pais, José João e Maria Izilda, por sempre estarem ao meu lado oferecendo apoio e muito amor e por sempre terem me proporcionando as condições necessárias para minha formação.

Ao meu irmão, Ricardo, e a minha cunhada, Josi, por me estimularem na busca pela melhor direção.

Ao meu marido, Lucas, por sempre estar ao meu lado acreditando em meu potencial e participando de todos os momentos da minha vida. Muito obrigada pelo apoio, paciência, companheirismo, amizade e amor. Obrigada especialmente pelo auxílio na realização deste trabalho.

Agradeço aos meus avós, ausentes e presentes, à Eduarda, aos meus amigos e também aos familiares por mostrarem que a vida não possui significado algum sem vocês.

À família do Lucas, por terem se tornado minha segunda família, sempre me possibilitando momentos de felicidade.

Agradeço aos meus orientadores, Prof. Dr. Sebastião de Sousa Almeida e Prof.^a Dr.^a Telma Maria Braga Costa, pelo apoio e disposição, contribuindo para minha formação profissional.

Aos colegas de laboratório, ao Rodrigo, pelo grande auxílio com os animais e à Juliana Mazzei, pela ajuda e carinho com a manipulação dos animais.

Ao Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior pela parceria. Agradeço também à Paula, técnica de laboratório, pelo auxílio com as análises e por nossa amizade!

À secretária da Psicobiologia, Renata Vicentini, com seu carinho e respeito. Aos técnicos do Biotério da Clínica Médica que muito me auxiliaram no sacrifício dos animais. Às secretárias da Pós-Graduação pelo carinho e atenção.

Às Prof.^a Dr.^a Marisa Tomoe Hebihara Fukuda, pelo auxílio com valiosas sugestões no trabalho, pelo carinho e pela amizade.

E finalmente ao CNPq pelo auxílio financeiro.

RESUMO

PINI, R.T.B. **Efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas sobre parâmetros comportamentais e biológicos em ratos da linhagem Wistar**. 2016. 125 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia Da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas em comportamentos de ansiedade, processos de aprendizagem e memória e alterações metabólicas. Os animais foram divididos em seis grupos experimentais, de acordo com a condição nutricional. 1) Controle (C); 2) Dieta de Cafeteria (DC); 3) Dieta Hiperlipídica (DH); 4) Controle AIN-93 (C/AIN-93); 5) Dieta de Cafeteria AIN-93 (DC/AIN-93); e 6) Dieta Hiperlipídica AIN-93 (DH/AIN-93), posteriormente, os grupos foram subdivididos em dois grupos independentes, conforme a tarefa à qual foram submetidos. Pesagens foram realizadas semanalmente até os 98 dias de vida; foram verificados os pesos do fígado, do coração e o peso de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal e foram realizadas dosagens de glicose, triglicérides, TGO e TGP no soro e gordura total, colesterol total e triglicérides no fígado. Os testes utilizados: Labirinto em T Elevado (LTE), Caixa Claro/Escuro e Labirinto Aquático de Morris (LAM). Os resultados de peso corporal, os dados comportamentais do LAM, do LTE e os dados de peso dos tecidos extraídos no dia do sacrifício e as análises bioquímicas foram submetidos a uma Análise de Variância (ANOVA). Quando apropriado, foi utilizado o teste de comparações múltiplas de *Newman-Keuls* ($p < 0,05$). Os dados comportamentais do teste claro/escuro foram submetidos ao teste *t-Student* ($p < 0,05$). Animais tratados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores medidas de peso e ganho de peso comparados aos animais controle e dieta de cafeteria, tratados com *pellet* e com dieta AIN-93. Animais DH1, DC1, DH1 AIN-93, DH2 AIN-93 e DH2 apresentaram maior peso no dia do sacrifício. Animais DH1, DH1 AIN-93, DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal. Animais DH1 AIN-93 e DC2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de glicose. Animais C2, DH2 e DC2 apresentaram maiores níveis de triglicérides. Animais DH1 e C1 apresentaram menores valores de TGO. Animais C2 e C2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de TGO. Animais C1, DH1, C2 e DH2 apresentaram maiores níveis de TGP. Animais DH1 AIN-93, DH1, DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maiores valores de gordura total no fígado. Animais DH1 AIN-93 e DH2 apresentaram maiores níveis de colesterol no fígado. Animais DH1, DC1, DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de triglicérides no fígado. Com relação ao consumo alimentar, animais DH apresentaram maior consumo calórico e maior consumo lipídico quando comparados aos animais C e DC, com ração em *pellet* ou dieta AIN-93. Com relação ao LTE, não foram verificadas diferenças nas esquivas e na fuga. Animais DC1, DH1 e DH1 AIN-93 apresentaram menores níveis de ansiedade verificados a partir dos dados do teste da caixa claro-escuro. Animais DC2 AIN-93 apresentaram pior desempenho em tarefa de memória. Os dados obtidos a partir deste estudo demonstraram que as dietas utilizadas foram capazes de acarretar ganho de peso, acúmulo de tecido adiposo, alterações metabólicas, diminuição da ansiedade nos animais e pior desempenho em uma tarefa de memória em um dos grupos nutricionais.

Palavras-chave: Dietas hipercalóricas, análises metabólicas, ansiedade, aprendizagem, memória.

ABSTRACT

PINI, R.T.B. **Effects of two experimental models of hypercaloric diets on behavioral and biological parameters in Wistar rats.** 2016. 125 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia Da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

The aim of this study was to investigate the effects of two experimental hypercaloric diets on anxiety behaviors, learning and memory processes and metabolic changes. The animals were divided into six experimental groups, according to the nutritional condition. 1) Control (C); 2) Cafeteria Diet (CD); 3) Fat Diet (FD); 4) Control AIN-93 (C/AIN-93); 5) Cafeteria Diet AIN-93 (CD/AIN-93); e 6) Fat Diet AIN-93 (FD/AIN-93), posteriorly, the groups were subdivided into two independent groups, according to the task that they were submitted. Weighing were carried out weekly until 98 days of life; weights of liver, heart, retroperitoneal and epididymal adipose tissue were checked and glucose, triglycerides, AST, ALT levels in serum and total fat liver, total cholesterol and triglycerides levels in liver were measured. Elevated T Maze (ETM), Light/Dark Box and Morris Water Maze (MWM) tests were used. The body weight data, the behavioral data of MWM and ETM, the tissues weight data extracted on the sacrifice day and the biochemical analysis were subjected to analysis of variance (ANOVA). When appropriate, the multiple comparisons of Newman-Keuls test were used ($p < 0.05$). The behavioral data at the light/dark box were subjected to the t-Student test ($p < 0.05$). Animals treated with fat diet presented higher body weight and weight gain compared to the control and cafeteria diet animals, treated with lab chow and AIN-93 diet. FD1, CD1, FD1 AIN-93, FD2 AIN-93 and FD2 animals presented higher weight at the sacrifice day. FD1, FD1 AIN-93, FD2 and FD2 AIN-93 animals presented higher retroperitoneal and epididymal adipose tissue accumulation. FD1 AIN-93 and CD2 AIN-93 animals presented higher glucose levels. C2, FD2 and CD2 animals presented higher triglycerides levels. FD1 and C1 animals presented lower AST levels. C2 and C2 AIN-93 animals presented higher AST levels. C1, FD1, C2 and FD2 animals presented higher ALT levels. FD1 AIN-93, FD1, FD2 and FD2 AIN-93 animals presented higher total liver fat. FD1 AIN-93 and FD2 animals presented higher total cholesterol levels at liver. FD1, CD1, FD2 and FD2 AIN-93 animals presented higher triglycerides levels at liver. Relative to food consumption, FD animals presented higher caloric intake and higher lipid intake compared to C and CD animals, whether they have received lab chow or AIN-93 diet. Regarding the ETM, it has not been verified differences regarding the avoidances and escape. CD1, FD1 and FD1 AIN-93 animals presented lower anxiety levels checked at the light/dark box. CD2 AIN-93 animals presented worse performance at the memory retention test. The data obtained from this study suggest that the diets were capable of causing weight gain, adipose tissue accumulation, metabolic changes, decreased anxiety levels and lead to worse performance memory at a memory retention test in one of the nutritional groups.

Keywords: Hypercaloric diets, metabolic analysis, anxiety, learning, memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Apresentação dos alimentos da Dieta de Cafeteria.	33
Figura 2 – Apresentação dos alimentos da Dieta Hiperlipídica.	34
Figura 3 – Imagem do Labirinto em T Elevado.	37
Figura 4 – Imagem da Caixa Claro Escuro.	38
Figura 5 – Imagem do Labirinto Aquático de Morris.	40
Figura 6 – Histograma representativo do ganho de peso das ninhadas de ratos <i>Wistar</i> tratados com ração em pellet (n = 12) e dieta AIN-93 (n = 10) (Média ± EPM) durante o período de lactação.	47
Figura 7 – Histograma representativo da perda de peso das ratas <i>Wistar</i> mães tratadas com ração em pellet (n = 12) e dieta AIN-93 (n = 10) (Média ± EPM) durante o período de lactação. * p<0,05 comparado as ratas tratadas com dieta AIN-93, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	48
Figura 8 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo C2, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.	58
Figura 9 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DC2, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.	59
Figura 10 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DH2, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.	59
Figura 11 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo C2 AIN-93, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.	60
Figura 12 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DC2 AIN-93, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.	60
Figura 13 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DH2 AIN-93, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.	60
Figura 14 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13) e DH1 (n=13) durante as oito semanas de tratamento nutricional. a) * p<0,05, comparado ao grupo C1, # p<0,05, comparado ao grupo DH1 e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1, b) * p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1 e c) * p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	64
Figura 15 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13) durante as oito semanas de tratamento nutricional. a) * p<0,05, comparado ao grupo C1 AIN-93, # p<0,05, comparado ao grupo DH1 AIN-93 e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1 AIN-93, b) * p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1 AIN-93 e c) * p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1 AIN-93, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	65

Figura 16 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13) e DH2 (n=13) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. a) [#] p<0,05, comparado ao grupo DH2 e [¥] p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, b) [*] p<0,05, comparado ao grupo C2, [#] p<0,05, comparado ao grupo DH2 e [¥] p<0,05, comparado ao grupo DC2 e c) [*] p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	67
Figura 17 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. a) [*] p< 0,05, comparado ao grupo C2 AIN-93, [#] p<0,05, comparado ao grupo DH2 AIN-93 e [¥] p<0,05, comparado ao grupo DC2 AIN-93, b) [*] p<0,05, comparado ao grupo C2 AIN-93, [#] p<0,05, comparado ao grupo DH2 AIN-93 e [¥] p<0,05, comparado ao grupo DC2 AIN-93 e c) [*] p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	68
Figura 18 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos C (n=25) e C AIN-93 (n=23) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. [*] p< 0,05, comparado ao grupo C, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	69
Figura 19 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos DC (n=26) e DC AIN-93 (n=22) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. [*] p< 0,05, comparado ao grupo DC, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	71
Figura 20 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos <i>Wistar</i> a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média ± EPM) dos grupos DH (n=26) e DH AIN-93 (n=24) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. [*] p< 0,05, comparado ao grupo DH, na mesma semana, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	71
Figura 21 – Histograma representativo do comportamento de ratos <i>Wistar</i> no LTE. a) Esquiva inibitória e b) Fuga de ratos <i>Wistar</i> (Média ± EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13) e DH1 (n=13). LB: Linha de base; E1: Esquiva 1; E2: Esquiva 2. [*] p<0,05, comparado a LB e E1, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	72
Figura 22 – Histograma representativo do comportamento de ratos <i>Wistar</i> no LTE. a) Esquiva inibitória e b) Fuga de ratos <i>Wistar</i> (Média ± EPM) dos grupos C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13). LB: Linha de base; E1: Esquiva 1; E2: Esquiva 2. [*] p<0,05, comparado a LB e E1, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	73
Figura 23 – Latência de fuga durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). [*] p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	75
Figura 24 – Distância Navegada durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). [*] p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	76
Figura 25 – Velocidade de natação durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). [*] p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	76

Figura 26 – Ângulo de deslocamento inicial durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	77
Figura 27 – Movimento de rotação durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	77
Figura 28 – Porcentagem de tempo de natação em cada um dos quatro quadrantes imaginários do Labirinto Aquático de Morris, na <i>probe trial</i> (Média ± EPM) dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 em relação ao tempo de permanência em Q2, Q3 e Q4, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	78
Figura 29 – Latência de fuga durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	78
Figura 30 – Distância navegada durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	79
Figura 31 – Velocidade de natação durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13).	79
Figura 32 – Ângulo de deslocamento inicial durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	80
Figura 33 – Movimento de rotação durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * p<0,05 comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	80
Figura 34 – Latência de fuga durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	81
Figura 35 – Distância Navegada durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	81
Figura 36 – Velocidade de natação durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	82
Figura 37 – Ângulo de deslocamento inicial durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	83
Figura 38 – Movimento de rotação durante a fase de aprendizagem (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparando as tentativas, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	83

Figura 39 – Porcentagem de tempo de natação em cada um dos quatro quadrantes imaginários do Labirinto Aquático de Morris, na <i>probe trial</i> (Média ± EPM) dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 em relação ao tempo de permanência em Q2, Q3 e Q4, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	84
Figura 40 – Latência de fuga durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparado a 24 ^a e 26 ^a tentativas dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e comparado a 24 ^a tentativa dele mesmo, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	84
Figura 41 – Distância navegada durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparado a 24 ^a e 26 ^a tentativas dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e comparado a 24 ^a tentativa dele mesmo, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	85
Figura 42 – Velocidade de natação durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10).	85
Figura 43 – Ângulo de deslocamento inicial durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparado a 24 ^a tentativa, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	86
Figura 44 – Movimento de rotação durante o teste de retenção de memória (Média ± EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * p<0,05 comparado a 24 ^a e 26 ^a tentativas dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e comparado a 24 ^a tentativa dele mesmo, de acordo com o teste <i>Post Hoc</i> de <i>Newman-Keuls</i>	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis de Garantia por Kg de Produto.	31
Tabela 2 - Composição da Dieta Hiperlipídica (%).	34
Tabela 3 - Composição da Dieta Controle (%).	35
Tabela 4 - Valores em porcentagem de ganho ou perda de peso das ratas mães tratadas com ração em <i>pellet</i> (n = 12) e dieta AIN-93 (n = 10) durante o período de lactação, do nascimento até os 21 dias de vida dos filhotes.	48
Tabela 5 – Peso de ratos Wistar (Média ± EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13), DH1 (n=13), C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13), do desmame até os 70 dias de vida.	49
Tabela 6 – Ganho de peso semanal de ratos Wistar (Média ± EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13), DH1 (n=13), C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13), da 1ª até a 7ª semana de tratamento nutricional.	49
Tabela 7 - Valores em porcentagem de ganho de peso dos animais dos grupos C1 (n= 12), DC1 (n= 13), DH1 (n= 13), C1 AIN-93 (n= 13), DC1 AIN-93 (n= 11) e DH1 AIN-93 (n= 13), da 1ª até a 7ª semana de tratamento nutricional.	50
Tabela 8 - Valores em porcentagem de peso dos animais dos grupos DC1 (n= 13) e DH1 (n= 13) comparados aos animais do grupo C1 (n= 12) e valores em porcentagem de peso dos animais dos grupos DC1 AIN-93 (n= 11) e DH1 AIN-93 (n= 13) comparados aos animais do grupo C1 AIN-93 (n= 13) da 1ª até a 7ª semana de tratamento nutricional.	50
Tabela 9 – Peso de ratos <i>Wistar</i> , relação do peso do tecido adiposo retroperitoneal pelo peso dos animais e relação do peso do tecido adiposo epididimal pelo peso dos animais (Média ± EPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.	51
Tabela 10 - Valores médios de peso em gramas do fígado, coração e dos tecidos adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais (Média ± EPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.	52
Tabela 11 - Valores de glicose, triglicérides, TGO e TGP do soro dos animais (Média ± DPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.	53
Tabela 12 - Valores de gordura total no fígado (g/gT) dos animais, colesterol total (mg/gG) e triglicérides (mg/gG) do fígado dos animais (Média ± DPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.	53
Tabela 13 – Peso de ratos <i>Wistar</i> (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), do desmame até os 98 dias de vida.	54
Tabela 14 – Ganho de peso semanal de ratos Wistar (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), da 1ª até a 11ª semana de tratamento nutricional.	55
Tabela 15 - Valores em porcentagem de ganho de peso dos animais dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), da 1ª até a 11ª semana de tratamento nutricional.	55
Tabela 16 - Valores em porcentagem de peso dos animais dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), da 1ª até a 11ª semana de tratamento nutricional.	56

Tabela 17 – Peso de ratos Wistar, relação do peso do tecido adiposo retroperitoneal pelo peso dos animais e relação do peso do tecido adiposo epididimal pelo peso dos animais (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.	57
Tabela 18 - Valores médios de peso em gramas do fígado, coração e dos tecidos adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.	57
Tabela 19 - Valores de glicose, triglicérides, TGO e TGP do soro dos animais (Média ± DPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.	62
Tabela 20 - Valores de gordura total no fígado (g/gT) dos animais, colesterol total (mg/gG) e triglicérides (mg/gG) do fígado dos animais (Média ± DPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.	62
Tabela 21 - Valores de latência, número de transições, movimentos no lado claro, movimentos no lado escuro, tempo no lado claro, tempo no lado escuro e número de levantamentos dos animais (Média ± DPM) dos grupos C1 (n= 12), DC1 (n= 14) e DH1 (n=13), no teste da caixa claro/escuro.	74
Tabela 22 - Valores de latência, número de transições, movimentos no lado claro, movimentos no lado escuro, tempo no lado claro, tempo no lado escuro e número de levantamentos dos animais (Média ± EPM) dos grupos C1 AIN-93 (n= 13), DC1 AIN-93 (n= 11) e DH1 AIN-93 (n=13), no teste da caixa claro/escuro.	74

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Delineamento Experimental adotado durante os períodos de lactação e pós-lactação.	29
Quadro 2 – Alimentos utilizados na Dieta de Cafeteria.	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Obesidade	16
1.2. Ansiedade	17
1.3. Aprendizagem e Memória	19
1.4. Justificativa	22
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo Geral	25
2.2. Objetivos Específicos	25
3. MATERIAL E MÉTODO	26
3.1. Sujeitos	27
3.2. Composição das Ninhadas	27
3.3. Alojamento e Manutenção dos Animais	27
3.4. Delineamento Experimental	28
3.5. Composição e Procedimento para o Oferecimento das Dietas	31
3.6. Equipamentos e Procedimentos	36
3.6.1. Labirinto em T Elevado	36
3.6.2. Caixa Claro Escuro	37
3.6.3. Labirinto Aquático de Morris	38
3.6.4. Composição Centesimal	40
3.7. Métodos de Eutanásia	44
3.8. Análises Laboratoriais	44
3.8.1. Determinação de Glicose Sérica, Triglicérides, TGO e TGP do soro e determinação de Colesterol Total e Triglicérides do fígado	45
3.9. Análise dos Dados	45
4. RESULTADOS	46

4.1. Peso Corporal das Ninhadas e Ratas Mães	47
4.2. Medidas de Peso (Corporal, Fígado, Tecido Adiposo Retroperitoneal e Epididimal) e Medidas Metabólicas	48
4.3. Composição Centesimal dos alimentos oferecidos aos animais de todos os grupos nutricionais e Medidas de Consumo Alimentar em gramas, calorias e lipídeo.	63
4.4. Análises Comportamentais	71
4.4.1. Labirinto em T Elevado	71
4.4.2. Caixa Claro/Escuro	73
4.4.3. Labirinto Aquático de Morris	74
5. DISCUSSÃO	87
5.1. Medidas de Peso (Corporal, Fígado, Tecido Adiposo Retroperitoneal e Epididimal) e Medidas Metabólicas	88
5.2. Medidas de Consumo Alimentar em gramas, calorias e lipídeos	93
5.3. Análises Comportamentais	97
5.3.1. LTE e Caixa Claro/Escuro	97
5.3.2. LAM	100
6. CONCLUSÕES	105
REFERÊNCIAS	107
ANEXOS	115
ANEXO A – Protocolo de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	116
APÊNDICE	117
APÊNDICE A – Planilha de coleta de dados de consumo dos animais dos grupos nutricionais	118
APÊNDICE B – Composição centesimal dos alimentos oferecidos na dieta de cafeteria, dieta hiperlipídica, ração comercial em <i>pellet</i> e dieta AIN-93	124

1. INTRODUÇÃO

1.1. Obesidade

De acordo com a World Health Organization (2000) a obesidade e o sobrepeso são caracterizados por um acúmulo excessivo de tecido adiposo e peso acima do considerado saudável. A forma mais utilizada para estimação do estado nutricional é o Índice de Massa Corporal (IMC), representado pelo cálculo do peso do indivíduo em quilogramas dividido pela altura em metros quadrados. Valores deste cálculo, para adultos, entre 25 a 29 Kg/m² representam sobrepeso e as faixas entre 30 a 34,9 Kg/m², 35 a 39,9 Kg/m² e acima de 40 Kg/m² representam, respectivamente, os estados nutricionais de obesidade grau I, obesidade grau II e obesidade grau III ou obesidade mórbida. As causas da obesidade estão associadas a fatores genéticos, culturais, econômicos e comportamentais. A obesidade representa um problema de saúde pública em ascensão, de importância relevante, presente tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (LI; SLOBODA; VICKERS, 2011).

Os dados publicados pelas World Health Organization (2015) informaram que desde 1980 os índices de obesidade dobraram no mundo. Em 2014, os índices de sobrepeso e obesidade em adultos acima de 18 anos eram de 1,9 bilhões e 600 milhões, respectivamente, cerca de 13% da população já estava com obesidade. Em 2013, 42 milhões de crianças menores de cinco anos estavam acima do peso.

A obesidade é caracterizada por um desequilíbrio entre o gasto energético do indivíduo e sua ingestão calórica, que geralmente é excessiva (AZMAN *et al.*, 2011; LI; SLOBODA; VICKERS, 2011). Trata-se de uma condição bastante complexa, capaz de desencadear o desenvolvimento de diversos efeitos deletérios ao organismo como o acúmulo de tecido adiposo, hiperglicemia, hipertensão, aumento dos níveis de colesterol total, LDL colesterol e triglicérides (caracterizado como dislipidemia), problemas cardiovasculares, esteatose hepática, entre outras comorbidades associadas e problemas psicossociais (ANDERSEN *et al.*, 2010; WIT *et al.*, 2010; AZMAN *et al.*, 2011; IYER *et al.*, 2012).

Para o estudo da obesidade usando modelos experimentais animais são utilizados diferentes métodos de indução da obesidade: administração de glutamato monossódico (IWASE *et al.*, 1998; DIEMEN; TRINDADE; TRINDADE, 2006), diminuição do número de filhotes na ninhada (HABBOUT *et al.*, 2011) e aumento da ingestão calórica através de dietas hipercalóricas. Os modelos de aumento da ingestão calórica são realizados tanto por meio de Dietas Hiperlipídicas quanto por meio de Dieta de Cafeteria (KRETSCHMER *et al.*, 2005; SHAFAT; MURRAY; RUMSEY, 2008; MULLER *et al.*, 2010; MIESEL *et al.*, 2010).

A dieta de cafeteria é composta por alimentos de consumo humano como chocolates, bolachas recheadas, *marshmallow*, queijos, entre outros, que são alimentos com maiores quantidades de açúcares e/ou gorduras, consequentemente possuem maior palatabilidade e induzem a um maior consumo.

A dieta hiperlipídica é composta por 50% de gordura animal além dos demais nutrientes que a compõem, como proteína, carboidrato, vitaminas e sais minerais. Esta dieta também é utilizada para aumentar o ganho de peso dos animais, pois possui alto valor energético.

Diversos estudos têm utilizado diferentes protocolos de indução de ganho de peso nos animais com o uso de dietas hiperlipídicas e hipercalóricas e, consequentemente, verificando seus efeitos maléficos à saúde (JURDAK; KANAREK, 2009; KOSARI *et al.*, 2012; MOY; McNAY, 2013; GHIZONI *et al.*, 2013; STRANAHAN *et al.*, 2011; SCOARIS *et al.*, 2010).

Estudos que utilizaram estes dois tipos de dietas relataram diversas consequências danosas ao organismo, dentre as quais se destacam o acúmulo de gordura subcutânea, esteatose hepática, aumento da pressão arterial e aumento da glicemia (KRETSCHMER *et al.*, 2005; SHAFAT; MURRAY; RUMSEY, 2008; MULLER *et al.*, 2010; MIESEL *et al.*, 2010).

Além das várias comorbidades associadas com o excesso de peso, fatores psicológicos como a ansiedade podem ser observados em indivíduos obesos em decorrência, muitas vezes, da preocupação com a alimentação, com o ganho de peso e da consequente discriminação social que sofrem tanto por parte da população geral, como por profissionais da saúde (ANDERSEN *et al.*, 2010; WIT *et al.*, 2010; WHO, 2011).

1.2. Ansiedade

A ansiedade caracteriza-se como um estado de apreensão difusa, vaga e incômoda, acompanhada de reações como vigilância e excitação, em resposta a uma ameaça desconhecida ou imprecisa (GROSS; HEN, 2004). Este estado é normal no desenvolvimento humano e representa um estado emocional comum tanto em crianças como em adultos. Nos quadros ansiosos, podem ser observadas manifestações psicológicas e fisiológicas, porém quando este estado emocional se apresenta de forma excessiva pode tornar-se patológico (GROSS; HEN, 2004; JAMIE *et al.*, 2011).

Os quadros de ansiedade verificados em indivíduos obesos estão geralmente associados a um aumento (em quantidade e/ou em calorias) da ingestão alimentar. Muitos indivíduos relatam que quando estão ansiosos alimentam-se em demasia, conseguindo desta forma, diminuir os sintomas ansiosos, todavia, este comportamento acaba resultando em

ganho de peso (JAMIE *et al.*, 2011). Desse modo os transtornos ansiosos estariam diretamente relacionados a mudanças nos hábitos alimentares e consequentemente ao ganho de peso ou à manutenção do estado nutricional em indivíduos obesos.

Muitos estudos têm sido desenvolvidos em modelos experimentais animais, devido à facilidade de controle de variáveis, para a avaliação de aspectos específicos do comportamento por testes e protocolos experimentais.

Um modelo experimental utilizado para o estudo do comportamento de ansiedade em ratos é o Labirinto em T Elevado (LTE) proposto por Graeff, Viana e Tomaz (1993) e validado para o estudo da ansiedade em ratos por Zangrossi e Graeff (1997), desenvolvido a partir de um aparato amplamente utilizado para este estudo, o labirinto em cruz elevado (HANDLEY; MITHANI, 1984; PELLOW *et al.*, 1985).

O aparato do LTE é elevado do solo a uma altura de 50 cm e é composto por dois braços abertos e um braço fechado lateralmente, como descrito por Viana *et al.* (1994).

Este teste é capaz de avaliar a esquivas inibitória e a fuga dos animais por meio dos valores de latência de saída do braço fechado e do braço aberto, respectivamente. Quanto maior a latência de saída do braço fechado (esquivas inibitória) e quanto menor a latência de saída do braço aberto (fuga), maior a ansiedade do animal.

No caso deste teste, para que a esquivas inibitória ocorra os animais precisam aprender que se eles saírem do braço fechado vão se deparar com um ambiente aberto e exposto (características naturalmente aversivas para ratos), logo, ele aumentará o tempo de saída do braço fechado. No entanto, o comportamento de fuga ocorre naturalmente, assim que o animal é exposto ao braço aberto, devido à característica aversiva do mesmo. Deste modo, pode-se verificar uma característica inata e que, portanto, não necessita de aprendizagem para ser exibida. Uma das vantagens da utilização deste teste é que não é necessária a apresentação de quaisquer estímulos aversivos adicionais, para que o animal apresente o comportamento de ansiedade.

Outro teste utilizado para avaliar a ansiedade em ratos é o teste da caixa claro/escuro, inicialmente proposto por Crawley e Goodwin (1980) que é composta por dois compartimentos conectados entre si, sendo um deles claro (luz artificial, piso e paredes brancas) e o outro escuro (iluminação artificial vermelha de baixa intensidade, piso e paredes pretas). Este teste avalia a reação do animal frente a dois ambientes diferentes, um deles claro, que é potencialmente aversivo aos animais, devido à alta incidência de luz e o outro escuro.

Dentre os comportamentos mais observados em testes de ansiedade estão: o medo da novidade, a preferência de exploração dos braços fechados (no caso dos aparatos elevados,

como o labirinto em cruz elevado), a defecação, o congelamento (*freezing*) e a aversão a ambientes abertos e expostos, que caracterizam ambientes desprotegidos e, por isso, menos explorados pelos animais, como, por exemplo, os braços abertos do labirinto em cruz elevado, o centro do campo aberto e o lado claro da caixa claro/escuro.

Existem estudos que verificam o comportamento ansioso em animais tratados com dietas hipercalóricas e hiperlipídicas, ou então filhotes de ratas mães tratadas com estas dietas e, neste caso, os filhotes foram avaliados. Estes estudos utilizaram diversos protocolos, utilizando diferentes testes como o labirinto em cruz elevado, o campo aberto e a caixa claro-escuro (CAN *et al.*, 2012; ESTRELA *et al.*, 2015; KROLOW *et al.*, 2010; LALANZA *et al.*, 2014; MANIAM; MORRIS, 2010; MULLER *et al.*, 2010; ORTOLANI *et al.*, 2014; ORTOLANI *et al.*, 2011; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SASAKI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2007; WRIGHT; LANGLEY-EVANS; VOIGT, 2011).

Alguns autores (IZQUIERDO, 2002; KALUEFF, 2007) relatam que animais estressados podem apresentar dificuldades de aprendizagem e déficits de memória. Todavia, o estresse também está relacionado à diminuição dos níveis de ansiedade em animais obesos avaliados nos testes do Labirinto em Cruz Elevado e do campo aberto (ORTOLANI *et al.*, 2011). Deste modo, possíveis alterações nos índices de ansiedade em animais obesos poderiam estar diretamente relacionadas a alterações no desempenho destes animais em tarefas de aprendizagem e memória. Ainda são escassos e controversos os conhecimentos acerca das consequências da obesidade sobre tais processos em estudos experimentais animais. Logo, o interesse no estudo destes processos justifica-se pela importância a eles atribuída, tanto no desenvolvimento de comportamentos adaptativos, quanto na aquisição de estratégias comportamentais intrínsecas à sobrevivência, manutenção e perpetuação da espécie em diferentes contextos.

1.3. Aprendizagem e Memória

A aprendizagem é o processo através do qual novos conhecimentos, conceitos e ideias são adicionados ao repertório de um organismo, de modo que ele seja capaz de compreender e resolver problemas novos; uma mudança relativamente permanente no comportamento (CATANIA, 1999). O processo de aprendizagem está intimamente ligado à presença de estímulos que permitam que os indivíduos interajam com seu ambiente ou com outros indivíduos e possam moldar e modificar seu comportamento (PRERAU *et al.*, 2009).

A memória é interpretada como acessibilidade, associação e codificação de informações. É o local onde as informações são mantidas, é a capacidade de um indivíduo de

lembrar-se de algo, capacidade de codificar, armazenar e recuperar informações (TULVING, 2000).

Para o autor Squire (1987, p. 3) “Aprendizagem é o processo de aquisição de novas informações, enquanto a memória se refere à persistência da aprendizagem em um estado que pode ser revelado em um momento posterior”.

De forma geral é a capacidade de um organismo alterar seu comportamento em decorrência de experiências prévias, pois, de acordo com Izquierdo (2011), o indivíduo é formado por aquilo que ele recorda de suas experiências. Portanto, a memória pode ser compreendida como a capacidade de adquirir, armazenar e recuperar informações disponíveis (MILLER; MATZEL, 2006). Os principais fatores envolvidos para o estabelecimento dos processos de aprendizagem e memória são aquisição, consolidação e evocação de informações.

As principais estruturas envolvidas no processamento da memória são o hipocampo, principalmente as regiões CA1 e CA3 e o córtex entorrinal que possui conexões com o córtex pré-frontal, e os córtices associativos parietal, occipital e cingulado anterior. E os principais neurotransmissores são o glutamato, GABA, dopamina, noradrenalina, serotonina e acetilcolina (IZQUIERDO, 2011).

Diversos modelos têm sido utilizados no estudo da aprendizagem e da memória em experimentação animal, sobretudo em roedores, tais como os labirintos aquáticos, o labirinto radial, as caixas operantes, entre outros (LAUS *et al.*, 2011). Todavia, modelos experimentais que não necessitam da apresentação de recompensa alimentar para sua execução são preferíveis em estudos que envolvem manipulação da alimentação, a fim de se evitar possíveis alterações motivacionais frente ao estímulo reforçador, como demonstrado anteriormente em outros trabalhos que realizaram manipulações nutricionais (BARNES *et al.*, 1968; SMART; DOBBING, 1977).

Um modelo experimental amplamente utilizado para investigar os processos de aprendizagem e memória espacial em ratos é o Labirinto Aquático de Morris. Este modelo foi descrito por Morris (1981) e consiste em um tanque circular preenchido com água e uma pequena plataforma de fuga. Os animais buscam a plataforma como fuga ao estímulo aversivo (água) (D’HOOGE; DE DEYN, 2001).

Há diversos procedimentos de teste para a investigação dos processos de aprendizagem e memória espacial no Labirinto Aquático de Morris (LAM). Uma das versões mais utilizadas do teste é a versão pista distal, na qual a plataforma de fuga fica submersa na água (geralmente cerca de 1 cm), tornando-se oculta aos animais. Para a realização do teste

nesta versão, geralmente são utilizadas pistas distais (externas ao tanque) para possibilitar que os animais se guiem através delas e consigam estabelecer relações entre a posição em que se encontram, a posição das pistas e a posição relativa da plataforma de fuga, aprendendo, deste modo, estratégias eficientes de navegação que possibilitem a fuga. Este fato pode ser evidenciado durante uma tentativa de extinção, quando a plataforma é retirada e os animais permanecem nadando a maior parte do tempo onde a plataforma permaneceu fixa durante o teste, demonstrando, assim, que os animais fazem uso das pistas para se guiarem até a plataforma de fuga (WHISHAW; MITTLEMAN, 1986; D'HOOGE; DE DEYN, 2001).

Muller *et al.* (2010) realizaram um trabalho com o objetivo de avaliar a interação da administração crônica de olanzapina (antipsicótico atípico que pode causar aumento de peso), e o uso de uma dieta de cafeteria, produzida com aumento em carboidratos e lipídeos. Esta dieta acarretou o aumento de peso dos animais e foram avaliados parâmetros metabólicos, na memória, ansiedade e atividade locomotora em ratos machos. Os animais foram divididos em grupo controle que recebeu dieta padrão, grupo controle que recebeu dieta padrão e olanzapina, grupo que recebeu dieta de cafeteria e um último grupo que recebeu dieta de cafeteria e olanzapina. Todos os animais testados no Labirinto Aquático de Morris apresentaram latências similares para encontrar a plataforma de fuga até o terceiro dia de teste, durante a fase de aquisição de aprendizagem. Após o quarto dia de teste animais do grupo que receberam dieta de cafeteria, dieta de cafeteria e olanzapina e animais que receberam dieta padrão apresentaram desempenho semelhante na tarefa para encontrar a plataforma. Contudo, animais do grupo que receberam a dieta controle com uso de olanzapina, apresentaram maiores latências para encontrar a plataforma, demonstrando assim, uma queda no desempenho.

Todavia, em estudo realizado por Molteni *et al.* (2002) foram verificados prejuízos no desempenho de animais submetidos a uma tarefa de aprendizagem espacial, após dois meses de tratamento com uma dieta rica em açúcar refinado e gordura saturada; e animais sedentários submetidos ao mesmo tratamento, pelo mesmo período de tempo. Um pior desempenho foi observado na tarefa de aprendizagem e no teste de retenção de memória (MOLTENI *et al.*, 2004), ambos comparados a ratos controles.

Os estudos que avaliam os efeitos da obesidade nos processos de aprendizagem e memória no teste do Labirinto Aquático de Morris utilizam diferentes protocolos de teste, sendo que há uma grande variação de um trabalho para outro. Alguns estudos variam a quantidade de dias de teste a que os animais são submetidos, outros variam as formas de avaliação da retenção da memória dos animais, pois alguns estudos não dão intervalo entre a

fase de aprendizagem e memória. Observa-se ainda que outros oferecem um período de descanso que pode variar em alguns horas, dias ou semanas entre uma fase e outra. Alguns trabalhos fazem o teste de retenção de memória sem o uso da plataforma no tanque e outros com a plataforma. Finalmente, alguns estudos avaliam os efeitos das dietas a curto ou longo prazo e outros avaliam os efeitos em animais que tiveram suas mães submetidas as dietas de indução de ganho de peso (BILBO e TSANG, 2010; BOITARD *et al.*, 2014; CAN *et al.*, 2012; JURDAK; LICHTENSTEIN; KANAREK, 2008; MOLTENI *et al.*, 2002; MOLTENI *et al.*, 2004; MULLER *et al.*, 2010; PAGE; JONES; ANDAY, 2014; PATHAN *et al.*, 2008; PINTANA *et al.*, 2012; para revisão veja CORDNER; TAMASHIRO, 2015).

Valadares e Almeida (2005) submeteram animais desnutridos e controles ao teste do Labirinto Aquático de Morris, na versão pista distal, com 24 tentativas, em diferentes intervalos e sessões experimentais: um grupo de animais foi testado em 24 sessões diárias, com uma tentativa cada; um segundo grupo foi testado em seis sessões diárias de quatro tentativas cada; um terceiro grupo foi avaliado em três sessões diárias de oito tentativas cada; um quarto grupo foi testado em duas sessões diárias de 12 tentativas cada; e um último grupo foi testado em uma única sessão com 24 tentativas. Verificou-se que os animais desnutridos que foram submetidos ao Labirinto Aquático de Morris em 24 e em seis sessões diárias, apresentaram curvas de aprendizagem com declínio menos gradual e mais lento comparadas àquelas observadas em animais do grupo controle, demonstrando que, quando as tentativas foram realizadas de forma mais espaçada, os animais apresentaram déficits na consolidação da memória. Os resultados apresentados sugerem que tarefas compostas por um maior número de sessões e com tentativas mais espaçadas num dado intervalo temporal aumentariam a dificuldade de realização da tarefa, em comparação àquelas compostas por um número reduzido de sessões e com tentativas mais condensadas num dado intervalo de tempo, evidenciando, deste modo, possíveis alterações nos processos de aprendizagem e memória espaciais entre diferentes grupos experimentais.

Tomando-se como referência os resultados do trabalho desenvolvido por Valadares e Almeida (2005), no presente estudo o Labirinto Aquático de Morris será realizado em seis sessões diárias de quatro tentativas cada, com a finalidade de se verificar o desempenho dos animais obesos no teste.

1.4. Justificativa

Considerando que a obesidade é um problema de saúde pública afetando grande parcela da população mundial e que aspectos emocionais e cognitivos podem estar alterados

em indivíduos obesos, então se justifica a necessidade de estudos que possibilitem analisar os efeitos da obesidade sobre a ansiedade e os processos de aprendizagem e memória, pois tais processos são imprescindíveis para a adaptação, a manutenção e a sobrevivência do indivíduo em seu ambiente.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de dois modelos experimentais de dietas hipercalóricas sobre comportamentos de ansiedade, aprendizagem e memória espacial, assim como alterações metabólicas em ratos.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar o comportamento de ansiedade por meio de dois modelos experimentais validados para o estudo da ansiedade em ratos;

Analisar os processos de aprendizagem e memória espacial operacional e de referência através do desempenho dos animais em uma tarefa espacial;

Mensurar o peso dos animais, assim como, os pesos do fígado, coração e o depósito de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais, decorrentes da exposição dos tratamentos nutricionais utilizados;

Avaliar os níveis de glicose, triglicérides, transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP) no soro e gordura total, colesterol total e triglicérides no fígado dos animais.

Realizar a curva de consumo em gramas, assim como, consumo calórico e lipídico dos animais, decorrentes da ingestão das dietas oferecidas.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Sujeitos

Foram utilizados 146 ratos albinos, machos e 22 ratas-mães, da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. Os animais foram recebidos no dia do nascimento e transportados ao biotério do Laboratório de Nutrição e Comportamento, onde foram alojados e tratados até o fim dos procedimentos experimentais. O projeto de doutorado foi encaminhado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto (Protocolo nº 11.1.1646.53.5) (ANEXO A).

3.2. Composição das Ninhadas

As ninhadas foram compostas pela rata-mãe e oito filhotes machos, distribuídos de forma aleatória, a fim de evitar que somente filhotes provenientes de uma mesma rata-mãe compusesse a ninhada. Do nascimento até o 21º dia de vida, período de lactação, os animais foram amamentados pelas ratas-mães. Após o desmame, aos 21 dias de idade, os filhotes foram distribuídos, também de forma aleatória, em cada um dos grupos nutricionais, sendo dois grupos controle (ratos nutridos adequadamente), quatro grupos experimentais (descritos no item 3.6).

Os pesos das ratas-mães e respectivas ninhadas foram registrados no dia 0 (dia de nascimento dos filhotes) e aos 7, 14 e 21 dias de vida dos filhotes. Durante todo o período anterior à gestação, as ratas-mães foram tratadas, no Biotério Central do Campus, com dieta comercial balanceada.

3.3. Alojamento e Manutenção dos Animais

Durante a fase de lactação (0 – 21 dias), as ninhadas foram alojadas em caixas de polipropileno (41 x 34 x 16 cm), com tampa gradeada de aço inoxidável e bebedouro de vidro. As caixas eram forradas com raspas de madeira (maravalha) e trocadas duas vezes por semana. O alimento (dieta comercial) e a água eram trocados diariamente. A ração comercial em *pellet* foi oferecida por meio da tampa gradeada e a dieta AIN-93 foi oferecida em potes de vidro com capacidade de 240 mL. No 21º dia de vida dos filhotes foi realizado o desmame que consiste na separação dos filhotes das ratas-mães, sacrificadas neste dia através da inalação de CO₂.

No período de pós-lactação os ratos foram alojados em caixas individuais de polipropileno (30 x 19 x 13 cm), com tampa e bebedouro nas mesmas especificações citadas anteriormente. Os animais foram alojados individualmente nas caixas para que fosse possível a mensuração do consumo alimentar. A maravalha era trocada três vezes por semana. Todos os animais eram manipulados para a troca das dietas diariamente, os animais eram retirados de suas caixas, colocados em outra caixa também forrada com maravalha, para retirada da dieta e posteriormente alocados novamente em suas caixas. Este procedimento garantiu que todos os animais de cada um dos seis grupos experimentais fossem manipulados todos os dias. A manipulação diária dos animais dos grupos experimentais foi necessária devido à troca e à mensuração diária das dietas hiperlipídica, cafeteira e AIN-93. O mesmo não ocorreria com o grupo controle, que recebeu ração em *pellet*, uma vez que a troca da ração comercial dispensava a manipulação diária dos animais desse grupo; por isso, a necessidade de manipulação de todos os animais diariamente, para garantir as mesmas condições de manipulação a todos os grupos nutricionais.

Após o desmame, tal como no período de lactação, o peso dos ratos foi registrado semanalmente até os 98 dias de vida. O início dos testes se deu no 70º dia, pois nesta idade os animais já atingiram a maturidade sexual, sendo, portanto, considerados adultos (EBISUI; FONTES; LAPCHIK, 2009) e, também, para que os animais recebessem durante mais tempo às dietas de indução de obesidade.

Durante todo o experimento, os animais eram mantidos com livre acesso à água e ao alimento (com exceção dos grupos da Dieta de Cafeteria, oferecida diariamente pelo período de uma hora). O biotério do Laboratório de Nutrição e Comportamento teve a temperatura controlada ($23^{\circ}\text{C} \pm 1$), e a iluminação artificial programada para ciclos de claro/escuro com duração de 12 horas cada, e acendimento das luzes programado para às 6h00 da manhã.

3.4. Delineamento Experimental

Os animais foram divididos em seis grupos experimentais distintos de acordo com a condição nutricional (C, DC, DH, C AIN-93, DC AIN-93 e DH AIN-93). Posteriormente, os grupos C, DC, DH, C AIN-93, DC AIN-93 e DH AIN-93 foram divididos em dois grupos independentes. Um destes grupos foi submetido aos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro e o outro foi testado no LAM, (Quadro 1), como descrito a seguir:

- **Grupo Controle (C1)** – Composto por 12 animais machos que receberam dieta comercial (ração em *pellet*), *ad libitum* durante os períodos de lactação e pós-lactação. Estes animais foram avaliados nos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro.

Quadro 1 – Delineamento Experimental adotado durante os períodos de lactação e pós-lactação.

Grupos	Período de Lactação (0 até 21 dias)	Período de Pós-Lactação (21 até 77 dias)	Testes Realizados
C1 (n=12)	Ração comercial e água, <i>ad libitum</i> ; ninhada com 8 filhotes machos	Ração comercial e água, <i>ad libitum</i>	LTE / Caixa Claro Escuro
DC1 (n=13)		Ração comercial e água, <i>ad libitum</i> e Dieta de Cafeteria, à vontade, pelo período de uma hora ao dia	
DH1 (n=13)		Dieta Hiperlipídica e água, <i>ad libitum</i>	
C1 AIN-93 (n=13)	Dieta AIN-93 e água, <i>ad libitum</i> ; ninhada com 8 filhotes machos	Dieta AIN-93 e água, <i>ad libitum</i>	
DC1 AIN-93 (n=11)		Dieta AIN-93 e água, <i>ad libitum</i> e Dieta de Cafeteria, à vontade, pelo período de uma hora ao dia, com os potes fixos	
DH1 AIN-93 (n=13)		Dieta hiperlipídica e água, <i>ad libitum</i>	
Grupos	Período de Lactação (0 até 21 dias)	Período de Pós-Lactação (21 até 101 dias)	Testes Realizados
C2 (n=13)	Ração comercial e água, <i>ad libitum</i> ; ninhada com 8 filhotes machos	Ração comercial e água, <i>ad libitum</i>	LAM
DC2 (n=13)		Ração comercial e água, <i>ad libitum</i> e Dieta de Cafeteria, à vontade, pelo período de uma hora ao dia	
DH2 (n=13)		Dieta Hiperlipídica e água, <i>ad libitum</i>	
C2 AIN-93 (n=10)	Dieta AIN-93 e água, <i>ad libitum</i> ; ninhada com 8 filhotes machos	Dieta AIN-93 e água, <i>ad libitum</i>	
DC2 AIN-93 (n=11)		Dieta AIN-93 e água, <i>ad libitum</i> e Dieta de Cafeteria, à vontade, pelo período de uma hora ao dia, com os potes fixos	
DH2 AIN-93 (n=11)		Dieta Hiperlipídica e água, <i>ad libitum</i>	

- **Grupo Obesidade induzida por “Dieta de Cafeteria” (DC1)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta comercial (ração em *pellet*) *ad libitum* durante o período de lactação. No período de pós-lactação os animais receberam a dieta comercial (ração em *pellet*), *ad libitum* com adição diária de quatro itens alimentares diferentes, à vontade, com exposição destes itens pelo período de uma hora ao dia. Estes animais foram avaliados nos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro.

- **Grupo Obesidade induzida por Dieta Hiperlipídica (DH1)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta comercial (ração em *pellet*), *ad libitum* durante o período de lactação. Entretanto, no período de pós-lactação estes animais receberam uma dieta hiperlipídica *ad libitum*. Os animais deste grupo também foram submetidos aos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro.

- **Grupo Controle/AIN-93 (C1 AIN-93)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta AIN-93, *ad libitum* durante o período de lactação e receberam dieta AIN-93 em pó *ad libitum* durante o período de pós-lactação. Os animais deste grupo foram testados nos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro.

- **Grupo Obesidade induzida por “Dieta de Cafeteria” AIN-93 (DC1 AIN-93)** – Composto por 11 animais machos que receberam dieta AIN-93, *ad libitum* durante o período de lactação. No período de pós-lactação os animais receberam a dieta AIN-93 em pó, *ad libitum* com adição diária de quatro itens alimentares diferentes, à vontade, com exposição destes itens pelo período de uma hora ao dia. Estes animais foram submetidos aos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro.

- **Grupo Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica AIN-93 (DH1 AIN-93)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta AIN-93 *ad libitum* durante o período de lactação e dieta hiperlipídica *ad libitum* durante o período de pós-lactação. Os animais deste grupo foram testados nos testes do LTE e Caixa Claro/Escuro.

- **Grupo Controle (C2)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta comercial (ração em *pellet*), *ad libitum* durante os períodos de lactação e pós-lactação. Os animais foram testados no LAM.

- **Grupo Obesidade induzida por “Dieta de Cafeteria” (DC2)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta comercial (ração em *pellet*), *ad libitum* durante o período de lactação. No período de pós-lactação os animais receberam a dieta comercial (ração em *pellet*) *ad libitum* com adição diária de quatro itens alimentares diferentes, à vontade, com exposição destes itens pelo período de uma hora ao dia. Estes animais foram submetidos ao teste do LAM.

- **Grupo Obesidade induzida por Dieta Hiperlipídica (DH2)** – Composto por 13 animais machos que receberam dieta comercial (ração em *pellet*), *ad libitum* durante o período de lactação. Entretanto, no período de pós-lactação estes animais receberam uma dieta hiperlipídica *ad libitum*. Os animais deste grupo também foram testados no LAM.

- **Grupo Controle AIN-93 (C2 AIN-93)** – Composto por 10 animais machos que receberam dieta AIN-93, *ad libitum* durante o período de lactação e receberam a dieta AIN-93 em pó *ad libitum* durante o período de pós-lactação. Os animais deste grupo foram testados no LAM.

- **Grupo Obesidade induzida por “Dieta de Cafeteria” AIN-93 (DC2 AIN-93)** – Composto por 11 animais machos que receberam dieta AIN-93, *ad libitum* durante o período de lactação. No período de pós-lactação os animais receberam a dieta AIN-93 em pó, *ad libitum* com adição diária de quatro itens alimentares diferentes, à vontade, com exposição destes itens pelo período de uma hora ao dia. Estes animais foram submetidos ao teste do LAM.

- Grupo Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica AIN-93 (DH2 AIN-93) –

Composto por 11 animais machos que receberam dieta AIN-93 *ad libitum* durante o período de lactação. No período de pós-lactação estes animais receberam dieta hiperlipídica *ad libitum*. Estes animais foram testados no LAM.

3.5. Composição e Procedimento para o Oferecimento das Dietas

- Grupo Controle (C) – A dieta comercial utilizada foi ração para animais de laboratório ou “ração para roedores” em *pellet* (NUVILAB CR-1 para camundongos e ratos), fabricada pela Nuvital Nutrientes Ltda. – Brasil; baseada em recomendações do Instituto *Research Council* e *National Institute of Health* – EUA, como descrito na Tabela 1 abaixo. A dieta comercial era oferecida através da tampa gradeada. Para a verificação do consumo de ração comercial, foi realizada diariamente a pesagem de uma quantidade de ração superior ao que o animal consome e, 24 horas após a exposição dessa quantidade de ração, a mesma era retirada e pesada para a verificação do resto, sendo este procedimento realizado do desmame até o final dos testes.

Tabela 1 – Níveis de Garantia por Kg de Produto.

	%
Umidade (máx)	12
Proteína Bruta (mín)	22
Extrato Etéreo (mín)	4
Matéria Mineral (máx)	10
Matéria Fibrosa (máx)	8
Cálcio (máx)	1,4
Fósforo (mín)	0,6

Composição Básica: milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix vitamínico mineral, aminoácidos. Enriquecimento por Kg do produto: Vitaminas: A (25200 UI); D3 (2100 UI); E (60 mg); K3 (2,5 mg); B1 (14,4 mg); B2 (11 mg); B6 (12 mg); B12 (60 mcg); Niacina (60mg); Ácido Pantotênico (112 mg); Ácido Fólico (6 mg); Biotina (0,26 mg); Colina (1100 mg). Microelementos Minerais: Ferro (50 mg); Manganês (60 mg); Zinco (60 mg); Cobre (10 mg); Iodo (2 mg); Selênio (0,05 mg); Cobalto (1,5 mg). Aditivos: Antioxidante (100 mg).

- Grupo Obesidade induzida por “Dieta de Cafeteria” (DC) – A Dieta de Cafeteria

era composta por 28 alimentos pertencentes a uma lista elaborada com base nos estudos de Barber *et al.* (1985), Rolls *et al.* (1986), Shafat, Murray e Rumsey (2009), Chaves *et al.* (2008) e adaptada tanto às opções de alimentos disponíveis no mercado, excluindo-se alimentos importados ou de oferta restrita a estabelecimentos especializados disponíveis em baixa quantidade ou sujeitas à necessidade de encomenda prévia. Além disso, foram considerados os resultados encontrados em estudo piloto, realizado em nosso laboratório como parte de um trabalho de mestrado, referentes à aceitação pelos animais dos alimentos oferecidos. A cada dia eram expostos aos animais, quatro alimentos desta lista, de forma

aleatória, pelo período de uma hora. Houve uma rotatividade semanal dos alimentos, ou seja, um determinado alimento foi exposto ao animal apenas uma vez na semana, para evitar uma monotonia alimentar. A verificação do consumo de ração comercial pelos animais da Dieta de Cafeteria foi realizada como descrito acima, sendo que a ração em *pellet* era oferecida por meio da tampa gradeada. Para avaliação do consumo dos alimentos da Dieta de Cafeteria, os quatro alimentos oferecidos em cada dia eram pesados e distribuídos em potes de alumínio individuais, sendo que os potes contendo os alimentos dessa dieta ficaram fixos nas caixas dos animais durante a exposição da dieta, para que os animais não pudessem manipulá-los. A dieta de cafeteria oferecida a este grupo tinha as mesmas especificações citadas anteriormente. Tal procedimento foi tomado com o objetivo de evitar uma variável sobre a qual não seria possível ter controle ou mensurar os possíveis efeitos; que seria a manipulação dos potes de alumínio utilizados como recipientes de oferecimento dos alimentos. Essa manipulação poderia representar uma estimulação ambiental que não estaria presente nos outros grupos. Ao final deste período de tempo os potes de alumínio eram retirados, assim como os alimentos que eram retirados das caixas dos animais para serem pesados para verificar a quantidade de alimento restante. Sempre era oferecida uma quantidade superior a que o animal consumia, para que este consumo fosse considerado à vontade. Os alimentos utilizados na Dieta de Cafeteria estão descritos no Quadro 2. A Figura 1 mostra a forma de apresentação dos alimentos da dieta de cafeteria aos animais.

Quadro 2 – Alimentos utilizados na Dieta de Cafeteria.

DOMINGO	SEGUNDA-FEIRA	TERÇA-FEIRA	QUARTA-FEIRA
Torrada	Bolacha Maisena	Bolacha Recheada de Chocolate <i>Trakinas</i> ®	Castanha do Pará
<i>Marshmallow</i>	Chocolate Batom Branco®	Queijo Processado Polenguinho®	Queijo Prato
Doce de Amendoim Santa Helena®	Queijo Mussarela	Amêndoa	Chocolate ao leite em Barra Lacta®
Salame	Cereal de Milho em Flocos com Açúcar <i>Snow Flakes</i> ®	Doce de Leite c/ Coco	Manteiga de Amendoim Amendocrem®

QUINTA-FEIRA	SEXTA-FEIRA	SÁBADO
Pão Branco Pullman®	Rocambole de Chocolate Pullman®	Bolo Recheado Ana Maria®
Cereal de Milho sabor Chocolate Nescau®	Bolacha Água e Sal	Bacon
Queijo Reino	Mortadela Marba®	Bolacha Recheada de Chocolate <i>Wafer</i> Bauducco®
Biscoito Canudo de Chocolate Look®	Confete de Chocolate Disquete®	Amendoim

Figura 1 – Apresentação dos alimentos da Dieta de Cafeteria.

Fonte: Produção do próprio autor.

- **Grupo Obesidade induzida por Dieta Hiperlipídica (DH)** – A Dieta Hiperlipídica foi produzida a partir da dieta controle, confeccionada baseada nas recomendações da dieta para roedores AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), com algumas modificações conforme descrito por Santucci *et al.* (1994). A dieta foi suplementada com L-metionina (2,0 g/Kg de proteína), pois a caseína é deficiente nesse aminoácido, não houve diferença quanto à porcentagem dos demais componentes (vitamina e sais minerais). Além disso, foram realizadas alterações nas concentrações de lipídeos e carboidratos, sendo que 50% da composição da dieta era de gordura animal (banha suína) e houve uma diminuição na quantidade de carboidrato na dieta quando comparada a uma dieta controle, para poder adequar ao aumento de gordura e não ser necessário modificar a porcentagem de proteína (LEONARDI *et al.*, 2010). Houve um período de cinco dias de adaptação para a introdução da dieta hiperlipídica, com utilização de ração comercial em *pellet* disponível em diferentes proporções no decorrer deste período. Durante estes cinco dias a dieta hiperlipídica foi oferecida, *ad libitum* e a ração comercial em *pellet* foi oferecida em quantidades gradativamente menores, em cada um dos cinco dias, nos dois primeiros dias foi oferecido 100% de ração comercial, sendo que foram considerados os valores de consumo médio de ração para animais da mesma idade observados no projeto piloto em ratos do grupo controle; no terceiro dia foi oferecido 75% da quantidade consumida; no quarto dia foi oferecido 50% da quantidade consumida e no quinto dia foi oferecido 25% da quantidade consumida. A ração em *pellet* era oferecida por meio da tampa gradeada. A dieta hiperlipídica era pesada, oferecida aos animais e 24 horas após sua exposição era retirada para a mensuração do resto. O percentual de nutrientes da dieta hiperlipídica está representado na Tabela 2. Esta dieta era oferecida em potes de vidro com capacidade de 240 mL (Fig. 2) que eram colocados dentro da caixa.

Tabela 2 - Composição da Dieta Hiperlipídica (%).

COMPONENTES	DIETA HIPERLIPÍDICA (%)
PROTEÍNA (CASEÍNA)	16
METIONINA	0,032
CARBOIDRATO (AMIDO)	27,768
GORDURA (BANHA ANIMAL)	50
MISTURA SALINA	5
MISTURA VITAMÍNICA	1
COLINA	0,2
TOTAL	100

Fornecedores: Caseína, Mistura Salina, Mistura Vitamínica, Colina: Rhoster, Ind. e Com. Ltda, Brasil; Metionina: Dyets, EUA; Gordura: Banha Animal (Sadia); Carboidratos: Amido de Milho (Maisena ® Refinarias de Milho Brasil).

Figura 2 – Apresentação dos alimentos da Dieta Hiperlipídica.

Fonte: Produção do próprio autor.

- **Grupo Controle AIN-93 (C AIN-93)** – A dieta controle foi confeccionada baseada nas recomendações da dieta em pó para roedores AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), com algumas modificações conforme descrito por Santucci *et al.* (1994). A dieta foi suplementada com L-metionina (2,0 g/Kg de proteína), pois a caseína é deficiente nesse aminoácido, não houve diferença quanto à porcentagem dos demais componentes (vitamina e sais minerais). Esta dieta foi oferecida aos animais em potes de alumínio que permaneceram fixos na caixa e que só eram retirados para a troca da dieta. A dieta era trocada diariamente e era realizada a verificação do resto-ingesta. O percentual de nutrientes da dieta controle está representado na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição da Dieta Controle (%).

COMPONENTES	DIETA CONTROLE (%)
PROTEÍNA (CASEÍNA)	16
METIONINA	0,032
CARBOIDRATO (AMIDO)	69,768
GORDURA (ÓLEO VEGETAL)	8
MISTURA SALINA	5
MISTURA VITAMÍNICA	1
COLINA	0,2
TOTAL	100

Fornecedores: Caseína, Mistura Salina, Mistura Vitamínica, Colina: Rhoister, Ind. e Com. Ltda, Brasil; Metionina: Dyets, EUA; Gordura: Óleo Vegetal (Liza); Carboidratos: Amido de Milho (Maisena ® Refinarias de Milho Brasil).

- **Grupo Obesidade induzida por “Dieta de Cafeteria” AIN-93 (DC AIN-93)** – Os animais deste grupo receberam a dieta controle em pó, como descrito acima e também receberam dieta de cafeteria pelo período de uma hora por dia, sendo que os potes contendo os alimentos dessa dieta ficaram fixos nas caixas dos animais durante a exposição da dieta, para que os animais não pudessem manipulá-los. A dieta de cafeteria oferecida a este grupo tinha as mesmas especificações citadas anteriormente. Tal procedimento foi tomado com o objetivo de evitar uma variável sobre a qual não seria possível ter controle ou mensurar os possíveis efeitos; que seria a manipulação dos potes de alumínio utilizados como recipientes de oferecimento dos alimentos. Essa manipulação poderia representar uma estimulação ambiental que não estaria presente nos outros grupos.

- **Grupo Obesidade induzida por Dieta Hiperlipídica AIN-93 (DH AIN-93)** – Os animais deste grupo receberam dieta hiperlipídica com as mesmas especificações citadas anteriormente. Houve um período de cinco dias de adaptação para a introdução da dieta hiperlipídica, com utilização da dieta AIN-93 disponível em diferentes proporções no decorrer deste período. Durante estes cinco dias a dieta hiperlipídica foi oferecida, *ad libitum* e a dieta AIN-93 foi oferecida em quantidades gradativamente menores, em cada um dos cinco dias, nos dois primeiros dias foi oferecido 100% da dieta AIN-93, sendo que foram considerados os valores de consumo médio de dieta para animais da mesma idade observados em trabalhos realizados no Laboratório de Nutrição e Comportamento; no terceiro dia foi oferecido 75% da quantidade consumida; no quarto dia foi oferecido 50% da quantidade consumida e no quinto dia foi oferecido 25% da quantidade consumida.

As tabelas para o controle de consumo alimentar de todos os grupos nutricionais estão anexados no APÊNDICE A.

Posteriormente, foi realizada uma avaliação da composição centesimal de todos os alimentos oferecidos na Dieta de Cafeteria, da ração comercial em *pellet*, da Dieta

Hiperlipídica e da dieta AIN-93, para facilitar a mensuração do consumo calórico, bem como de carboidratos, proteínas e gorduras.

3.6. Equipamentos e Procedimentos

3.6.1. Labirinto em T Elevado

O aparato é confeccionado em madeira, elevado do solo a uma altura de 50 cm. É composto por dois braços abertos de 50 x 10 cm, com bordas de acrílico de 1 cm de altura e 2 mm de espessura e um braço fechado lateralmente, de 50 x 10 x 40 cm, com teto aberto, como descrito por Viana *et al.* (1994). O aparato permaneceu em uma sala com controle de ruídos e com iluminação de aproximadamente 70 lux.

O experimentador permaneceu no local onde o teste era realizado. Na sala do experimento, acima do labirinto foi fixada uma câmera de vídeo (AS-3 Tracker, EUA), conectada a um computador instalado em sala adjacente para possibilitar o monitoramento e registro das imagens para serem analisadas.

O teste do Labirinto em T Elevado foi realizado no 70º dia de vida. Antes do início dos testes os animais eram levados à sala de teste onde permaneceram em suas caixas para habituação de 10 minutos. Os animais inicialmente eram colocados no final do braço fechado do labirinto, virados para o centro e era registrada a latência de saída deste braço, com as quatro patas, esta primeira exposição foi chamada de linha de base, este procedimento era repetido mais duas vezes com intervalos de 30 segundos entre as reexposições ao aparato. Nos intervalos entre as sessões os animais permaneceram em suas caixas forradas com maravalha. Após 30 segundos da realização deste experimento, os animais eram colocados na extremidade do braço aberto direito do labirinto e era registrada a latência de saída deste braço com as quatro patas.

A latência de saída do braço fechado serviu como parâmetro para avaliar o comportamento de esquiva inibitória; a fuga era medida por meio da latência de saída do braço aberto.

Quanto maior a latência de saída do braço fechado (esquiva inibitória) e quanto menor a latência de saída do braço aberto (fuga), maior a ansiedade.

Figura 3 – Imagem do Labirinto em T Elevado.

Fonte: Produção do próprio autor.

3.6.2. Caixa Claro Escuro

Este aparato consiste em dois compartimentos conectados por uma passagem de 7,5 x 8 cm, sendo um deles composto por uma arena branca com piso e paredes brancas e o outro composto por uma arena preta com piso e paredes pretas, ambos possuem nove quadrantes de 14 x 14 cm e na parede oposta da passagem, de cada lado há uma lâmpada, sendo que a do lado claro emite uma intensidade de luz mais forte e a do lado escuro uma intensidade de luz mais fraca e numa frequência não percebida pelo animal (HANSON, 2004). O aparato permaneceu em uma sala com controle de ruídos e com iluminação de aproximadamente 70 lux.

Na sala do experimento, acima da caixa foi fixada uma câmera de vídeo (AS-3 Tracker, EUA), conectada a um computador instalado em sala adjacente para possibilitar o monitoramento e registro das imagens para serem analisadas.

O teste da Caixa Claro Escuro foi realizado no 70º dia de vida após a realização do teste do Labirinto em T Elevado. Os animais foram colocados no lado claro da caixa e permanecerão no teste durante 5 minutos.

Os parâmetros avaliados foram latência de saída do lado claro, transições entre claro e escuro, movimentos no lado claro e escuro, tempo de permanência no lado claro e escuro e número de levantamentos.

Quanto maior a latência de saída do lado claro, maior o número de transições para o lado claro, maior o número de movimentos no lado claro e maior tempo no lado claro, menor a ansiedade.

Figura 4 – Imagem da Caixa Claro Escuro.

Fonte: Produção do próprio autor.

3.6.3. Labirinto Aquático de Morris

Este teste viabilizou a avaliação dos processos de aprendizagem e memória espacial dos animais, sendo que a aprendizagem foi analisada na primeira fase durante os seis dias de teste e a memória foi verificada no teste de retenção de memória realizado 28 dias após a primeira fase.

Este labirinto aquático consiste em um tanque circular de fibra de vidro de cor preta, com 150 cm de diâmetro e 39 cm de altura, preenchido com água a uma temperatura controlada de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). O nível da água ficou 12,5 cm abaixo do nível da borda do tanque. O tanque era dividido em quatro quadrantes imaginários (para efeito de registros comportamentais) numerados em sentido horário (Q1, Q2, Q3 e Q4). Uma plataforma circular, preta, de 12 cm de diâmetro e 25 cm de altura (submersa 1,5 cm abaixo do nível da água) foi colocada dentro do tanque numa posição fixa no centro de um dos quatro quadrantes imaginários (Q1).

O labirinto aquático permaneceu no centro de uma sala, sobre uma estrutura de 50 cm de altura construída em madeira maciça. Em áreas externas ao tanque foram oferecidas algumas pistas – tais como figuras aleatórias nas paredes, as janelas e a porta da sala – que serviram como pistas visuais distais para orientar a navegação dos animais. Não foram oferecidas pistas visuais proximais, nem pistas olfativas ou auditivas.

Acima do labirinto foi fixada uma câmera de vídeo (AS-3 Tracker, EUA), conectada a um computador instalado em sala adjacente para possibilitar o monitoramento e registro das imagens para serem posteriormente analisadas. Foi utilizado o tracejador *Ethovision* Versão

3.0 (Programa de monitoramento e registro de parâmetros comportamentais) que possibilitou a análise do procedimento experimental por meio do registro de dados precisos de navegação. Os parâmetros analisados foram latência de fuga, distância navegada, velocidade de natação, movimento de rotação e ângulo de deslocamento inicial dos animais em cada tentativa.

Aos 70 dias de vida, todos os animais foram testados no labirinto aquático de Morris. O teste no labirinto aquático foi realizado em seis dias consecutivos (quatro tentativas diárias).

No primeiro dia de teste, antes da primeira tentativa, cada animal era colocado na plataforma por um período de 60 segundos. Após esse intervalo de tempo o animal era posicionado de costas para o centro do tanque, em um dos quadrantes (exceto aquele onde permanecerá a plataforma) e era permitido a ele nadar em busca da plataforma de fuga por um período de 60 segundos. Cada animal era submetido a quatro tentativas diárias, durante seis dias consecutivos, totalizando 24 tentativas. A plataforma permaneceu na mesma localização durante todo o experimento. Nas ocasiões em que um animal não conseguiu alcançar a plataforma dentro do tempo estabelecido, ele era guiado pelo experimentador até a plataforma. Entre as tentativas, cada animal permaneceu sobre a plataforma por um intervalo de 35 segundos. As posições de saída para cada tentativa eram determinadas aleatoriamente em proporções iguais.

Depois da última tentativa (24^a) do sexto dia de testes, a plataforma foi removida e o animal colocado no quadrante diagonalmente oposto àquele que continha a plataforma e foi imposto um período de 60 segundos de natação (*probe trial*). Foi registrado o tempo despendido e analisado o percentual de permanência em cada quadrante. A *probe trial* (25^a tentativa) consiste em uma tentativa de extinção (já que na ausência da plataforma o comportamento do animal não era reforçado) possibilitou analisar a precisão de navegação do animal em busca da plataforma, bem como, a efetivação do aprendizado da tarefa.

Após quatro semanas desta fase de testes, aos 101 dias de vida, cada animal foi novamente testado em uma única tentativa (teste de retenção de memória - 26^a tentativa). Os animais foram colocados no labirinto aquático, no quadrante diagonalmente oposto àquele em que estava fixada a plataforma. Nesta tentativa, cada animal teve 180 segundos para encontrar a plataforma submersa que estava na mesma localização em que permaneceu durante todo o experimento. Essa 26^a tentativa foi aplicada para que fossem avaliados os processos de retenção, consolidação e evocação da memória sobre o aprendizado adquirido durante a execução da tarefa, na primeira etapa de testes, no labirinto aquático.

Figura 5 – Imagem do Labirinto Aquático de Morris.

Fonte: Produção do próprio autor.

3.6.4. Composição Centesimal

Todos os procedimentos de análise da composição centesimal dos alimentos, descritos abaixo, foram obtidos a partir do Manual do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Umidade – Método de Estufa a 105°C

Procedimento:

Secagem dos Cadinhos:

Os cadinhos de porcelana foram mantidos em estufa a 105°C por 1 hora, após este período eles foram retirados da estufa com o auxílio da pinça metálica e foram colocados em dessecador por 30 minutos para que esfriassem, quando os cadinhos já estavam frios, eles foram pesados em balança analítica.

Método:

Após a pesagem dos cadinhos, seus pesos foram anotados e a balança foi tarada. Foi pesado aproximadamente 3 g de amostra de cada alimento e anotado seu peso. Posteriormente, os cadinhos foram colocados na estufa a 105°C por 6 horas. Após este período os cadinhos foram retirados da estufa e colocados em dessecador para esfriar por 30 minutos, para posteriormente serem pesados.

Cálculos:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{(P_i - P_f)}{P_a} \times 100$$

Onde:

P_i = peso cadinho vazio (P_c) + amostra úmida (P_a)

Pf = peso cadinho + amostra seca

Pa = peso amostra úmida

Cinzas – Método para Determinação de Cinzas Totais em Mufla a 550°C

Procedimento:

Os cadinhos utilizados para a realização da umidade foram transferidos para a queima em forno mufla a 550°C por 3 horas (inicialmente a temperatura da mufla foi ajustada para 100°C, aumentando 50°C a cada 30 minutos até que atingisse 550°C, a partir daí foi contabilizado 3 horas), ou poderia ser pesada aproximadamente 5 g da amostra de cada alimento (previamente seco) repetindo o mesmo processo em relação a mufla. Após este período, os cadinhos foram retirados da mufla com auxílio de uma pinça metálica e transferidos para um dessecador onde permaneceram por aproximadamente 30 minutos e foram pesados os cadinhos.

Cálculos:

$$\% \text{CINZA} = \frac{\text{Peso da cinza}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

Proteína – Nitrogênio Total – Método Micro-Kjeldahl

Procedimento:

Foi pesado aproximadamente 0,1g de amostra de cada alimento em tubo de digestão, foi adicionado 0,8g de mistura digestora e 4mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) e deixados para digestão em temperatura ambiente por aproximadamente 12 horas. Foi feito o branco com 0,8g de mistura digestora e 4ml de H₂SO₄. Após estes procedimentos, os tubos de digestão foram transferidos para o bloco digestor a 330°C por 3 horas (inicialmente a temperatura do bloco digestor foi ajustada para 100°C, aumentando 50°C a cada 30 minutos até que atingisse 330°C, a partir daí foi contabilizado 3 horas). Posteriormente foi adicionado ao tubo 10mL de água destilada e 2 gotas de fenolftaleína 1% e agitado até a dissolução completa dos cristais. Em um erlenmeyer de 125mL foi colocado 10 mL da solução de ácido bórico (H₃BO₃) com indicadores. O tubo de digestão foi conectado no compartimento do destilador de nitrogênio, adicionando NaOH até o ponto de viragem. Foi ligado o aquecimento e quando a solução do tubo digestor entrou em ebulição, conectou-se o erlenmeyer do outro lado de modo com que o tubo do aparelho ficasse em contato com a solução. A amostra foi destilada até que o volume da solução no erlenmeyer chegasse a aproximadamente 70 mL. Posteriormente a solução foi titulada com H₂SO₄ 0,05M e anotado o volume gasto.

Cálculos:

$$\%N = \frac{0,0014 \times (V_s - V_b) \times FC \times 100}{P}$$

$\%PTN = \%N \times \text{fator correção da proteína}$

$V_s = \text{volume gasto na titulação (mL)}$

$V_b = \text{volume gasto na titulação do branco (mL)}$

$FC = \text{Fator de correção da Molaridade do } H_2SO_4$

$P = \text{peso da amostra (g)}$

Fator de correção da Proteína de acordo com cada alimento:

- gelatina = 5,55
- trigo e produtos tritícolos = 5,70
- arroz = 5,35
- soja = 6,00
- carnes em geral = 6,25
- leite e produtos lácteos = 6,38
- ovos = 6,68
- cevada, aveia, centeio = 5,83
- nozes = 5,46

Lipídeos – Método de Soxhlet**Procedimentos:**

Os balões de fundo chato foram secados por 1 hora em estufa a 105°C, posteriormente os balões foram retirados da estufa com o auxílio de pinça metálica e luva e colocados em dessecador por 30 minutos para esfriar e foram pesados. Foi pesado aproximadamente 5 g da amostra em um cartucho e coberto com algodão. Os cartuchos foram inseridos na secção central do Extrator de Soxhlet, conectados o balão de fundo chato e foi adicionado éter de petróleo ou éter etílico e deixado em refluxo por 6h. Após este período os balões de fundo chato foram colocados em estufa a 105°, por 2h. Os balões de fundo chato foram retirados da estufa com o auxílio de pinça metálica e luva e colocados no dessecador para esfriar por 30 minutos. Posteriormente foram pesados em balança analítica.

Cálculos:

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{(B-A)}{P_a} \times 100$$

Onde:

A = Peso do balão vazio (g)

B = Peso do balão + gordura (g)

$P_a = \text{Peso amostra (g)}$

Fibras – Determinação de Fibras pelo Método de Weender

Procedimentos:

O papel filtro foi mantido na estufa por 2h a temperatura de 105°C, após este período foi retirado com uma pinça metálica e colocado em dessecador para esfriar por 30 minutos e posteriormente foi pesado em balança analítica. Foi pesado 1g da amostra em um balão de fundo chato de 250ml e adicionado 50 ml de reagente ácido sulfúrico 0,3N e duas gotas de solução antiespumante e adaptado o balão de fundo chato ao condensador. Esta amostra foi fervida suavemente por 30 minutos e deixada esfriar. Após este período foi adicionado 25ml de reagente NaOH 1,5N e duas gotas de solução antiespumante e colocada novamente para ferver suavemente por 30 minutos e colocada para esfriar. Posteriormente a solução contida no balão de fundo chato foi filtrada em papel filtro pesado anteriormente. Após a filtração, o papel foi lavado com água destilada até que a reação ficasse neutra (ph=7,0), depois foi lavada 3 vezes com álcool etílico e lavada 3 vezes com éter etílico. Posteriormente o papel filtro foi colocado em estufa para secar até que se obtivesse peso constante. O papel filtro foi retirado da estufa com o auxílio de uma pinça metálica e deixado para esfriar em dessecador por 30 minutos e seu peso foi anotado.

1) Peso das fibras

$$P_f = P_d - P_a$$

Onde:

P_f = peso das fibras (g)

P_d = Peso do papel de filtro + fibras (g)

P_a = peso do papel de filtro (g)

2) % de Fibras

$$\% \text{ Fibras} = \frac{P_f \times 100}{P_e}$$

P_e = Peso da amostra

Carboidratos Totais

Procedimentos:

O cálculo do carboidrato foi obtido a partir da diferença das demais análises realizadas.

Cálculos:

$$\% \text{ Carboidrato} = 100 - \% \text{ Umidade} - \% \text{ Cinzas} - \% \text{ Proteína} - \% \text{ Lipídeos} - \% \text{ Fibras}$$

Valor Calórico

Procedimentos:

Para a realização do valor calórico dos alimentos foi realizada a multiplicação dos macronutrientes proteína, lipídeo e carboidrato por seus valores calóricos 4,0; 9,0 e 4,0, respectivamente e posteriormente foi realizada a soma desta multiplicação.

3.7. Métodos de Eutanásia

Após todos os procedimentos experimentais uma parte dos animais foi sacrificada por decapitação (para realização das análises laboratoriais) e a outra parte através da inalação de CO₂. Posteriormente, as carcaças foram enviadas ao Biotério Central para incineração.

3.8. Análises Laboratoriais

Após todos os procedimentos experimentais, uma parte dos animais foi levada ao biotério do Departamento da Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), onde os ratos foram sacrificados por decapitação para a coleta de sangue, coração, fígado, tecido adiposo retroperitoneal e epididimal.

O coração, fígado, tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal foram coletados e pesados para posteriormente ser realizada uma análise do acúmulo destes tecidos, a partir da relação entre o peso dos mesmos e o peso dos animais no dia do sacrifício.

Todas as análises metabólicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Após a coleta, o sangue foi centrifugado por 20 minutos, a 3500 rpm (rotações por minuto), a 4°C em centrífuga Universal (320 R Hettich Zentrifugen - Alemanha) e foi separado o soro para dosagem de glicose, triglicérides, TGO e TGP.

Foi analisada a quantidade de gordura total no fígado. Para determinação e quantificação de gordura total, foi utilizado o método proposto por Bligh e Dyer (1959). Primeiramente, 0,5 g de tecido hepático foi homogeneizado com 0,8 mL de água destilada, em tubos de 10 mL. Em seguida, foram adicionados 1 mL de clorofórmio e 2 mL de metanol, para que então os tubos pudessem ser submetidos à agitação em vortex por 2 minutos. Foram adicionados, então, 1 mL de clorofórmio e 1 mL de água. Uma nova agitação foi realizada por aproximadamente 2 minutos e os tubos foram centrifugados a 4000 rpm por 2 minutos para separação das camadas de clorofórmio (inferior) e aquosa (superior). Foi retirado aproximadamente 1,3 mL do clorofórmio e colocado em um tubo de ensaio contendo 1 g de sulfato de sódio anidro, para remoção de traços de água. Uma alíquota de 0,5 mL da fase de

clorofórmio livre de água foi transferida para um eppendorf previamente pesado, o qual foi levado para uma estufa com circulação forçada de ar a 50°C. Após a evaporação de todo o clorofórmio, foi repetida a pesagem do eppendorf. O cálculo foi realizado pela diferença das pesagens do eppendorf, dividido pela massa inicial de tecido utilizado (SALINAS, 2002). Posteriormente foi adicionado neste eppendorf 1 mL de isopropanol para ressuspender a gordura e a partir desta gordura foram realizadas as análises de colesterol total e triglicérides.

3.8.1. Determinação de Glicose Sérica, Triglicérides, TGO e TGP do soro e determinação de Colesterol Total e Triglicérides do fígado

A glicemia, triglicérides, TGO e TGP do soro, assim como as análises de colesterol total e triglicérides do fígado foram analisados pelos protocolos padronizados com “kits” comerciais da Labetst (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil).

3.9. Análise dos Dados

Os resultados de peso corporal foram submetidos a uma Análise de Variância (ANOVA) de duas vias com repetição no fator dias de vida. Os dados comportamentais do LAM foram submetidos a uma ANOVA de duas vias com repetição do fator tentativas. Os dados comportamentais de esquiva inibitória do LTE foram submetidos a uma ANOVA de duas vias com repetição do fator esquiva. Os dados de fuga do LTE a uma ANOVA de uma via e os dados de peso dos tecidos extraídos no dia do sacrifício e as análises bioquímicas foram submetidos a uma ANOVA de uma via. Quando apropriado, foi utilizado o teste de comparações múltiplas de *Newman-Keuls* ($p < 0,05$). Os dados comportamentais do teste claro/escuro foram submetidos ao teste *t-Student* ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1. Peso Corporal das Ninhadas e Ratas Mães

A Figura 6 mostra o ganho de peso das ninhadas que consumiram ração em *pellet* e dieta AIN-93 do dia do nascimento até os 21 dias de vida. Não foi observada diferença estatística entre os dois grupos.

Figura 6 – Histograma representativo do ganho de peso das ninhadas de ratos *Wistar* tratados com ração em *pellet* (n = 12) e dieta AIN-93 (n = 10) (Média ± EPM) durante o período de lactação.

Verificou-se que as ratas mães tratadas com ração em *pellet* apresentaram perda de peso na terceira semana de pesagem, como demonstrado na Figura 4. Na primeira semana de tratamento nutricional as ratas mães apresentaram ganho de 5% de peso corporal comparando-se à medida de peso realizada no dia do nascimento dos filhotes; na segunda semana este ganho de peso passou a ser de 3%, já na terceira semana houve perda de 5% do peso corporal destas ratas mães, como demonstrado na Tabela 4. Já as ratas tratadas com dieta AIN-93 apresentaram perda de peso durante o período de amamentação. Na primeira semana esta perda de peso foi de 2,3%, na segunda esta perda foi de 0,8% e na terceira esta perda foi 4%.

Com relação à perda de peso das ratas mães a análise estatística demonstrou efeito de dieta [$F_{1,20} = 18,43$; $p < 0,05$], efeito de medidas [$F_{2,40} = 16,07$; $p < 0,05$] e efeito de interação entre os fatores dieta x medidas [$F_{2,40} = 7,34$; $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas revelou que as ratas tratadas com ração em *pellet* apresentaram ganho de peso enquanto às ratas tratadas com dieta AIN-93 apresentaram perda de peso nas primeira e segunda semana de pesagem como demonstrado na Figura 7.

Figura 7 – Histograma representativo da perda de peso das ratas *Wistar* mães tratadas com ração em *pellet* (n = 12) e dieta AIN-93 (n = 10) (Média ± EPM) durante o período de lactação. * p<0,05 comparado as ratas tratadas com dieta AIN-93, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de *Newman-Keuls*.

Tabela 4 - Valores em porcentagem de ganho ou perda de peso das ratas mães tratadas com ração em *pellet* (n = 12) e dieta AIN-93 (n = 10) durante o período de lactação, do nascimento até os 21 dias de vida dos filhotes.

Tratamento Nutricional	Semanas de tratamento nutricional	Ganho de peso das ratas mães (%)
Ração Pellet	1ª Semana	+ 5
	2ª Semana	+ 3
	3ª Semana	- 5
Dieta AIN-93	1ª Semana	-2,3
	2ª Semana	-0,8
	3ª Semana	-4

4.2. Medidas de Peso (Corporal, Fígado, Tecido Adiposo Retroperitoneal e Epididimal) e Medidas Metabólicas

Os dados de peso e medidas metabólicas dos animais dos grupos C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93 estão apresentados agrupados, assim como os dados dos animais dos grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-92, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, já que tais grupos passaram pelo mesmo período de tratamento nutricional.

Em relação aos animais dos grupos C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93, verificou-se que, de acordo com a ANOVA, houve efeito significativo do fator dieta [$F_{5,69} = 11,34$; $p < 0,05$], do fator dias de vida [$F_{7,483} = 3331,58$ $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta x dias de vida [$F_{35,483} = 13,36$; $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas mostrou maior peso dos animais dos grupos DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93 em relação aos animais do grupo C1, a partir dos 42 dias de vida ($p < 0,05$). Foi observado também maior peso dos animais dos grupos DH1 e DH1 AIN-93 comparados aos animais dos grupos DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, a partir dos 49 dias de vida ($p < 0,05$) (Tab. 5).

Tabela 5 – Peso de ratos Wistar (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13), DH1 (n=13), C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13), do desmame até os 70 dias de vida.

Grupos Nutricionais	Peso corporal							
	21	28	35	42	49	56	63	70
C1	64,0 $\pm 1,56$	99,5 $\pm 4,18$	145,3 $\pm 7,24$	196,1 $\pm 12,68^a$	259,3 $\pm 15,13^a$	323,3 $\pm 15,75^a$	385,8 $\pm 16,21^a$	443,5 $\pm 16,39^a$
DH1	67,1 $\pm 1,45$	121,8 $\pm 3,38$	191,0 $\pm 9,53$	273,3 $\pm 13,97$	368,5 $\pm 18,64^b$	474,4 $\pm 19,07^b$	557,8 $\pm 23,83^b$	619,4 $\pm 25,98^b$
DC1	68,5 $\pm 1,54$	106,7 $\pm 2,71$	161,8 $\pm 3,51$	233,3 $\pm 6,11$	316,5 $\pm 7,83$	394,1 $\pm 9,80$	462,7 $\pm 12,18$	521,6 $\pm 13,72$
C1 AIN-93	59,3 $\pm 1,62$	110,0 $\pm 3,0$	178,9 $\pm 7,31$	245,2 $\pm 12,35$	321,9 $\pm 14,88$	393,1 $\pm 14,93$	448,2 $\pm 14,88$	493,8 $\pm 14,31$
DH1 AIN-93	64,5 $\pm 2,04$	115,4 $\pm 3,74$	195,0 $\pm 8,40$	282,5 $\pm 10,58$	373,1 $\pm 12,94^b$	460,9 $\pm 14,92^b$	539,5 $\pm 18,18^b$	598,4 $\pm 21,59^b$
DC1 AIN-93	62,3 $\pm 2,29$	113,5 $\pm 3,89$	183,3 $\pm 5,63$	256,6 $\pm 7,81$	331,4 $\pm 9,62$	400,8 $\pm 10,82$	457,1 $\pm 11,94$	498,7 $\pm 12,79$

^a $p < 0,05$, comparado aos grupos DC1, DH1, C1AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93 e ^b $p < 0,05$, comparado aos grupos DC1, C1AIN-93 e DC1 AIN-93, no mesmo dia, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação aos dados de ganho de peso semanal dos animais dos grupos C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93, de acordo com a ANOVA, houve efeito significativo do fator dieta [$F_{5,69} = 13,93$; $p < 0,05$], do fator semanas [$F_{6,414} = 66,44$; $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta x semanas [$F_{30,414} = 3,92$; $p < 0,05$] (Tab. 6).

A análise de comparações múltiplas mostrou que animais do grupo DH1 apresentaram maior ganho de peso da segunda até a quinta semana, na quinta semana, nas quinta e sexta semanas, da quarta até a sexta semana e na quinta semana, quando comparados aos animais do grupo C1, DC1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93, respectivamente. Animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior ganho de peso da segunda até a quinta semana, na segunda semana, nas terceira e sexta semanas e na sexta semana com relação aos animais dos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, respectivamente. Animais do grupo C1 apresentaram menor peso com relação aos animais dos grupos C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 na segunda semana e nas segunda e terceira semanas, respectivamente.

Tabela 6 – Ganho de peso semanal de ratos Wistar (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13), DH1 (n=13), C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13), da 1ª até a 7ª semana de tratamento nutricional.

Grupos Nutricionais	Ganho de peso						
	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana	6ª Semana	7ª Semana
C1	35,5 $\pm$ 3,24	45,7 $\pm$ 3,91 ^a	50,9 $\pm$ 6,79 ^a	63,2 $\pm$ 2,97 ^a	64,0 $\pm$ 1,55 ^a	62,5 $\pm$ 2,71	57,7 $\pm$ 2,20
DH1	54,7 $\pm$ 2,52	69,2 $\pm$ 8,71	82,3 $\pm$ 5,71	95,2 $\pm$ 13,32	105,9 $\pm$ 6,14 ^b	83,5 $\pm$ 5,81	61,5 $\pm$ 3,42
DC1	38,3 $\pm$ 1,86	55,1 $\pm$ 1,44	71,5 $\pm$ 3,49	83,2 $\pm$ 2,65	77,6 $\pm$ 2,67	68,6 $\pm$ 2,99	58,9 $\pm$ 2,16
C1 AIN-93	50,7 $\pm$ 2,16	68,9 $\pm$ 4,74 ⁱ	66,2 $\pm$ 5,26 ^f	76,8 $\pm$ 3,10	71,2 $\pm$ 2,12 ^c	55,1 $\pm$ 2,29 ^{c,f}	45,6 $\pm$ 2,73
DH1 AIN-93	50,9 $\pm$ 2,11	79,6 $\pm$ 5,35 ^e	87,6 $\pm$ 2,84	90,5 $\pm$ 2,91 ^d	87,8 $\pm$ 3,01 ^d	78,5 $\pm$ 4,55 ^d	58,9 $\pm$ 5,13
DC1 AIN-93	51,3 $\pm$ 1,91	69,7 $\pm$ 2,16 ^h	73,4 $\pm$ 2,46 ^h	74,7 $\pm$ 2,15	69,5 $\pm$ 1,65	56,3 $\pm$ 1,55 ^g	41,6 $\pm$ 1,65

^a $p < 0,05$, comparado aos grupos DH1 e DH1 AIN-93, ^b $p < 0,05$, comparado aos grupos DC1 e DH1 AIN-93, ^c $p < 0,05$, comparado ao grupo DH1, ^d $p < 0,05$, comparado ao grupo DH1, ^e $p < 0,05$, comparado ao grupo DC1, ^f $p < 0,05$, comparado ao grupo DH1 AIN-93, ^g $p < 0,05$, comparado ao grupo DH1 AIN-93, ^h $p < 0,05$, comparado ao grupo C1 e ⁱ $p < 0,05$, comparado ao grupo C1, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

A Tabela 7, apresenta a porcentagem de ganho de peso de cada grupo nutricional, C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93, durante as sete semanas de tratamento nutricional. Na tabela 8, evidenciou-se a porcentagem de peso dos animais dos grupos DC1 e DH1 comparados aos animais do grupo C1 e a porcentagem de peso dos animais dos grupos DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93 comparados aos animais do grupo C1 AIN-93 durante as sete semanas de tratamento nutricional.

Tabela 7 - Valores em porcentagem de ganho de peso dos animais dos grupos C1 (n= 12), DC1 (n= 13), DH1 (n= 13), C1 AIN-93 (n= 13), DC1 AIN-93 (n= 11) e DH1 AIN-93 (n= 13), da 1ª até a 7ª semana de tratamento nutricional.

Grupos Nutricionais	Aumento percentual do peso corporal						
	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana	6ª Semana	7ª Semana
C1	55,23	45,83	34,43	32,91	25,59	19,78	15,26
DC1	56,1	51,9	44,2	35,8	24,5	17,4	12,7
DH1	81,6	57,2	43,4	36,6	30,1	17,5	11,1
C1 AIN-93	85,97	61,95	36,02	32,06	23,15	14,43	10,44
DC1 AIN-93	82,8	61,7	40,1	29,2	21,0	14,1	9,1
DH1 AIN-93	79,2	68,7	45,4	32,2	23,7	17,0	10,9

Tabela 8 - Valores em porcentagem de peso dos animais dos grupos DC1 (n= 13) e DH1 (n= 13) comparados aos animais do grupo C1 (n= 12) e valores em porcentagem de peso dos animais dos grupos DC1 AIN-93 (n= 11) e DH1 AIN-93 (n= 13) comparados aos animais do grupo C1 AIN-93 (n= 13) da 1ª até a 7ª semana de tratamento nutricional.

Grupos Nutricionais	Percentual do peso corporal						
	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana	6ª Semana	7ª Semana
DC1 x C1	+1,48	+13,13	+28,27	+8,70	-4,17	-12,24	-16,47
DH1 x C1	+47,67	+24,79	+25,99	+11,09	+17,68	-11,60	-27,25
DC1 AIN-93 x C1 AIN-93	-3,72	-0,40	+11,31	-8,99	-9,15	-2,52	-12,63
DH1 AIN-93 x C1 AIN-93	-7,89	+10,84	+25,94	+0,56	+2,48	+17,97	+4,09

A seguir serão apresentados os dados de peso corporal, peso do fígado, coração e acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais no dia do sacrifício, aos 77 dias de vida (C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93).

A ANOVA revelou que, no dia do sacrifício, animais do grupo DH1 apresentaram maior peso quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais dos grupos DC1 e DH1 AIN-93 apresentaram maiores pesos no dia do sacrifício comparados aos animais dos grupos C1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 [$F_{5,54} = 27,18$, $p < 0,05$], aos 77 dias de vida (Tab. 9).

Com relação aos dados da relação do peso do tecido adiposo retroperitoneal pelo peso dos animais, no dia do sacrifício, analisados pela ANOVA, foi evidenciado que os animais do

grupo DH1 apresentaram maior acúmulo deste tecido adiposo quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais do grupo C1 apresentaram menor acúmulo deste tecido adiposo quando comparados aos demais grupos nutricionais, animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal comparados aos animais dos grupos DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, e animais do grupo DC1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo deste tecido quando comparados aos animais do grupo DC1 [$F_{5,54} = 41,16$, $p < 0,05$] (Tab.9).

Com relação aos dados da relação do peso do tecido adiposo epididimal pelo peso dos animais no dia do sacrifício, a ANOVA revelou que, animais do grupo C1 apresentaram menor acúmulo deste tecido quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais do grupo DH1 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo epididimal comparado aos demais grupos e animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo deste tecido adiposo quando comparados aos animais dos grupos DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 [$F_{5,54} = 15,53$, $p < 0,05$], como demonstrado na Tabela 9.

Tabela 9 – Peso de ratos *Wistar*, relação do peso do tecido adiposo retroperitoneal pelo peso dos animais e relação do peso do tecido adiposo epididimal pelo peso dos animais (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.

Grupos Nutricionais	Peso Sacrifício	Retroperitoneal	Epididimal
C1	502,20 $\pm$ 12,81	0,0064 $\pm$ 0,0006 ^c	0,008 $\pm$ 0,0005 ^c
DH1	693,90 $\pm$ 23,79 ^a	0,032 $\pm$ 0,0026 ^a	0,03 $\pm$ 0,002 ^a
DC1	591,20 $\pm$ 10,22 ^b	0,016 $\pm$ 0,00123	0,014 $\pm$ 0,001
C1 AIN-93	495,30 $\pm$ 9,02	0,017 $\pm$ 0,001	0,014 $\pm$ 0,0016
DH1 AIN-93	626,40 $\pm$ 19,86 ^b	0,025 $\pm$ 0,0008 ^d	0,022 $\pm$ 0,003 ^d
DC1 AIN-93	503,50 $\pm$ 13,12	0,021 $\pm$ 0,0011 ^c	0,02 $\pm$ 0,002

^a $p < 0,05$, comparado aos demais grupos, ^b $p < 0,05$, comparado aos grupos C1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, ^c $p < 0,05$, comparado aos demais grupos, ^d $p < 0,05$, comparado aos grupos DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, ^e $p < 0,05$, comparado ao grupo DC1, no mesmo dia, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Em relação ao peso do fígado, coração e acúmulo dos tecidos adiposo retroperitoneal e epididimal, a Tabela 10 demonstra o peso e acúmulo destes tecidos nos animais dos grupos C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93. A ANOVA revelou que, aos 77 dias de vida, os animais do grupo DH1 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal quando comparados aos animais dos demais grupos, animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo deste tecido comparado aos animais dos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 e animais do grupo C1 apresentaram menor acúmulo deste tecido quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais [$F_{5,54} = 35,19$, $p < 0,05$].

Com relação ao acúmulo de tecido adiposo epididimal, os animais do grupo DH1 apresentaram maior acúmulo deste tecido quando comparados aos animais dos demais grupos

nutricionais, animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo epididimal comparado aos animais dos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 e animais do grupo DC1 apresentaram maior acúmulo deste tecido quando comparados aos animais do grupo C1 [$F_{5,54} = 19,06$, $p < 0,05$], como demonstrado na Tabela 10.

Animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior peso do fígado quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais do grupo DH1 apresentaram maior peso do fígado comparados aos animais dos grupos C1, DC1 e DC1 AIN-93 [$F_{5,54} = 13,1$, $p < 0,05$] (Tab. 10).

Com relação aos dados do peso do coração, animais do grupo DH1 apresentaram maior peso do coração comparados aos demais grupos nutricionais e animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior peso do coração em relação aos animais dos grupos C1, DC1 e DC1 AIN-93 [$F_{5,54} = 11,13$, $p < 0,05$], como demonstrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores médios de peso em gramas do fígado, coração e dos tecidos adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.

	C1 (g)	DH1 (g)	DC1 (g)	C1 AIN-93 (g)	DH1 AIN-93 (g)	DC1 AIN-93 (g)
Tecido Adiposo Retroperitoneal	3,23 $\pm$ 0,38 ^d	22,55 $\pm$ 2,35 ^b	9,27 $\pm$ 0,79	8,35 $\pm$ 0,42	15,51 $\pm$ 0,88 ^c	10,42 $\pm$ 0,057
Tecido Adiposo Epididimal	4,15 $\pm$ 0,30	19,59 $\pm$ 1,97 ^b	8,55 $\pm$ 0,66 ^c	7,13 $\pm$ 0,84	14,09 $\pm$ 1,94 ^c	8,57 $\pm$ 0,091
Fígado	19,29 $\pm$ 0,34	23,59 $\pm$ 1,05 ^a	19,88 $\pm$ 0,54	21,34 $\pm$ 1,15	27,32 $\pm$ 0,83 ^b	18,87 $\pm$ 1,14
Coração	1,71 $\pm$ 0,06	2,25 $\pm$ 0,09 ^b	1,83 $\pm$ 0,04	1,82 $\pm$ 0,05	2,02 $\pm$ 0,06 ^a	1,70 $\pm$ 0,05

^a $p < 0,05$, comparado aos grupos C1, DC1 e DC1 AIN-93, ^b $p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais, ^c $p < 0,05$, comparado aos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, ^d $p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais e ^e $p < 0,05$, comparado ao grupo C1, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

A seguir serão apresentados os dados das dosagens metabólicas dos animais, aos 77 dias de vida (C1, DC1, DH1, C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93).

A ANOVA revelou que os animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maiores níveis de glicose, quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais [$F_{5,54} = 8,24$, $p < 0,05$], aos 77 dias de vida (Tab. 11). Não foram verificadas diferenças com relação aos triglicérides dos animais. Pôde-se verificar que animais do grupo DH1 e C1 apresentaram menores valores de TGO, comparados aos animais dos grupos DC1, C1 AIN-93 e DH1 AIN-93 e aos grupos DC1 e DH1 AIN-93, respectivamente, [$F_{5,54} = 5,04$, $p < 0,05$]. Animais do grupo C1 apresentaram maiores níveis de TGP quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais dos grupos DH1 e DC1 apresentaram maior níveis de TGP comparados aos animais dos grupos C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93 e animais do

grupo DH1 AIN-93 apresentaram maiores níveis de TGP em relação aos animais dos grupos C1 AIN-93 e DC1 AIN-93.

Tabela 11 - Valores de glicose, triglicérides, TGO e TGP do soro dos animais (Média $\pm$ DPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.

	C1	DH1	DC1	C1 AIN-93	DH1 AIN-93	DC1 AIN-93
Glicose (mg/dL)	121,78 $\pm$ 13,14	137,84 $\pm$ 15,59	122,90 $\pm$ 13,85	137,79 $\pm$ 27,53	171,16 $\pm$ 41,82 ^a	110,67 $\pm$ 11,25
Triglicérides (mg/dL)	78,94 $\pm$ 21,90	92,67 $\pm$ 79,61	120,13 $\pm$ 32,21	113,36 $\pm$ 38,89	70,16 $\pm$ 30,88	131,75 $\pm$ 67,76
TGO (U/mL)	83,16 $\pm$ 14,96 ^b	79,91 $\pm$ 11,82 ^c	102,13 $\pm$ 14,10	97,27 $\pm$ 12,94	102,32 $\pm$ 15,94	93,43 $\pm$ 10,12
TGP (U/mL)	134,05 $\pm$ 14,31 ^a	114,42 $\pm$ 9,01 ^d	118,58 $\pm$ 6,41 ^d	43,26 $\pm$ 5,15	51,44 $\pm$ 6,34 ^e	40,04 $\pm$ 6,59

^a p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, ^b p<0,05, comparado aos grupos DC1 e DH1 AIN-93, ^c p<0,05, comparado aos grupos DC1, C1 AIN-93 e DH1 AIN-93, ^d p<0,05, comparado aos grupos C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93 e ^e p<0,05, comparado aos grupos C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

De acordo com a Tabela 12, animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maiores valores de gordura total no fígado quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais do grupo DH1 apresentaram maior quantidade de gordura no fígado em relação aos animais dos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, [$F_{5,54} = 106,21$, p<0,05]. Animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maiores níveis de colesterol no fígado em relação aos animais dos grupos C1, DC1, DH1 e C1 AIN-93, animais dos grupos C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 apresentaram maiores níveis de colesterol comparados aos animais dos grupos C1, DC1 e DH1 [$F_{5,54} = 28,6$, p<0,05]. Com relação aos valores de triglicérides no fígado, verificou-se que animais do grupo DH1 apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais de todos os grupos nutricionais e animais do grupo DC1 apresentaram maiores níveis de triglicérides no fígado comparados aos animais dos grupos C1, C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93 [$F_{5,54} = 40,61$, p<0,05].

Tabela 12 - Valores de gordura total no fígado (g/gT) dos animais, colesterol total (mg/gG) e triglicérides (mg/gG) do fígado dos animais (Média $\pm$ DPM) dos grupos C1 (n=10), DC1 (n=10), DH1 (n=10), C1 AIN-93 (n=10), DC1 AIN-93 (n=10) e DH1 AIN-93 (n=10), aos 77 dias de vida.

	C1	DH1	DC1	C1 AIN-93	DH1 AIN-93	DC1 AIN-93
Gordura Total no Fígado (g/gT)	0,08 $\pm$ 0,005	0,19 $\pm$ 0,015 ^a	0,09 $\pm$ 0,004	0,13 $\pm$ 0,06	0,2 $\pm$ 0,02 ^b	0,1 $\pm$ 0,03
Colesterol Total (mg/gG)	3,81 $\pm$ 0,89	3,31 $\pm$ 1,09	4,33 $\pm$ 0,71	6,83 $\pm$ 1,45 ^d	8,05 $\pm$ 1,43 ^c	8,06 $\pm$ 1,81 ^d
Triglicérides (mg/gG)	7,62 $\pm$ 2,69	42,57 $\pm$ 16,78 ^b	16,37 $\pm$ 2,14 ^c	5,89 $\pm$ 1,26	8,68 $\pm$ 0,91	6,60 $\pm$ 1,59

^a p<0,05, comparado aos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, ^b p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, ^c p<0,05, comparado aos grupos C1, DC1, DH1 e C1 AIN-93, ^d p<0,05, comparado aos grupos C1, DC1 e DH1 e ^e p<0,05, comparado aos grupos C1, C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93 de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

A seguir serão descritos os dados dos animais do grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93.

Com relação aos dados de peso a ANOVA revelou houve efeito significativo do fator dias de vida [$F_{11,715} = 3534,7$; $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta x dias de vida [$F_{55,715} = 13,84$; $p < 0,05$] (Tab. 13). A análise de comparações múltiplas mostrou maior peso dos animais do grupo DH2 AIN-93 em relação aos animais do grupo C2 dos 70 aos 98 dias de vida, comparados aos animais do grupo DH2 aos 98 dias de vida e em relação aos animais dos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93 dos 84 aos 98 dias de vida. Além disso, animais do grupo DH2 apresentaram maior peso quando comparados aos animais do grupo C2 dos 77 aos 98 dias de vida, em relação aos animais do grupo DC2 dos 91 aos 98 dias de vida e em relação aos animais do grupo DC2 AIN-93 aos 98 dias de vida.

Tabela 13 – Peso de ratos *Wistar* (Média $\pm$ EPM) dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), do desmame até os 98 dias de vida.

Grupos	Peso corporal											
	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	91	98
C2	66,8 $\pm 2,5$	120,6 $\pm 4,1$	195,8 $\pm 7,0$	268,1 $\pm 14,0$	334,3 $\pm 15,2$	419,5 $\pm 17,1$	473,8 $\pm 17,0$	518,2 $\pm 17,9^c$	545,5 $\pm 19,0^c$	573,8 $\pm 18,5^c$	594,4 $\pm 18,1^c$	619,9 $\pm 16,6^c$
DH2	69,1 $\pm$ 1,9	121,3 $\pm 3,8$	176,0 $\pm 7,8$	249,5 $\pm 11,1$	336,0 $\pm 16,7$	427,8 $\pm 19,0$	505,9 $\pm 21,6$	579,1 $\pm 23,6$	638,5 $\pm 26,0^d$	696,5 $\pm 28,6^d$	735,3 $\pm 27,3^d$	766,4 $\pm 29,4^{b,d}$
DC2	71,6 $\pm 2,4$	128,7 $\pm 3,9$	206,2 $\pm 7,1$	290,7 $\pm 10,6$	372,4 $\pm 12,5$	451,4 $\pm 14,3$	512,5 $\pm 15,7$	561,6 $\pm 16,0$	594,9 $\pm 16,5$	626,8 $\pm 17,6$	649,4 $\pm 17,7^e$	670,7 $\pm 17,5^e$
C2 AIN-93	73,4 $\pm 2,8$	128,0 $\pm 5,4$	206,3 $\pm 6,9$	288,0 $\pm 8,4$	374,2 $\pm 9,4$	451,8 $\pm 11,5$	517,1 $\pm 13,4$	576,6 $\pm 16,4$	608,5 $\pm 17,1$	648,7 $\pm 19,5$	678,0 $\pm 20,0$	692,2 $\pm 21,3$
DH2 AIN-93	78,4 $\pm 3,1$	123,4 $\pm 6,3$	176,3 $\pm 15,3$	248,7 $\pm 21,4$	333,5 $\pm 27,2$	429,1 $\pm 30,1$	522,2 $\pm 32,6$	608,2 $\pm 34,6$	678,1 $\pm 36,0$	739,3 $\pm 36,6^a$	801,4 $\pm 37,5^a$	848,2 $\pm 36,0^a$
DC2 AIN-93	78,0 $\pm$ 2,8	132,1 $\pm 2,8$	211,1 $\pm 4,7$	293,1 $\pm 6,3$	379,7 $\pm 6,2$	455,4 $\pm 8,3$	518,0 $\pm 9,9$	573,4 $\pm 10,7$	609,7 $\pm 11,1$	637,8 $\pm 16,0$	675,2 $\pm 13,5$	696,7 $\pm 15,3^f$

^a $p < 0,05$, comparado aos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, ^b $p < 0,05$, comparado ao grupo DH2 AIN-93, ^c $p < 0,05$, comparado ao grupo DH2 AIN-93, ^d $p < 0,05$, comparado ao grupo C2, ^e $p < 0,05$, comparado ao grupo DH2, ^f $p < 0,05$, comparado ao grupo DH2, no mesmo dia, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação aos dados de ganho de peso semanal dos animais dos grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, de acordo com a ANOVA, houve efeito significativo do fator dieta [$F_{5,65} = 11,5$; $p < 0,05$], do fator semanas [$F_{10,650} = 165,74$; $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta x semanas [$F_{50,650} = 7,46$; $p < 0,05$] (Tab. 14). A análise de comparações múltiplas mostrou que animais do grupo DH2 apresentaram maior ganho de peso quando comparados aos animais do grupo C2 da sexta até a nona semana de tratamento nutricional, em relação aos animais do grupo DC2 na segunda e da sétima até a nona semana de tratamento nutricional, comparados aos animais do grupo C2 AIN-93 na segunda e oitava semana e em relação aos animais do grupo DC2 AIN-93 na segunda, oitava e nona semana de tratamento nutricional ($p < 0,05$).

Animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maior peso quando comparados aos animais do grupo C2, DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93 na segunda e da sexta até a décima primeira semana de tratamento nutricional e em relação aos animais do grupo DH2 na décima semana de tratamento nutricional ($p<0,05$) (Fig. 14).

Tabela 14 – Ganho de peso semanal de ratos Wistar (Média $\pm$ EPM) dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), da 1ª até a 11ª semana de tratamento nutricional.

Grupos	Ganho de peso / Semana										
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª
C2	53,8 $\pm 2,3$	75,2 $\pm 3,8$	72,3 $\pm 7,9$	76,2 $\pm 2,8$	75,2 $\pm 3,1$	54,4 $\pm 3,1^a$	44,4 $\pm 2,6^a$	27,3 $\pm 3,0^a$	28,3 $\pm 3,1^a$	20,5 $\pm 3,1$	25,5 $\pm 2,1$
DH2	52,3 $\pm 2,3$	54,7 $\pm 5,2$	73,5 $\pm 4,1$	86,5 $\pm 6,9$	91,8 $\pm 5,0$	78,2 $\pm 4,0$	73,2 $\pm 4,4$	59,5 $\pm 5,3$	57,9 $\pm 3,9$	38,8 $\pm 7,0^e$	31,1 $\pm 3,6$
DC2	57,2 $\pm 2,0$	77,5 $\pm 4,0^b$	84,5 $\pm 3,8$	81,7 $\pm 2,8$	79,0 $\pm 2,6$	61,2 $\pm 2,3$	49,1 $\pm 3,2^b$	33,3 $\pm 3,2^b$	31,9 $\pm 3,1^b$	22,5 $\pm 1,6$	21,3 $\pm 2,3$
C2 AIN-93	54,6 $\pm 3,5$	78,3 $\pm 3,1^c$	81,8 $\pm 3,0$	86,2 $\pm 2,7$	77,6 $\pm 3,4$	65,3 $\pm 2,9$	59,5 $\pm 3,5$	31,9 $\pm 2,8^c$	40,2 $\pm 3,0$	29,3 $\pm 2,4$	14,2 $\pm 5,5$
DH2 AIN-93	45,0 $\pm 3,5$	52,9 $\pm 9,3^f$	72,5 $\pm 6,3$	84,8 $\pm 5,9$	95,5 $\pm 3,3$	93,1 $\pm 3,8^f$	86,0 $\pm 2,8^f$	69,9 $\pm 3,2^f$	61,2 $\pm 2,8^f$	62,1 $\pm 3,4^f$	46,8 $\pm 4,0^f$
DC2 AIN-93	54,1 $\pm 2,9$	79,0 $\pm 2,9^d$	82,0 $\pm 2,5$	86,6 $\pm 2,1$	75,6 $\pm 2,8$	62,6 $\pm 2,7$	55,4 $\pm 2,6$	36,4 $\pm 2,4^d$	28,1 $\pm 9,3^d$	37,4 $\pm 9,0$	21,5 $\pm 2,7$

^{a,b,c,d} $p<0,05$, comparado aos animais do grupo DH2, ^e $p<0,05$, comparado aos animais do grupo DH2 AIN-93 e ^f $p<0,05$, comparados aos animais dos grupos C2, DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

A Tabela 15 apresenta a porcentagem de ganho de peso dos animais dos grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93 durante as 11 semanas de tratamento nutricional. Na Tabela 16 são apresentados os dados de porcentagem de peso dos animais dos grupos DC2 e DH2 comparados aos animais do grupo C2 e dos grupos DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93 comparados aos animais do grupo C2 durante 11 semanas de tratamento nutricional.

Tabela 15 - Valores em porcentagem de ganho de peso dos animais dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), da 1ª até a 11ª semana de tratamento nutricional.

Grupos Nutricionais	Aumento percentual do peso corporal										
	Semanas										
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª
C2	80,95	62,55	35,88	29,91	22,23	13,38	9,48	5,28	5,36	3,69	4,43
DH2	75,68	44,85	41,88	34,52	27,95	18,44	14,59	10,29	9,05	5,78	4,18
DC2	80,30	60,15	40,90	28,28	21,33	13,61	9,68	5,98	5,37	3,63	3,32
C2 AIN-93	74,64	61,93	39,91	30,08	20,76	14,45	11,45	5,55	6,56	4,54	2,09
DH2 AIN-93	57,18	40,39	42,00	34,90	30,05	22,43	16,91	11,79	9,23	8,56	6,07
DC2 AIN-93	70,8	59,9	38,9	29,7	19,9	13,7	10,7	6,4	4,6	6,1	3,2

A seguir serão apresentados os dados de peso corporal, peso do fígado, coração e acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida (C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93).

Tabela 16 - Valores em porcentagem de peso dos animais dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13), DH2 (n=13), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11), da 1ª até a 11ª semana de tratamento nutricional.

Grupos Nutricionais	Percentual do peso corporal										
	Semanas										
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª
DC2 x C2	-0,79	-3,84	13,78	-5,44	-4,06	1,73	2,12	13,21	0,23	-1,54	-25,06
DH2 x C2	-6,5	-28,29	16,72	15,42	25,73	37,82	53,87	94,8	69,03	56,73	-5,68
DC2 AIN-93 x C2 AIN-93	-5,14	-3,27	-2,5	-1,25	-4,16	-4,86	-6,51	14,64	-30,36	34,77	50,83
DH2 AIN-93 x C2 AIN-93	-23,39	-34,78	5,25	16,03	44,73	55,21	47,68	112,4	40,86	88,6	190,42

Com relação aos dados de peso corporal no dia do sacrifício, pôde-se verificar que os animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maior peso corporal no dia do sacrifício quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais. Animais do grupo DH2 apresentaram maior peso em relação aos animais dos grupos C2 e C2 AIN-93. Animais do grupo C2 apresentaram menor peso comparados aos animais dos demais grupos nutricionais [$F_{5,54} = 21,21$, $p < 0,05$] como demonstrado na Tabela 17.

A ANOVA demonstrou que com relação aos dados da relação do peso do tecido adiposo retroperitoneal pelo peso dos animais, no dia do sacrifício, os animais do grupo C2 apresentaram menor acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior acúmulo deste tecido adiposo em relação aos animais dos grupos C2, DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, no dia do sacrifício, [$F_{5,54} = 17,54$ $p < 0,05$] (Tab. 17).

Com relação aos dados da relação do peso do tecido adiposo epididimal pelo peso dos animais no dia do sacrifício, pôde-se verificar que os animais do grupo C2 apresentaram menor acúmulo deste tecido quando comparados aos animais dos grupos DH2, DC2, C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo epididimal em relação aos animais dos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 11,03$, $p < 0,05$], como demonstrado na Tabela 17.

Com relação ao peso do fígado, coração e acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal, a Tabela 18 demonstra o peso e acúmulo destes tecidos nos animais dos grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93. A ANOVA revelou que, aos 102 dias de vida, os animais do grupo C2 apresentaram menor acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior acúmulo deste tecido em relação aos animais dos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 21,64$, $p < 0,05$].

Tabela 17 – Peso de ratos Wistar, relação do peso do tecido adiposo retroperitoneal pelo peso dos animais e relação do peso do tecido adiposo epididimal pelo peso dos animais (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.

Grupos Nutricionais	Peso Sacrifício	Retroperitoneal	Epididimal
C2	604,70±14,84 ^a	0,015±0,0016 ^a	0,01±0,001 ^e
DH2	791,00±30,02	0,04±0,003 ^d	0,03±0,004 ^f
DC2	753,60±16,43	0,03±0,002	0,03±0,002
C2 AIN-93	707,90±22,1 ^b	0,03±0,003	0,02±0,002
DH2 AIN-93	914,80±27,73 ^c	0,04±0,002 ^d	0,03±0,002 ^f
DC2 AIN-93	734,40±17,11	0,024±0,002	0,02±0,003

^a p<0,05, comparado aos demais grupos, ^b p<0,05, comparado ao grupo C2 AIN-93, ^c p<0,05, comparado aos demais grupos, ^d p<0,05, comparado aos grupos C2, DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, ^e p<0,05, comparado aos grupos DH2, DC2, C2 AIN-93 e DH2 AIN-93, ^f p<0,05, comparado aos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, no mesmo dia, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

A ANOVA demonstrou que com relação aos dados de acúmulo de tecido adiposo epididimal, animais do grupo C2 apresentaram menor acúmulo deste tecido comparados aos animais dos grupos DH2, DC2 e DH2 AIN-93 e animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo epididimal em relação aos animais dos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 13,83$, $p < 0,05$], como demonstrado na Tabela 18.

Com relação aos dados do peso do fígado dos animais no dia do sacrifício, observou-se que animais do grupo DH2 apresentaram maior peso deste tecido quando comparados aos animais do grupo C2 e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maior peso do fígado em relação aos animais dos demais grupos nutricionais [$F_{5,54} = 13,56$, $p < 0,05$] (Tab. 18).

Animais do grupo C2 AIN-93 apresentaram menor peso do coração quando comparados aos animais dos grupos DH2, DC2, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 4,07$, $p < 0,05$], como demonstrado na Tabela 18.

Tabela 18 - Valores médios de peso em gramas do fígado, coração e dos tecidos adiposo retroperitoneal e epididimal dos animais (Média ± EPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.

	C2 (g)	DH2 (g)	DC2 (g)	C2 AIN-93 (g)	DH2 AIN-93 (g)	DC2 AIN-93 (g)
Tecido Adiposo Retroperitoneal	9,25±1,14 ^a	32,43±3,15 ^b	22,05±1,59	18,02±2,04	36,49±2,63 ^b	18,05±1,87
Tecido Adiposo Epididimal	7,91±0,78 ^c	27,35±3,92 ^b	18,99±1,61	15,31±1,74	29,62±2,08 ^b	13,74±2,04
Fígado	19,5±0,82	23,1±1,07 ^d	21,08±0,66	22,03±0,74	28,6±1,33 ^c	20,22±0,46
Coração	1,97±0,05	2,26±0,11	2,14±0,08	1,84±0,05 ^f	2,25±0,13	2,26±0,08

^a p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, ^b p<0,05, comparado aos animais dos grupos DC2, C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, ^c p<0,05, comparado aos animais dos grupos DH2, DC2 e DH2 AIN-93, ^d p<0,05, comparado aos animais do grupo C2, ^e p<0,05, comparado aos animais dos demais grupos nutricionais, ^f p<0,05, comparado aos animais dos grupos DH2, DC2, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

As figuras 8, 9, 10, 11, 12 e 13 mostram as imagens do fígado, coração e tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal dos animais dos grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-93,

DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, respectivamente. Por meio destas imagens é possível observar que tanto os animais dos grupos DC2 e DC AIN-93 como os animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram uma maior quantidade de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal, quando comparados aos animais dos grupos C2 e C2 AIN-93, respectivamente.

Figura 8 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo C2, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.

Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 9 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DC2, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.

Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 10 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DH2, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.

Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 11 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo C2 AIN-93, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.

Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 12 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DC2 AIN-93, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.

Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 13 – Imagens do a) Fígado; b) Tecido Adiposo Retroperitoneal; c) Tecido Adiposo Epididimal; e d) Coração de um animal do grupo DH2 AIN-93, no dia do sacrifício, aos 102 dias de vida.

Fonte: Produção do próprio autor.

A seguir serão apresentados os dados das dosagens metabólicas dos animais, aos 102 dias de vida (C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93).

A Tabela 19, a seguir, apresenta todos os dados das dosagens metabólicas no soro dos animais dos grupos C2, DC2, DH2, C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93. Com relação aos dados de glicose, pôde-se verificar que animais do grupo DC2 AIN-93 apresentaram menores níveis de glicose quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais [$F_{5,54} = 5,26$, $p < 0,05$]. Animais dos grupos C2 e DH2 apresentaram maiores níveis de triglicérides quando comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e animais do grupo DC2 apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais do grupo DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 7,88$, $p < 0,05$]. A ANOVA revelou que animais do grupo C2 apresentaram maiores níveis de TGO quando comparados aos animais do grupo DH2 e os animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC AIN-93 apresentaram maiores níveis de TGO em relação aos animais dos grupos C2, DH2 e DC2 [$F_{5,54} = 103,95$, $p < 0,05$]. Com relação aos dados de TGP, pôde-se verificar que animais do grupo C2 apresentaram maiores níveis de TGP quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais dos grupos DH2 e DC2 apresentaram maiores níveis de TGP em relação aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de TGP comparados aos animais do grupo DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 17,28$, $p < 0,05$].

Tabela 19 - Valores de glicose, triglicérides, TGO e TGP do soro dos animais (Média ± DPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.

	C2	DH2	DC2	C2 AIN-93	DH2 AIN-93	DC2 AIN-93
Glicose (mg/dL)	135,14±12,42	145,24±16,72	139,66±18,59	131,63±14,05	143,11±12,31	116,33±11,43 ^a
Triglicérides (mg/dL)	69,0±16,27 ^b	73,48±22,36 ^b	61,33±23,17 ^c	50,05±9,42	43,24±15,92	35,51±7,68
TGO (U/mL)	53,66±11,30 ^d	45,67±7,16	45,49±6,25	99,98±10,41 ^e	98,28±4,09 ^e	100,70±10,93 ^e
TGP (U/mL)	103,96±10,19 ^f	94,78±8,44 ^g	94,26±6,82 ^g	79,63±6,74	86,14±5,45 ^h	77,43±7,75

^a p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, ^b p<0,05, comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93, ^c p<0,05, comparado aos animais do grupo DC2 AIN-93, ^d p<0,05, comparado aos animais do grupo DH2, ^e p<0,05, comparado aos animais dos grupos C2, DH2 e DC2, ^f p<0,05, comparado aos animais dos demais grupos nutricionais, ^g p<0,05, comparado aos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e ^h p<0,05, comparado ao grupo DC2 AIN-93, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

De acordo com a Tabela 20, animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maiores valores de gordura total no fígado quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais [$F_{5,54} = 31,51$, $p<0,05$]. Com relação aos dados de colesterol total no fígado, animais do grupo DH2 apresentaram maiores valores de colesterol no fígado quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais dos grupos C2 e DC2 apresentaram maiores níveis de colesterol total no fígado em relação aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maiores valores de colesterol total comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93 e DC2 AIN-93 [$F_{5,54} = 50,20$, $p<0,05$]. Animais do grupo DH2 apresentaram maiores níveis de triglicérides no fígado quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais do grupo DC2 [$F_{5,54} = 11,38$, $p<0,05$].

Tabela 20 - Valores de gordura total no fígado (g/gT) dos animais, colesterol total (mg/gG) e triglicérides (mg/gG) do fígado dos animais (Média ± DPM) dos grupos C2 (n=10), DC2 (n=10), DH2 (n=10), C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=10) e DH2 AIN-93 (n=10), aos 102 dias de vida.

	C2	DH2	DC2	C2 AIN-93	DH2 AIN-93	DC2 AIN-93
Gordura Total no Fígado (g/gT)	0,14±0,02	0,22±0,03 ^a	0,14±0,02	0,152±0,016	0,236±0,038 ^a	0,16±0,014
Colesterol Total (mg/gG)	5,47±0,81 ^b	10,41±3,21 ^a	6,80±1,0 ^b	1,37±0,25	3,71±1,11 ^c	2,04±0,45
Triglicérides (mg/gG)	20,63±11,65	77,73±51,70 ^a	23,11±4,78	15,96±5,09	44,16±12,79 ^d	18,03±5,13

^a p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, ^b p<0,05, comparado aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93, ^c p<0,05, comparado aos animais do grupo C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, ^d p<0,05, comparado aos animais do grupo DC2, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

4.3. Composição Centesimal dos alimentos oferecidos aos animais de todos os grupos nutricionais e Medidas de Consumo Alimentar em gramas, calorias e lipídeos.

No Quadro 3 está apresentada a composição centesimal de todos os alimentos oferecidos aos animais que receberam a dieta de cafeteria, a dieta hiperlipídica, a ração comercial em *pellet* e a dieta AIN-93 (APÊNCIDE B).

Os dados de consumo alimentar em gramas, calorias e lipídeos serão apresentados separadamente por grupos, sendo eles, C1, DC1 e DH1; C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93; C2, DC2 e DH2; C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93.

Com relação aos dados de consumo alimentar em gramas dos animais dos grupos C1, DC1 e DH1, pôde-se verificar que a análise estatística revelou efeito de dieta [$F_{2,35} = 26,02$, $p < 0,05$], semanas [$F_{7,245} = 532,8$, $p < 0,05$] e interação entre os efeitos dieta e semanas [$F_{14,245} = 30,698$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas demonstrou que os animais do grupo C1 apresentaram menor consumo com relação aos animais do grupo DH1 na segunda semana, contudo da quarta até a oitava semana e da segunda até a oitava semana de tratamento nutricional os animais do grupo C1 apresentaram maior consumo em gramas quando comparados aos animais do grupo DH1 e DC1, respectivamente. Animais do grupo DH1 apresentaram maior consumo em gramas na segunda e terceira semanas quando comparados aos animais do grupo DC1, como demonstrado na Figura 14a.

Para os dados de consumo alimentar calórico a análise revelou efeito de dieta [$F_{2,35} = 96,3$, $p < 0,05$], semanas [$F_{7,245} = 439,53$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{14,245} = 15,62$, $p < 0,05$]. Animais do grupo DH1 apresentaram maior consumo calórico em relação aos animais dos grupos C1 e DC1 da primeira até a oitava semana de tratamento nutricional e animais do grupo C1 apresentaram maior consumo calórico quando comparados aos animais do grupo DC1 da segunda até a oitava semana (Fig. 14 b).

Com relação aos dados de consumo lipídico, a ANOVA revelou efeito de dieta [$F_{2,35} = 562,50$, $p < 0,05$], semana [$F_{7,245} = 182,85$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{14,245} = 78,9$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas evidenciou que animais do grupo DH1 apresentaram maior consumo lipídico quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais da primeira até a oitava semana de tratamento nutricional, como demonstrado na Figura 14 c.

Figura 14 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13) e DH1 (n=13) durante as oito semanas de tratamento nutricional. a) * p<0,05, comparado ao grupo C1, # p<0,05, comparado ao grupo DH1 e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1, b) * p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais e ¥ p<0,05, comparado ao grupo DC1 e c) * p<0,05, comparado aos demais grupos nutricionais, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Para os dados de consumo alimentar em gramas dos animais dos grupos C1 AIN-93, DC1 AIN-93 e DH1 AIN-93, a ANOVA revelou efeito de dieta [$F_{2,34} = 11,55$, $p < 0,05$], semanas [$F_{7,238} = 82,35$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{14,238} = 8,02$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas demonstrou que animais do grupo C1 AIN-93 apresentaram maior consumo alimentar em gramas da segunda até a oitava semana e da quarta até a oitava semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais dos grupos DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93, respectivamente, e animais do grupo DC1 AIN-93 apresentaram maior consumo alimentar em gramas comparados aos animais do grupo DH1 AIN-93 nas primeira e segunda semanas de tratamento nutricional (Fig. 15 a).

Com relação aos dados de consumo alimentar calórico, a análise estatística mostrou efeito de dieta [$F_{2,34} = 19,8$, $p < 0,05$], semanas [$F_{7,238} = 117,83$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{14,238} = 13,59$, $p < 0,05$]. Animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico comparado aos animais dos grupos C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 da terceira até a oitava semana de tratamento nutricional e animais do grupo C1 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico da quarta até a oitava semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais do grupo DC1 AIN-93, como demonstrado na Figura 15 b.

Para os dados de consumo lipídico a ANOVA revelou efeito de dieta [$F_{2,34} = 554,99$, $p < 0,05$], semanas [$F_{7,238} = 262,43$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{14,238} = 138,32$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas demonstrou que animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais da primeira até a oitava semana de tratamento nutricional e animais do grupo C1 AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico da quinta até a oitava semana de tratamento nutricional em relação aos animais do grupo DC1 AIN-93 (Fig. 15 c).

Figura 15 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13) durante as oito semanas de tratamento nutricional. a) * $p < 0,05$, comparado ao grupo C1 AIN-93, # $p < 0,05$, comparado ao grupo DH1 AIN-93 e ¥ $p < 0,05$, comparado ao grupo DC1 AIN-93, b) * $p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais e ¥ $p < 0,05$, comparado ao grupo DC1 AIN-93 e c) * $p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais e ¥ $p < 0,05$, comparado ao grupo DC1 AIN-93, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação aos dados de consumo alimentar em gramas dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou efeito de dieta [$F_{2,37} = 64,26$, $p < 0,05$], semanas [$F_{11,407} = 185,63$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{22,407} = 16,95$, $p < 0,05$]. Animais do grupo C2 apresentaram maior consumo alimentar em gramas quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais da segunda até a 12ª semana de tratamento nutricional e animais do grupo DC2 apresentaram maior consumo em gramas em relação aos animais do grupo DH2 da segunda até a quinta semana de tratamento nutricional, como demonstrado na Figura 16 a.

Para os dados de consumo alimentar em calorias, a análise estatística demonstrou efeito de dieta [$F_{2,37} = 68,02$, $p < 0,05$], semanas [$F_{11,407} = 168,99$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{22,407} = 16,84$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas revelou que animais do grupo DH2 apresentaram maior consumo calórico da primeira até a 12ª semana e na primeira e da terceira até a 11ª semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais dos grupos DC2 e C2, respectivamente, e animais do grupo C2 apresentaram maior consumo alimentar em calorias da segunda até a 12ª semana de tratamento nutricional quando comparado aos animais do grupo DC2 (Fig. 16 b).

Com relação aos dados de consumo lipídico, a ANOVA revelou efeito de dieta [$F_{2,37} = 705,75$, $p < 0,05$], semanas [$F_{11,407} = 89,77$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{22,407} = 48,25$, $p < 0,05$]. Animais do grupo DH2 apresentaram maior consumo lipídico quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais da primeira até a 12ª semana de tratamento nutricional, como demonstrado na Figura 16 c.

Para os dados de consumo alimentar em gramas dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, a ANOVA revelou efeito de dieta [$F_{2,29} = 36,51$, $p < 0,05$], semanas [$F_{11,319} = 99,10$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{22,319} = 19,35$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas revelou que animais do grupo C2 AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas da segunda até a nona semana e da segunda até a 12ª semana de tratamento nutricional em relação aos animais dos grupos DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93, respectivamente, e animais do grupo DC2 AIN-93 apresentaram menor consumo alimentar em gramas quando comparados aos animais do grupo DH2 AIN-93 na primeira e da quinta até a 12ª semana, e estes mesmos animais apresentaram maior consumo alimentar em gramas na segunda e terceira semanas de tratamento nutricional comparados aos animais DH2 AIN-93, como demonstrado na Figura 17 a.

Com relação aos dados de consumo alimentar em calorias, a análise estatística revelou efeito de dieta [$F_{2,29} = 77,11$, $p < 0,05$], semanas [$F_{11,319} = 109,25$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{22,319} = 26,75$, $p < 0,05$]. Animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico na primeira da quinta até a 12ª semana e na primeira e da terceira até a 12ª semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, respectivamente, e animais do grupo C2 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico da segunda até a 12ª semana de tratamento nutricional em relação aos animais DC2 AIN-93 (Fig. 17 b).

Figura 16 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos C2 (n=13), DC2 (n=13) e DH2 (n=13) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. a) $^{\#} p < 0,05$, comparado ao grupo DH2 e $^{\text{¥}} p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais, b) $^* p < 0,05$, comparado ao grupo C2, $^{\#} p < 0,05$, comparado ao grupo DH2 e $^{\text{¥}} p < 0,05$, comparado ao grupo DC2 e c) $^* p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Para os dados de consumo lipídico, a ANOVA revelou efeito de dieta [$F_{2,29} = 391,71$, $p < 0,05$], semanas [$F_{11,319} = 108,47$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{22,319} = 66,83$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas demonstrou que os animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais da primeira até a 12ª semana de tratamento nutricionais, como demonstrado na Figura 17 c.

A seguir serão apresentados os dados de consumo alimentar dos animais do grupo C comparados aos animais do grupo C AIN-93, dos animais DC comparados aos DC AIN-93 e dos animais DH comparados aos animais DH AIN-93, as análises foram feitas com os animais dos dois grupos independentes, ou seja, os animais que foram testados na caixa claro escuro e os animais testados no Morris. Os dados até a oitava semana de tratamento nutricional foram realizadas com todos os animais, a partir da nona semana, foram utilizados somente os animais que permaneceram para o LAM.

A análise estatística revelou efeito de semanas [$F_{7,322} = 338,72$, $p < 0,05$] e efeito de interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{7,322} = 17,69$, $p < 0,05$], da primeira a oitava semana e revelou efeito de dieta [$F_{1,21} = 33,59$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{3,63} = 14,86$, $p < 0,05$] e efeito de interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{3,63} = 2,96$, $p < 0,05$] da nona até a décima

segunda semana de análise. A análise de comparações múltiplas revelou que os animais do grupo C AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas na primeira e segunda semanas quando comparados aos animais do grupo C, contudo, animais do grupo C apresentaram maior consumo em gramas a partir da quinta e até a décima segunda semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais do grupo C AIN-93 (Fig. 18 a).

Figura 17 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos C2 AIN-93 (n=10), DC2 AIN-93 (n=11) e DH2 AIN-93 (n=11) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. a) * $p < 0,05$, comparado ao grupo C2 AIN-93, # $p < 0,05$, comparado ao grupo DH2 AIN-93 e ¥ $p < 0,05$, comparado ao grupo DC2 AIN-93, b) * $p < 0,05$, comparado ao grupo C2 AIN-93, # $p < 0,05$, comparado ao grupo DH2 AIN-93 e ¥ $p < 0,05$, comparado ao grupo DC2 AIN-93 e c) * $p < 0,05$, comparado aos demais grupos nutricionais, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação ao consumo calórico, na análise da primeira até a oitava semana, houve efeito de dieta [$F_{1,46} = 19,75$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{7,322} = 326,31$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{7,322} = 5,77$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana, houve efeito de semanas [$F_{3,63} = 15,11$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{3,63} = 3,43$, $p < 0,05$]. Animais do grupo C AIN-93 apresentaram maior consumo calórico da primeira até a sexta semana e na oitava semana de tratamento nutricional, da nona até a décima segunda semana não houve diferença entre os animais na mesma medida, como demonstrado na Figura 18 b.

Para o consumo lipídico, da primeira até a oitava semana, houve efeito de dieta [$F_{1,46} = 200,32$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{7,322} = 293,75$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta

e semanas [$F_{7,322} = 5,65$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana houve efeito de dieta [$F_{1,21} = 78,48$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{3,63} = 14,86$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{3,63} = 4,60$, $p < 0,05$]. Animais do grupo C AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico da primeira até a décima segunda semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais do grupo C (Fig. 18 c).

Figura 18 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos C (n=25) e C AIN-93 (n=23) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. * $p < 0,05$, comparado ao grupo C, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação aos dados de consumo alimentar em gramas dos animais DC e DC AIN-93, a análise estatística revelou que da primeira até a oitava semana de tratamento nutricional houve efeito de semanas [$F_{7,329} = 85,41$, $p < 0,05$] e interação entre os dois fatores dieta e semanas [$F_{7,329} = 16,31$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana houve efeito de dieta [$F_{1,23} = 6,42$, $p < 0,05$] e efeito de semanas [$F_{3,69} = 17,95$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas demonstrou que os animais DC AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas na primeira e segunda semanas comparados aos animais DC, contudo animais DC apresentaram maior consumo em gramas da quinta até a oitava semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais DC AIN-93, como demonstrado na Figura 19 a.

Para os dados de consumo calórico, a análise estatística revelou efeito de dieta [$F_{1,47} = 9,15$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{7,329} = 83,05$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{7,329} = 12,48$, $p < 0,05$] da primeira até a oitava a semana e revelou somente efeito de semanas [$F_{3,69} = 17,22$, $p < 0,05$] da nona até a décima segunda semana de tratamento

nutricional. Animais DC AIN-93 apresentaram maior consumo calórico da primeira até a quarta semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais DC (Fig. 19 b).

Com relação ao consumo lipídico, pôde-se observar que da primeira até a oitava semana, houve efeito de dieta [$F_{1,47} = 64,20$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{7,329} = 117,75$, $p < 0,05$] e efeito de interação entre os dois fatores dieta e semanas [$F_{7,329} = 7,45$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana houve efeito de dieta [$F_{1,23} = 25,36$, $p < 0,05$] e efeito de semanas [$F_{3,69} = 7,87$, $p < 0,05$], contudo não houve efeito de interação entre os fatores. A análise de comparações múltiplas demonstrou que animais DC AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico da primeira até a oitava semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais DC, como demonstrado na Figura 19 c.

Para os dados de consumo alimentar em gramas dos animais DH e DH AIN-93, da primeira até a oitava semana de tratamento nutricional, a análise estatística revelou efeito de semanas [$F_{7,336} = 397,97$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{7,336} = 4,94$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana houve efeito de dieta [$F_{1,22} = 11,88$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{3,66} = 14,08$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{3,66} = 12,74$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas revelou que animais DH AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas na primeira e da décima até a décima segunda semana de tratamento nutricional comparados aos animais DH (Fig. 20 a).

Com relação ao consumo calórico da primeira até a oitava semana, houve somente efeito de semanas [$F_{7,336} = 481,93$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana houve efeito de dieta [$F_{1,22} = 11,88$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{3,66} = 14,08$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{3,66} = 12,74$, $p < 0,05$]. Animais DH AIN-93 apresentaram maior consumo calórico da décima até a décima segunda semana de tratamento nutricional quando comparados aos animais DH, como demonstrado na Figura 20 b.

Para os dados de consumo lipídico, a análise estatística da primeira até a oitava semana revelou efeito de semanas [$F_{7,336} = 589,30$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{7,336} = 2,35$, $p < 0,05$] e da nona até a décima segunda semana houve efeito de dieta [$F_{1,22} = 11,88$, $p < 0,05$], efeito de semanas [$F_{3,66} = 14,08$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e semanas [$F_{3,66} = 12,74$, $p < 0,05$]. Animais DH apresentaram maior consumo lipídico na primeira semana comparado aos animais do grupo DH AIN-93, contudo da décima até a décima segunda semana de tratamento nutricional animais do grupo DH AIN-93 apresentaram maior consumo calórico quando comparados aos animais DH (Fig. 20 c).

Figura 19 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos DC (n=26) e DC AIN-93 (n=22) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. * $p < 0,05$, comparado ao grupo DC, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Figura 20 – Histograma representativo do consumo alimentar de ratos *Wistar* a) Consumo Alimentar em gramas, b) Consumo Alimentar em Calorias e c) Consumo Lipídico (Média $\pm$ EPM) dos grupos DH (n=26) e DH AIN-93 (n=24) durante as 12 semanas de tratamento nutricional. * $p < 0,05$, comparado ao grupo DH, na mesma semana, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

4.4. Análises Comportamentais

4.4.1. Labirinto em T Elevado

No teste do LTE, a análise do comportamento de esquia inibitória, de acordo com a ANOVA, demonstrou somente efeito de dieta [$F_{2,35} = 3,38$, $p < 0,05$] e efeito de esquia [$F_{2,70} = 17,58$, $p < 0,05$], contudo não foi observada interação entre os fatores dieta x esquia. Pôde-se verificar que animais do grupo controle apresentaram maiores latências nas esquivas e que houve aumento da latência na esquia dois, demonstrando que os animais demoraram mais tempo para sair do braço fechado e ir para o braço aberto à medida que estes animais eram reexpostos ao teste (Fig. 21 a). Com relação aos dados de fuga, observou-se que os animais dos grupos C1, DH1 e DC1 não diferiram entre si, como demonstrado na Figura 21 b).

Figura 21 – Histograma representativo do comportamento de ratos *Wistar* no LTE. a) Esquia inibitória e b) Fuga de ratos *Wistar* (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 (n=12), DC1 (n=13) e DH1 (n=13). LB: Linha de base; E1: Esquia 1; E2: Esquia 2. * $p < 0,05$, comparado a LB e E1, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação à esquia inibitória no teste do LTE, para os grupos AIN-93, a ANOVA demonstrou somente efeito de esquia [$F_{2,68} = 13,03$, $p < 0,05$]. Pôde-se verificar que houve aumento da esquia 2 com parada a linha de base e a esquia 1, demonstrando que os animais demoraram mais tempo para sair do braço fechado para explorar o braço aberto a medida que eles eram reexpostos ao teste (Fig. 22 a). Com relação aos dados de fuga, observou-se que os animais dos grupos C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93 não diferiram entre si, como demonstrado na Figura 22 b).

Figura 22 – Histograma representativo do comportamento de ratos *Wistar* no LTE. a) Esquiva inibitória e b) Fuga de ratos *Wistar* (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 AIN-93 (n=13), DC1 AIN-93 (n=11) e DH1 AIN-93 (n=13). LB: Linha de base; E1: Esquiva 1; E2: Esquiva 2. * $p < 0,05$, comparado a LB e E1, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

4.4.2. Caixa Claro-Escuro

Com relação aos dados comportamentais avaliados no teste da caixa claro/escuro, pode-se verificar que os animais do grupo DH1 apresentaram maiores valores de latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro $t(23) = -3,57$ ($p < 0,05$); maior quantidade de movimentos tanto no lado claro $t(23) = -2,48$ ($p < 0,05$) como no escuro $t(23) = -2,52$ ($p < 0,05$), respectivamente; assim como maior tempo de permanência no lado claro $t(23) = -2,68$ ($p < 0,05$) e menor tempo de permanência no lado escuro $t(23) = 2,68$ ($p < 0,05$) quando comparados aos animais do grupo C1. Não foram observadas diferenças em relação aos parâmetros de número de transições entre o lado claro e escuro e número de levantamentos em relação aos animais do grupo DH1 e C1 (Tab. 21). Animais do grupo DC1 demonstraram maiores valores de latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro $t(23) = -3,64$ ($p < 0,05$), maior número de transições de um lado para o outro $t(23) = -2,56$ ($p < 0,05$), maior quantidade de movimentos no lado claro $t(23) = -3,34$ ($p < 0,05$), bem como maior tempo de permanência no lado claro $t(23) = -3,12$ ($p < 0,05$) e menor tempo de permanência no lado escuro $t(23) = 3,128$ ($p < 0,05$) quando comparados aos animais do grupo C1, como demonstrado na Tabela 21. Não foram verificadas diferenças em relação aos parâmetros de quantidade de movimentos no lado escuro e número de levantamentos em relação aos animais do grupo DC1 e C1.

Não foi possível realizar a análise estatística deste teste por meio da ANOVA de uma via, pois os dados avaliados com os três diferentes grupos não apresentaram todas as diferenças entre os grupos. Todavia, essa diferença é significativa quando os dados são submetidos à análise com o Teste *t-Student*.

Tabela 21 - Valores de latência, número de transições, movimentos no lado claro, movimentos no lado escuro, tempo no lado claro, tempo no lado escuro e número de levantamentos dos animais (Média $\pm$ DPM) dos grupos C1 (n= 12), DC1 (n= 14) e DH1 (n=13), no teste da caixa claro/escuro.

	Controle	Dieta de Cafeteria	Dieta Hiperlipídica
Latência (s)	7,06 $\pm$ 0,57	16,85 $\pm$ 2,51 [#]	12,23 $\pm$ 1,28 [*]
Transições	2,12 $\pm$ 0,19	6,46 $\pm$ 1,63 [#]	2,62 $\pm$ 0,37
Movimentos Claro	8,32 $\pm$ 1,39	20,23 $\pm$ 3,12 [#]	16,69 $\pm$ 2,94 [*]
Movimentos Escuro	46,29 $\pm$ 2,34	46,54 $\pm$ 3,40	54,92 $\pm$ 2,4 [*]
Tempo Claro (s)	23,28 $\pm$ 3,10	52,31 $\pm$ 8,40 [#]	44,00 $\pm$ 6,79 [*]
Tempo Escuro (s)	276,72 $\pm$ 3,10	247,69 $\pm$ 8,40 [#]	256,00 $\pm$ 6,79 [*]
Levantamentos	14,11 $\pm$ 0,63	16,92 $\pm$ 1,27	14,84 $\pm$ 2,08

p<0,05, comparado ao grupo C1 e * p<0,05, comparado ao grupo C1, de acordo com o teste *t-Student*.

Quanto aos dados comportamentais avaliados no teste da caixa claro/escuro, animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maiores valores de latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro $t(24)=-2,25$ ($p<0,05$) quando comparados aos animais do grupo C1 AIN-93. Não foram observadas diferenças em relação aos demais parâmetros como de número de transições entre o lado claro e escuro, movimentos no lado claro e escuro, tempo no lado claro e escuro e número de levantamentos em relação aos animais do grupo DH1 AIN-93 e C1 AIN-93 (Tab. 22). Não foram verificadas diferenças em relação aos animais do grupo DC1 AIN-93 comparados aos animais do grupo C1 AIN-93 para latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro, número de transições entre o lado claro e escuro, movimentos no lado claro e escuro, tempo no lado claro e escuro e número de levantamentos, como demonstrado na Tabela 22.

Tabela 22 - Valores de latência, número de transições, movimentos no lado claro, movimentos no lado escuro, tempo no lado claro, tempo no lado escuro e número de levantamentos dos animais (Média $\pm$ EPM) dos grupos C1 AIN-93 (n= 13), DC1 AIN-93 (n= 11) e DH1 AIN-93 (n=13), no teste da caixa claro/escuro.

	Controle	Dieta de Cafeteria	Dieta Hiperlipídica
Latência (s)	10,15 $\pm$ 1,6	17,08 $\pm$ 2,63 [#]	11,64 $\pm$ 1,85
Transições	3,15 $\pm$ 0,62	2,46 $\pm$ 0,46	2,36 $\pm$ 0,49
Movimentos Claro	11,62 $\pm$ 2,67	11,77 $\pm$ 2,46	11,09 $\pm$ 1,83
Movimentos Escuro	53,38 $\pm$ 3,91	54,77 $\pm$ 3,36	52,27 $\pm$ 3,31
Tempo Claro (s)	35,62 $\pm$ 8,45	30,69 $\pm$ 5,61	29,36 $\pm$ 4,54
Tempo Escuro (s)	264,38 $\pm$ 8,45	269,31 $\pm$ 5,61	270,64 $\pm$ 4,54
Levantamentos	17,54 $\pm$ 1,61	18,38 $\pm$ 1,55	14,45 $\pm$ 1,38

p<0,05, comparado ao grupo C1 AIN-93, de acordo com o teste *t-Student*.

4.4.3. Labirinto Aquático de Morris

Com relação aos dados do LAM, primeiramente serão apresentados os dados de aprendizagem (primeira até a 24ª tentativa e a 25ª tentativa - *probe trial*) e memória (26ª tentativa - teste de retenção de memória) dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2 e, posteriormente, os dados dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93.

Todos os dados da fase de aprendizagem foram apresentados em blocos de quatro tentativas, já que o teste foi realizado em seis dias consecutivos.

No que se refere os dados de latência de fuga dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava e da nona até a décima segunda tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,108} = 5,78$, $p < 0,05$], [$F_{3,108} = 9,09$, $p < 0,05$] e [$F_{3,108} = 6,32$, $p < 0,05$], respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas diferenças. Pôde-se verificar que no geral houve uma queda na latência de fuga a medida que os animais passavam pelo teste, como demonstrado na Figura 23.

Figura 23 – Latência de fuga durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p < 0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação aos dados de distância navegada dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava e da nona até a décima segunda tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,108} = 8,41$, $p < 0,05$], [$F_{3,108} = 10,42$, $p < 0,05$] e [$F_{3,108} = 6,81$, $p < 0,05$], respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas diferenças. Houve diminuição da distância percorrida pelos animais a medida que os animais passavam pelo teste, como demonstrado na Figura 24.

Em referência aos dados de velocidade de natação dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, observou-se a partir da análise estatística que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava, da nona até a décima segunda e da décima terceira até a décima sexta tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,108} = 6,49$, $p < 0,05$], [$F_{3,108} = 3,80$, $p < 0,05$], [$F_{3,108} = 6,19$, $p < 0,05$] e [$F_{3,108} = 3,18$, $p < 0,05$], respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas diferenças. Verificou-se uma leve diminuição da velocidade de natação de uma tentativa para a outra (Fig. 25).

Figura 24 – Distância Navegada durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p<0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Figura 25 – Velocidade de natação durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p<0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Quanto aos dados de ângulo de deslocamento inicial dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava, da nona até a décima segunda, da décima terceira até a décima sexta, da décima sétima até a vigésima e da vigésima primeira até a vigésima quarta tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,108} = 15,62$, $p<0,05$], [$F_{3,108} = 29,90$, $p<0,05$], [$F_{3,108} = 32,42$, $p<0,05$], [$F_{3,108} = 98,93$, $p<0,05$], [$F_{3,108} = 51,99$, $p<0,05$] e [$F_{3,108} = 176,14$, $p<0,05$] respectivamente, como demonstrado na Figura 26.

Com relação aos dados de movimento de rotação dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava e da nona até a décima segunda tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,108} = 5,96$, $p<0,05$], [$F_{3,108} = 10,77$, $p<0,05$] e [$F_{3,108} = 5,36$, $p<0,05$], respectivamente, contudo nas

demais tentativas não foram verificadas diferenças. Verificou-se que no geral houve diminuição na quantidade de movimentos de rotação a cada tentativa do teste (Fig. 27).

Figura 26 – Ângulo de deslocamento inicial durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p<0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Figura 27 – Movimento de rotação durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p<0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Em relação aos dados dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, da 25ª tentativa, *probe trial*, na qual a plataforma é retirada do tanque, foi verificado efeito de quadrante [$F_{3,108} = 40,70$, $p<0,05$], ou seja, os animais dos três grupos nutricionais passaram mais tempo nadando no quadrante onde a plataforma estava anteriormente, como demonstrado na Figura 28.

A seguir serão apresentados os dados da 26ª tentativa, do teste de retenção de memória, na qual os animais passam por uma única tentativa em que a plataforma esta dentro do tanque.

Figura 28 – Porcentagem de tempo de natação em cada um dos quatro quadrantes imaginários do Labirinto Aquático de Morris, na *probe trial* (Média $\pm$ EPM) dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p<0,05$ em relação ao tempo de permanência em Q2, Q3 e Q4, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Quanto aos dados de latência de fuga, no que diz respeito ao teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,36} = 7,17$, $p<0,05$], demonstrando que houve aumento do tempo para encontrar a plataforma da 24ª para a 26ª tentativa para todos os animais (Fig. 29).

Figura 29 – Latência de fuga durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p<0,05$ comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

No que se refere aos dados de distância navegada, no teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,36} = 7,90$, $p<0,05$], demonstrando que os animais percorreram uma distância maior para encontrar a plataforma da 24ª para a 26ª tentativa (Fig. 30).

Figura 30 – Distância navegada durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p < 0,05$ comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Em referência ao teste de retenção de memória, no que se refere a velocidade de natação, pôde-se verificar que não houve diferença entre os animais, ou seja, os animais nadaram com a mesma velocidade na 24ª e 26ª tentativas, como demonstrado na Figura 31.

Figura 31 – Velocidade de natação durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13).

Quanto aos dados de ângulo de deslocamento inicial, no teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,36} = 295,70$, $p < 0,05$], demonstrando que houve aumento do tempo para encontrar a plataforma da 24ª para a 26ª tentativa para todos os animais (Fig. 32).

Relativamente aos dados de movimento de rotação, no teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,36} = 5,43$, $p < 0,05$], demonstrando que houve aumento da quantidade de movimentos de rotação da 24ª para a 26ª tentativas para todos os animais, como demonstrado na Figura 33.

Figura 32 – Ângulo de deslocamento inicial durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p < 0,05$ comparado a 24^a tentativa, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Figura 33 – Movimento de rotação durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 (n= 13), DC2 (n= 13) e DH2 (n= 13). * $p < 0,05$ comparado a 24^a tentativa, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Na sequência serão apresentados os dados de aprendizagem (primeira até a 24^a tentativa e a 25^a tentativa - *probe trial*) e memória (26^a tentativa - teste de retenção de memória) dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93. Um dos animais do grupo DH2 AIN-93 morreu antes do teste de retenção de memória, por este motivo, os dados comportamentais deste animal foram excluídos da amostra.

Quanto aos dados de latência de fuga dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava, da nona até a décima segunda e da décima sétima até a vigésima tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,84} = 8,27$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 4,45$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 9,21$, $p < 0,05$] e [$F_{3,84} = 8,26$, $p < 0,05$], respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas

diferenças. Verificou-se que no geral houve queda na latência de fuga a medida que os animais passavam pelo teste, como demonstrado na Figura 34.

Figura 34 – Latência de fuga durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p<0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Com relação aos dados de distância navegada dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava, da nona até a décima segunda, da décima terceira até a décima sexta e da décima sétima até a vigésima tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,84} = 11,75$, $p<0,05$], [$F_{3,84} = 4,35$, $p<0,05$], [$F_{3,84} = 11,46$, $p<0,05$], [$F_{3,84} = 3,14$, $p<0,05$] e [$F_{3,84} = 8,77$, $p<0,05$], respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas diferenças. Houve diminuição da distância percorrida pelos animais a medida que os animais passavam pelo teste, como demonstrado na Figura 35.

Figura 35 – Distância Navegada durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p<0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Em referência aos dados de velocidade de natação dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, observou-se a partir da análise estatística que da primeira até a quarta semana houve efeito de dieta [$F_{2,28} = 3,58$, $p < 0,05$] e efeito de tentativa [$F_{3,84} = 5,22$, $p < 0,05$], da nona até a décima segunda, da décima terceira até a décima sexta, da décima sétima até a vigésima e da vigésima primeira até a vigésima quarta tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,84} = 7,68$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 6,59$, $p < 0,05$] [$F_{3,84} = 11,39$, $p < 0,05$] e [$F_{3,84} = 7,45$, $p < 0,05$], respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas diferenças. Verificou-se que da primeira até a quarta semana animais DH2 AIN-93 apresentaram menor velocidade de natação quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais (Fig. 36).

Figura 36 – Velocidade de natação durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p < 0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Quanto aos dados de ângulo de deslocamento inicial dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava, da nona até a décima segunda, da décima terceira até a décima sexta, da décima sétima até a vigésima e da vigésima primeira até a vigésima quarta tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,84} = 15,83$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 82,07$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 51,68$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 111,44$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 8,61$, $p < 0,05$] e [$F_{3,84} = 57,62$, $p < 0,05$] respectivamente, como demonstrado na Figura 37.

Com relação aos dados de movimento de rotação dos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, a análise estatística revelou, que da primeira até a quarta, da quinta até a oitava, da nona até a décima segunda, da décima terceira até a décima sexta e da décima sétima até a vigésima tentativas, houve somente efeito de tentativa [$F_{3,84} = 5,75$, $p < 0,05$], [$F_{3,84} = 6,51$, $p < 0,05$],

$[F_{3,84} = 10,22, p < 0,05]$, $[F_{3,84} = 3,78, p < 0,05]$ e $[F_{3,84} = 10,41, p < 0,05]$, respectivamente, contudo nas demais tentativas não foram verificadas diferenças. Verificou-se que no geral houve diminuição na quantidade de movimentos de rotação a cada tentativa do teste (Fig. 38).

Figura 37 – Ângulo de deslocamento inicial durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p < 0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Figura 38 – Movimento de rotação durante a fase de aprendizagem (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p < 0,05$ comparando as tentativas, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Quanto aos dados dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, da 25ª tentativa, *probe trial*, na qual a plataforma é retirada do tanque, foi verificado efeito de quadrante $[F_{3,84} = 31,51, p < 0,05]$, ou seja, os animais dos três grupos nutricionais passaram mais tempo nadando no quadrante onde a plataforma estava anteriormente, como demonstrado na Figura 39.

Figura 39 – Porcentagem de tempo de natação em cada um dos quatro quadrantes imaginários do Labirinto Aquático de Morris, na *probe trial* (Média $\pm$ EPM) dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p<0,05$ em relação ao tempo de permanência em Q2, Q3 e Q4, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

A seguir serão apresentados os dados da 26ª tentativa, do teste de retenção de memória, na qual os animais passam por uma única tentativa em que a plataforma está dentro do tanque.

Quanto aos dados de latência de fuga, no que diz respeito ao teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,28} = 14,75$, $p<0,05$] e interação entre os fatores dieta e tentativa [$F_{2,28} = 4,39$, $p<0,05$]. A análise de comparações múltiplas demonstrou que animais DC2 AIN-93 demoraram mais tempo para encontrara a plataforma 26ª tentativa quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais na 24ª e 26ª tentativas e em relação a ele mesmo na 24ª tentativa (Fig. 40).

Figura 40 – Latência de fuga durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p<0,05$ comparado a 24ª e 26ª tentativas dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e comparado a 24ª tentativa dele mesmo, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

No que se refere aos dados de distância navegada, no teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de dieta [$F_{2,28} = 4,12$, $p < 0,05$], efeito de tentativa [$F_{1,28} = 13,72$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e tentativa [$F_{2,28} = 5,18$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas revelou que animais do grupo DC2 AIN-93 percorreram uma distância maior até encontrar a plataforma de fuga na 26ª tentativa quando comparado a 24ª e 26ª tentativas dos animais dos demais grupos nutricionais e em relação a 24ª tentativa dele mesmo (Fig. 41).

Figura 41 – Distância navegada durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p < 0,05$ comparado a 24ª e 26ª tentativas dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e comparado a 24ª tentativa dele mesmo, de acordo com o teste *Post Hoc* de *Newman-Keuls*.

Em referência ao teste de retenção de memória, no que se refere a velocidade de natação, pôde-se verificar que não houve diferença entre os animais, ou seja, os animais nadaram com a mesma velocidade na 24ª e 26ª tentativas, como demonstrado na Figura 42.

Figura 42 – Velocidade de natação durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10).

Quanto aos dados de ângulo de deslocamento inicial, no teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,28} = 101,96$, $p < 0,05$], demonstrando que o ângulo de deslocamento inicial dos animais modificou da 24ª para a 26ª tentativa para todos os animais (Fig. 43).

Figura 43 – Ângulo de deslocamento inicial durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p < 0,05$ comparado a 24ª tentativa, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

Relativamente aos dados de movimento de rotação, no teste de retenção de memória, a análise estatística revelou efeito de tentativa [$F_{1,28} = 12,13$, $p < 0,05$] e interação entre os fatores dieta e tentativa [$F_{2,28} = 3,78$, $p < 0,05$]. A análise de comparações múltiplas revelou que animais do grupo DC2 AIN-93 apresentaram maior quantidade de movimentos de rotação na 26ª tentativa quando comparado a 24ª e 26ª tentativas dos animais dos demais grupos nutricionais e em relação a 24ª tentativa dele mesmo, como demonstrado na Figura 44.

Figura 44 – Movimento de rotação durante o teste de retenção de memória (Média $\pm$ EPM), no Labirinto Aquático de Morris dos grupos C2 AIN-93 (n= 10), DC2 AIN-93 (n= 11) e DH2 AIN-93 (n= 10). * $p < 0,05$ comparado a 24ª e 26ª tentativas dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 e comparado a 24ª tentativa dele mesmo, de acordo com o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls.

5. DISCUSSÃO

5.1. Medidas de Peso (Corporal, Fígado, Tecido Adiposo Retroperitoneal e Epididimal) e Medidas Metabólicas

Os dados de peso obtidos a partir da coleta revelaram que animais do grupo DH, independentemente de terem consumido ração em *pellet* ou dieta AIN-93 no período de lactação apresentaram maior peso quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, tanto para o grupo criado até os 70 dias de vida quanto para os animais criados até os 98 dias. Estes mesmos animais também apresentaram maior ganho de peso em relação aos outros animais. Animais do grupo C tratados com ração em *pellet* apresentaram menor peso e menor ganho de peso quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais.

Os dados de Kosari *et al.* (2012) divergem daqueles encontrados neste trabalho, como descrito a seguir. Os autores criaram animais durante 12 semanas com três diferentes tipos de dieta, o grupo controle recebeu dieta AIN-93, o grupo dieta “ocidental” recebeu uma dieta com 21% de gordura e o grupo dieta hiperlipídica recebeu a dieta AIN-93 com adição de 60% de gordura. Foi verificado neste estudo que animais que receberam a dieta ocidental apresentaram maior peso comparado aos animais do grupo controle e animais que receberam a dieta hiperlipídica apresentaram menor peso comparados aos animais controle.

De modo contrário, verificamos que animais alimentados com a dieta hiperlipídica, cuja composição foi semelhante à utilizada por Kosari *et al.* (2012), pelo mesmo período de tempo, apresentaram maior peso e maior ganho de peso comparado ao grupo controle.

No estudo de Moy e McNay (2013) animais tratados com dieta hiperlipídica (31,8% de gordura) e adição semanal de 20 mg/Kg de cafeína, não apresentaram diferença de peso comparados aos animais do grupo controle que receberam ou não a cafeína, contudo, apoiando o verificado neste trabalho, animais que receberam somente a dieta hiperlipídica apresentaram maior peso em relação aos animais dos grupos controle com e sem adição de cafeína e hiperlipídico com adição de cafeína.

No sacrifício, animais dos grupos DH, tanto aos 77 quanto aos 102 dias de vida, e animais DC1 apresentaram maior peso corporal, em relação aos demais grupos nutricionais. Os dados da relação do peso dos tecidos adiposos pelo peso corporal dos animais revelaram que animais DH, tanto aos 77 quanto aos 102 dias de vida, apresentaram maior acúmulo dos dois tecidos adiposos quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e que animais DC1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal quando comparados aos animais do grupo DC1. Animais do grupo DH1 apresentaram maior peso no

dia do sacrifício e maior acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal quando comparados aos animais DH1 AIN-93. Animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maior peso no dia do sacrifício comparados aos animais DH2. Ratos C2 apresentaram menor peso no dia do sacrifício e menor acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais.

Os resultados verificados neste estudo corroboram resultados de outros trabalhos (KRETSCHMER *et al.*, 2005; SHAFAT; MURRAY; RUMSEY, 2008; MIESEL *et al.*, 2010; MULLER *et al.*, 2010) que utilizaram dietas hipercalóricas e hiperlipídicas para indução de obesidade e que têm demonstrado que animais expostos a estes tipos de dietas apresentam maior ganho de peso corporal e maior acúmulo de tecido adiposo subcutâneo, além da capacidade de ocasionar problemas metabólicos relacionados com a obesidade.

No trabalho de Chaves et al. (2008), os animais que receberam a dieta de cafeteria, oferecida de forma semelhante a deste trabalho, com adição de 20% de sacarose na água, não apresentaram diferença de peso comparados aos animais do grupo controle, contudo apresentaram o triplo de acúmulo da soma dos tecidos adiposos retroperitoneal, epididimal, mesentérico e inguinal comparados ao controle.

Com relação ao peso bruto dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal, fígado e coração pôde-se observar que animais dos grupos DH1 apresentaram maior acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, mesmo em relação aos animais DH1 AIN-93. Já animais DH1 AIN-93 apresentaram maior acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal quando comparados aos animais C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93. Animais do grupo C2 apresentaram menor acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal quando comparados aos demais grupos nutricionais e animais DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal comparados aos animais dos demais grupos nutricionais.

No estudo desenvolvido por Jurdak e Kanarek (2009), durante oito semanas três grupos de animais foram criados com diferentes protocolos de dieta, sendo que um dos grupos recebia ração comercial com 3,6 Kcal/g, o segundo grupo recebia gordura hidrogenada vegetal, além da ração, gerando 9 Kcal/g e o terceiro recebia uma solução de 32% de sacarose, além da ração, gerando 1,28 Kcal/g. Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que animais que receberam a ração adicionada com sacarose ou gordura consumiram mais calorias quando comparados aos animais tratados somente com ração. Após as oito semanas de tratamento nutricional os animais tratados com sacarose e gordura

apresentaram maior peso corporal e maior acúmulo de tecido adiposo epididimal quando comparados aos animais tratados somente com ração.

Animais DH AIN-93, tanto aos 77 quanto aos 102 dias de vida, apresentaram maior peso de fígado em relação aos animais dos demais grupos nutricionais; animais DH1 apresentaram maior peso de fígado quando comparados aos animais dos grupos C1, DC1 e DC1 AIN-93; e animais DH2 apresentaram maior peso do fígado quando comparados aos animais do grupo C2.

Com relação aos dados de peso do coração, animais DH1 apresentaram maior peso de coração quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais DH1 AIN-93 apresentaram maior peso de coração em relação aos animais dos grupos C1, DC1 e DC1 AIN-93 e animais do grupo C2 AIN-93 apresentaram menor peso do coração quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais.

Em relação aos dados metabólicos, animais DH1 AIN-93, apresentaram maiores níveis de glicose comparados aos demais animais. Animais dos grupos DH1 e C1 apresentaram menores níveis de TGO quando comparados aos demais animais e quanto aos dados de TGP, animais do grupo C1 apresentaram maiores níveis de TGP em relação aos animais dos demais grupos nutricionais e animais dos grupos DH1 e DC1 apresentaram maiores níveis de TGP quando comparados aos animais do grupo C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93, respectivamente, e animais DH1 AIN-93 apresentaram maiores valores de TGP em relação aos animais dos grupos C1 AIN-93 e DC1 AIN-93.

Animais do grupo DC2 AIN-93 apresentaram menores níveis de glicose quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais. Animais dos grupos C2 e DH2 apresentaram maiores níveis de triglicérides quando comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e animais do grupo DC2 apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais do grupo DC2 AIN-93. Animais do grupo C2 apresentaram maiores níveis de TGO quando comparados aos animais do grupo DH2 e os animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC AIN-93 apresentaram maiores níveis de TGO em relação aos animais dos grupos C2, DH2 e DC2. Com relação aos dados de TGP, animais do grupo C2 apresentaram maiores níveis de TGP quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais dos grupos DH2 e DC2 apresentaram maiores níveis de TGP em relação aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de TGP comparados aos animais do grupo DC2 AIN-93.

Nesta pesquisa os animais do grupo controle apresentaram maiores níveis de TGO e TGP, o que pode estar relacionado a uma má qualidade da dieta em *pellet* que é fornecida aos animais, já que não há um controle da quantidade e qualidade dos macronutrientes e micronutrientes oferecidos.

Em um estudo realizado em nosso laboratório (BRAGA, 2014), foi realizada a composição centesimal das dietas controle em *pellet* e da ração em pó AIN-93 e foi possível observar que a dieta em *pellet* apresentou quantidades superiores de cálcio, fósforo, potássio, sódio, entre outros minerais, principalmente ferro, sendo que o excesso destes minerais pode acarretar problemas para a saúde dos animais. Também foi verificada deficiência de vitamina E, A e D3.

Animais dos grupos DC e DH que consumiram a ração em *pellet* durante o período de lactação e após o desmame (animais do grupo DC receberam ração em *pellet* durante todo o experimento e o grupo DH recebeu durante o período de transição para a dieta hiperlipídica), apresentaram menores níveis de ansiedade quando comparados aos animais do grupo C. Isto pode ter ocorrido, pois a dieta de cafeteria era composta por alimentos diversificados e a dieta hiperlipídica era baseada na dieta AIN-93, fato que poderia indicar que as duas dietas estariam suprimindo as deficiências vitamínicas da ração em *pellet* e, uma vez que não era oferecida apenas a ração em *pellet* aos animais do grupo DC, o excesso de minerais não ocorria. Todavia, pelo fato desta dieta não ser plenamente adequada para o consumo dos animais, este resultado comportamental pode ser decorrente de diferenças na composição das dietas.

Animais que recebiam dieta de cafeteria, além de receberem a ração em *pellet*, recebiam os alimentos da dieta de cafeteria que eram muito variados em sabor, textura, odor e composição nutricional; e animais que receberam a dieta hiperlipídica, feita com base na dieta em pó AIN-93, receberam uma dieta que, apesar do excesso de lipídios, foi formulada com controle dos macro e micronutrientes necessários. Este dado sugere que a alimentação destes grupos, apesar de acarretar excesso de peso e poder vir a gerar possíveis comorbidades, estava suficiente em termos de vitaminas e minerais, o que talvez não fosse equivalente para os animais do grupo C.

O fato dos animais C AIN-93, DC AIN-93 e DH AIN-93 terem apresentado maiores níveis de TGO quando comparados aos animais dos grupos C2, DC2 e DH2, pode estar relacionado ao fato destes animais terem apresentado maior consumo calórico e lipídico comparados aos outros animais, pois apesar deles terem apresentado alteração neste indicador hepático, a dieta AIN-93 é uma dieta nutricionalmente adequada para o crescimento e manutenção dos animais.

No estudo realizado por Muller *et al.* (2010) que observou os efeitos metabólicos da dieta de cafeteria e do tratamento crônico com olanzapina (antipsicótico utilizado para o tratamento de episódios depressivos, que causa efeito colateral frequente de ganho de peso), foi verificado que os animais que receberam dieta de cafeteria, com ou sem uso de olanzapina, apresentaram maiores níveis de triglicérides quando comparados aos animais do Grupo controle, com e sem uso deste medicamento. Estes animais também apresentaram maior peso dos tecidos adiposos mesentérico e epididimal quando comparados aos animais do grupo controle, semelhante aos dados encontrados neste trabalho em questão.

Animais DH1 AIN-93 apresentaram maiores valores de gordura total no fígado em relação aos demais grupos nutricionais, mesmo em relação aos animais DH1 e animais do grupo DH1 apresentaram maiores valores de gordura total no fígado em relação aos animais dos grupos C1, DC1, C1 AIN-93 e DC1 AIN-93. Animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maiores valores de gordura total no fígado comparados aos animais dos demais grupos nutricionais.

Animais DH1 AIN-93 apresentaram maiores níveis de colesterol no fígado em relação aos animais dos grupos C1, DC1 e DH1 e C1 AIN-93 e animais do grupo C1 AIN-93 e DC1 AIN-93 apresentaram maiores níveis de colesterol no fígado comparados aos animais dos grupos C1, DC1 e DH1. Animais do grupo DH2 apresentaram maiores níveis de colesterol no fígado comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, animais dos grupos C2 e DC2 apresentaram maiores níveis de colesterol total no fígado em relação aos animais dos grupos C2 AIN-93, DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93 e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maiores valores de colesterol total comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93 e DC2 AIN-93.

Com relação aos triglicérides no fígado, animais DH1 e DH2 apresentaram maiores níveis de triglicérides no fígado quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais DC1 apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais dos grupos C1, C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93 e animais do grupo DH2 AIN-93 apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais do grupo DC2.

O trabalho conduzido por Stranahan (2011) que ofereceu uma dieta com aumento de gordura e açúcar e adição de 20% de xarope de milho na água para animais durante três meses, evidenciou que estes animais apresentaram maior peso, maiores níveis de triglicérides e colesterol no soro e maior nível de colesterol no fígado quando comparados aos animais que receberam ração comercial.

De forma geral os animais submetidos à dieta hiperlipídica tratados tanto com ração em *pellet* quanto com dieta AIN-93 apresentaram maior peso corporal, maior acúmulo dos tecidos adiposos, maior quantidade de gordura no fígado e maiores níveis de triglicérides no fígado, demonstrando que esta dieta causa diversos malefícios metabólicos aos animais, quando comparadas as outras dietas oferecidas. E este fato é facilmente explicado, pois estes animais consomem uma quantidade de calorias e gordura significativamente maior em comparação dos demais animais.

Dados publicados por Leonardi *et al.* (2010) corroboram com este estudo, pois os autores revelaram que animais tratados com uma dieta hiperlipídica com aumento da proteína, sendo 50% de gordura e 40% de proteína, apresentaram maior peso corporal, maior peso do fígado e maior quantidade de gordura no fígado quando comparados aos animais controle.

Castro *et al.* (2012) analisaram a composição lipídica dos tecidos hepático e adiposo de ratos Wistar tratados com uma dieta rica em gordura saturada ou rica em gordura hidrogenada e comparou a um grupo controle. Os animais dos dois grupos experimentais não diferiram com relação ao peso corporal dos animais do grupo controle, mesmo ingerindo uma dieta rica em gordura. Os animais experimentais apresentaram maior peso dos tecidos adiposos, maior quantidade de gordura total no fígado e maiores níveis de triglicérides no fígado quando comparados aos animais do grupo controle. Animais tratados com dieta rica em gordura hidrogenada demonstraram maiores níveis totais de colesterol hepático em relação aos animais dos grupos controle e rico em gordura saturada.

5.2. Medidas de Consumo Alimentar em gramas, calorias e lipídeos

Com relação aos dados de consumo alimentar em gramas, animais dos grupos C1 e C1 AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas quando comparados aos animais dos grupos DH1 e DC1 e animais dos grupos DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93, respectivamente. Animais dos grupos DH1 e DC1 AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas quando comparados aos animais dos grupos DC1 e DH1 AIN-93, respectivamente. Para os dados de consumo calórico, animais dos grupos DH1 e DH1 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico em relação aos animais dos grupos C1 e DC1 e em relação aos animais C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, respectivamente, e animais dos grupos C1 e C1 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico quando comparados aos animais dos grupos DC1 e DC1 AIN-93, respectivamente. Com relação aos dados de consumo lipídico, animais dos grupos DH1 e DH1 AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico quando comparados aos animais dos grupos C1 e DC1 e com relação aos animais C1 AIN-93 e DC1 AIN-93, respectivamente, e animais do grupo

C1 AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico em relação aos animais do grupo DC1 AIN-93.

Ghizoni *et al.* (2013) realizaram um trabalho no qual os animais foram divididos em dois grupos tratados por 14 semanas, sendo que um deles recebeu ração comercial e o outro recebeu dieta de cafeteria, que foi oferecida de forma semelhante a deste trabalho, com oferecimento dos alimentos aos animais, foi verificado o peso e consumo dos animais. Animais que receberam a dieta de cafeteria apresentaram maior peso, maior consumo lipídico, maior peso de fígado e maiores níveis de triglicérides comparados aos animais do grupo que recebeu a dieta comercial.

Ao contrario do verificado neste trabalho, Chaves *et al.* (2008) observaram maior consumo calórico dos animais da cafeteria em 40% comparados aos animais do grupo controle alimentados com ração e Shafat, Murray e Rumsey (2009), que também ofereceram a dieta de cafeteria de forma semelhante a deste trabalho, verificaram maior consumo em gramas, consumo calórico e consumo lipídico quando comparados aos animais do grupo controle alimentados com ração. Apesar do protocolo destes dois trabalhos terem oferecido a dieta de cafeteria pelo período máximo de duas horas por dia e terem obtido maior consumo em geral, o oferecimento da dieta em 24 horas poderia ter gerado maiores efeitos nos animais tratados com dieta de cafeteria neste estudo, já que o oferecimento por uma hora por dia não foi suficiente para acarretar maior consumo dos animais da dieta de cafeteria.

Já no estudo de Scoaris *et al.* (2010), animais que receberam a dieta de cafeteria e a ração comercial, tanto os que passaram por treinamento físico (corrida) como os que eram sedentários, não apresentaram diferença de consumo alimentar em gramas e consumo calórico. Ao final do experimento, animais que receberam a dieta de cafeteria, tanto os que passaram por treinamento como os sedentários, apresentaram maior peso corporal quando comparados aos animais controle tanto submetidos ao treinamento quanto os sedentários.

Animais dos grupos C2 e C2 AIN-93 apresentaram maior consumo alimentar em gramas quando comparados aos animais dos grupos DC2 e DH2 e comparados aos animais DH2 AIN-93 e DC2 AIN-93, respectivamente. Animais dos grupos DC2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas em relação aos animais dos grupos DH2 e DC2 AIN-93, respectivamente. Para os dados de consumo alimentar em calorias, animais dos grupos DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior consumo calórico quando comparados aos animais dos grupos DC2 e C2 e animais dos grupos C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, respectivamente. Animais do grupo C2 e C2 AIN-93 apresentaram maior consumo alimentar em calorias quando comparado aos animais do grupo DC2 e DC2 AIN-93, respectivamente.

Com relação aos dados de consumo lipídico, animais do grupo DH2 e DH2 AIN-93 apresentaram maior consumo lipídico quando comparados aos animais dos grupos C2 e DC2 e aos animais C2 AIN-93 e DC2 AIN-93, respectivamente.

No estudo de Leonardi *et al.* (2010) os animais apresentaram diferença no consumo alimentar em gramas somente na terceira semana de tratamento nutricional, sendo que animais do grupo controle apresentaram maior consumo em gramas quando comparados aos animais submetidos a uma dieta com excesso de gordura e proteína.

Os dados do estudo de Castro *et al.* (2012), revelaram que animais que receberam dieta hiperlipídica com 50% de gordura saturada (banha) apresentaram menor consumo alimentar em gramas no tratamento nutricional comparados aos animais do grupo controle.

Com relação à análise dos animais do grupo C comparados aos do grupo C AIN-93, do grupo DC comparado ao grupo DC AIN-93 e do grupo DH comparado ao grupo DH AIN-93, pôde-se observar que animais do grupo C apresentaram maior consumo em gramas quando comparados aos animais do grupo C AIN-93. Contudo, animais do grupo C AIN-93 apresentaram maior consumo calórico e maior consumo lipídico quando comparados aos animais do grupo C. Apesar do fato dos animais C ingerirem maior quantidade em gramas da dieta, a dieta AIN-93 é mais calórica e possui mais gordura, por isso, que mesmo consumindo menor quantidade em gramas, animais C AIN-93 apresentaram maior consumo calórico e lipídico. E este dado corrobora com os dados de peso, ganho de peso e peso dos tecidos adiposos, pois os animais do grupo C1 apresentaram menor peso e menor ganho de peso comparado aos animais do grupo C1 AIN-93. Este consumo calórico e lipídico maior foi significativo para aumentar o peso dos animais.

No trabalho de Kosari *et al.* (2012), citado anteriormente, animais que receberam a dieta ocidental e a dieta hiperlipídica apresentaram maior consumo calórico comparados aos animais que receberam a dieta AIN-93.

No trabalho de Sasaki *et al.* (2013), foram criados dois grupos de fêmeas que foram mantidas com ração comercial ou dieta hiperlipídica quatro semanas antes do acasalamento, durante a gestação até a lactação e, posteriormente, os filhotes foram mantidos com ração comercial até os 90 dias de vida. Os filhotes foram divididos em grupos, sendo eles, filhotes machos e fêmeas de mães que receberam dieta hiperlipídica e filhotes machos e fêmeas de mães que receberam ração comercial.

Com relação aos resultados obtidos no trabalho de Sasaki *et al.* (2013), ratas mães que receberam dieta hiperlipídica ganharam mais peso quando comparadas àquelas que receberam ração comercial e o consumo calórico durante a última semana de gestação foi maior em ratas

tratadas com dieta hiperlipídica. Filhotes de ratas mães que receberam a dieta hiperlipídica ganharam maior peso quando comparados aos animais do grupo controle.

Animais que receberam uma dieta controle em forma de *pellet* com adição de amendoim, chocolate ao leite e bolacha maisena apresentaram maior consumo em gramas e maior consumo calórico quando comparados aos animais que receberam somente dieta controle, além disto estes mesmo animais apresentaram maior ganho de peso e maiores níveis de colesterol e glicose (ORTOLANI *et al.*, 2014). Estes mesmos resultados foram observados no estudo de Lanza *et al.* (2014), em que animais que receberam a dieta de cafeteria por oito semanas, comporta por seis alimentos, demonstraram maior consumo em gramas e calorias comparados aos animais que receberam somente ração comercial e estes animais apresentaram maior peso, maior peso de fígado, maior peso de tecidos adiposos, maiores níveis de glicose e triglicérides.

Davidson *et al.* (2012) também evidenciaram que animais que receberam dieta hipercalórica apresentaram maior peso e consumiram mais dieta comparados aos animais tratados com ração comercial. Animais tratados com dieta rica em gordura e açúcar apresentaram maior consumo, comparados aos animais tratados com ração comercial, estes mesmos animais apresentaram maior quantidade de tecido adiposo (HARGRAVE *et al.*, 2015).

Animais do grupo DC apresentaram maior consumo em gramas quando comparados aos animais DC AIN-93. Animais DC AIN-93 apresentaram maior consumo calórico e lipídico quando comparados aos animais DC. Isto talvez possa justificar o fato dos animais do grupo DC1 AIN-93 terem apresentado maior acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal comparados aos animais do grupo DC1.

Animais DH AIN-93 apresentaram maior consumo em gramas, maior consumo em calorias e maior consumo lipídico quando comparados aos animais DH.

O fato dos animais que receberam a dieta AIN-93 terem apresentado maior consumo calórico e lipídico, mesmo não sendo consumida em maior quantidade em gramas, pode estar relacionado ao fato desta dieta tem maior valor calórico e lipídico comparada a ração em *pellet*. Contudo esta dieta possui todos os macro e micronutrientes necessários para uma boa nutrição dos animais, pois possui todas as vitaminas e sais minerais necessitados pelos animais, além de possuir as porcentagens adequadas de proteína, para evitar uma possível desnutrição proteica.

É evidente, no entanto, que as dietas utilizadas estão sendo efetivas em produzir ganho de peso, de tecido adiposo e alterações metabólicas decorrentes de seu consumo.

5.3. Análises Comportamentais

5.3.1. LTE e Caixa claro-escuro

No teste do LTE, tanto para os animais que foram tratados com ração em *pellet* como os animais que receberam dieta AIN-93, foi observado que a esquiva 2 diferiu das demais esquivas, linha de base e esquiva 1, evidenciando que animais de todos os grupos apresentaram aumento no tempo de saída do braço fechado para o braço aberto, à medida que os animais eram reexpostos ao teste eles levavam mais tempo para sair do braço fechado e explorar o braço aberto, o que demonstra aprendizagem; estes animais aprenderam que o braço aberto é desprotegido e, desta forma, aversivo, sendo evitado. Contudo não foram observadas diferenças em relação aos dados de fuga entre os animais dos grupos C1, DH1 e DC1 e entre os animais dos grupos C1 AIN-93, DH1 AIN-93 e DC1 AIN-93.

Pesquisas comportamentais que utilizam ansiolíticos, comumente relatam efeitos de diminuição da ansiedade em testes como o LTE, demonstrando que animais tratados com o medicamento apresentam menores latências na esquiva e maiores latências na fuga (passam mais tempo no braço aberto antes de entrarem no braço fechado) (SANTOS *et al.*, 2014).

A maior parte dos estudos que avalia comportamento ansioso em animais utiliza testes como o labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa claro escuro, desta forma, não foram encontrados outros estudos que avaliam os efeitos de dietas hipercalóricas no teste do LTE.

Com relação aos dados comportamentais avaliados no teste da caixa claro/escuro, animais do grupo DH1 apresentaram maiores valores de latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro, maior quantidade de movimentos tanto no lado claro como no escuro, assim como maior tempo de permanência no lado claro e menor tempo de permanência no lado escuro quando comparados aos animais do grupo C1. Animais do grupo DC1 demonstraram maiores valores de latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro, maior número de transições de um lado para o outro, maior quantidade de movimentos no lado claro, bem como maior tempo de permanência no lado claro e menor tempo de permanência no lado escuro quando comparados aos animais do grupo C1. A partir destes dados pode-se indicar que os animais de ambos os grupos de dietas hipercalóricas, DC1 e DH1, demoram mais tempo para sair do lado claro em sua primeira exposição, apresentam maior exploração de ambos os lados e passaram a maior parte do tempo do teste no lado claro, que seria considerado como mais aversivo, sugerindo que estes animais apresentam-se menos ansiosos quando comparados aos animais do grupo C1. Em um trabalho prévio (submetido à publicação – PINI *et al.*) quando animais submetidos a essas mesmas

dietas foram testados no LCE, houve diferença com relação a um parâmetro de exploração no braço aberto (Mergulho), que foi interpretado como menor ansiedade e, possivelmente, maior impulsividade desses animais. Portanto, os dados na caixa claro/escuro podem estar corroborando as hipóteses levantadas anteriormente, ou seja, que animais tratados com dietas hipercalóricas parecem ser menos ansiosos e mais impulsivos.

Animais do grupo DH1 AIN-93 apresentaram maiores valores de latência para a primeira passagem do lado claro para o lado escuro quando comparados aos animais do grupo C1 AIN-93. Não foram observadas diferenças em relação aos demais parâmetros como de número de transições entre o lado claro e escuro, movimentos no lado claro e escuro, tempo no lado claro e escuro e número de levantamentos em relação aos animais do grupo DH1 AIN-93, DC1 AIN-93 e C1 AIN-93. O fato dos animais da dieta hiperlipídica terem apresentado maior latência de saída do lado claro para o lado escuro poderia indicar menor ansiedade.

Nossos resultados divergem daqueles encontrados por Souza *et al.* (2007) que investigou o efeito de uma dieta altamente palatável enriquecida com sacarose na composição da massa de gordura corporal, comportamento de ansiedade e estado oxidativo do cérebro. Pois, nesse estudo, foi observado que animais que receberam dieta palatável, expostos ao teste do claro/escuro, passaram menos tempo no compartimento de luz e apresentaram maior número de recusas para entrar neste compartimento em relação aos animais que foram tratados com dieta controle, o que poderia ser considerado como indicativo de maior ansiedade.

Nos estudos de Ortolani *et al.* (2014) e Estrela *et al.* (2015), animais que receberam a dieta controle em *pellet* com adição de amendoim, chocolate ao leite e bolacha maisena e dieta de cafeteria, respectivamente, apresentaram maiores níveis de ansiedade, demonstrado no labirinto em cruz elevado, quando comparados aos animais que foram tratados somente com dieta controle.

Lalanza *et al.* (2014) demonstraram que fêmeas que receberam a dieta de cafeteria apresentaram menores níveis de ansiedade no labirinto em cruz elevado e machos apresentaram menores níveis no campo aberto, ambos comparados aos animais que receberam ração comercial.

Filhos de ratas mães tratadas com dieta hiperlipídica passaram menos tempo no centro do campo aberto, apresentaram menor preferência pelos braços abertos do labirinto em cruz elevado e, na caixa claro-escuro, estes animais apresentaram maior número de bolos fecais quando comparados aos animais filhotes de mães tratadas com ração comercial (SASAKI *et*

al., 2013) e os dados de Can *et al.* (2012) demonstraram que animais submetidos à dieta hiperlipídica, filhos de ratas mães que também foram submetidas à dieta hiperlipídica durante a gestação, apresentaram maiores níveis de ansiedade no labirinto em cruz elevado. Estes dados divergem daqueles que foram encontrados neste trabalho, já que os animais apresentaram comportamentos de menor ansiedade na caixa claro-escuro. Entretanto Rodriguez *et al.* (2012) observaram efeito ansiolítico somente no teste do campo aberto nos animais filhos de mães submetidas a uma dieta de indução de ganho de peso materno e Maniam e Morris (2010) verificaram que mães submetidas à dieta de cafeteria e que passaram por um período de 3 horas de separação dos filhotes apresentaram menores níveis de ansiedade no labirinto em cruz elevado quando comparadas as mães que receberam ração comercial e passaram pelo mesmo período de separação. Para o estudo de Bilbo e Tsang (2010) que ofereceu para ratas mães dietas com alta quantidade de gordura saturada ou alta quantidade de gordura trans ou baixa quantidade de gordura do período pré-gestacional até o período de lactação, foi observado maior ansiedade nos filhos de ratas mães que receberam gordura saturada e trans.

As diferenças entre os resultados encontrados aqui e os resultados verificados por outros autores como (ESTRELA *et al.*, 2015; LALANZA *et al.*, 2014; MANIAM; MORRIS, 2010; ORTOLANI *et al.*, 2014; RODRIGUEZ *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2007) podem ser decorrentes de diversos fatores, como por exemplo, idade dos animais no início dos procedimentos experimentais (recebidos aos 60 dias de idade, já adultos, e mantidos em tratamento com as dietas experimentais por cerca de quatro meses, no estudo de Souza), idade dos animais no início dos testes comportamentais (cerca de 180 dias, quando já são considerados idosos, no estudo de Souza) das diferenças entre a composição das dietas utilizadas, o tempo em que permaneciam disponíveis aos animais, os diferentes testes utilizados e os protocolos de teste que podem variar de um estudo para outro. Todos esses fatores são capazes de influenciar acentuadamente quaisquer dos parâmetros comportamentais e metabólicos avaliados, quando há alterações temporais ou de procedimento como essas citadas.

No presente trabalho, os animais são recebidos no dia do nascimento e manipulados desde então. O tratamento e alojamento durante o período de lactação é controlado de maneira rigorosa, fato que garante a homogeneidade observada nas medidas de peso dos filhotes durante todo o período de lactação e no momento do desmame, quando serão designados para um dos grupos experimentais. Todos os animais de todos os grupos nutricionais eram manipulados todos os dias para a troca das dietas e este fator também pode influenciar na

forma como os animais se comportam nos testes, já que a manipulação diária pode causar diminuição da ansiedade (VALLÉE *et al.*, 1997). Outra diferença relevante é o momento de introdução das dietas experimentais e o período de duração do tratamento nutricional. As dietas são introduzidas durante um período em que ainda há crescimento e desenvolvimento do SNC, sendo, por isso, considerado um período crítico de desenvolvimento destes animais. Mudanças nutricionais significativas durante esse período podem acarretar alterações significativas na formação, crescimento e maturação do SNC que são capazes de resultar em mudanças cognitivas e comportamentais observáveis até a idade adulta. Desse modo, no presente trabalho, os testes comportamentais utilizados para avaliar comportamentos de exploração, ansiedade e aprendizagem e memória são conduzidos em uma idade em que estes animais são considerados maduros, portanto adultos. Tais observações são necessárias, pois diferenças na idade dos animais e no tratamento utilizado refletem diretamente no comportamento avaliado.

É possível verificar que as dietas utilizadas estão sendo capazes de gerar alterações relacionadas a comportamentos de ansiedade nos animais.

5.3.2. LAM

Durante a fase de aprendizagem, da primeira até a 24^a tentativa, animais dos grupos C2, DC2 e DH2 não apresentaram diferença com relação aos parâmetros avaliados de latência de fuga, distância navegada, velocidade de natação, movimento de rotação e ângulo de deslocamento inicial, portanto, estes animais apresentaram o mesmo desempenho com relação à aprendizagem. Pôde-se verificar, como esperado, que os animais apresentaram uma redução gradativa da latência de fuga e da distância navegada, a cada tentativa, ou seja, à medida que o teste era realizado os animais aprendiam a tarefa de encontrar a plataforma de fuga.

Na probe trial verificou-se, como esperado, que os animais dos três grupos nutricionais, C2, DC2 e DH2, passaram mais tempo nadando no quadrante alvo, onde a plataforma havia estado durante o teste, demonstrando que os animais aprenderam a tarefa e relembraram a posição da plataforma durante o teste.

No teste de retenção de memória, animais dos grupos C2, DC2 e DH2 não apresentaram diferença com relação aos parâmetros de latência de fuga, distância navegada, velocidade de natação, movimento de rotação e ângulo de deslocamento inicial, demonstrando que os três grupos nutricionais não apresentam diferenças com relação ao desempenho na tarefa de retenção de memória, contudo, observou-se que houve aumento de todos os parâmetros da 24^a para 26^a tentativa, para todos os animais, ou seja, o intervalo de 28 dias

prejudicou o desempenho na tarefa, fazendo com que os animais dos três grupos nutricionais apresentassem mais dificuldade para encontrar a plataforma de fuga. Esse é um fenômeno comum, decorrente do intervalo temporal (tempo transcorrido entre a 24ª e a 26ª tentativa) entre a fase de aquisição da aprendizagem e a fase de evocação da memória.

No que diz respeito à fase de aprendizagem dos animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93, pôde-se verificar que não houve diferença dos parâmetros de latência de fuga, distância navegada, velocidade de natação, movimento de rotação e ângulo de deslocamento inicial, ou seja, estes animais apresentaram o mesmo desempenho na tarefa de aprendizagem. Contudo, evidenciou-se diminuição do tempo e da distância que os animais percorreram para encontrara a plataforma, demonstrando que todos os animais aprenderam a localização da posição da plataforma, de cada ponto de partida (quadrantes de onde os animais eram liberados em cada tentativa).

Com relação à *probe trial*, verificou-se, como esperado, que os animais C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93 passaram a maior parte do tempo nadando no quadrante onde a plataforma estava anteriormente, demonstrando que os animais aprenderam a tarefa e a posição em que a plataforma estava anteriormente.

No teste de retenção de memória verificou-se que animais dos grupos C2 AIN-93, DC2 AIN-93 e DH2 AIN-93 não apresentaram diferença com relação aos parâmetros de velocidade de natação e ângulo de deslocamento inicial. Animais dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93 apresentaram mesmo desempenho nos demais parâmetros de latência de fuga, distância navegada e movimento de rotação, apresentando somente aumento destes parâmetros da 24ª para a 26ª tentativa, resultado esperado, já que houve um intervalo de 28 dias entre a fase de aprendizagem e o teste de retenção de memória, todavia, estes animais demonstraram que conseguiram evocar as informações adquiridas e consolidadas durante a fase de aprendizagem. Já animais do grupo DC2 AIN-93 apresentaram aumento significativo dos parâmetros de latência de fuga, distância navegada e quantidade de movimentos de rotação na 26ª tentativa quando comparados aos animais dos grupos C2 AIN-93 e DH2 AIN-93, demonstrando que estes animais demoraram mais tempo e percorreram uma distância maior para encontrar a plataforma e, além disso, apresentaram maior quantidade de movimentos de rotação que representam movimentos exploratórios esteriotipados que deveriam reduzir à medida que os animais aprendem a tarefa.

Há relatos na literatura de que, à medida que o teste é realizado, durante a fase de aprendizagem, é esperado que os animais levem cada vez menos tempo e percorram uma distância menor para encontrara a plataforma de fuga, demonstrando de tal forma, que

aprenderam a tarefa, utilizando as pistas distais oferecidas como forma de se guiar até a plataforma, evidenciando aquisição e consolidação das informações durante esta etapa de teste. Já na *probe trial*, 25ª tentativa, é esperado que os animais de todos os grupos nutricionais passem mais tempo no quadrante onde a plataforma estava localizada, chamado de quadrante alvo, demonstrando assim que os animais aprendem a distinguir o local no qual a plataforma estava durante o teste. No teste de retenção de memória, na 26ª tentativa, realizada 28 dias após a fase de aprendizagem, é relatado aumento da latência de fuga e distância navegada com relação à 24ª tentativa, contudo, este comportamento dos animais é esperado, pois este intervalo imposto aos animais de 28 dias pode gerar um breve esquecimento da posição da plataforma, entretanto, mesmo com este intervalo imposto, geralmente os animais conseguem evocar as informações consolidadas durante a fase de aprendizagem (FUKUDA *et al.*, 2007; D'HOOGE; DE DEYN, 2001; VALADARES; ALMEIDA, 2005; WHISHAW; MITTLEMAN, 1986).

O fato de animais submetidos à dieta de cafeteria e AIN-93 terem apresentado pior desempenho na tarefa de memória, pode ser explicado, possivelmente, pelo fato de animais tratados com dieta AIN-93 com associação de dieta de cafeteria terem apresentado maior consumo em gramas, consumo calórico e consumo lipídico em relação aos animais tratados com ração comercial e dieta de cafeteria e de acordo com alguns autores (KANOSKI; DAVIDSON, 2011; MURRAY *et al.*, 2009; KANOSKI; DAVIDSON, 2010) o consumo de açúcar simples e gordura saturada na dieta, mesmo consumida em poucos dias, sem causar ganho de peso, pode causar danos na memória e, já que a dieta de cafeteria é composta, principalmente, por açúcar refinado e gordura saturada, o fato destes animais terem consumido em maior quantidade pode ter sido a causa deste pior desempenho. Além disso, há relatos na literatura que sugerem que o estresse oxidativo verificado tanto no soro como no cérebro de animais, ocasionado pelo excesso de peso e devido ao grande consumo de dietas com alto teor de gordura e açúcar refinado, podem acarretar no pior desempenho dos animais em tarefas de aprendizagem e memória (STRANAHAN *et al.*, 2008; PINTANA *et al.*, 2012).

Can *et al.* (2012) demonstraram que animais submetidos a dieta hiperlipídica, filhos de mães que também foram submetidas a esta dieta durante a gestação, apresentaram pior desempenho na tarefa de aprendizagem e memória no LAM comparados ao grupo controle. Page, Jones e Anday (2014), revelaram que animais, filhos de mães que receberam dieta hiperlipídica antes da gestação até a lactação, e, após o desmame, continuaram a receber dieta hiperlipídica ou passaram a receber dieta controle, apresentaram déficits na aprendizagem, demonstrando que a dieta hiperlipídica, mesmo sendo oferecida somente às mães, causa danos

aos filhotes, no caso daqueles que passaram a receber dieta controle após o desmame. No trabalho de White et al. (2009) animais, filhos de mães que foram tratadas com dieta hiperlipídica, que permaneceram com esta dieta após o nascimento apresentaram dificuldade em acessar as informações aprendidas no dia anterior, ou seja, durante o teste de aprendizagem, de um dia para o outro eles apresentaram aumento dos parâmetros de latência de fuga e distância navegada. Entretanto, Bilbo e Tsang (2010) relataram melhor desempenho na tarefa de aprendizagem e na tarefa de memória de curto prazo, duas horas após a fase de aprendizagem, em animais de mães que receberam dietas com alto teor de gordura saturada e gordura trans durante o período pré-gestacional até a lactação.

Conforme exposto por alguns autores o uso de dietas com alto teor de gordura (PATHAN *et al.*, 2008; PINTANA *et al.*, 2012) e o alto teor de gordura saturada e açúcar refinado (MOLTENI *et al.*, 2002; MOLTENI *et al.*, 2004) causam pior desempenho dos animais em tarefas de aprendizagem e memória no labirinto aquático de Morris.

No estudo de Setkowicz *et al.* (2015), animais submetidos a dieta hiperlipídica apresentaram melhor desempenho na memória no labirinto radial aquático com oito braços, comparados aos animais que receberam ração comercial.

Boitard *et al.* (2014) revelaram que animais de três semana de idade, expostos à dieta hiperlipídica por um mês, apresentaram menor preferência pelo quadrante alvo na tarefa de *probe trial*, realizada quatro dias e dois meses após a fase de aprendizagem, utilizada como tarefa de memória pelos autores, demonstrando assim que esta dieta causa pior desempenho na tarefa de memória em animais.

Jurdak, Lichtenstein e Kanarek (2008) apontaram que animais que receberam ração comercial com suplementação de açúcar e animais que receberam ração comercial com suplementação de gordura hidrogenada apresentaram maior dificuldade para aprender a tarefa e animais suplementados com açúcar passaram menos tempo nadando no quadrante alvo dez dias após a fase de aprendizagem, demonstrando maior dificuldade para relembrar a tarefa. Jurdak e Kanarek (2009) verificaram que animais suplementados com açúcar e animais suplementados com gordura passaram menos tempo explorando o objeto novo no teste de reconhecimento de objetos.

Os dados encontrados na literatura são controversos com relação ao desempenho dos animais em tarefas de aprendizagem e memória no LAM, mas estas divergências podem ser atribuídas a diversos fatores como a idade dos animais, pois os trabalhos variam quanto ao tempo de exposição da dieta e a idade dos animais para a realização dos testes, outro fator que também pode ser causado pelos diferentes protocolos utilizados, já que alguns autores

realizam a fase de aprendizagem em formas mais condensadas (mais tentativas realizadas em menor período de tempo) e outros em formas mais expandidas (menos tentativas realizadas em maior período de tempo), o que causa mais facilidade ou dificuldade na realização do teste, respectivamente, e os procedimentos de teste de retenção de memória são diferentes, pois alguns trabalhos utilizam a tentativa de *probe trial*, tentativa na qual a plataforma é retirada do tanque e avalia-se a eficácia do aprendizado, como teste de retenção de memória algumas horas após o teste de aprendizagem e outros utilizam uma única tentativa, com a presença da plataforma, alguns dias ou semanas após a realização do teste de aprendizagem, sendo que tais mudanças de um teste para outro pode tornar a tarefa mais complexa.

6. CONCLUSÕES

Verificou-se que animais da dieta hiperlipídica, que consumiram ração em *pellet* ou dieta AIN-93 no período de lactação, apresentaram maior peso durante o tratamento nutricional, maior peso no dia do sacrifício, maior acúmulo dos tecidos adiposos retroperitoneal e epididimal, maior peso de fígado, maiores valores de gordura total no fígado, maiores níveis de colesterol no fígado e maiores níveis de triglicérides no fígado, tanto aos 77 como aos 102 dias de vida. Animais da dieta hiperlipídica que receberam dieta AIN-93, durante a lactação, apresentaram maiores níveis de glicose comparados aos demais animais aos 77 dias de vida. Animais da dieta hiperlipídica tratados com ração comercial apresentaram, aos 102 dias de vida, maiores níveis de triglicérides quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais, além disso, estes animais apresentaram maior consumo calórico e maior consumo lipídico.

Animais da dieta de cafeteria, tratados com ração em *pellet*, apresentaram maior peso no dia do sacrifício, aos 77 dias de vida, quando comparados aos animais dos demais grupos nutricionais e animais dieta de cafeteria, tratados com dieta AIN-93, apresentaram maior acúmulo de tecido adiposo retroperitoneal, aos 77 dias de vida, quando comparados aos animais da dieta de cafeteria, tratados com ração em *pellet*. Animais da dieta de cafeteria tratados com ração comercial apresentaram maiores níveis de triglicérides em relação aos animais da dieta de cafeteria tratados com dieta AIN-93 aos 102 dias de vida.

Animais da dieta hiperlipídica, tratados com ração comercial e dieta AIN-93 durante a lactação, e animais da dieta de cafeteria, tratados com ração comercial, apresentaram menores níveis de ansiedade.

Evidenciou-se que somente os animais da dieta de cafeteria, tratados com dieta AIN-93, apresentaram pior desempenho na tarefa de retenção de memória, entretanto os animais dos demais grupos nutricionais apresentaram o mesmo desempenho nas tarefas de aprendizagem e memória, demonstrando que os animais foram capazes de adquirir, consolidar e evocar as informações aprendidas durante o teste.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, J. R. *et al.* Anxiety and depression in association with morbid obesity: changes with improved physical health after duodenal switch. **Health and Quality of Life Outcomes**, v. 8, n. 52, p. 1-7, 2010.
- AZMAN, K. F. *et al.* Antiobesity effect of *Tamarindus indica* L. pulp aqueous extract in high-fat diet-induced obese rats. **Journal of Nature Medicines**, v. 66, p. 333-342, 2011.
- BARBER, T. *et al.* Decreased urea synthesis in cafeteria-diet-induced obesity in the rat. **Biochemical Journal**, v. 320, p. 675-681, 1985.
- BARNES, R. H. *et al.* Postnatal nutritional deprivations as determinants of adult rat behavior toward food, its consumption and utilization. **Journal of Nutrition**, v. 96, p. 467-476, 1968.
- BILBO, S. D.; TSANG, V. Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. **The FASEB Journal**, v. 24, p. 2104-2115, 2010.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.
- BOITARD, C. *et al.* Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 40, p. 9-17, 2014.
- BRAGA, N. N. **Efeitos da desnutrição proteica precoce pós-natal no desenvolvimento, comportamento, aprendizagem e memória de ratos (*Rattus norvegicus*)**. 2014. 112 f. Tese (Doutorado em Psicologia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2014).
- CAN, Ö. D. *et al.* The effect of simvastatin treatment on behavior parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. **Behavioural Pharmacology**, v. 23, n. 5&6, p. 582-592, 2012.
- CASTRO, G. S. F. *et al.* Association between hepatic cholesterol and oleic acid in the liver of rats treated with partially hydrogenated vegetable oil. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 1, p. 45-56, 2012.
- CATANIA, A. C. **Aprendizagem: Comportamento, linguagem e cognição**. 4 ed. (tradução de SOUZA, D. D. G.) Porto Alegre: Artmed, 1999, p. 385.
- CHAVES, V. E. *et al.* Fatty acid synthesis and generation of glycerol-3-phosphate in brown adipose tissue from rats fed a cafeteria diet. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 86, p. 416-423, 2008.
- CORNER, Z. A.; TAMASHIRO, K. L. K. Effects of high-diet exposure on learning & memory. **Physiology & Behavior**, v. 152, p. 363-371, 2015.

CRAWLEY, J.; GOODWIN, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 13, n. 2, p. 167-170, 1980.

D'HOOGE, R; DE DEYN, P. P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. **Brain Research Reviews**, v. 36, p. 60-90, 2001.

DAVIDSON, T. L. *et al.* The effects of a high-energy diet on hippocampal-dependent discrimination performance and blood-brain barrier integrity differ for diet-induced obese and diet-resistant rats. **Physiology & Behavior**, v. 107, p. 26-33, 2012.

DIEMEN, V. V.; TRINDADE, E. N.; TRINDADE, M. R. M. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 6, p. 425-429, 2006.

EBISUI, L.; FONTES, R. S.; LAPCHIK, V. B. V. Rato. In: LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 16, p. 229-250.

ESTRELA, D. C. *et al.* Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. **Physiology & Behavior**, v. 151, p. 252-263, 2015.

FUKUDA, M. T. *et al.* Effects of early protein malnutrition and scopolamine on learning and memory in the Morris water maze. **Nutritional Neuroscience**, v. 10(5-6), p. 251-259, 2007.

GHIZONI, C. V. C. *et al.* Catabolism of amino acids in livers from cafeteria-fed rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 373, p. 265-277, 2013.

GRAEFF, F. G.; VIANA, M. B.; TOMAZ, C. The elevated T maze, a new experimental modelo f anxiety and memory: effect of diazepam. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, n. 1, p. 67-70, 1993.

GROSS, C.; HEN, R. The developmental origins of anxiety. **Nature Reviews**, v. 5, p. 545-552, 2004.

HABBOUT, A. *et al.* Postnatal overfeeding in rats leads to moderate overweight and to cardiometabolic and oxidative alterations in adulthood. **Biochimie**, v. 94, p. 117-124, 2012.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of "fear"- motivated behavior. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 327, p. 1-5, 1984.

HANSON, A. The Rat's Sensory World: What Do Rats See? 2004, disponível em: <http://www.ratbehavior.org/RatVision.htm>.

HARGRAVE, S. L. *et al.* Brain behavioral perturbations in rats following Western diet access, **Appetite**, v. 93, p. 35-43, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. 1 ed. digital. São Paulo, SP, 2008. 1020p. Disponível em:

<http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 11 out. 2015.

IWASE, M. *et al.* Obesity Induced by Neonatal Monosodium Glutamate Treatment in Spontaneously Hypertensive Rats: An Animal Model of Multiple Risk Factors. **Hypertension Research**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 1998.

IYER, A. *et al.* Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase ameliorates diet-induced metabolic syndrome in rats. **Experimental Diabetes Research**, v. 2012, p. 1-11, 2011.

IZQUIERDO, I. **Memória**. Porto Alegre: Artmed, 2011. cap. 1-2. P. 11-44.

JAMIE, S. *et al.* Associations of mood and anxiety disorders with obesity: Comparisons by ethnicity. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 71, p. 319-324, 2011.

JURDAK, N.; KANAREK, R.B. Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. **Physiology & Behavior**, v. 96, p. 1-5, 2009.

JURDAK, N.; LICHTENSTEIN, A. H.; KANAREK, R. B. Diet-induced obesity and spatial cognition in young male rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 11, p. 48-54, 2008. doi: 10.1179/147683008x301333.

KALUEFF, A. V. Neurobiology of Memory and Anxiety: From Genes to Behavior. **Neural Plasticity**, 2007. doi: 10.1155/2007/78171.

KANOSKI, S. E.; DAVIDSON, T. L. Different patterns of memory impairments accompany short- and long-term maintenance on high-energy diet. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, v. 36, n. 2, p. 313-319, 2010.

KANOSKI, S. E.; DAVIDSON, T. L. Western diet composition and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. **Physiology & Behavior**, v. 103, p. 59-68, 2011.

KOSARI, S. *et al.* Effect of western and high fat diets on memory and cholinergic measures in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 235, p. 98-103, 2012.

KRETSCHMER, B. D. *et al.* A. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Sciences**, v. 76, p. 1553-1573, 2005.

KROLOW, R. *et al.* Consumption of a palatable diet by chronically stressed rats prevents effects on anxiety-like behavior but increase oxidative stress in a sex-specific manner. **Appetite**, v. 55, p. 108-116, 2010.

LALANZA, J. F. *et al.* Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behavior. **Plos One**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2014. doi: 10.371/journal.pone.0085049.

- LAUS, M. F. *et al.* Early postnatal protein-calorie malnutrition and cognition: A review of human and animal studies. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, p. 590-612, 2011.
- LEONARDI, D.S. *et al.* Low-carbohydrate and high-fat diets on the promotion of hepatic steatosis in rats. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 118, n. 10, 724-729, 2010. doi: 10.1055/s-0030-1255021.
- LI, M.; SLOBODA, D. M.; VICKERS, M. H. Maternal Obesity and Developmental Programming of Metabolic Disorders in Offspring: Evidence from Animal Models. **Experimental Diabetes Research**, v. 2011, p. 1-9, 2011.
- MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Long-term postpartum anxiety and depression-like behavior in mother rats subjected to maternal separation are ameliorated by palatable high fat diet. **Behavioural Brain Research**, v. 208, p. 72-79, 2010.
- MIESEL, A. *et al.* Overfeeding-induced obesity in spontaneously hypertensive rats: an animal model of the human metabolic syndrome. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 56, p. 127-142, 2010.
- MILLER, R. R.; MATZEL, L. D. Retrieval failure versus memory loss in experimental amnesia: Definitions and processes. **Learning and Memory**, v. 13, p. 491-497, 2006.
- MOLTENI, R. *et al.* A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. **Neuroscience**, v. 112, n. 4, p. 803-814, 2002.
- MOLTENI, R. *et al.* Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on a synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. **Neuroscience**, v. 123, p. 429-440, 2004.
- MORRIS, R. G. M. Spatial localization does not require the presence of local cues. **Learning and Motivation**, v. 12, p. 239-260, 1981.
- MOY, G.A.; MCNAY, E. C. Caffeine prevents weight gain and cognitive impairment caused by a high-fat diet while elevating hippocampal BDNF. **Physiology & Behavior**, v. 109, p. 69-74, 2013.
- MULLER, A. P. *et al.* Metabolic and behavior effects of chronic olanzapine treatment and cafeteria diet in rats. **Behavior and Pharmacology**, v. 21, p. 668-675, 2010.
- MURRAY, A. *et al.* Deterioration of physical performance and cognitive function in rats with short-term high-fat feeding. **The FASEB Journal**, v. 23, p. 4353-4360, 2009.
- ORTOLANI, D. *et al.* Effects of comfort food on food intake, anxiety-like behavior and the stress response in rats. **Physiology and Behavior**, v. 103, p. 487-492, 2011.
- ORTOLANI, D. *et al.* Stress-induced endocrine response and anxiety: the effects of comfort food in rats. **Stress**, v. 17, n. 3, p. 211-218, 2014.

PAGE, K. C.; JONES, E. K.; ANDAY, E. K. Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 12, p. 527-537, 2014. doi: 10.1152/ajpregu.00319.2013.

PATHAN, A. R. *et al.* Rosiglitazone attenuates the cognitive deficits induced by high fat diet feeding in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 589, p. 176-179, 2008.

PELLOW, S. *et al.* Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-167, 1985.

PINI, R. T. B. *et al.* Effects of obesity on anxiety, learning and memory in adult male rats. **Obesity**. (submetido em 2015).

PINTANA, H. *et al.* Effects of metformin on learning and memory behaviors and brain mitochondrial functions in high fat diet induced insulin resistant rats. **Life Sciences**, v. 91, p. 409-414, 2012.

PRERAU, M. J. *et al.* Characterizing Learning by Simultaneous Analysis of Continuous and Binary Measures of Performance. **Journal of Neurophysiology**, v. 102, n. 5, p. 3060-3072, 2009.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. J. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report for the American Institute of AIN-76 rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

RODRIGUEZ, J. S. *et al.* Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in gestation. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, p. 75-81, 2012.

ROLLS, B. A. *et al.* A. Lactation in Lean and Obese Rats: Effect of Cafeteria Feeding and of Dietary Obesity on Milk Composition. **Physiology and Behavior**, v. 38, p. 185-190, 1986.

SALINAS, R. D. **Alimentos e Nutrição – Introdução a Bromatologia**. São Paulo: Artmed, 2002. 278 pgs.

SANTOS, R. O. *et al.* Evaluation of the Effect of Acute Sibutramine in Female Rats in the Elevated T-Maze and Elevated Plus-Maze Tests. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 114, p. 181-187, 2014.

SANTUCCI, L. B. *et al.* Effects of early protein malnutrition and environmental stimulation upon the reactivity to diazepam in two animal models of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 49, n. 2, p. 393-398, 1994.

SASAKI, A. *et al.* Perinatal high fat diet alters glucocorticoid signaling and anxiety behavior in adulthood. **Neuroscience**, v. 240, p. 1-12, 2013.

SETKOWICZ, Z. *et al.* Does long-term high fat diet Always lead to smaller hippocampal volumes, metabolite concentrations, and worse learning and memory? A magnetic resonance

and behavioral study in Wistar rats. **Plos One**, v. 10, n. 10, p. 1-15, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0139987.

SCOARIS, C. R. *et al.* Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. **Nutrition**, v. 26, p. 312-320, 2010.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. **Appetite**, v. 52, p. 34-38, 2009.

SMART, J. L.; DOBBING, J. Increased thirst and hunger in adult rats undernourished as infants: an alternative explanation. **British Journal of Nutrition**, v. 37, p. 421-430, 1977.

SOUZA, C. G. *et al.* Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. **Life Sciences**, v. 81, p. 198-203, 2007.

SQUIRE, L. R. **Memory and Brain**. New York: Oxford University Press, 1987. cap. 1. P. 3.

STRANAHAM, A. M. *et al.* Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. **Hippocampus**, v. 18, n. 11, p. 1085-1088, 2008. doi: 10.1002/hipo.20470.

STRANAHAN, A. M. *et al.* Diet-induced elevations in serum cholesterol are associated with alterations in hippocampal lipid metabolism and increased oxidative stress. **Journal of Neurochemistry**, v. 118, p. 611-615, 2011.

TULVING, E. Concepts of Memory. In: TULVING, E.; CRAIK, F. I. M. **The Oxford Handbook of Memory**. Oxford: University Press, 2000. cap. 2, p. 33-43.

VALADARES, C. T.; ALMEIDA, S. S. Early protein malnutrition changes learning and memory in spaced but not in condensed trials in the Morris water-maze. **Nutritional Neuroscience**, v. 8, n. 1, p. 39-47, 2005.

VALLÉE, M. *et al.* Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. **The Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 7, p. 2626-2636, 1997.

VIANA, M. B.; TOMAZ, C.; GRAEFF, F. G. The elevated T-maze: A new model of anxiety and memory. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 49, n. 3, p. 549-554, 1994.

WHISHAW, I. Q.; MITTLEMAN, G. Visits to Starts, Routes, and Places by Rats (*Rattus norvegicus*) in Swimming Pool Navigation Tasks. **Journal of Comparative Psychology**, v. 100, n. 4, p. 422-431, 1986.

WHITE, C. L. *et al.* Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: contributions of maternal diet. **Neurobiology of Disease**, v. 35, p. 3-13, 2009. doi: 10.1016/j.nbd.2009.04.002.

WIT, L. M. *et al.* Depressive and anxiety disorders and the association with obesity, physical, and social activities. **Depression and Anxiety**, v. 27, p. 1057-1065, 2010.

WRIGHT, T.; LANGLEY-EVANS, S. C; VOIGT, J.P. The impact of maternal cafeteria diet on anxiety-related behavior and exploration in the offspring. **Physiology and Behavior**, v. 103, p. 164-172, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. **Media Centre**, Fact sheet n. 311, 2011, disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. **Media Centre**, Fact sheet n. 311, 2015, disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. **WHO Technical Report Series**, n. 894, 2000, disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_894.pdf.

ZANGROSSI Jr, H.; GRAEFF, F. G. Behavioral Validation of the elevated T-maze, a new model of anxiety. **Brain Research Bulletin**, v. 44, n. 1, p. 1-5, 1997.

ANEXO A – Protocolo de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus de Ribeirão Preto
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 11.1.1646.53.5), intitulado "Efeitos de Dois Modelos Experimentais de Obesidade sobre Parâmetros Comportamentais e Biológicos em Ratos", de autoria de **Renata Tavares Beschizza Pini**, e de **Sebastião de Sousa Almeida** por estar de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)** do **Campus de Ribeirão Preto – USP** foi aprovado em reunião da CEUA de 04.04.2012.

This is to certify that the work (Protocol number 11.1.1646.53.5), entitled: "Efeitos de Dois Modelos Experimentais de Obesidade sobre Parâmetros Comportamentais e Biológicos em Ratos", by **Renata Tavares Beschizza Pini** and **Sebastião de Sousa Almeida**, is in accordance with the Ethic Principles in Animal Experimentation adopted by Ethic Commission for the Use of Animals (CEUA) of the **Campus of Ribeirão Preto – USP**, and was approved in the meeting, April, 4 2012.

Ribeirão Preto, 13 de abril de 2012.

Presidente da CEUA
Profa.Dra. Claudia Maria Padovan

Secretária da CEUA
Maria Angélica Depiro

APÊNDICE A – Planilha de coleta de dados de consumo dos animais dos grupos nutricionais

CONTROLE RAÇÃO COMERCIAL		
D	21	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE RAÇÃO COMERCIAL		
D	22	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE RAÇÃO COMERCIAL		
D	23	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE RAÇÃO COMERCIAL		
D	24	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE RAÇÃO COMERCIAL		
D	25	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE RAÇÃO COMERCIAL		
D	26	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE AIN-93		
D	21	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE AIN-93		
D	22	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE AIN-93		
D	23	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE AIN-93		
D	24	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE AIN-93		
D	25	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

CONTROLE AIN-93		
D	26	
	OFERECIDO	RESTO
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		
C11		
C12		
C13		
C14		

RATO:

SEMANA:

DATA:

INGESTÃO DE DIETA DE CAFETERIA			CONSUMO DE RAÇÃO	
SEGUNDA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Bolacha Maisena				
Batom Branco				
Mussarela				
Corn Flakes				
TERÇA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Bolacha Recheada				
Polenguinho				
Amêndoa				
Doce de Leite c/ Coco				
QUARTA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Castanha do Pará				
Queijo Prato				
Chocolate em Barra				
Manteiga de Amendoim				
QUINTA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Pão Branco				
Nescau Ball				
Queijo Reino				
Canudos de Chocolate				
SEXTA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Rocambole de Chocolate				
Bolacha Água e Sal				
Mortadela				
Confete de Chocolate				
SÁBADO	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Bolo Recheado Ana Maria				
Bacon				
Bolacha Wafer Chocolate				
Amendoim				
DOMINGO	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Torrada				
Marshmallow				
Doce de Amendoim				
Salame				

RATO:

SEMANA:

DATA:

INGESTÃO DE DIETA DE CAFETERIA			CONSUMO AIN-93	
SEGUNDA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Bolacha Maisena				
Batom Branco				
Mussarela				
Corn Flakes				
TERÇA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Bolacha Recheada				
Polenguinho				
Amêndoa				
Doce de Leite c/ Coco				
QUARTA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Castanha do Pará				
Queijo Prato				
Chocolate em Barra				
Manteiga de Amendoim				
QUINTA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Pão Branco				
Nescau Ball				
Queijo Reino				
Canudos de Chocolate				
SEXTA-FEIRA	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Rocambole de Chocolate				
Bolacha Água e Sal				
Mortadela				
Confete de Chocolate				
SÁBADO	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Bolo Recheado Ana Maria				
Bacon				
Bolacha Wafer Chocolate				
Amendoim				
DOMINGO	OFERECIDO	RESTO	OFERECIDO	RESTO
Torrada				
Marshmallow				
Doce de Amendoim				
Salame				

DIETA AIN-93		
D	21	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA HIPERLIPÍDICA		
D	21	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA AIN-93		
D	22	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA HIPERLIPÍDICA		
D	22	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA AIN-93		
D	23	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA HIPERLIPÍDICA		
D	23	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

RAÇÃO COMERCIAL		
D	21	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA HIPERLIPÍDICA		
D	21	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

RAÇÃO COMERCIAL		
D	22	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA HIPERLIPÍDICA		
D	22	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

RAÇÃO COMERCIAL		
D	23	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

DIETA HIPERLIPÍDICA		
D	23	
	OFERECIDO	RESTO
DH1		
DH2		
DH3		
DH4		
DH5		
DH6		
DH7		
DH8		
DH9		
DH10		
DH11		
DH12		
DH13		
DH14		

APÊNDICE B – Composição centesimal dos alimentos oferecidos na dieta de cafeteria, dieta hiperlipídica, ração comercial em *pellet* e dieta AIN-93.

Quadro 1 – Composição centesimal dos alimentos oferecidos na dieta de cafeteria, dieta hiperlipídica, ração comercial em *pellet* e dieta AIN-93. Continua.

Alimento	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídeo	Fibra	Carboidrato	Calorias
Torrada	5,07 ± 0,1	2,26 ± 0,001	10,53 ± 0,45	5,60 ± 0,09	1,18 ± 0,06	74,67	391
<i>Marshmallow</i>	19,55 ± 0,18	0,12 ± 0,008	4,42 ± 0,09	0,30 ± 0,03	0,73 ± 0,045	74,88	320
Doce de Amendoim Santa Helena®	8,22 ± 0,03	1,42 ± 0,02	11,07 ± 0,41	21,67 ± 0,69	5,06 ± 0,42	52,56	450
Salame	37,21 ± 0,17	5,49 ± 0,06	25,59 ± 1,31	24,87 ± 1,11	1,52 ± 0,18	5,32	347
Bolacha Maisena	2,32 ± 0,05	1,54 ± 0,02	7,19 ± 0,31	10,49 ± 0,32	1,23 ± 0,13	77,23	432
Chocolate Batom Branco®	1,66 ± 0,02	1,51 ± 0,03	6,41 ± 0,27	32,59 ± 0,70	3,22 ± 0,11	54,63	537
Queijo Mussarela	45,51 ± 0,05	3,60 ± 0,02	20,11 ± 1,25	14,63 ± 0,37	1,77 ± 0,18	14,37	270
Cereal de Milho em Flocos com Açúcar <i>Snow Flakes</i> ®	1,63 ± 0,04	2,71 ± 0,01	4,20 ± 0,14	0,59 ± 0,044	3,75 ± 0,41	87,13	371
Bolacha Recheada de Chocolate Trakinas®	1,71 ± 0,09	1,37 ± 0,02	5,37 ± 0,04	18,85 ± 0,47	2,91 ± 0,18	69,80	470
Queijo Processado Polenguinho®	58,82 ± 0,03	3,26 ± 0,09	8,90 ± 0,38	0,45 ± 0,07	1,76 ± 0,11	26,83	147
Amêndoa	2,68 ± 0,02	2,95 ± 0,006	21,68 ± 0,15	47,30 ± 0,36	6,43 ± 0,27	18,95	588
Doce de Leite c/ Coco	9,18 ± 0,52	0,61 ± 0,007	1,46 ± 0,07	1,16 ± 0,11	3,15 ± 0,13	84,44	354
Castanha do Pará	1,93 ± 0,03	3,43 ± 0,04	10,88 ± 0,59	68,52 ± 1,34	10,53 ± 0,13	4,72	679
Queijo Prato	42,01 ± 0,45	3,08 ± 0,16	20,59 ± 0,51	11,16 ± 0,28	0,39 ± 0,027	22,76	274
Chocolate ao Leite em Barra Lacta®	1,69 ± 0,09	1,65 ± 0,005	5,40 ± 0,24	26,80 ± 0,9	3,21 ± 0,13	61,26	508
Manteiga de Amendoim Amendocrem®	2,23 ± 0,06	2,25 ± 0,0005	13,07 ± 0,33	43,94 ± 0,56	4,25 ± 0,21	34,26	585
Pão Branco Pullman®	32,78 ± 0,13	1,96 ± 0,04	7,97 ± 0,17	1,54 ± 0,06	0,99 ± 0,02	54,76	265
Cereal de Milho Sabor Chocolate Nescau®	4,00 ± 0,04	3,25 ± 0,011	4,17 ± 0,25	1,10 ± 0,011	5,31 ± 0,26	82,16	355
Queijo Reino	35,41 ± 0,46	4,76 ± 0,03	23,50 ± 0,9	8,17 ± 0,27	3,25 ± 0,21	24,91	267
Biscoito Canudo de Chocolate Look®	3,24 ± 0,009	1,24 ± 0,009	3,52 ± 0,21	18,45 ± 0,4	2,83 ± 0,29	70,73	463
Rocambole de Chocolate Pullman®	18,96 ± 0,07	1,24 ± 0,02	4,78 ± 0,28	14,10 ± 0,07	2,23 ± 0,15	58,68	381

Quadro 1 – Composição centesimal dos alimentos oferecidos na dieta de cafeteria, dieta hiperlipídica, ração comercial em *pellet* e dieta AIN-93. Conclusão.

Alimento	Umidade	Cinzas	Proteína	Lípido	Fibra	Carboidrato	Calorias
Bolacha Água e Sal	4,76 ± 0,09	2,99 ± 0,14	10,10 ± 0,30	8,88 ± 0,02	2,09 ± 0,09	71,19	405
Mortadela Marba®	65,70 ± 1,05	3,66 ± 0,08	10,31 ± 0,21	5,22 ± 0,26	1,14 ± 0,02	13,98	144
Confete de Chocolate Disquete®	1,27 ± 0,03	1,33 ± 0,011	3,96 ± 0,28	18,52 ± 0,26	2,55 ± 0,21	72,38	472
Bolo Recheado Ana Maria®	18,20 ± 0,08	1,33 ± 0,03	4,48 ± 0,043	13,08 ± 0,07	1,79 ± 0,17	61,12	380
Bacon	28,07 ± 0,93	2,01 ± 0,02	11,57 ± 0,34	52,97 ± 2,13	5,97 ± 0,47	0	521
Bolacha Recheada de Chocolate <i>Wafer</i> Bauducco®	2,01 ± 0,03	0,99 ± 0,004	4,96 ± 0,11	24,13 ± 0,19	3,02 ± 0,07	64,88	496
Amendoim	1,69 ± 0,009	2,59 ± 0,07	20,27 ± 0,99	52,06 ± 0,20	10,70 ± 0,58	12,70	600
Ração em Pellet	9,42 ± 0,09	7,59 ± 0,09	17,68 ± 0,17	4,51 ± 0,05	13,45 ± 0,47	47,35	301
Dieta AIN-93	6,44 ± 0,03	3,79 ± 0,08	15,62 ± 0,03	8,25 ± 0,03	4,03 ± 0,32	61,88	384
Dieta Hiperlipídica	3,92 ± 0,26	4,02 ± 0,06	18,79 ± 0,25	49,50 ± 0,39	5,17 ± 0,12	18,61	595