



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
KEILA RUFATTO DE SOUZA

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NEUROINFLAMATÓRIOS E NEUROQUÍMICOS
EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A DIFERENTES ESTRATÉGIAS
NUTRICIONAIS

Tubarão
2022

KEILA RUFATTO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NEUROINFLAMATÓRIOS E NEUROQUÍMICOS
EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A DIFERENTES ESTRATÉGIAS
NUTRICIONAIS**

LINHA DE PESQUISA: NEUROCIÊNCIA

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde para obtenção do título de
Mestre (a) em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Gislaine Tezza Rezin, Dra.

Tubarão

2022

S71 Souza, Keila Rufatto de, 1996 -
Avaliação de parâmetros neuroinflamatórios e neuroquímicos em
camundongos submetidos a diferentes estratégias nutricionais / Keila
Rufatto de Souza. – 2022.
52 f. : il. color.; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina,
Pós-graduação em Ciências da Saúde.
Orientação: Prof^a. Dr^a. Gislaine Tezza Rezin

1. Obesidade. 2. Obesidade - Aspectos nutricionais. 3. Dieta de
baixo carboidrato. 4. Dieta cetogênica. 5. Jejum. I. Rezin, Gislaine
Tezza. II. Universidade do Sul de Santa Catarina. III. Título.

CDD (21. ed.) 616.398

Ficha catalográfica elaborada por Carolini da Rocha CRB 14/1215

KEILA RUFATTO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NEUROINFLAMATÓRIOS E NEUROQUÍMICOS
EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A DIFERENTES ESTRATÉGIAS
NUTRICIONAIS**

Esta Dissertação foi julgada adequada pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Mestre (a) em Ciências da Saúde.

Tubarão (SC), 04 de 07 de 2022.

Orientadora: Profa. Gislaine Tezza Rezin, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Profa. Amanda Della Giustina, Dra.
Universidade de Ottawa

Prof. Rafael Mariano de Bitencourt, Dr.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Dedico essa dissertação primeiramente a Deus, por ser meu porto seguro, autor da minha história, ao meu esposo Felipe, aos meus pais Jandir e Cleonice e meu irmão Robson.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo folego de vida e pela saúde. Por me dar sabedoria em toda essa trajetória.

A Fundação de Amparo à pesquisa e inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), pela oportunidade de fazer o curso permitindo expandir meus conhecimentos técnicos e científico. A todos s professores do programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS), da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), pelos ensinamentos e demais contribuições.

Agradeço a todas as pessoas que fizeram parte desse momento em minha vida, por todo apoio e carinho transmitido. À minha família que sempre transmitiu uma excelente educação, a qual me fez forte e capaz de conquistar novos horizontes e realizar meus sonhos.

Agradeço a minha orientadora que dispôs do seu tempo orientando-me sabiamente, compartilhando com excelência todo seu conhecimento. Agradeço pelo empenho e dedicação nas diversas análises deste trabalho. Agradeço a todos os colegas que de forma direta ou indireta contribuíram para a construção desse trabalho.

A todos que acreditaram em meu potencial, muito obrigada.

“Clama a mim, responder-te-ei, e anunciar-te-ei coisas grandes e ocultas, que não sabes” (Jeremias 33:3).

RESUMO

Introdução: A obesidade é resultado de um desequilíbrio energético e tem sido considerada uma epidemia devido ao seu número crescente nos últimos anos. Classificada como uma doença inflamatória crônica de baixo grau, a obesidade possui comorbidades associadas. Assim, estratégias nutricionais são utilizadas com a finalidade de perda de peso, destacando as dietas low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente. Essas estratégias podem levar a adaptações metabólicas e comportamentais, estimulando diferentes vias bioquímicas. No entanto, não se tem estudos dos efeitos dessas estratégias no sistema nervoso central, sendo necessários novos estudos a respeito dessa temática. **Objetivo:** Avaliar parâmetros neuroinflamatórios e neuroquímicos em camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente. **Métodos:** Camundongos machos da linhagem Swiss, com 60 dias de vida, foram divididos em 4 grupos: grupo controle, grupo low carb, grupo dieta cetogênica e grupo jejum intermitente. O experimento teve duração de 15 dias. O peso corporal foi mensurado semanalmente e o consumo alimentar a cada 48h. Após a morte dos animais, a gordura visceral foi removida e pesada, bem como o cérebro foi isolado para análise inflamatória e bioquímica. **Resultados:** O uso das estratégias low carb, dieta cetogênica resultaram no ganho de peso, acúmulo de gordura mesentérica, epididimal e retroperitonal, sem diferenças significativas para jejum intermitente. Quanto aos parâmetros inflamatórios avaliados nas estruturas cerebrais, houve redução de IL-1 β e IL-16. Com relação a dano oxidativo houve aumento de fluorescência de difluoresceína (DCF) e carbonil, assim como, níveis elevados de superóxido dismutase (SOD) e glutatona (GSH). **Conclusão:** Os resultados encontrados mostram que o uso das estratégias low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente não levam a dano neuroinflamatório, mas apresentam dano a nível de estresse oxidativo.

Descritores: Obesidade; Estratégias nutricionais; Dieta low carb; Dieta cetogênica; Jejum.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is the result of an energy imbalance and has been considered an epidemic due to its increasing number in recent years. Classified as a low-grade chronic inflammatory disease, obesity has associated comorbidities. Thus, nutritional strategies are used for the purpose of weight loss, highlighting low carb diets, ketogenic diet and intermittent fasting. These strategies can lead to metabolic and behavioral adaptations, stimulating different biochemical pathways. However, there are no studies on the effects of these strategies on the central nervous system, and further studies on this topic are needed. **Objective:** To evaluate neuroinflammatory and neurochemical parameters in mice submitted to a low carb diet, ketogenic diet and intermittent fasting. **Methods:** Male Swiss mice, 60 days old, were divided into 4 groups: control group, low carb group, ketogenic diet group and intermittent jeum group. The experiment lasted 15 days. Body weight was measured weekly and food consumption was measured every 48 hours. After the animals died, visceral fat was removed and weighed, and the brain was isolated for inflammatory and biochemical analysis. **Results:** The use of low carb strategies, ketogenic diet resulted in weight gain, accumulation of mesenteric, epididymal and retroperitoneal fat, with no significant differences for intermittent fasting. As for the inflammatory parameters evaluated in the brain structures, there was a reduction of IL-1 β and IL-16. Regarding oxidative damage, there was an increase in difluorescein (DCF) and carbonyl fluorescence, as well as high levels of superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH). **Conclusion:** The results found show that the use of low carb strategies, ketogenic diet and intermittent fasting do not lead to neuroinflammatory damage, but present damage at the level of oxidative stress.

Descriptors: Nutrition; Nutritional strategies; Low carb diet; Ketogenic diet; Fast.

LISTAS

Lista de abreviaturas:

AgRP – Proteína relacionada à Agouti (do inglês: *Agouti-related protein*)

ANOVA – Análise de variância

ARQ – Núcleo Arqueado

ATP – Adenosina Trifosfato

BHE – Barreira hematoencefálica

BIA – Bioimpedância elétrica

CART – Transcrito e Regulado por Cocaína e Anfetamina (do inglês: *cocaine- and amphetamine-regulated tran- script*)

CAT – Catalase

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DBCA – Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica

DCNT – Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DM2 – Diabetes *Mellitus* tipo 2

DCF - Fluorescência de difluoresceína

DCFH-DA – Diacetato de diclorohidrofluoresceína 2'7'

DNA – Ácido Desoxirribonucleico (do inglês: *desoxyribonucleic acid*)

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (do inglês: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

GPx – Glutathione Peroxidase

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês: *high density lipoprotein*)

IBGE – Índice Brasileiro de Geografia e Estatística

IL- 2 – Interleucina 2

IL- 6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10

IL-1 β – Interleucina 1 beta

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade (do inglês: *low density lipoprotein*)

NPY – Neuropeptídeo Y

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Proteína C Reativa

POMC – Pró-opiomelanocortina

RCQ – Relação Cintura Quadril

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD – Superóxido Dismutase

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido tiobarbitúrico (do inglês: *thiobarbituric acid reactive substances*)

TCM – Triglicerídeos de cadeia média

TG – Triglicerídeos

TNF- α – Fator de Necrose tumoral alfa (do inglês: *tumor necrosis factor- α*)

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UNISUL – Universidade do Sul de Santa Catarina

VCT – Valor calórico total da dieta

VIGITEL – Vigilância de Fatores de Risco e proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

Lista de quadros:

Quadro 1 - Distribuição dos macronutrientes nos diferentes tipos de dieta cetogênica.....	32
Quadro 2 - Protocolos de jejum intermitente.....	34
Quadro 3 - Componentes e porcentagem das dietas utilizadas.....	38
Quadro 4 - Variáveis de estudo.....	40

Lista de figuras

Figura 1 - Inflamação crônica na obesidade e sua relação com ERO e disfunção mitocondrial.	26
Figura 2 - Geração de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria.	27
Figura 3 - Vias de suporte energético na dieta low carb.....	29
Figura 4 - Vias simplificadas do metabolismo das cetonas durante uma dieta cetogênica.....	31
Figura 5 - Estágios metabólicos no jejum.....	33

Figura 6 - Desenho metodológico do experimento. Descrição gráfica da metodologia utilizada.37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO	21
1.1.1 Obesidade: conceito, epidemiologia e diagnóstico	21
1.1.2 Fisiopatologia da obesidade	22
1.1.3 Estratégias nutricionais para obesidade	28
1.1.4 Dieta low carb	28
1.1.5 Dieta cetogênica	30
1.1.6 Jejum intermitente	32
2. OBJETIVOS	35
2.1 OBJETIVO GERAL	35
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
3. MÉTODOS	36
3.1 TIPO DE ESTUDO	36
3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	36
3.3 ANIMAIS	36
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	37
3.4.1 Consumo alimentar e peso corporal	38
3.5 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAS	38
3.5.1 Remoção e armazenamento dos tecidos	38
3.5.2 Peso da gordura visceral	39
3.6 PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS	39
3.6.1 Parâmetros de inflamação	39
3.6.2 Dano oxidativo	39
3.6.3 Atividade de enzimas antioxidantes	40

3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO.....	40
3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....	41
3.9 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	41
4. ARTIGO	43
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXOS	58

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica não transmissível que tem afetado uma grande fração da população mundial¹. É considerada uma epidemia global que prejudica, consideravelmente, a saúde pública, pois está associada ao desenvolvimento de uma série de outras doenças, impactando na qualidade de vida e longevidade^{2,3}.

Considerada uma doença complexa e multifatorial, a obesidade envolve fatores genéticos, comportamentais, socioeconômicos e ambientais. Apesar da ampla variedade de fatores etiológicos, a obesidade é caracterizada pelo excesso de tecido adiposo, proveniente do consumo exacerbado de calorias, levando a um desequilíbrio entre a ingestão e o gasto de energia^{4,5}.

Nesse sentido, quando existe o consumo excessivo de calorias, essas são armazenadas em forma de gordura no tecido adiposo, podendo culminar em um processo inflamatório contínuo, por consequência, estimulando a produção elevada de citocinas pró-inflamatórias. Dessa forma, alterações na secreção dessas citocinas podem afetar vários sistemas e órgãos, potencializando a resposta inflamatória, ocasionando o surgimento de diversas complicações relacionadas à obesidade⁶.

A inflamação em indivíduos com obesidade pode comprometer a sinalização de hormônios moduladores do apetite tais como: insulina, leptina e grelina, provocando a desregulação da ingestão alimentar e reconhecimento da saciedade, como ainda um maior armazenamento de gordura⁷. No entanto, a obesidade não acarreta em alterações apenas nos tecidos periféricos, mas também no Sistema Nervoso Central (SNC) resultando em neuroinflamação, que afeta inicialmente o hipotálamo e, posteriormente, se estende a outras estruturas cerebrais, como hipocampo, estriado e córtex pré-frontal⁸.

Nesse sentido, a inflamação presente na obesidade leva a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), resultando no desequilíbrio entre a produção de ERO e sua eliminação, tendo como consequência a geração do estresse oxidativo, capaz de influenciar na sobrevivência dos neurônios dando origem a distúrbios neurológicos associados à inflamação^{9,10}. As mitocôndrias são organelas que fornecem energia celular¹¹. No entanto, são as mitocôndrias a principal fonte de ERO, produzido devido ao vazamento de elétrons da cadeia respiratória mitocondrial¹². Dessa forma, no tecido adiposo, a obesidade induz o estresse oxidativo por meio da

fosforilação oxidativa mitocondrial disfuncional, agravando o estado inflamatório presente na obesidade⁹.

Considerando que a perda de peso está relacionada ao balanço energético negativo, as intervenções nutricionais como dieta low carb , dieta cetogênica e jejum intermitente estão sendo adotadas como estratégias para redução do peso corporal¹³⁻¹⁵. Nesse sentido, a dieta low carb é uma estratégia nutricional baseada na restrição do consumo de carboidratos, tendo como consequência a redução dos níveis de glicose no sangue e a baixa liberação de insulina, induzindo a produção de energia através dos estoques de gordura armazenados no corpo¹⁶. Já a dieta cetogênica é uma estratégia alimentar rica em gordura, com restrições drásticas no consumo de carboidratos (menos de 50g/dia), induzindo à grande produção de corpos cetônicos, que servem como combustível de energia alternativo, reduzindo os níveis de insulina no sangue e, consequentemente, perda de peso¹⁷. Por outro lado, o jejum intermitente é um protocolo alimentar que intercala períodos de ingestão com períodos de jejum. O objetivo desta estratégia é fazer com que o corpo utilize gordura como fonte de energia. Sendo assim, uma janela de alimentação reduzida dificulta a ingestão de um volume alimentar excessivo. Resultando em um déficit calórico e promovendo a perda de peso¹⁸.

Embora o uso de estratégias nutricionais demonstre resultados positivos na perda de peso, pelo fato de restringir o consumo de alguns nutrientes, pode interferir significativamente na homeostase do organismo, além de causar sérios transtornos alimentares. Salienta-se ainda que grande parte dessas estratégias não possuem estudo a longo prazo sobre alterações a níveis cerebrais¹⁹⁻²¹.

Por fim, este estudo busca elucidar quais as possíveis alterações neuroinflamatórias e neuroquímicas no uso das estratégias low carb, cetogênica e jejum intermitente, visto que, a restrição alimentar e não oferta de alguns nutrientes podem acarretar em consequências para o SNC, havendo necessidade de ampliar os estudos nesta temática.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Obesidade: conceito, epidemiologia e diagnóstico

A obesidade é reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma epidemia mundial e um problema de saúde pública, acometendo as diversas faixas etárias²². Definida pelo acúmulo de gordura corporal, a obesidade possui etiologia multifatorial, incluindo fatores genéticos, ambientais, psicológicos e sócio econômicos, condicionada principalmente pelo desequilíbrio do consumo alimentar e gasto energético²³⁻²⁷. Além disso, por ser considerada uma Doença Crônica Não Transmissível (DCNT), a obesidade pode ser causa ou consequência de outras doenças, tais como: Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemia, hipertensão, doenças cardiovasculares, esteatose hepática não alcoólica, entre outras doenças a nível de SNC, que levam ao comprometimento cognitivo^{28,29}.

Mundialmente a obesidade é uma das doenças que mais tem crescido, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento³⁰. Cerca de 33% da população mundial está com sobrepeso ou obesidade³¹. A projeção para 2025 é que mais de 2,3 bilhões de indivíduos adultos estejam acima do peso (sobrepeso), sendo que desses, 700 milhões de pessoas estarão com diagnóstico de obesidade³². No Brasil, segundo dados da Pesquisa Nacional de Saúde, publicado pelo Instituto Nacional de Geografia e Estatística (IBGE), o percentual de pessoas com obesidade teve um aumento expressivo passando de 12,2%, entre 2002 e 2003, para 26,8% em 2019³³. A pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) demonstrou que mais da metade da população (55,7%), se encontra com excesso de peso, sendo 19,8% obesos. Quando comparado o gênero, os homens apresentam maior percentual de excesso de peso, em contrapartida, as mulheres apresentam maior índice de obesidade, com 20,7%, em relação aos homens 18,7%³⁴.

O excesso de peso pode ser verificado por meio do Índice de Massa Corporal (IMC), método mais utilizado para o diagnóstico precoce de sobrepeso e obesidade, obtido por meio do peso corporal, aferido em quilogramas, dividido pela altura ao quadrado, medida em metros (kg/m^2). Valores entre 25,0 e 29,9 são considerados sobrepeso, acima de 30,0 se enquadram como diagnóstico de obesidade. No entanto, o IMC não distingue a massa de gordura da massa muscular, assim como também

não reflete o grau de gordura das diferentes faixas etárias, devido às diferentes proporções corporais. Apesar de suas limitações, trata-se de um bom indicador e fácil de ser aplicado nos indivíduos³⁵.

Além do IMC, existem outras estratégias que avaliam a composição corporal do indivíduo, como a medição de pregas cutâneas, Relação Cintura/Quadril (RCQ) e exames de Bioimpedância elétrica (BIA), sendo esses práticos e de baixo custo³⁶⁻³⁸. Em alternativa, exames como ultrassonografia, tomografia e ressonância magnética também são capazes de mensurar a composição corporal, porém, são métodos de alto custo, mas que são capazes de demonstrar resultados mais precisos^{39,40}.

1.1.2 Fisiopatologia da obesidade

A obesidade é uma doença decorrente de um desequilíbrio energético entre a ingestão e o gasto calórico, resultando no armazenamento de energia em forma de gordura, capaz de promover uma inflamação crônica de baixo grau⁴¹. Contudo, não se pode limitar a etiologia desta doença apenas ao comportamento alimentar, é preciso considerar as questões ambientais, genéticas e estilo de vida do indivíduo⁴².

Nesse sentido, são crescentes os estudos a fim de aumentar o conhecimento acerca da fisiopatologia da obesidade, possibilitando promoção e prevenção da saúde⁴³. Portanto, uma alimentação nutricionalmente adequada rica em frutas e hortaliças, ajustada em micronutrientes e macronutrientes, contribuem para a homeostase do organismo. Em contrapartida, o consumo de alimentos industrializados levam ao consumo de elevadas quantidades de calorias, resultando no desequilíbrio energético, podendo comprometer os mecanismos de fome e saciedade, favorecendo o consumo excessivo dos alimentos e aumentando o risco de obesidade⁴⁴.

A ingestão elevada de alimentos pode estar relacionada a alterações dos níveis hormonais, tais como: insulina, leptina e grelina⁴⁵. Os hormônios são considerados mensageiros químicos que regulam as muitas funções do organismo, como o processo de apetite, armazenamento de gordura e os níveis de glicose no sangue⁷. O desequilíbrio e a desregulação desses hormônios podem comprometer a homeostase energética do corpo³⁹.

A insulina é um hormônio responsável por gerar energia através da captação da glicose⁴⁷. Secretada pelas células β pancreáticas, a insulina é liberada na corrente

sanguina após o aumento pós-prandial de glicose no sangue, acessando todos os tecidos do corpo, incluindo o cérebro⁴⁸. No entanto, a resistência à ação da insulina é uma condição patológica presente na obesidade, no qual os tecidos-alvos não conseguem responder à insulina em níveis fisiológicos, devido ao comprometimento da sinalização deste hormônio. Nesse sentido, a obesidade não induz apenas resistência periférica à insulina, mas também a resistência à insulina no cérebro. Desse modo, a obesidade compromete a sensibilidade e a entrada de insulina no cérebro via Barreira Hematoencefálica (BHE)^{49,50}.

Por outro lado, produzida e secretada pelo tecido adiposo, a leptina é um hormônio que desempenha papel crucial na homeostase do peso corporal, atuando em células neuronais do hipotálamo, promovendo a redução da ingestão alimentar e o aumento do gasto de energia⁵¹. No entanto, com o aumento da adiposidade em indivíduos com obesidade, os níveis de leptina circulantes encontram-se elevados, podendo culminar no desenvolvimento de resistência à leptina central, ao nível do transportador específico via BHE. Dessa forma, uma quantidade menor de leptina chegará ao cérebro, com consequente redução na via de sinalização, que compromete o controle do peso corporal via centro da saciedade^{52,53}.

Atuando juntamente com a leptina na homeostase energética, a grelina é um hormônio secretado pelo estômago na corrente sanguínea. Logo, é transportado para o cérebro, chegando até a região hipotalâmica responsável pela regulação do apetite e de outros processos metabólicos⁵⁴⁻⁵⁶. Sendo assim, os níveis circulantes de grelina aumentam nos períodos de jejum, reduzindo imediatamente após a ingestão alimentar. Dessa forma, em indivíduos com obesidade os níveis plasmáticos de grelina são menores e as flutuações relacionadas às refeições são anuladas na obesidade, em resposta a altas ingestões alimentares. No entanto, a falta de supressão da grelina após uma refeição pode fornecer um impulso orexigênico consistente, capaz de levar ao desequilíbrio na ingestão alimentar^{57,58}.

Neste contexto, os hormônios insulina, leptina e grelina influenciam diretamente no núcleo arqueado (ARQ), presente no hipotálamo. Assim, os neurônios pró-opiomelanocortina (POMC) e transcrito e regulado por cocaína e anfetamina (CART) possuem efeitos anorexígenos, acelerando o processo metabólico e reduzindo o apetite. Com efeitos antagonistas, o neuropeptídeo Y (NPY) e proteína relacionado à Agouti (AgRP) agem como orexígeno, estimulando o apetite e desacelerando o gasto energético^{59,60}.

Dessa forma, a insulina e a leptina modulam a atividade de subconjuntos neuronais específicos, inibindo a atividade de neuropeptídeos orexígenos NPY e a proteína AgRP, ativando POMC e CART, reduzindo o apetite e aumentando o gasto de energia^{61,62}. Em contrapartida, a grelina aumenta o apetite pela ativação de neurônios orexígenos como AgRP e NPY, inibindo POMC e CART estimulando a ingestão de alimentos. No entanto, em condições obesogênicas a sinalização da insulina, leptina e grelina tornam-se prejudicadas, comprometendo a funcionalidade desses hormônios^{62,63}.

Nesse sentido, levando em consideração as alterações hormonais, complicações relacionadas à obesidade estão associadas ao desequilíbrio no centro da saciedade, resultando na maior ingestão alimentar e no ganho de adiposidade^{64,65}. Portanto, a elevação da massa adiposa que ocorre na obesidade é determinada via hipertrofia e/ou hiperplasia. Uma vez que a hipertrofia representa o excesso de gordura armazenado dentro do adipócito, a hiperplasia corresponde a proliferação de células adiposas⁶⁶.

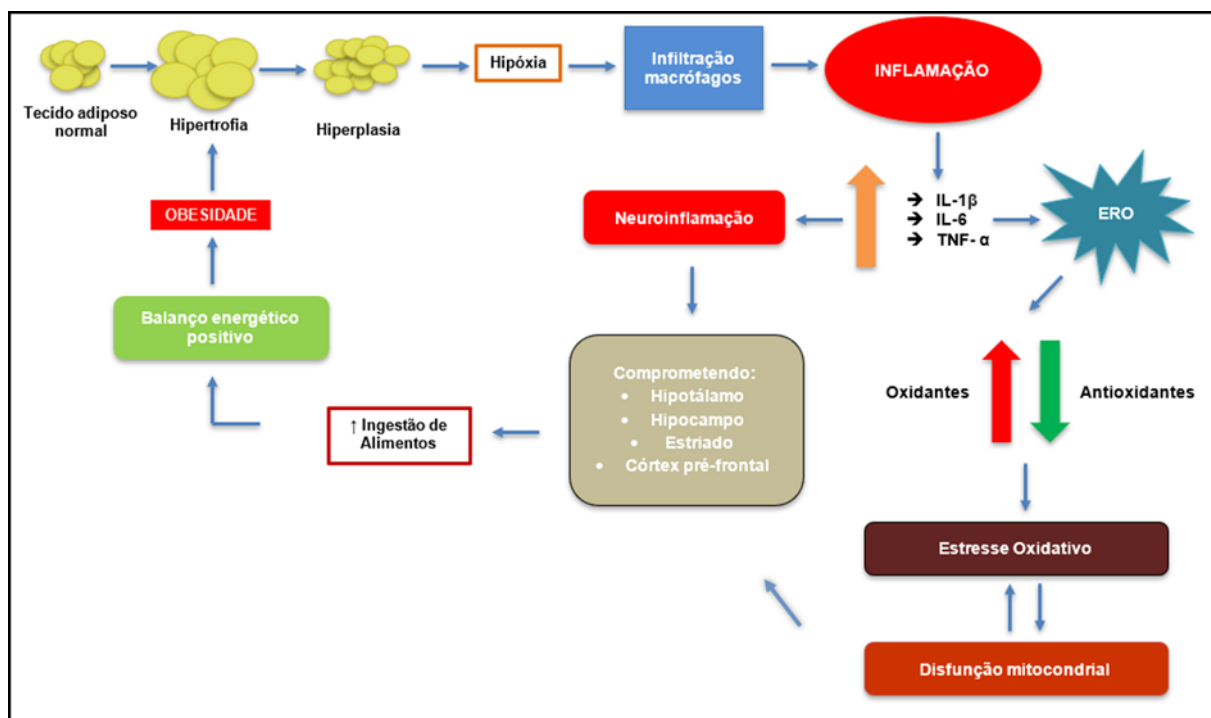
No entanto, essas alterações causadas tanto por hipertrofia quanto por hiperplasia, levam ao comprometimento da vascularização, que reduzem a chegada de oxigênio no tecido, resultando em hipóxia celular⁶⁷⁻⁶⁹. Dessa forma, em condições obesogênicas, a hipóxia está associada à inflamação crônica de baixo grau, caracterizada pela transformação de monócitos em macrófagos no tecido adiposo, que estimulam a secreção de citocinas pró-inflamatórias tais como Interleucina 1 beta (IL-1 β), Interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)^{68,70,71}.

A inflamação crônica e de baixo grau presente na obesidade pode se tornar sistêmica, estendendo-se dos tecidos periféricos para o cérebro⁷². O balanço energético positivo durante a obesidade promove um estado inflamatório no SNC, comprometendo a homeostase cerebral⁷³. Considerado um órgão imunoprivilegiado, o SNC possui a presença da BHE, uma barreira que controla rigorosamente as trocas de substâncias do sangue da periferia para o SNC. No entanto, em indivíduos com obesidade ocorre o aumento da permeabilidade da BHE, permitindo que citocinas pró-inflamatórias adentrem o SNC, assim como, a infiltração de monócitos periféricos no cérebro⁷⁴, desencadeando o processo de neuroinflamação^{75,76}. Dessa forma, a neuroinflamação induzida pela obesidade pode culminar em prejuízos no hipotálamo⁷⁷, estendendo-se a outras áreas cerebrais como hipocampo⁷⁸, estriado e córtex pré-frontal⁷⁹.

No SNC, o hipotálamo é a estrutura cerebral que dá início ao processo de neuroinflamação⁷⁷. O desequilíbrio nas sinalizações no hipotálamo por meio dos hormônios leptina e grelina causam uma fisiopatologia diversa incluindo o desequilíbrio no ganho de peso, levando à homeostase energética inadequada⁴⁶. No hipocampo, a plasticidade sináptica pode ser conceituada e definida em vários níveis e funções de eventos bioquímicos referente às respostas comportamentais, como aprendizagem, memória e humor⁷⁸. Nesse sentido, há uma série de evidências relacionando obesidade com comprometimento cognitivo, afetando a morfologia e estruturas das sinapses do hipocampo⁸⁰. O estriado e o córtex pré-frontal são consideradas regiões do SNC responsáveis pelo sistema de recompensa, além de estarem envolvidos no controle da ingestão alimentar e da homeostase energética. Nesse sentido, o comprometimento do estriado e do córtex pré-frontal na obesidade leva a distúrbios alimentares, aumentando a motivação para recompensa relacionada à comida⁸¹.

Na obesidade, a liberação exacerbada de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, são responsáveis pela elevada produção de ERO, produzido continuamente no corpo via metabolismo oxidativo e bioenergética mitocondrial^{12,82}. As mitocôndrias são a principal fonte de produção de ERO, gerado através do escapamento de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial, devido a uma diminuição da taxa de fosforilação mitocondrial¹². Desse modo, o aumento na produção ERO mitocondriais está associado ao agravamento da inflamação e ao estresse oxidativo⁹ (ver Figura 1).

Figura 1 - Inflamação crônica na obesidade e sua relação com ERO e disfunção mitocondrial.



Legenda: ERO = Espécie Reativa de Oxigênio; IL-1β= Interleucina 1 beta; IL-6= Interleucina 6; TNF-α= Fator de Necrose Tumoral Alfa

O estresse oxidativo é oriundo de um desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes, resultante da produção exacerbada de ERO⁸³. Os oxidantes e antioxidantes desempenham papel fundamental nos mecanismos bioquímicos na função fisiológica e sinalização celular. O termo antioxidante está relacionado à substância que doa elétrons, enquanto um oxidante refere-se a uma substância que aceita elétrons⁸⁴. Dessa forma, o desequilíbrio entre os agentes oxidantes e antioxidantes presentes na obesidade pode estar associado a dano celular pela oxidação de constituintes celulares, como lipídeos, proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA), comprometendo a funcionalidade celular⁸⁵. Embora a produção de ERO seja um processo fisiológico, sua superprodução pode causar riscos à saúde quando associado à diminuição dos mecanismos de defesa efetuados pelas enzimas antioxidantes tais como, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx). Essas enzimas atuam como sequestradores de oxidantes e, por consequência, fazem a neutralização dos radicais livres^{82,85,86}.

Considerando que o estresse oxidativo leva a danos lipídicos e proteicos, e a mitocôndria é formada por fosfolipídios, o estresse oxidativo pode levar à função

hormônios reguladores de apetite, melhora do perfil lipídico e dos níveis glicêmicos. Entretanto, a restrição alimentar pode ocasionar déficit de ingestão de alguns nutrientes, podendo acarretar consequências a longo prazo para o SNC, com necessidade de ampliar os estudos dessas estratégias.

1.1.3 Estratégias nutricionais para obesidade

O ato de se alimentar é indispensável para manter as funções fisiológicas do organismo, envolvendo também conotações simbólicas, sendo influenciada por fatores psicológicos e socioculturais. No entanto, a ingestão excedente de calorias está vinculada à principal causa de obesidade nos indivíduos, associada a um estilo de vida, alimentação inadequada e à má distribuição de nutrientes. Atualmente, a preocupação com o bem-estar e a saúde tem aumentado a procura por mudanças no estilo de vida através de uma alimentação equilibrada^{102,103}.

Intervenções nutricionais como a dieta low carb, dieta cetogênica, e jejum intermitente tem sido bastante usadas para redução do peso corporal. No entanto, essas estratégias além de serem consideravelmente restritivas, podem apresentar déficit de vitaminas e minerais em sua composição, ocasionando possíveis alterações fisiológicas, riscos nutricionais e transtornos alimentares¹⁰³.

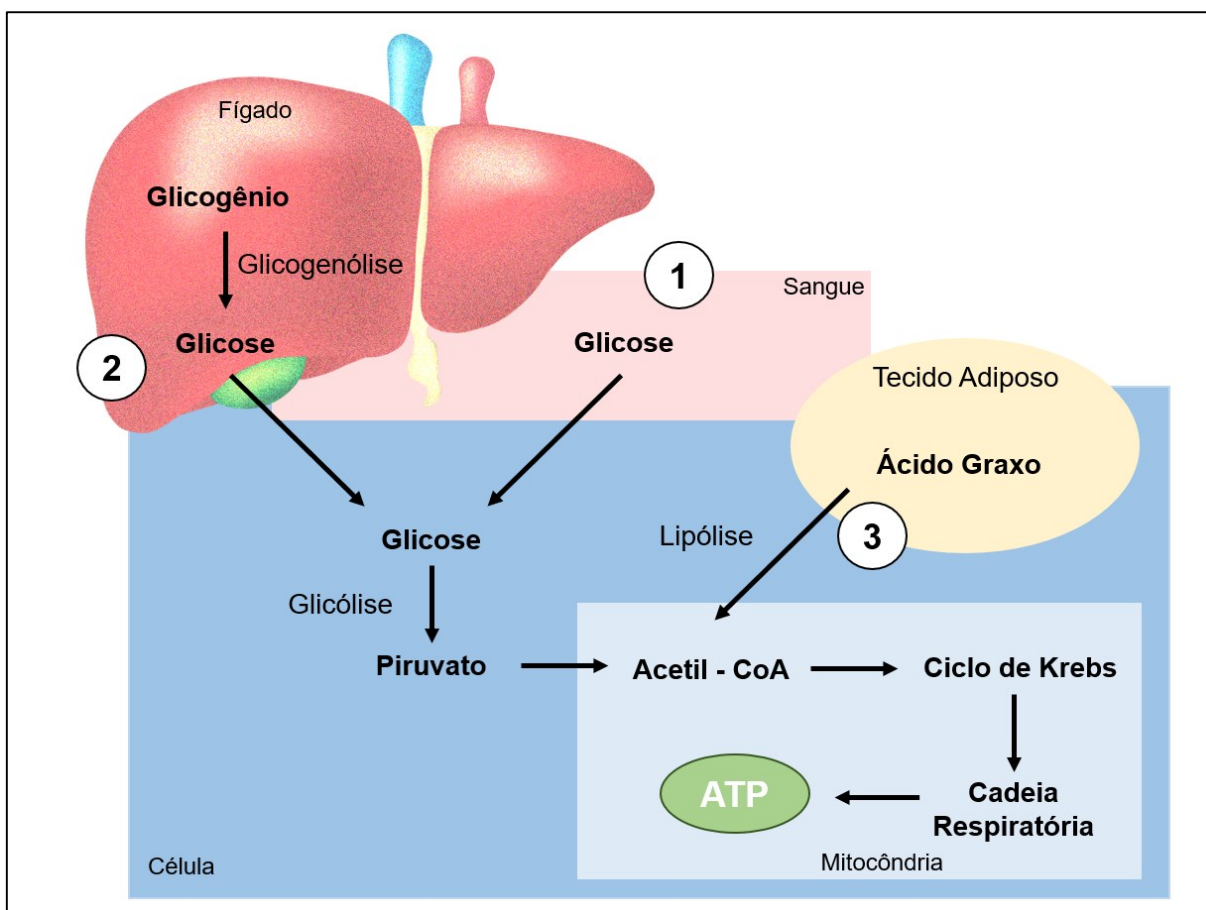
Nesse sentido, ampliar os estudos sobre a efetividade das dietas restritivas no tratamento da obesidade é fundamental, tendo assim um embasamento científico e responsável em relação aos efeitos dessas estratégias nutricionais. Dessa forma, estimulando mudança nos hábitos alimentares, assim como, prevenindo e promovendo saúde^{104,105}.

1.1.4 Dieta low carb

A dieta low carb é uma estratégia nutricional baseada na redução do consumo de carboidratos, especialmente os açúcares refinados, aumentando o consumo de gorduras insaturadas. Usualmente, as recomendações sobre o consumo de carboidratos são de 45% - 60% das necessidades energéticas diárias. Considerando uma dieta com baixo teor de carboidratos, recomenda-se que seja consumido <45% de calorias derivada de hidratos de carbonos, com valores abaixo de 130g/dia^{106,107}.

Os mecanismos envolvidos na perda de peso na dieta low carb estão associados a uma redução do consumo de carboidratos, com aumento do consumo de proteínas e gorduras¹⁰⁸. A restrição de carboidratos diminui a disponibilidade de glicose e concentração de insulina no sangue¹⁰⁹, reduzindo as reações de glicólise e a degradação de ácido pirúvico no ciclo de Krebs, culminando menor produção de ATP na cadeia respiratória mitocondrial onde se dá a fosforilação oxidativa¹¹⁰. Dessa forma, a produção insuficiente de ATP pela oxidação da glicose promove o aumento na circulação de ácidos graxos livres, utilizados como reserva na produção de energia pela oxidação lipídica¹⁰⁹. Este processo estimula o organismo a intensificar a oxidação de gordura e aumentar o gasto energético, resultando na perda de peso ¹⁰⁸(ver Figura 3).

Figura 3 - Vias de suporte energético na dieta low carb.



Legenda: 1 – Glicose pós-prandial; 2 – Glicogênio libera glicose via glicogenólise; 3 – Oxidação de ácidos graxos.

Diante do exposto, a dieta low carb quando executada corretamente gera perda de peso. No entanto, apesar dos resultados serem positivos, é preciso estar atento,

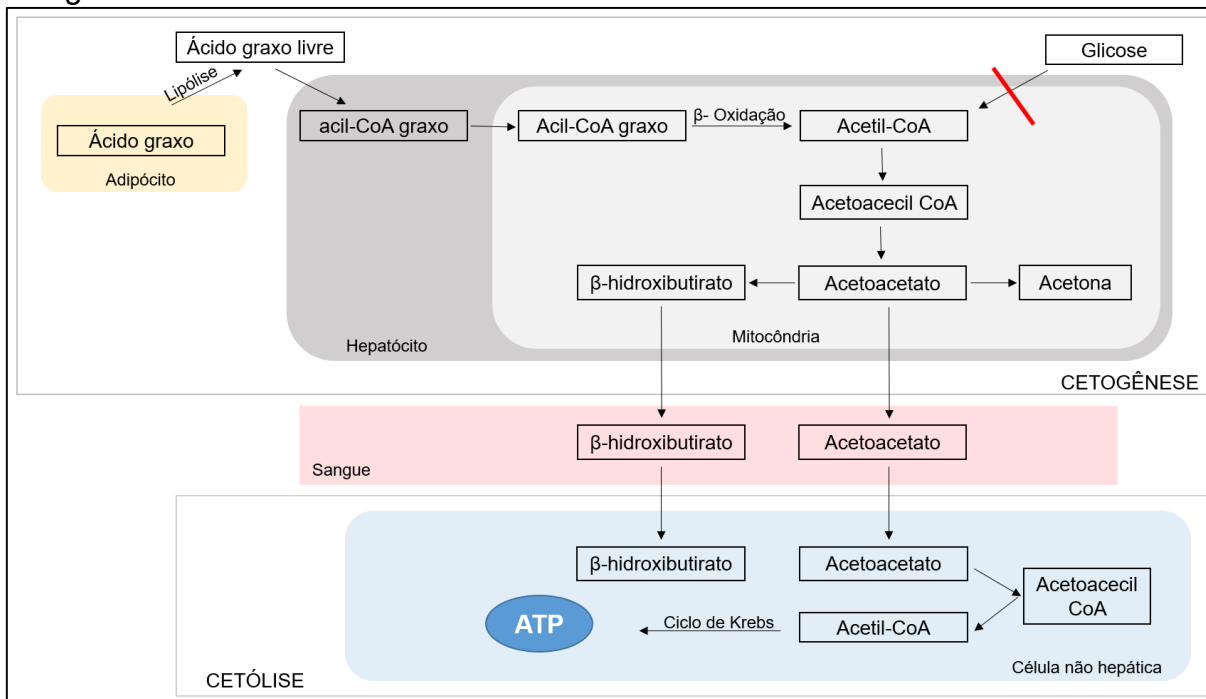
buscando sempre manter a homeostase corporal, a fim de trazer resultados promissores na perda de peso e suprimindo as necessidades nutricionais de forma individualizada¹¹¹.

1.1.5 Dieta cetogênica

A dieta cetogênica é uma estratégia amplamente conhecida no tratamento de várias doenças, demonstrando eficácia para perda de peso, com resultados positivos a curto e médio prazo no combate à obesidade¹¹². Diferente da dieta low carb, a dieta cetogênica tem uma redução no consumo de carboidratos ainda mais expressiva, com ingestão menor de 50g por dia, e um aumento relativo nas proporções de gordura. Essa restrição de carboidratos induz o organismo a gerar energia pela oxidação de gordura, aumentando a produção de corpos cetônicos^{106,113}.

Os corpos cetônicos são compostos orgânicos que possuem em sua estrutura um grupo carbonila. Produzidos principalmente pelas mitocôndrias nos hepatócitos, os corpos cetônicos podem ser divididos em três tipos: acetoacetato, acetona e β -hidroxibutirato. Os níveis circulantes de cetonas são controlados pelos hormônios insulina e glucagon, uma vez que glucagon induz à cetogênese, enquanto a insulina retarda a formação de cetonas¹¹⁴. O processo de cetogênese inicia-se com a lipólise de ácidos graxos em ácidos graxos livres, que são transportados dos adipócitos para os hepatócitos e oxidados em acetil coenzima A (CoA). No entanto, para obter energia através de corpos cetônicos, o acetil CoA oriundo da cetólise de β -hidroxibutirato e acetoacetato, passa pelo ciclo de Krebs e é posteriormente oxidado na formação de ATP. Dessa forma, por serem capazes de ultrapassar a BHE, os corpos cetônicos tornam-se uma fonte de energia alternativa para os tecidos, incluindo o SNC¹¹⁵ (ver Figura 4).

Figura 4 - Vias simplificadas do metabolismo das cetonas durante uma dieta cetogênica.



Fonte: Traduzido de Drabińska, Wiczowski, Piskula, 2021¹¹⁵.

Diante do exposto, a dieta cetogênica tem sido usada como terapia para diversos distúrbios metabólicos, tais como obesidade, DM2 e algumas doenças neurológicas¹¹⁶. No entanto, surgiram diferentes tipos de dietas cetogênicas ao longo dos anos, são elas: dieta cetogênica clássica, dieta cetogênica com triglicerídeos de cadeia média, dieta de Atkins modificada e dieta de baixo índice glicêmico. Com intuito de melhorar o cumprimento da dieta, essas modificações têm por objetivo deixá-las mais palatáveis e diversificadas. Essas variações podem ser melhor observadas no quadro 1⁹⁹.

Quadro 1 - Distribuição dos macronutrientes nos diferentes tipos de dieta cetogênica.

Tipo de dieta	Lipídeos % VCT	TCM %VCT	Proteínas %VCT	Carboidratos % VCT
Cetogênica Clássica	90	-	10	10
Cetogênica com TCM	11	60	10	19
Cetogênica Atkins	60-70	-	20-30	6
Cetogênica com carboidratos de baixo IG	35-40	-	15-20	Alimentos IG < 50

Fonte: Adaptado de Nutricia, 2017⁹⁹. IG: Índice Glicêmico. TCM: Triglicerídeos de cadeia média. VCT: Valor calórico total da dieta.

Apesar das variações de composição da dieta cetogênica, muitos estudos demonstram seu efeito positivo para perda de peso^{17,117,118}. Diante do exposto, a dieta cetogênica pode ser uma estratégia eficaz na perda de peso, além de melhorar parâmetros bioquímicos e possuir efeitos neuroprotetores^{119,120}.

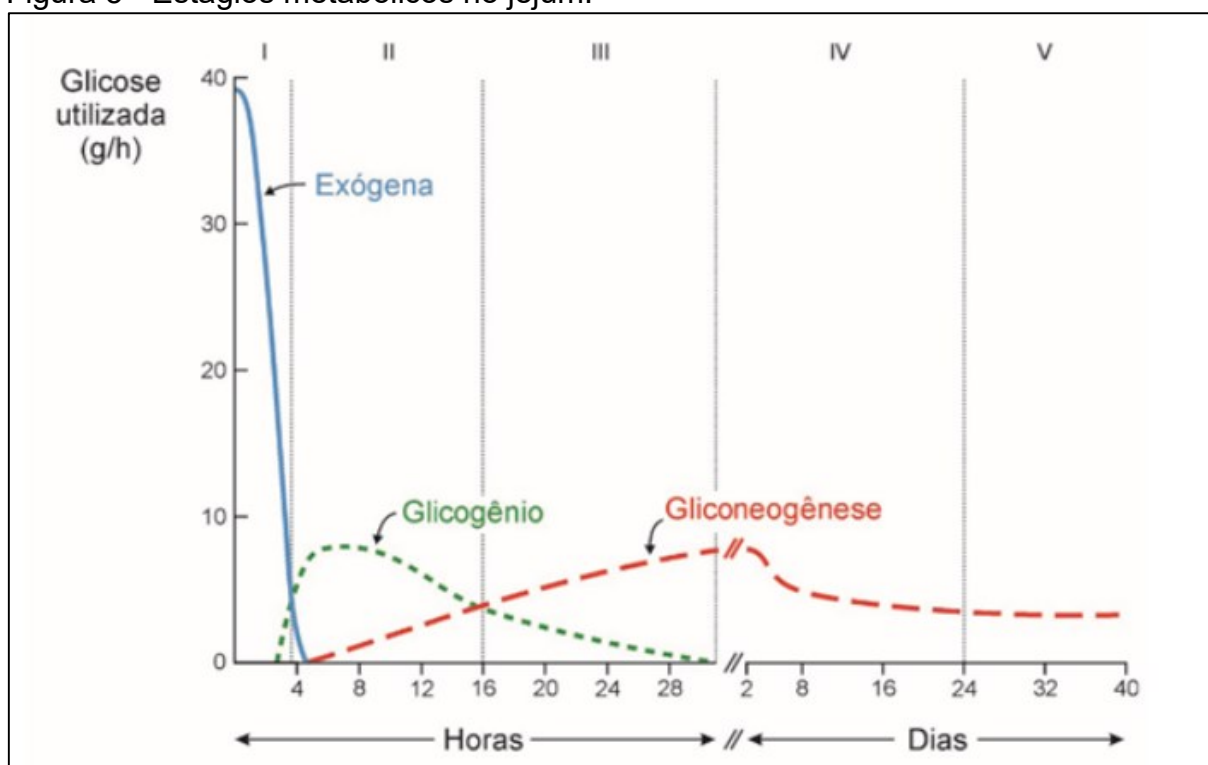
1.1.6 Jejum intermitente

O jejum intermitente constitui uma estratégia de intervenção nutricional caracterizada pela diminuição da ingestão alimentar. Esta estratégia é utilizada por milênios pelos muçumanos durante os períodos de Ramadã que, por 30 dias consecutivos, jejuam do amanhecer até o pôr do sol, totalizando apenas duas refeições por dia. Alguns estudos observaram que, ao final desse período do Ramadã, havia uma melhora no perfil lipídico, com aumento de lipoproteína de alta densidade (HDL), diminuição de lipoproteína de baixa densidade (LDL), assim como, diminuição da massa gorda e melhora da frequência cardíaca^{13,121}.

Os mecanismos envolvidos no jejum intermitente estão associados à oxidação de gordura como fonte principal de energia. De maneira geral, as pessoas alimentam-se três ou mais vezes por dia, dessa forma, cada vez que é feita a ingestão alimentar ocorre um pico na liberação de glicose, uma vez esgotado este suprimento, a glicemia é mantida via glicogenólise hepática, perdurando de 4 à 12 horas^{122,123}. No entanto, em um estado de jejum quando ocorre a diminuição de glicose na circulação

sanguínea, a demanda de energia é suprida pela gliconeogênese via oxidação de fontes não derivadas de carboidratos, com objetivo de poupar a glicose limitada para tecidos que são usuários exclusivos, incluindo especialmente o SNC^{124,125}. Nesse sentido, uma das principais respostas ao jejum é a mobilização das reservas de triglicerídeos (TG) no tecido adiposo, aumentando a disponibilidade de ácidos graxos livre que serão usados como fonte de energia para os tecidos. Além disso, através da lipólise de TG ocorre o aumento na liberação de glicerol, um precursor fundamental da gliconeogênese no fígado, que contribui para manutenção de glicose circulante¹²⁵(ver Figura 5).

Figura 5 - Estágios metabólicos no jejum.



Fonte: Marzzoco, Torres, 2015¹²³.

Devido à crescente epidemia da obesidade, a estratégia do jejum intermitente tem ganhado popularidade como uma estratégia voltada à redução de calorias e gordura corporal. Nesse sentido, vários protocolos de jejum intermitente surgem como alternativas para perda de peso, uma vez que essa estratégia alimentar restringe calorias e/ou o tempo de ingestão dos alimentos, de maneira que o indivíduo sofra períodos repetitivos de jejum. No entanto, existem diferentes protocolos para realizar o jejum intermitente como: jejum de dia alternativo, jejum do dia inteiro e alimentação com restrição de tempo, descritos no quadro 2^{126,127}.

Quadro 2 - Protocolos de jejum intermitente.

PROTOCOLOS	DESCRIÇÃO
Jejum do dia alternativo	Jejum com alternância de dias, durante os quais calorias não são ingeridas e os dias de alimentação, com consumo de alimentos e bebidas ad libitum.
Jejum do dia inteiro (Jejum intermitente)	Jejum completo por um a dois dias por semana, com somente ingestão de água e alimentação ad libitum nos outros dias. Alguns programas, permitem a ingestão de 25% de calorias relativas ao gasto total de energia diária em dias de jejum.
Alimentação com restrição de tempo	Não modifica a rotina de alimentação diária, com períodos (em horas) do dia em jejum, designando janela de jejum (caracterizado por restrição alimentar) e horas restantes como janela de alimentação.

Fonte: Adaptado de Lima *et al.*, 2019¹²⁷.

Essas variações de conduta, frequência, horário e duração do jejum possuem efeitos diferentes. No geral, os benefícios do jejum para saúde foram demonstrados tanto em ensaios clínicos randomizados quanto em estudos observacionais. Os resultados da restrição calórica induzida pelo jejum está associada à longevidade, assim como demonstrou ser uma estratégia efetiva para perda de peso^{128,129}.

Nesse sentido, de maneira geral a restrição calórica e os diferentes tipos de jejum demonstram ter efeitos fisiológicos importantes, com benefícios para a saúde associado ao envelhecimento saudável. Não obstante, os efeitos a longo prazo do jejum intermitente precisam ser melhor elucidados, uma vez que os benefícios e os riscos podem levar meses e anos para aparecer ou serem totalmente realizados^{129,130}.

Diante do exposto, este estudo torna-se relevante, uma vez que busca elucidar quais as possíveis alterações neuroinflamatórias e neuroquímicas sobre o uso das estratégias low carb, cetogênica e jejum intermitente a nível de SNC.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar parâmetros neuroinflamatórios e neuroquímicos em camundongos submetidos a diferentes estratégias nutricionais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o consumo alimentar de camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente;
- Avaliar o peso corporal de camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente;
- Avaliar o peso da gordura epididimal, mesentérica e retroperitoneal de camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente;
- Avaliar parâmetros inflamatórios (níveis de IL-1 β , IL-6 e IL-10) no cérebro (hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado) de camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente;
- Avaliar o dano oxidativo no cérebro (hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado) de camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente;
- Avaliar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GSH no cérebro (hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado) de camundongos submetidos à dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente;

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Esse trabalho é um estudo experimental pré-clínico com submissão de camundongos a diferentes estratégias nutricionais.

3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

As rações foram obtidas da empresa PragSoluções Biociências – PragSoluções Comércio e Serviços Ltda, SP, Brazil. Para as análises inflamatórias e bioquímicas foram utilizados os seguintes reagentes: Fosfato de potássio, fosfato de sódio, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, tampão de lavagem, tampão de bloqueio, diluente, anticorpo de captura, anticorpo de detecção, fotorreagente, albumina bovina, hidróxido de sódio, carbonato de sódio, sulfato de cobre, tartarato de sódio e potássio, folin, cloreto de potássio, ácido tricloroacético, 1,1,3,3 – tetrametoxipropano, ácido tiobarbitúrico, álcool etílico, acetato de etila, dinitrofenilhidazina, ácido aminocético, adrenalina, catalase, cloreto de sódio, sacarose, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), trizma base, heparina, ácido clorídrico, ferrocianeto, β -nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido, rotenona, etanol, succinato de sódio, azida sódica e 2,6-dicloroindofenol (DCIP).

Em relação aos equipamentos, foram utilizado homogeneizador, freezer, geladeira, balança analítica, pHmetro, centrifuga, banho-maria, espectrofotômetro e espectramax.

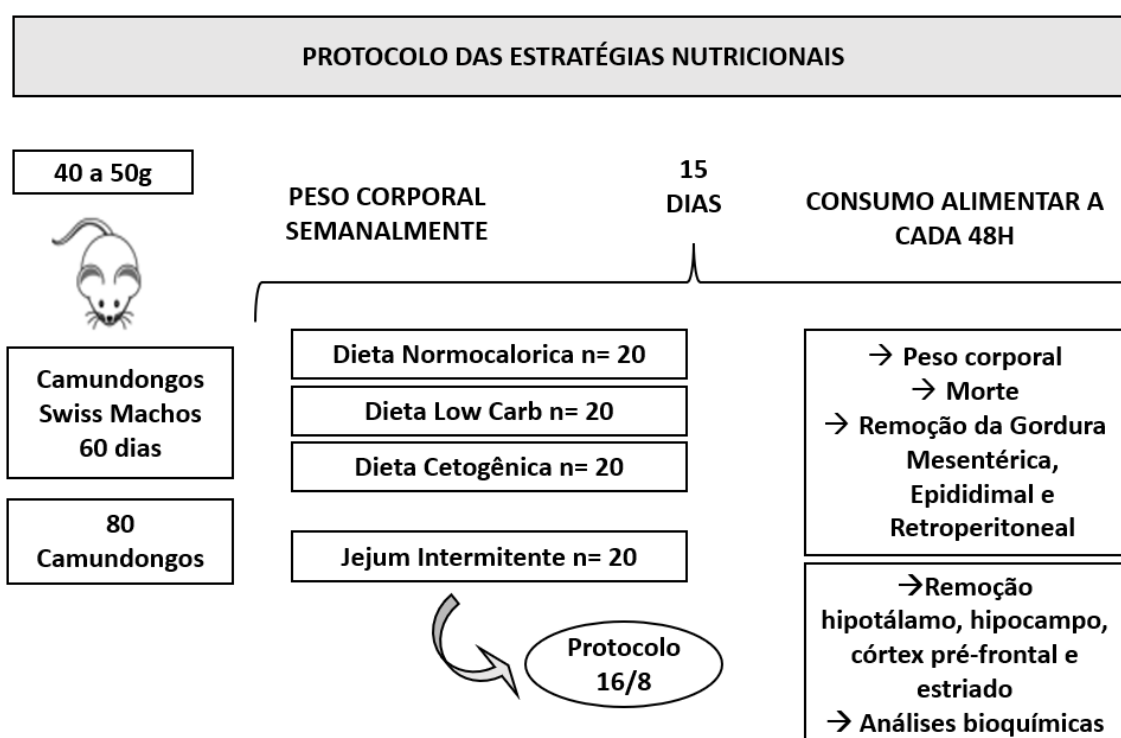
3.3 ANIMAIS

Foram utilizados 80 camundongos machos da linhagem Swiss, com 60 dias, pesando em torno de 40 a 50g. Os animais foram procedidos do Biotério da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e tiveram livre acesso à água e ração, foram mantidos em ciclos de claro-escuro de 12 horas e temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Os camundongos foram alojados em gaiolas coletivas com lotação máxima de 5 animais. A realização do experimento se deu no biotério e Laboratório de Neurobiologia de

Processos Inflamatórios e Metabólicos, na Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão/SC.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Figura 6 - Desenho metodológico do experimento. Descrição gráfica da metodologia utilizada.



Inicialmente os animais foram pesados e pareados em 4 grupos para receberem as estratégias nutricionais por 15 dias. Foram divididos grupos: grupo controle (n=20), grupo low carb (n=20), grupo dieta cetogênica (n=20) e grupo jejum intermitente (Protocolo de jejum 16/8; n=20). O consumo alimentar e o peso corporal foram verificados rotineiramente. A ração dos animais (Quadro 3) foi adquirida de empresa especializada em desenvolvimento e produção de dietas padronizadas para experimentação animal (PragSoluções Biociências). Todos os animais tiveram livre acesso à água durante o experimento. Após o protocolo experimental, os animais foram mortos por decapitação, método que implica em menores interferências aos parâmetros avaliados no cérebro dos animais.

Quadro 3 - Componentes e porcentagem das dietas utilizadas.

DIETAS %	Dieta normocalórica	Dieta low carb	Dieta cetogênica
Macronutrientes	%	%	%
Gordura	10%	45%	90%
Proteína	21%	25%	7%
Carboidrato	69%	30%	3%

3.4.1 Consumo alimentar e peso corporal

A cada 48 horas o consumo de ração foi mensurado nos grupos controle, low carb e cetogênica, e calculado por meio da diferença entre a ração ofertada e as sobras, o valor foi expresso em gramas. Nos animais selecionados para jejum intermitente, a ração foi pesada e ofertada às 21 horas e retirada e pesada novamente às 5 horas. Já o peso corporal dos animais foi avaliado semanalmente e o valor foi expresso em gramas.

3.5 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAS

3.5.1 Remoção e armazenamento dos tecidos

Os animais foram mortos após 15 dias de aplicação das estratégias nutricionais, sendo que a cavidade abdominal foi aberta e o tecido adiposo das regiões epididimal, mesentérica e retroperitoneal (gordura visceral) foi retirado conforme descrito por Johnson e Hirsch¹³¹. O cérebro dos animais também foi removido e, na sequência, as estruturas cerebrais hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado foram isoladas. O tecido cerebral foi armazenado a -80°C para ser utilizado nas análises de parâmetros inflamatórios e bioquímicos.

3.5.2 Peso da gordura visceral

Para mensurar a gordura visceral, o tecido adiposo das regiões epididimal, mesentérica e retroperitoneal foi pesado em balança de alta precisão¹³². Os resultados da massa de tecido adiposo extraído foram expressos em gramas.

3.6 PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E BIOQUÍMICOS

3.6.1 Parâmetros de inflamação

Os níveis de IL-1 β , IL-10 e IL-6 foram determinados pela técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) em leitor de microplacas com a utilização de kit comercial, seguindo as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos em picogramas por mililitro (pg/ml).

3.6.2 Dano oxidativo

A oxidação do diacetato de diclorohidrofluoresceína 2'7' (DCFH-DA) através das células causa fluorescência de difluoresceína (DCF), que pode ser facilmente lida em um espectrofotômetro. Neste ensaio, 100 μ L de água e 75 μ L de DCFH-DA foram adicionados a 25 μ L de homogeneizado de amostra, homogeneizados em vórtex e levados a banho-maria a 37°C no escuro, por 30 minutos. Separadamente, foi preparada uma curva de calibração, que utilizou como padrão o DCFH-DA 0,1 μ M diluído em tampão fosfato/EDTA a pH 7,4 em diferentes concentrações. As amostras e a curva de calibração foram processadas em duplicata e protegidas da luz. Após 30 minutos, os resultados foram lidos no espectrofotômetro (525nm de excitação e 488nm de emissão)¹³³.

O dano oxidativo em proteínas foi avaliado pela determinação de grupamentos carbonilas em proteínas oxidadas, com base na reação com dinitrofenilhidrazina, conforme método descrito por Levine e colaboradores¹³⁴. Nesta técnica as proteínas foram precipitadas por adição de ácido tricloroacético a 20% e dissolvidas em dinitrofenilhidrazina. A absorbância foi avaliada em 340 nm.

As análises de DCF e carbonil foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas, que foram determinadas pelo método de Lowry e colaboradores¹³⁵. Os resultados

foram expressos em nmol de DCFH-DA por mg de proteína e em nmol de proteínas carboniladas por mg de proteína respectivamente.

3.6.3 Atividade de enzimas antioxidantes

A atividade da enzima antioxidante SOD foi determinada pela inibição da auto-oxidação da adrenalina medida espectrofotometricamente, conforme descrito por Bannister e Calabrese¹³⁶. A técnica baseia-se na inibição da reação do radical $O_2^\bullet$ com adrenalina, composto que se auto-oxida com variação de pH. A oxidação da adrenalina leva à formação de adrenocromo e a atividade da SOD foi determinada medindo-se a velocidade de formação do adrenocromo, determinada espectrofotometricamente a 480 nm, em um meio de reação contendo glicina-NaOH (50 mM em pH 10,2) e adrenalina 60 mM.

Os níveis de glutathione (GSH) no hipotálamo, córtex pré-frontal, hipocampo, corpo estriado e córtex cerebral foram determinados conforme descrito por Hissin e Hilf¹³⁷. A técnica baseia-se no desenvolvimento de cor resultante da reação entre DTNB e tióis com absorbância lida em 412 nm.

Todas as análises de atividade de enzimas antioxidantes foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas, que foram determinadas pelo método de Lowry e colaboradores¹³⁵. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína para SOD e em nmol de proteínas GSH por mg de proteína respectivamente.

3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Quadro 4 - Variáveis de estudo.

Variáveis	Tipo	Natureza	Proposta de utilização
Consumo alimentar	Dependente	Quantitativa contínua	(g) Média desvio padrão
Dieta low carb	Dependente	Quantitativa contínua	(g) Média desvio padrão
Dieta cetogênica	Dependente	Quantitativa contínua	(g) Média desvio padrão
Jejum intermitente	Dependente	Quantitativa contínua	(g) Média desvio padrão
Peso corporal	Dependente	Quantitativa contínua	(g) Média desvio padrão

Gordura visceral	Dependente	Quantitativa contínua	(g) Média desvio padrão
TNF- α	Dependente	Quantitativa contínua	(pg/ml) Média desvio padrão
IL- 1 β	Dependente	Quantitativa contínua	(pg/ml) Média desvio padrão
IL -10	Dependente	Quantitativa contínua	(pg/ml) Média desvio padrão
IL- 6	Dependente	Quantitativa contínua	(pg/ml) Média desvio padrão
TBARS	Dependente	Quantitativa contínua	(nmol/mg) Média desvio padrão
Carbonilação de proteínas	Dependente	Quantitativa contínua	(mol/mg) Média desvio padrão
Atividade de SOD	Dependente	Quantitativa contínua	(U/mg protein) Média desvio padrão
Atividade de CAT	Dependente	Quantitativa contínua	(U/mg protein) Média desvio padrão
Complexo I	Dependente	Quantitativa contínua	(nmol/min x mg) Média desvio padrão
Complexo II	Dependente	Quantitativa contínua	(nmol/min x mg) Média desvio padrão

3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As análises foram realizadas utilizando InStat Statistical Software (GraphPad, La Jolla, CA, EUA). As comparações entre os grupos experimentais foram realizadas utilizando análise de variância (ANOVA) seguido pelo post hoc de Tukey. Os resultados foram apresentados em média $\pm$ desvio padrão e a significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

3.9 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

A utilização de animais foi submetida e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sul de Santa Catarina sob o número do protocolo 20.013.4.01.IV. foram seguidos os Princípios de Cuidados de Animais de Laboratório (Principles of Laboratory Animal Care, Instituto Nacional de Saúde dos EUA, NIH), assim como a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA (2016), do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4. ARTIGO

Impacto das estratégias nutricionais para o sistema nervoso central

Keila Rufatto de Souza¹, Nicole Alessandra Engel¹, Ana Beatriz Costa¹, Hevylin Jacintho Soares¹, Catarina Barbosa Chaves Bressan¹, Mariana Pacheco de Oliveira¹, Larissa Marques Dela Vedova¹, Larissa Espindola da Silva¹, Talita Farias Mendes¹, Mariella Reinol da Silva¹, Emily córneo², Heloísa de Medeiros Borges², Amanda Indalecio Goulart², Monique Michels², João Vitor Silvano Bittencourt², Laura de Roch Casagrande², Fabricia Cardoso Petronilho¹, Felipe Dal-Pizzol², Paulo Cesar Lock Silveira², Gislaine Tezza Rezin¹

¹Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, Brasil;

²Laboratório de Fisiologia Experimental, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina, Criciúma, Santa Catarina, Brasil.

***Correspondência para:** Gislaine Tezza Rezin, Ph.D. E-mail: gitezza@hotmail.com
Endereço: Universidade do Sul de Santa Catarina, Av. José Acácio Moreira, 787, Tubarão, 88704-900, SC, Brasil. Telefone: +55 48 3621 3363. Fax: +55 48 3621 3365.

Resumo

A obesidade é uma doença que tem crescido mundialmente. Assim, estratégias nutricionais são utilizadas com a finalidade de perda de peso, destacando as dietas low carb (LC), dieta cetogênica (DC) e jejum intermitente (JI). Essas estratégias podem levar a adaptações metabólicas e comportamentais, estimulando diferentes vias bioquímicas. No entanto, poucos estudos mostram os efeitos dessas estratégias no sistema nervoso central. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar parâmetros neuroinflamatórios e neuroquímicos em camundongos submetidos a LC, DC e JI. Utilizou-se camundongos machos da linhagem Swiss, com 60 dias de vida, foram divididos em 4 grupos: grupo controle, grupo LC, grupo DC e grupo JI. O experimento teve duração de 15 dias. O peso corporal foi mensurado semanalmente e o consumo alimentar a cada 48h. Após a morte dos animais, a gordura visceral foi removida e pesada, bem como o cérebro foi isolado para análise inflamatória e bioquímica. O uso das estratégias LC, DC resultaram no ganho de peso, acúmulo de gordura mesentérica, epididimal e retroperitoneal, sem diferenças significativas para JI. Quanto aos parâmetros inflamatórios avaliados nas estruturas cerebrais, houve redução de interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6). Com relação a dano oxidativo, houve aumento de fluorescência de difluoresceína (DCF) e carbonil, assim como, níveis elevados de superóxido dismutase (SOD) e glutathione (GSH). Em resumo, os resultados encontrados mostram que o uso das estratégias LC, DC e JI não levam a dano neuroinflamatório, mas apresentam dano a nível de estresse oxidativo.

Palavras-chave: obesidade, sistema nervoso central, dieta low carb, dieta cetogênica e jejum intermitente

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em síntese, com a apresentação dos dados do presente trabalho, foi possível concluir que o uso das estratégias LC, DC no decorrer de 15 dias leva ao ganho de peso, assim como, acúmulo de gordura mesentérica, epididimal e retroperitoneal. Dessa forma, foi possível concluir que o tipo de gordura ofertado, a quantidade presente na dieta e o tempo de experimento contribuíram para os possíveis resultados nos grupos LC e DC. Com relação ao grupo JI, o mesmo não apresentou diferenças significativas para consumo alimentar e ganho de peso corporal. Ainda assim, o uso das estratégias LC, DC e JI mostram efeito protetor a neuroinflamação, uma vez que, observou-se redução de marcadores inflamatórios. Entretanto, o presente estudo mostrou dano por estresse oxidativo principalmente pelo JI, assim como, um aumento nos níveis de enzimas antioxidantes sugerindo uma tentativa de neutralização aos danos oxidativos. Dessa forma, torna-se relevante novos estudos a respeito dessa temática e seus efeitos a longo prazo.

REFERÊNCIAS

1. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev.* 2017;18(7):715–23.
2. Tremmel M, Gerdtham UG, Nilsson PM, Saha S. Economic burden of obesity: A systematic literature review [Internet]. Vol. 14, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2017. p. 1–18. Available from: www.mdpi.com/journal/ijerph
3. Isokpehi R, Simmons S, Johnson M, Payton M. Genomic Evidence for Bacterial Determinants Influencing Obesity Development. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2017 Mar 26;14(345):1–11. Available from: www.mdpi.com/journal/ijerph
4. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med* [Internet]. 2016;8(42):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13073-016-0303-2>
5. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* [Internet]. 2015 Jul 4;33(7):673–89. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40273-014-0243-x>
6. Uranga RM, Keller JN. The complex interactions between obesity, metabolism and the brain. *Front Neurosci.* 2019;13(513):1–21.
7. Macedo W de LR, Aoyama E de A, Silva JJV da, Silva S. Influência hormonal do excesso de carboidratos refinados e do meio ambiente no avanço da obesidade. *Rev Bras Interdiscip Saúde.* 2019;1(1):19–25.
8. Maldonado-Ruiz R, Fuentes-Mera L, Camacho A. Central Modulation of Neuroinflammation by Neuropeptides and Energy-Sensing Hormones during Obesity. *Biomed Res Int* [Internet]. 2017;2017:1–12. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/7949582/>
9. Dludla P V., Nkambule BB, Jack B, Mkandla Z, Mutize T, Silvestri S, et al. Inflammation and oxidative stress in an obese state and the protective effects of gallic acid. *Nutrients.* 2019;11(1):1–29.
10. Wang SM, Lim SW, Wang YH, Lin HY, Lai MD, Ko CY, et al. Astrocytic CCAAT/Enhancer-binding protein delta contributes to reactive oxygen species formation in neuroinflammation. *Redox Biol* [Internet]. 2018;16(January):104–12. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.02.011>
11. Cheng Z, Tseng Y, White MF. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 2010;21(10):589–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2010.06.005>
12. Niemann B, Rohrbach S, Miller MR, Newby DE, Fuster V, Kovacic JC, et al.

- Oxidative Stress and Obesity, Diabetes, Smoking, and Pollution: Part 3 of a 3-Part Series HHS Public Access. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2017;70(2):230–51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5568826/pdf/nihms885875.pdf>
13. Santos AKM dos, Pinheiro ARPM, Brito CL de, Galvão FGR, Macêdo FÍF, Beserra TL, et al. Consequências do jejum intermitente sobre as alterações na composição corporal: Uma revisão integrativa. *Rev E-Ciência*. 2017;5(1):29–37.
 14. Souza MG de, M.F.N.Barreto MA, Santos SM dos, Liberali R, Navarro F. Efeitos de dietas low carb sobre parâmetros nutricionais em indivíduos com excesso de peso: revisando as evidências científicas. *Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento*. 2020;14(87):598–607.
 15. Dahlke AP, Viana KR de F. Revisão Sistemática: Dieta Cetogênica E Suas Implicações Na Performance. *Kinesis*. 2018;36(1):143–59.
 16. Silva AF da, Santos FT, Santos M de P, Lelis VG. Estratégia de uma dieta low carb. 2018;10(1):171–5.
 17. Monda V, Polito R, Lovino A, Finaldi A, Valenzano A, Nigro E, et al. Short-Term Physiological Effects of a Very Low-Calorie Ketogenic Diet: Effects on Adiponectin Levels and Inflammatory States. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 May 2 [cited 2021 Feb 8];21(3228):1–12. Available from: www.mdpi.com/journal/ijms
 18. Junior VARF, Maynard D da C. Avaliação do protocolo de Jejum Intermitente no tratamento de sobrepeso e obesidade: uma revisão integrativa. *J Chem Inf Model* [Internet]. 2020;9(8):1–18. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101607><https://doi.org/10.1016/j.ijisu.2020.02.034><https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/cjag.12228><https://doi.org/10.1016/j.ssci.2020.104773><https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.011><https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.011>
 19. Kusz M, Alzubedi A, Polski P, Popiołek J, Kuźma E. Ketogenic diet in civilization diseases. *J Educ Heal Sport*. 2018;8(12):370–4.
 20. Pires GDF, Fernandes MVC, Monego EA, Esteves AVF. O jejum intermitente e seu impacto no emagrecimento e no exercício físico. *Sci Amaz*. 2019;8(3):19–28.
 21. Sack M, Lenz JN, Jakovcevski M, Biedermann S V, Falfán-Melgoza C, Deussing J, et al. Early effects of a high-caloric diet and physical exercise on brain volumetry and behavior: a combined MRI and histology study in mice. *Brain Imaging Behav* [Internet]. 2017 Oct 12;11(5):1385–96. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11682-016-9638-y>
 22. Dias PC, Henriques P, Dos Anjos LA, Burlandy L. Obesity and public policies: The Brazilian government's definitions and strategies. *Cad Saude Publica*. 2017;33(7):1–12.
 23. World Health Organization. Controlling the global obesity epidemic [Internet].

- WHO. 2013 [cited 2020 Sep 2]. Available from: <https://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/>
24. Barroso TA, Marins LB, Alves R, Gonçalves ACS, Barroso SG, Rocha G de S. Association of Central Obesity with The Incidence of Cardiovascular Diseases and Risk Factors. *Int J Cardiovasc Sci*. 2017;30(5):416–24.
 25. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO). Obesidade e sobrepeso [Internet]. [cited 2020 Sep 1]. Available from: <https://abeso.org.br/conceitos/obesidade-e-sobrepeso/>
 26. Castro JM de, Ferreira EF, Silva DC da, Oliveira RAR de. Prevalência de Sobrepeso e Obesidade e os fatores de risco associados em adolescentes. *Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento*. 2018;12(69):84–93.
 27. Effting PS, Brescianini SMS, Sorato HR, Fernandes BB, Fidelis G dos SP, Silva PRL da, et al. Resistance Exercise Modulates Oxidative Stress Parameters and TNF- α Content in the Heart of Mice with Diet-Induced Obesity. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2019 [cited 2020 Sep 19];112(5):545–52. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20190072>
 28. Malta DC, Andrade SSC de A, Oliveira TP, Moura L de, Prado RR do, Souza M de FM de. Probabilidade de morte prematura por doenças crônicas não transmissíveis, Brasil e regiões, projeções para 2025. *Rev Bras Epidemiol* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2020 Sep 3];22:e190030. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2019000100428&tlng=pt
 29. Souza S de A, Silva AB, Cavalcante UMB, Lima CMBL, Souza TC de. Obesidade adulta nas nações: uma análise via modelos de regressão beta. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2018 Aug 20 [cited 2020 Sep 3];34(8):e00161417. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2018000804001&lng=pt&tlng=pt
 30. Wanderley EN, Ferreira VA. Obesidade: uma perspectiva plural. *Cien Saude Colet*. 2010;15(1):185–94.
 31. Morton JM. The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery [Internet]. Nguyen NT, Brethauer SA, Morton JM, Ponce J, Rosenthal RJ, editors. The ASMBS Textbook of Bariatric Surgery. Cham: Springer International Publishing; 2020. 1–15 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-27021-6>
 32. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Mapa da obesidade [Internet]. ABESO. [cited 2020 Sep 3]. Available from: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>
 33. Um em cada quatro adultos do país estava obeso em 2019; Atenção Primária foi bem avaliada | Agência de Notícias | IBGE [Internet]. [cited 2021 Jun 8]. Available from: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29204-um-em-cada-quatro-adultos-do-pais-estava-obeso-em-2019>

34. Saúde M DA. Vigitel Brasil 2018 Vigilância De Fatores De Risco E Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico Estimativas Sobre Frequência E Distribuição Sociodemográfica De Fatores De Risco E Proteção Para Doenças Crônicas Nas Capitais Dos 26 Estados Brasileiros E No Distrito Federal Em 2018 [Internet]. 1998 [cited 2020 Sep 11]. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2018
35. Pelegrini A, Augusto D, Silva S, Ferreira De Lima Silva M, Grigollo D E Edio L, Petroski L. Indicadores antropométricos de obesidade na predição de gordura corporal elevada em adolescentes. *Rev Paul Pediatr* [Internet]. 2015 [cited 2020 Sep 14];33(1):56–62. Available from: www.rpped.com.br
36. Almeida RA De, Tiengo A, Bernardes ACB e. Medidas de composição corporal com adipômetro e bioimpedância – comparação entre resultados. 2020;19(1):1–8.
37. Souza DS de, Souza AES de, Ribeiro KAS. Avaliação do risco coronariano de acordo com a relação cintura- quadril em universitários. *J Chem Inf Model*. 2018;17(1):27–33.
38. Peres MC, Goçaves DLA, Farias C da S. Avaliação nutricional em pacientes com intolerância a lactose Meyre. *J Chem Inf Model*. 2019;8(8):427–50.
39. Diretrizes P. Autoria: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia.
40. Ministério da Saúde - Portal da Saúde [Internet]. [cited 2020 Sep 15]. Available from: <http://www.saude.gov.br/component/content/article/804-imc/40508-so-o-imc-nao-diz-como-voce-esta>
41. Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB. Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(1):69–84.
42. Amaral O, Pereira C. Obesidade da genética ao ambiente. *Millenium*. 2008;0(34):311–22.
43. Miranda A, Navarro F. A prevenção e o tratamento da obesidade durante a infância: uma opção eficaz para reduzir a prevalência desta patologia. *RBONE - Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento*. 2008;2(10):313–23.
44. Ministério da Saúde (Brasil). Guia alimentar para a população Brasileira [Internet]. 2014 [cited 2020 Sep 17]. 1–158 p. Available from: www.saude.gov.br/bvs
45. Lopes AC, Cruz LV, Sobrinho HM da rocha. Associação Entre Obesidade E Câncer Gástrico. *Rev Bras Mil Ciências*. 2020;6(14):55–62.
46. Yeung AY, Tadi P. Physiology, Obesity Neurohormonal Appetite And Satiety Control [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2020 [cited 2021 Mar 3]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32310366>
47. Oliveira VP, Carvalho L de S, Paz SMRS da, Santos MM dos. Reflexões sobre a relação entre resistência à insulina, diabetes mellitus e obesidade na adolescência à luz da literatura. *Rev Eletrônica Acervo Saúde* [Internet]. 2020 Feb 28;(41):e2105. Available from:

<https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/2105>

48. Dodd G t., Tiganis T. Insulin Action in the Brain: Roles in Energy and Glucose Homeostasis. *Int J Lab Hematol* [Internet]. 2016 Feb 12;38(1):42–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.12426>
49. Nameni G, Farhangi MA, Hajilouian G, Shahabi P, Abbasi MM. Insulin deficiency: A possible link between obesity and cognitive function. *Int J Dev Neurosci* [Internet]. 2017;59:15–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.02.008>
50. Sripetchwandee J, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Links between obesity-induced brain insulin resistance, brain mitochondrial dysfunction, and dementia. Vol. 9, *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A.; 2018.
51. Son M, Oh S, Choi J, Jang JT, Choi CH, Park KY, et al. Attenuation of Inflammation and Leptin Resistance by Pyrogallol-Phloroglucinol-6,6-Bieckol on in the Brain of Obese Animal Models. 2019; Available from: www.mdpi.com/journal/nutrients
52. Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. Leptin, obesity, and leptin resistance: where are we 25 years later? *Nutrients*. 2019;11(2704):1–11.
53. Francisco V, Pino J, Campos-Cabaleiro V, Ruiz-Fernández C, Mera A, Gonzalez-Gay MA, et al. Obesity, fat mass and immune system: Role for leptin. *Front Physiol*. 2018;9(640):1–20.
54. Churm R, Davies JS, Stephens JW, Prior SL. Ghrelin function in human obesity and type 2 diabetes: a concise review. *Obes Rev*. 2017;18(2):140–8.
55. Pereira JADS, Silva FC Da, de Moraes-Vieira PMM. The Impact of Ghrelin in Metabolic Diseases: An Immune Perspective. *J Diabetes Res*. 2017;2017:1–15.
56. Kowalski LH, Freitas JA, Fernandes SR, Junior PR, Fernandes JIM, Silva MGB da. Leptin and ghrelin in ruminant production. *Rev Ciências Agrárias*. 2014;37(4):375–83.
57. Júnior AVV, Gomes CF, Allgayer N, Lara GM. A grelina e sua contribuição para obesidade e diabetes mellitus tipo 2. *Rev Conhecimento Online*. 2012;2(4):www.feevale.br/revistaconhecimentoonline.
58. Wang Q, Liszt KI, Deloose E, Canovai E, Thijs T, Farré R, et al. Obesity alters adrenergic and chemosensory signaling pathways that regulate ghrelin secretion in the human gut. *FASEB J*. 2019;33(4):4907–20.
59. Waterson MJ, Horvath TL. Neuronal Regulation of Energy Homeostasis: Beyond the Hypothalamus and Feeding. *Cell Metab* [Internet]. 2015 Dec;22(6):962–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.026>
60. Damiani D, Damiani D. Sinalização cerebral do apetite. *Rev Soc Bras Clín Méd*. 2011;9(2):138–45.
61. Loh K, Zhang L, Brandon A, Wang Q, Begg D, Qi Y, et al. Insulin controls food

- intake and energy balance via NPY neurons. *Mol Metab* [Internet]. 2017;6(6):574–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmet.2017.03.013>
62. Gómez-Apo E, Mondragón-Maya A, Ferrari-Díaz M, Silva-Pereyra J. Structural Brain Changes Associated with Overweight and Obesity. Weller A, editor. *J Obes* [Internet]. 2021 Jul 16;2021:1–18. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/job/2021/6613385/>
 63. Reichenbach A, Stark R, Andrews ZB. Hypothalamic Control of a Ppetite. 2013. 247–281 p.
 64. Marazziti D, Betti L, Baroni S, Palego L, Mucci F, Carpita B, et al. The complex interactions among serotonin, insulin, leptin, and glycolipid metabolic parameters in human obesity. *CNS Spectr* [Internet]. 2020 Sep 14;1–10. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1092852920001820/type/journal_article
 65. Vargas ACC de O, Abreu JD de, Kravchychyn ACP. Aspectos alimentares atuais e alteração da microbiota intestinal em indivíduos com obesidade. *Brazilian J Heal Rev*. 2021;4(2):5336–52.
 66. Arraes GCF, Funchal C. Influência dos polifenóis do chá verde na obesidade. *Nutr Bras*. 2017;161(1):43–56.
 67. Oliveira CBC de, Brito LA, Freitas MA, Souza MPA de, Rêgo JM da C, Machado RJDA. Obesidade: inflamação e compostos bioativos. *J Heal Biol Sci* [Internet]. 2020 Jan 3;8(1):1–5. Available from: <https://periodicos.unichristus.edu.br/jhbs/article/view/2785>
 68. Gaspar JM, Velloso LA. Hypoxia inducible factor as a central regulator of metabolism ↓ implications for the development of obesity. *Front Neurosci*. 2018;12:1–12.
 69. Osaida AG, Frizzo MN. Associação Da Obesidade E Sarcopenia Com Diabetes Mellitus Tipo 2 Em Idosos. *Rev Saúde Integr*. 2018;11(22):85–95.
 70. Thorn CE, Knight B, Pastel E, McCulloch LJ, Patel B, Shore AC, et al. Adipose tissue is influenced by hypoxia of obstructive sleep apnea syndrome independent of obesity. *Diabetes Metab* [Internet]. 2017;43(3):240–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabet.2016.12.002>
 71. Flor BM da SS, Boccato C de CB, Bertazzo DPC, Dezan MFR, Degasperri GR. Polarização de macrófagos na obesidade : mini-revisão. *Biosaúde*. 2018;20(1):38–45.
 72. Maldonado-Ruiz R, Fuentes-Mera L, Camacho A. Central Modulation of Neuroinflammation by Neuropeptides and Energy-Sensing Hormones during Obesity. *Biomed Res Int* [Internet]. 2017;1–12. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/7949582/>
 73. Tarantini S, Valcarcel-Ares MN, Yabluchanskiy A, Tucsek Z, Hertelendy P, Kiss

- T, et al. Nrf2 Deficiency Exacerbates Obesity-Induced Oxidative Stress, Neurovascular Dysfunction, Blood-Brain Barrier Disruption, Neuroinflammation, Amyloidogenic Gene Expression, and Cognitive Decline in Mice, Mimicking the Aging Phenotype. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 2018;73(7):853–63.
74. Stranahan AM, Hao S, Dey A, Yu X, Baban B. Blood-brain barrier breakdown promotes macrophage infiltration and cognitive impairment in leptin receptor-deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36(12):2108–21.
 75. Guillemot-Legris O, Muccioli GG. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends Neurosci*. 2017;40(4):237–53.
 76. Samara A, Murphy T, Strain J, Rutlin J, Sun P, Neyman O, et al. Neuroinflammation and White Matter Alterations in Obesity Assessed by Diffusion Basis Spectrum Imaging. *Front Hum Neurosci*. 2020;13(January):1–15.
 77. Schain M, Kreisl WC. Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders—a Review. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017;17(3):1–11.
 78. Valcarcel-Ares MN, Tucsek Z, Kiss T, Giles CB, Tarantini S, Yabluchanskiy A, et al. Obesity in aging exacerbates neuroinflammation, dysregulating synaptic function-related genes and altering eicosanoid synthesis in the mouse hippocampus: Potential role in impaired synaptic plasticity and cognitive decline. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 2019;74(3):290–8.
 79. Oliveira ME dos SP, Cavalcanti C de AT, Cruz SMX, Vasconcelos BL de A, Silva FM, Silva Lopes IMS. Transtorno de compulsão alimentar periódica: uma perspectiva neurobiológica. *Brazilian J Dev*. 2020;6(3):10600–7.
 80. Wang Z, Ge Q, Wu Y, Zhang J, Gu Q, Han J. Impairment of Long-term Memory by a Short-term High-fat Diet via Hippocampal Oxidative Stress and Alterations in Synaptic Plasticity. *Neuroscience* [Internet]. 2020 Jan 1;424(November):24–33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.10.050>
 81. Simon JJ, Wetzel A, Sinno MH, Skunde M, Bendszus M, Preissl H, et al. Integration of homeostatic signaling and food reward processing in the human brain. *JCI insight*. 2017 Aug 3;2(15):1–17.
 82. Tan BL, Norhaizan ME, Liew W. Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2018;2018:1–24. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2018/9719584/>
 83. Vona R, Gambardella L, Cittadini C, Straface E, Pietraforte D. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2019 May 5;2019:1–19. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/8267234/>
 84. Mantzaris K, Tsolaki V, Zakynthinos E. Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Sepsis and Potential Therapies. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2017;2017:1–10. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/5985209/>

85. Wolpe Simas LA, Granzoti RO, Porsch L. Estresse oxidativo e o seu impacto no envelhecimento: uma revisão bibliográfica. *Brazilian J Nat Sci*. 2019;2(2):80–5.
86. Dursun E, Akalin FA, Genc T, Cinar N, Erel O, Yildiz BO. Oxidative stress and periodontal disease in obesity. *Med (United States)*. 2016;95(12):1–7.
87. Manna P, Jain SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015;13(10):423–44.
88. Das M, Saucedo C, Webster NJG. Mitochondrial Dysfunction in Obesity and Reproduction. *Endocrinol (United States)*. 2021;162(1):1–13.
89. Bhatti JS, Bhatti GK, Reddy PH. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders — A step towards mitochondria based therapeutic strategies [Internet]. Vol. 1863, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.; 2017 [cited 2021 Apr 8]. p. 1066–77. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443916302927>
90. Larosa V, Remacle C. Insights into the respiratory chain and oxidative stress. *Biosci Rep*. 2018;38(5):1–14.
91. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, Yu Z Bin. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int J Mol Med*. 2019;44(1):3–15.
92. Partridge S, Redfern J. Strategies to Engage Adolescents in Digital Health Interventions for Obesity Prevention and Management. *Healthcare*. 2018;6(3):70.
93. Trouwborst I, Verreijen A, Memelink R, Massanet P, Boirie Y, Weijs P, et al. Exercise and nutrition strategies to counteract sarcopenic obesity. *Nutrients*. 2018;10(5):1–21.
94. Van Zuuren EJ, Fedorowicz Z, Kuijpers T, Pijl H. Effects of low-carbohydrate-compared with low-fat-diet interventions on metabolic control in people with type 2 diabetes: A systematic review including GRADE assessments. *Am J Clin Nutr*. 2018;108(2):300–31.
95. Mujica-Parodi LR, Amgalan A, Sultan SF, Antal B, Sun X, Skiena S, et al. Diet modulates brain network stability, a biomarker for brain aging, in young adults. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(11):6170–7.
96. Cerqueira FM, Chausse B, Kowaltowski AJ. Intermittent Fasting Effects on the Central Nervous System: How Hunger Modulates Brain Function. In: *Handbook of Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 1243–60. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-55387-0_29
97. Barros A dos S, Ruiz AA, Moraes GL, Moraes A de, Rubiatti M. Dieta Cetogênica no Tratamento da Epilepsia Infantil – Uma Revisão Bibliográfica. *Rev Med e Saúde Brasília*. 2020;9(1):90–101.
98. Lin A, Turner Z, Doerrer SC, Stanfield A, Kossoff EH. Complications During

- Ketogenic Diet Initiation: Prevalence, Treatment, and Influence on Seizure Outcomes. *Pediatr Neurol* [Internet]. 2017;68:35–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2017.01.007>
99. Nutricia. Manual para o uso da dieta cetogênica. 2017. 1–45 p.
 100. Carneiro L, Geller S, Hébert A, Repond C, Fioramonti X, Leloup C, et al. Hypothalamic sensing of ketone bodies after prolonged cerebral exposure leads to metabolic control dysregulation. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Dec 6;6(34909):1–12. Available from: www.nature.com/scientificreports
 101. Kirkpatrick CF, Bolick JP, Kris-Etherton PM, Sikand G, Aspary KE, Soffer DE, et al. Review of current evidence and clinical recommendations on the effects of low-carbohydrate and very-low-carbohydrate (including ketogenic) diets for the management of body weight and other cardiometabolic risk factors: A scientific statement from the Nati. *J Clin Lipidol* [Internet]. 2019;13(5):689–711.e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2019.08.003>
 102. Lacerda RMCP, Tavares RL. Efeito de uma Dieta Restritiva em Praticantes De Crossfit. *Rev Campo do Saber*. 2017;3(2):152–66.
 103. Pereira GAL, Mota LG de S, Caperuto EC, Chaud DMA. Adesão de dietas da moda por frequentadores de academias de musculação do município de São Paulo. *Rev Bras Nutr Esportiva*. 2019;13(77):131–6.
 104. Job AR, Oliveira ACS de. Percepção dos acadêmicos de nutrição sobre a efetividade a longo prazo dos métodos de dietas restritivas para a perda e o controle de peso. *Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento*. 2019;13(78):291–8.
 105. Tavares HC, Vasconcelos PAP, Anjos ACDS, Araujo EKR, Freitas LFF de, Beserra TL, et al. A Importância Da Inserção Do Profissional Nutricionista No Campo Da Atenção Primária Em Saúde. *Rev E-Ciência*. 2018;6(2):108–13.
 106. Bolla, Caretto, Laurenzi, Scavini, Piemonti. Low-Carb and Ketogenic Diets in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Nutrients* [Internet]. 2019 Apr 26;11(5):962. Available from: www.mdpi.com/journal/nutrients
 107. Gomes LB, Filho PSG, Souza MNA de. Dieta low carb como prevenção de complicações em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. *Rev Bras Educ e Saúde*. 2020;10(2):11–7.
 108. Cordeiro R, Salles MB, Azevedo BM. Benefícios e malefícios da dieta low carb. *Rev Saúde em Foco*. 2017;(9):714–22.
 109. Westman EC, Feinman RD, Mavropoulos JC, Vernon MC, Volek JS, Wortman JA, et al. Low-carbohydrate nutrition and metabolism. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2007 Aug 1;86(2):276–84. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/86/2/276/4633078>
 110. Moreira C. Respiração. *Ciência Elem* [Internet]. 2013;1(01):1–5. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/86/2/276/4633078>
 111. Lima PL, Almeida J de O. Adesão da dieta de baixo teor de carboidratos em

- pacientes com e sem acompanhamento nutricional. *Rev Nutr.* 2020;13(ISSN: 2358-2669).
112. Nascimento BRC do, Britto RC de LA de, Soares JAB, Toscano LT. Dieta cetogênica e sua eficácia em indivíduos obesos. *Rev Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento.* 2020;14(86):451–9.
 113. Kosinski C, Jornayvaz F. Effects of Ketogenic Diets on Cardiovascular Risk Factors: Evidence from Animal and Human Studies. *Nutrients* [Internet]. 2017 May 19;9(517):1–16. Available from: www.mdpi.com/journal/nutrients
 114. Weber DD, Aminzadeh-Gohari S, Tulipan J, Catalano L, Feichtinger RG, Kofler B. Ketogenic diet in the treatment of cancer - Where do we stand? *Mol Metab* [Internet]. 2020 Mar;33(xxxx):102–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877819304272>
 115. Drabińska N, Wiczkowski W, Piskula MK. Recent advances in the application of a ketogenic diet for obesity management. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2021 Apr;110(March 2020):28–38. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224421000893>
 116. Luat AF, Coyle L, Kamat D. The ketogenic diet: A practical guide for pediatricians. *Pediatr Ann.* 2016;45(12):e446–50.
 117. Kong Z, Sun S, Shi Q, Zhang H, Tong TK, Nie J. Short-Term Ketogenic Diet Improves Abdominal Obesity in Overweight/Obese Chinese Young Females. *Front Physiol* [Internet]. 2020 Jul 28;11(July):1–10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2020.00856/full>
 118. Basciani S, Camajani E, Contini S, Persichetti A, Risi R, Bertoldi L, et al. Very-low-calorie ketogenic diets with whey, vegetable, or animal protein in patients with obesity: A randomized pilot study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(9):1–11.
 119. Mongioi LM, Cimino L, Condorelli RA, Magagnini MC, Barbagallo F, Cannarella R, et al. Effectiveness of a Very Low Calorie Ketogenic Diet on Testicular Function in Overweight/Obese Men. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(2967):1–11. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/10/2967>
 120. Guo M, Wang X, Zhao Y, Yang Q, Ding H, Dong Q, et al. Ketogenic diet improves brain ischemic tolerance and inhibits NLRP3 inflammasome activation by preventing Drp1-mediated mitochondrial fission and endoplasmic reticulum stress. *Front Mol Neurosci.* 2018;11(March):1–16.
 121. Felaço C, Hass MA, Francisco SRS. Perfil nutricional e parâmetros bioquímicos no jejum intermitente. *Rev Bras Nutr Esportiva.* 2019;13(82):987–97.
 122. Mattson MP, Moehl K, Ghena N, Schmaedick M, Cheng A. Intermittent metabolic switching, neuroplasticity and brain health. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2018;19(2):81–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn.2017.156>
 123. Marzzoco A, Bapstista Torres B. *Bioquímica Marzocco 4 Ed.* J Chem Inf Model.

- 2013;53(9):1689–99.
124. Anton SD, Moehl K, Donahoo WT, Marosi K, Lee SA, Mainous AG, et al. Flipping the Metabolic Switch: Understanding and Applying the Health Benefits of Fasting. *Obesity*. 2018;26(2):254–68.
 125. Maughan RJ, Fallah JS, Coyle EF. The effects of fasting on metabolism and performance. *Br J Sports Med*. 2010;44(7):490–4.
 126. Malinowski B, Zalewska K, Węsierska A, Sokołowska MM, Socha M, Liczner G, et al. Intermittent fasting in cardiovascular disorders—an overview. *Nutrients*. 2019;11(673):1–18.
 127. Lima CLS, Salmito PA, Araújo L da S, Lira SM, Paim RTT, Silva JYG da, et al. Jejum Intermitente No Emagrecimento: Uma Revisão De Literatura. *Rev Bras Nutr Esportiva*. 2019;13(79):426–36.
 128. Horne BD. Considerations for the optimal timing, duration, frequency, and length of an intermittent fasting regimen for health improvement. *Nutrients*. 2020;12(2567):1–4.
 129. Lessan N, Ali T. Energy metabolism and intermittent fasting: The ramadan perspective. *Nutrients*. 2019;11(1192):1–16.
 130. Grajower MM, Horne BD. Clinical management of intermittent fasting in patients with diabetes mellitus. *Nutrients*. 2019;11(873):1–11.
 131. Johnson PR, Hirsch J. Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. *J Lipid Res* [Internet]. 1972;13(1):2–11. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)39428-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-2275(20)39428-1)
 132. Hansen PA, Han DHO, Nolte LA, Chen M, Holloszy JO. DHEA protects against visceral obesity and muscle insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 1997;273(5 42-5):1704–8.
 133. Wang H, Joseph JA. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Radic Biol Med*. 1999;27(5–6):612–6.
 134. Levine RL, Williams JA, Stadtman EP, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1994;233(C):346–57.
 135. LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* [Internet]. 1951;193(1):265–75. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
 136. Bannister JV CL. Assays for SOD. *Meth Biochem Anal*. 1987;(32):279–312.
 137. Hissin PJ HR. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1967;74(1):214–26.
 138. Cassina A, Radi R. Differential Inhibitory Action of Nitric Oxide and Peroxynitrite on Mitochondrial Electron Transport. 1996;328(2):309–16.

139. Fischer JC, Ruitenbeek W, Berden JA, Trijbels JMF, Veerkamp JH, Stadhouders AM, et al. Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. Clin Chim Acta. 1985;153(1):23–36.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer Aprovação do Comitê de Ética



Pró Reitoria de Ensino, Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Inovação
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 25 de maio de 2020

Registro na CEUA Nº 20.013.4.01.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Gislaine Tezza Rezin

Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Avaliação de parâmetros neuroinflamatórios e neuroquímicos em camundongos submetidos a diferentes estratégias nutricionais", registrada com o nº 20.013.4.01.IV, sob a responsabilidade de Gislaine Tezza Rezin - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 08 de maio de 2020.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,

Prof.

Sandro Melim Sgrott

Coordenador da Comissão

UNISUL - Campus Grande Florianópolis,
Avenida Pedra Branca, 25, Cidade Universitária, CEP 88137-270, Palhoça, SC.
Fone: (48) 3279-1036 / E-mail: ceua@unisul.br