



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ISOLAMENTO SOCIAL SOBRE A GLICEMIA
E O GANHO DE PESO EM CAMUNDONGOS C57BL/6**

AYRON BRENO LIMA TEODOLINO

OURO PRETO – MG

2022

AYRON BRENO LIMA TEODOLINO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ISOLAMENTO SOCIAL SOBRE A GLICEMIA
E O GANHO DE PESO EM CAMUNDONGOS C57BL/6**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito obrigatório e parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Daiane Fátima Engel

OURO PRETO - MG

2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

T314a Teodolino, Ayrton Breno Lima.
Avaliação do efeito do isolamento social sobre a glicemia e o ganho de peso em camundongos C57BL/6. [manuscrito] / Ayrton Breno Lima Teodolino. - 2022.
40 f.: il.: color., gráf..

Orientadora: Profa. Dra. Daiane Fátima Engel.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Bioquímica. 2. Neurociências. 3. Isolamento social. 4. Estresse (Fisiologia). 5. Hiperglicemia. I. Engel, Daiane Fátima. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 577.1:616.379-008.64

Bibliotecário(a) Responsável: Sione Galvão Rodrigues - CRB6 / 2526



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Ayron Breno Lima Teodolino

Avaliação do efeito do isolamento social sobre a glicemia e o ganho de peso em camundongos C57BL/6

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Aprovada em 07 de novembro de 2022

Membros da banca

Professora Doutora - Daiane Fátima Engel - Orientadora Universidade Federal de Ouro Preto
Doutor - Thiago Magalhaes Gouvea - Universidade Federal de Ouro Preto
Doutoranda - Priscila Karla Fernandes Lopes - Universidade de Campinas

Daiane Fátima Engel, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 14/01/2023



Documento assinado eletronicamente por **Daiane Fátima Engel, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 14/01/2023, às 10:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0456802** e o código CRC **1BC38A3E**.

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus por ter me abençoado e cuidado de mim esse tempo todo, mesmo quando achava que jamais iria conseguir. Agradeço pela força em momentos em que pensava que ser fraco, me dando coragem quando as faltavam forças para seguir em frente. Meu muito obrigado a Ele, toda honra e toda glória. Aos meus pais: Rosângela e Altair por acreditarem em mim. As minhas avós: vó Cléria e vó Baixinha por sempre se preocuparem comigo e pelo cuidado acolhedor. Agradeço as minhas primas irmãs: Raisa e Irina, pelo exemplo do interesse em estudar, de ler, de questionar e sonhar. Nem minhas melhores palavras descrevem minha gratidão, vocês são peças fundamentais do que sou hoje. Obrigado por todo amor e apoio sempre!

Meus sinceros agradecimentos aos meus amigos Lucas, Grazielle, Vívian, Letícia, Juliana, Isabela, Isabelle, Bruna, Gabriela e Isadora pela parceria, desafios, companheirismo, trabalhos, apoio, presença, motivação, e momentos de trocas incríveis durante toda a graduação. Vocês tornaram a caminhada mais leve, os obstáculos mais suportáveis, os dias mais felizes. Aos meus amigos, Rafael e Ramon, que foram minha primeira família e contato quando cheguei em Ouro Preto. Obrigado por cada momento, risadas e lealdade. Vocês são demais!

Aos meus amigos da república “crespício”, Adrian, Gabriel, Zé Kolméia, Fábio, Pedico, Marcelo, Gabriel, Douglas e Jhonatan por serem minha 2ª família na maior parte da graduação. Obrigado por cada momento de risadas, gritarias, goles, conversas, conselhos e amizade que levarei para sempre comigo. Vocês são fodas! Amo vocês!

Aos meus amigos de Belo Horizonte, Isabela (que me abandonou para ir morar nos EUA), Bárbara, Mariana, Jonathan, Paulo, João e Micael pela amizade de anos, por serem as pessoas que sempre acreditaram em mim e sempre estarem ao meu lado seja em qualquer momento for. Eu amo vocês!

Ao PET Farmácia, um grupo excelentíssimo que me trouxe momentos incríveis que levarei para sempre comigo. Obrigado por cada ensinamento, troca de experiências, momentos de aprendizagem que me fizeram alguém melhor, tanto pessoalmente quanto profissionalmente.

À minha orientadora e professora Daiane Engel, por ter me proporcionado momentos ricos de aprendizagem, despertando em mim o interesse pela área da pesquisa em neurociência e bioquímica. Imensamente grato pelos conselhos e por aceitar ser minha orientadora nessa empreitada. Você é sensacional!

Aos Laboratórios de Neurobiologia e Biomateriais (LNBio/UFOP), de Fitotecnologia (FITOTEC/UFOP) e de Produtos Naturais e Síntese Orgânica (LPNSO/UFOP), minha sincera gratidão, pelas experiências incríveis em contato com a pesquisa às quais fizeram total diferença em minha formação acadêmico- profissional. A pesquisa para mim se tornou extremamente importante graças as suas contribuições. Viva a pesquisa! Viva a educação! E FORA BOLSONAROOO!

Não há como não agradecer a PRACE por ter me proporcionado os auxílios permanência e alimentação, bem como acesso à Vila Universitária, moradia estudantil de critério socioeconômico. Ao RU (restaurante universitário), que como mãe me alimentou ao longo desses 5 anos com comida de qualidade. Sem vocês, realmente não estaria até aqui.

Ao Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) pelas experiências enriquecedoras na área das análises clínicas.

A minha gloriosa Escola de Farmácia de Ouro Preto, a mais antiga do Brasil, meu amor. A escola que me proporcionou o ensino de qualidade, me amadureceu e me presenteou com excelentíssimos professores ao qual tenho imenso orgulho, em especial, Tânia, Nancy, Daiane, Wendel, Orlando, Wander, Jacqueline e Cláudia. Vocês foram essenciais na minha formação.

A minha querida cidade de Ouro Preto que tem meu coração por inteiro. Foi onde tive as melhores e incontáveis experiências da minha vida. Lugar que expõe belezas a cada passo que se dá. Lugar de pessoas agradáveis. Lugar de amor. Lugar de arte. Obrigado Ouro Preto, eu te amo!

Os homens devem saber que nada a não ser o cérebro origina alegrias, prazeres, risos, esportes, tristezas, mágoas, desespero e lamentações. Por causa disso, de uma maneira especial, adquirimos sabedoria e conhecimento, visão, audição, e sabemos o que é tolo e o que é justo, o que é doce e o que é sem gosto.

Hipócrates

“Nada deve parecer impossível de mudar”

Bertold Brech.

RESUMO

A interação social é um fator fundamental ao desenvolvimento do ser vivo, que interage com fatores biológicos e determina o comportamento do indivíduo ao longo da vida. Informações relevantes acerca das consequências da restrição social sobre parâmetros que afetam diretamente a qualidade de vida e que podem ter repercussões fisiológicas são de extrema importância para as ciências que lidam com o ser humano, seja do ponto de vista físico, enquanto ser biológico, seja do ponto de vista psíquico, haja vista que esse ser biológico não existe descolado de um aparato psíquico, subjetivante, interconectado. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do isolamento social crônico sobre parâmetros metabólicos em camundongos machos e fêmeas. Camundongos C57BL/6 machos e fêmeas a partir de 8 semanas de idade foram mantidos no habitual alojamento coletivo, ou individualizados, compondo os grupos controle e isolado, respectivamente, durante 16 semanas. Foram avaliados ao fim do período experimental: a glicemia de jejum, a tolerância à glicose intraperitoneal, o ganho de peso em camundongos machos e fêmeas e a ingestão alimentar, nas fêmeas. Constatou-se a partir da análise, que entre outras relações, constatou-se aumento na glicemia de jejum em camundongos de ambos os sexos, sem alteração sensível do ganho de peso. Não obstante, observou-se entre as fêmeas isoladas maior consumo alimentar na semana 16, quando comparadas às fêmeas do grupo controle.

O estudo demonstrou ainda o impacto do isolamento social, gerando alteração da homeostase glicêmica em camundongos de ambos os sexos, afetando prejudicialmente o controle da ingestão alimentar em camundongos fêmeas, salientando-se que este tipo de estresse opera como fator de risco para o desenvolvimento de variadas doenças metabólicas, como o diabetes.

Palavras-chave: isolamento social; glicemia; estresse; camundongo C57BL/6

ABSTRACT

Social interaction is a fundamental factor in the development of living beings, which interacts with biological factors and determines the individual's behavior throughout life. Relevant information about the consequences of social restriction on parameters that directly affect quality of life and that may have physiological repercussions are extremely important for the sciences that deal with human beings, whether from the physical point of view, as a biological being, or from the psychic point of view, given that this biological being does not exist detached from a psychic, subjectivating, interconnected apparatus. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of chronic social isolation on metabolic parameters in male and female mice. Male and female C57BL/6 mice from 8 weeks of age were kept in the usual collective housing, or individualized, composing the control and isolated groups, respectively, for 16 weeks. The following parameters were evaluated at the end of the experimental period: fasting glucose, intraperitoneal glucose tolerance, weight gain in male and female mice and food intake in females. It was found from the analysis that, among other relationships, there was an increase in fasting glycemia in mice of both sexes, without significant change in weight gain. However, a higher food consumption was observed among the isolated females at week 16, when compared to females in the control group.

The study also demonstrated the impact of social isolation, generating changes in glycemic homeostasis in mice of both sexes, adversely affecting the control of food intake in female mice, emphasizing that this type of stress operates as a risk factor for the development of various metabolic diseases, such as diabetes.

Keywords: social isolation; blood glucose; stress; mice C57BL/6.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Controle da Secreção Hormonal: Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal	12
FIGURA 2. Mecanismo de secreção insulínica em células β pancreáticas.....	15
FIGURA 3. Mecanismo de ação molecular da insulina.....	14
FIGURA 4. Efeitos da Adrenalina e Cortisol sobre o metabolismo energético.....	18
FIGURA 5. Representação do protocolo experimental do isolamento social.....	25
FIGURA 6. Representação do Protocolo experimental do consumo de ração dos camundongos.....	26
FIGURA 7. Representação do Protocolo Experimental da mensuração do peso dos camundongos.....	26
FIGURA 8. Representação do Protocolo Experimental do Teste de Intolerância à Glicose.....	27
FIGURA 9. Teste de tolerância a glicose (TOTG) em camundongos fêmeas	29
FIGURA 10. Teste de tolerância a glicose (TOTG) em camundongos machos.....	30
FUGURA 11. Peso corporal e consumo alimentar em camundongos fêmeas.....	31
FIGURA 12. Peso corporal em camundongos machos.....	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Isolamento social e estresse	12
1.2 Estresse e glicemia.....	15
1.3 Estresse, consumo alimentar e ganho de peso	21
2. OBJETIVOS.....	24
2.1 Objetivo Geral.....	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. JUSTIFICATIVA	24
4. MATERIAIS E MÉTODO.....	26
4.1 Protocolo experimental – Animais	26
4.2 Isolamento social	26
4.3 Consumo alimentar e ganho de peso	27
4.4 Teste de tolerância à glicose	29
4.5 Análise estatística	30
5. RESULTADOS	30
5.1 O isolamento social causa hiperglicemia de jejum em camundongos C57BL/6 machos e fêmeas	30
5.2 O isolamento social promove aumento no consumo alimentar em fêmeas	32
6. DISCUSSÃO.....	34
7. CONCLUSÃO	36
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

1.1 Isolamento social e estresse

A interação social é um fator fundamental ao desenvolvimento dos seres vivos, não se restringindo a marcadores biológicos, históricos, estando também ligada a inúmeras informações e ações que ocorrem ao longo da vida (MELO, TEIXEIRA, 2012). As relações sociais se constituem como um dos elementos centrais para nosso bem-estar e estão diretamente envolvidas nos processos de manutenção da saúde. É amplamente conhecido que o isolamento social, definido por meio de critérios como ter poucos contatos, pouco envolvimento em atividades sociais e morar sozinho, é associado com prejuízos à qualidade de vida e aumento da mortalidade (STEPTOE et al., 2013).

O isolamento social pode suceder em qualquer etapa da vida, de modo que sucedendo na infância, produz efeitos negativos cumulativos, cuja persistência na saúde na vida adulta vem se mostrando inegável (CASPI et al., 2006). Nesse sentido, o indivíduo pode ser compreendido como ser social em desenvolvimento, que ao conviver e se relacionar com outros, constrói os próprios conhecimentos, percepções, visões de mundo, conforme as trocas e interações que sucedem nos limites do que seu desenvolvimento psicológico e biológico permite (MELO, 2012).

As condições de alojamento são importantes determinantes do comportamento animal. Seu impacto sobre o comportamento depende do comportamento de interesse, da espécie, da linhagem e da idade dos animais avaliados. Em modelos animais, o estresse social evoca sintomas que se assemelham aos encontrados em pacientes humanos deprimidos (FUCHS e FLUGGE, 2004). Em roedores, as interações sociais são necessárias para a garantia de um bom desenvolvimento emocional durante o crescimento, sendo a interrupção das interações sociais entre co-específicos aversiva (HONG *et. al.*, 2012). Diversos estudos utilizam o isolamento social como ferramenta de investigação dos efeitos do estresse na homeostase do corpo e suas funções metabólicas. O isolamento social é um modelo simples com manuseio e requisitos técnicos mínimos (TAKEMOTO *et. al.*, 1975; SAKAKIBARA *et. al.*, 2012). Semelhante à observação humana, os modelos animais produzem fenótipos variáveis sobre a ingestão alimentar, ganho de peso corporal e obesidade (TAKEMOTO *et. al.*, 1975; SAKAKIBARA *et. al.*, 2012).

A habitação individual de longa duração tem sido usada como modelo de estresse crônico no estudo de distúrbios psiquiátricos (KATZ, 1981 e GUIDOTTI *et. al*, 2001) e, em menor grau, distúrbios metabólicos (NONOGAKI *et. al*, 2007). Outros modelos incluem o modelo de estresse crônico imprevisível, o modelo de derrogação social e o uso de estressores crônicos (KIM *et. al*, 2003; BHATNAGAR e VINING, 2003).

Cabe ressaltar que termo “estresse” foi introduzido na comunidade científica por Hans Selye em 1936, para descrever o processo de adaptação realizado a partir de uma série de modificações fisiológicas que acontecem no organismo perante situações que alteram a homeostase (SAYLE, 1936). Os estressores podem englobar situações que se mostrem desafiadoras e que levam à necessidade de uma adaptação homeostática do organismo (MCEWEN, 2000). Segundo Cuesta e Singer (2012) “Ao longo da vida estamos expostos a uma diversidade de situações que afetam a homeostasia corporal, e forçam nosso organismo a adaptar-se mediante diferentes mecanismos fisiológicos.”

A resposta do corpo ao estresse é um fenômeno altamente adaptativo que permite que um organismo desvie recursos para lidar com o perigo real ou antecipado e para restaurar a energia gasta para que possa lutar outro dia. No entanto, se o estressor for excessivo ou crônico, as respostas podem se tornar desadaptativas¹. O estresse excessivo ou crônico pode desencadear ou exacerbar uma enorme variedade de doenças e transtornos, incluindo transtornos de humor, como transtorno de estresse pós-traumático, ansiedade e depressão (MCEWEN, 2008). O isolamento social já foi apontado como uma causa de estresse para espécies de animais com características de convívio social (BARTOLOMUCCI *et. al*, 2003).

O processo bioquímico do estresse independe da causa da tensão, sendo que o elemento primordial necessário para o seu desencadeamento é claramente a necessidade de adaptação a algum fato ou mudança (LIPP *et. al*, 2002). Os principais mecanismos de adaptação fisiológica ao estresse são gerados no sistema nervoso autônomo e no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), os quais são acionados em resposta ao estresse induzindo uma resposta de “luta ou fuga” por meio do aumento da liberação de adrenalina e aumento dos hormônios glicocorticóides circulantes (cortisol em humanos e corticosterona em roedores), respectivamente. A ativação do eixo HPA é gerida por uma

¹ Resposta adaptativa é quando o organismo é exposto a um estímulo ameaçador à manutenção da homeostase. A resposta desadaptativa é aquela que ocorre de modo disfuncional, conduzindo o organismo não a homeostase, mas a um ciclo repetitivo de resposta, de viés psicossomático que pode produzir sintomas e doenças.

cascata de reações hormonais: primeiramente o núcleo paraventricular do hipotálamo libera o hormônio liberador de corticotrofina (CRH); o CRH por sua vez chega à glândula pituitária e induz a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH); quando o ACTH é aumentado na circulação ele chega até a glândula adrenal (localizada sobre os rins), e finalmente ocorre a liberação dos glicocorticóides (**FIGURA 1**) (ULRICH-LAI; HERMAN, 2014).

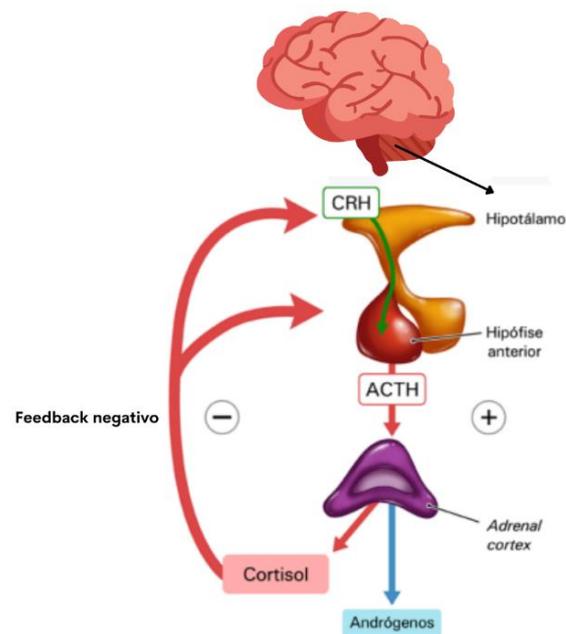


Figura 1: Controle da Secreção Hormonal: Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal²
(CRH: hormônio liberador de corticotrofina / ACTH: hormônio adrenocorticotrófico)

Em relação à duração do estresse, podemos classificá-lo em agudo, aquelas situações em que o indivíduo é exposto de maneira única ao estressor, ou crônico, quando caracterizado por exposição contínua ou em períodos prolongados aos agentes estressores (PACÁK; PALKOVITS, 2001). O estresse agudo de baixa intensidade está relacionado com uma a melhor adaptação fisiológica, entretanto, o crônico está mais associado com

² Fonte: Adaptado de Fisiologia V2. Disponível em: https://midia.atp.usp.br/impressos/redefor/EnsinoBiologia/Fisio_2011_2012/Fisiologia_v2_semana07.pdf Acesso em Out, 2022.

quadros patológicos, visto que este exige uma maior demanda homeostática devido a constante exposição do organismo aos estressores (MCEWEN; MAGARINOS, 1968).

De acordo com Brown (1993) e Brown & Harris (1989) conforme citado por Helman (2022), há amplas consequências para a saúde humana em decorrência da exposição a formas crônicas de estresse psicológico, assim como o risco de aumento de doenças psíquicas. Outros estudiosos do tema definem o estresse como um estado no qual ocorre um desgaste excessivo do corpo humano e/ou redução da capacidade de exercer as atividades diárias como, por exemplo, trabalhar e estudar, sendo este quadro ocasionado pela incapacidade contínua dos indivíduos de tolerância, superação ou adaptação às necessidades impostas pelo meio no qual estão inseridos podendo afetar pessoas de diferentes faixas etárias (GUERRER e BIANCHI, 2008).

Deste modo, os estados de estresse estão diretamente ligados ao aumento da secreção de cortisol, onde mudanças na quantidade dos níveis desses hormônios podem desencadear estados de medo, dor, depressão, dentre vários outros sintomas prejudiciais aos indivíduos (BUENO e GOUVÊA, 2011).

1.2 Estresse e glicemia

A presença do estresse, para além de afetações psicológicas, pode gerar respostas fisiológicas incluindo neurais e endócrinas, que podem influenciar outros processos corporais, como por exemplo, geração de respostas metabólicas, cardiovasculares e do sistema nervoso autônomo, resultando em aumento dos batimentos cardíacos e aumento da pressão arterial (LIMA, 2005).

A existência de relação entre o estresse e mediadores químicos como cortisol, catecolaminas, glucagon, renina e hormônio do crescimento no desenvolvimento de patologias se encontra bem descrita na literatura. O estresse é apontado como fator contribuinte para o desenvolvimento de obesidade visceral, síndrome metabólica e intolerância à glicose, devido à elevação de produção dos hormônios envolvidos na resposta ao estresse (LIMA, 2005).

Dentre as respostas metabólicas, a hiperglicemia, particularmente, pode decorrer de uma resposta hormonal e inflamatória ao estresse, refletindo no aumento da produção hepática de glicose e da resistência à insulina com consequente piora da função da célula beta, levando a distúrbios hidroeletrólíticos, disfunção dos neutrófilos e do endotélio, com

aumento do estresse oxidativo e da inflamação sistêmica. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES SDB, 2015)

Para Ladyman e Grattan (2013), a homeostase glicêmica está intimamente relacionada ao equilíbrio mantido pelo sistema fisiológico entre o consumo de substratos para o metabolismo e o gasto energético, regulado pela ingestão alimentar, como consequência, o estabelecimento do peso corporal, que se mantém relativamente constante por mecanismos de controles envolvendo hormônios, como a insulina, em tecidos periféricos (tecido adiposo) e o sistema nervoso central (hipotálamo). Tal fato revela que o controle da homeostase glicêmica está relacionado a inúmeros fatores, incluindo diversos hormônios e órgãos como os tecidos adiposo, hepático, muscular, sistema nervoso, além de órgãos como o pâncreas e os intestinos. Dentre os vários hormônios, a insulina é o hormônio essencialmente envolvido neste controle, sendo ela responsável pelo papel substancial e sua atividade está relacionada tanto ao seu papel nos tecidos periféricos (CZECH, *et. al.*, 2004) como na manutenção de sua secreção no pâncreas (LI *et. al.*, 2004).

Nessa sinfonia bioquímica, adiante representada visualmente, as células β pancreáticas são estimuladas por substratos energéticos metabolizáveis promovendo a secreção da insulina, sendo a glicose seu secretagogo mais importante (LI *et. al.*, 2004). Através do transportador de glicose tipo 2 (GLUT2) presente na membrana plasmática das células β , a glicose é transportada para seu interior, e posteriormente metabolizada dentro dessas células, aumentando a concentração de ATP. O aumento significativo da razão ATP/ADP induz o fechamento dos canais de K^+ sensíveis a ATP, impedindo o efluxo de íons, causando despolarização da membrana da célula β . Em virtude disso, os canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem abrem-se, promovendo o influxo e o aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), resultando na ativação da maquinaria secretória do hormônio insulina (PRENTKI; CORKEY, 1996), que culmina na exocitose dos grânulos com moléculas de insulina para o meio extracelular das células β , atingindo a corrente sanguínea. A estimulação das células β pela glicose também está envolvida na ativação da adenilil ciclase, e isoformas da fosfolipase C (PLC), gerando adenosina monofosfato cíclico (AMPC), inositol 1-4-5-trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG), responsáveis pelo aumento de $[Ca^{2+}]_i$. (PRENTKI; CORKEY, 1996).

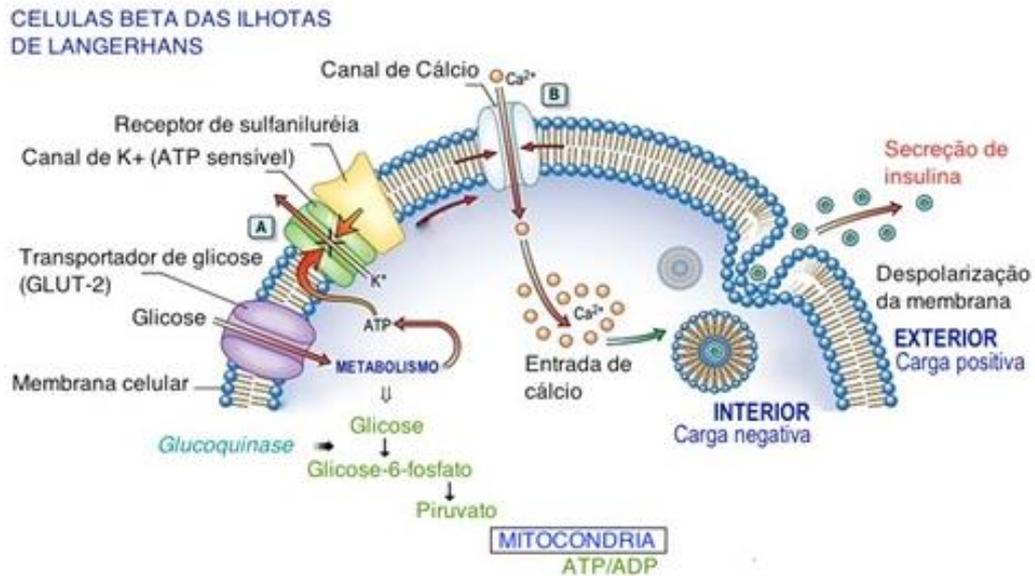


Figura 2. Mecanismo de secreção insulínica em células β pancreáticas³. (Adaptado de Medicine Walker)

O hormônio insulina requer a ligação ao seu receptor para efetuar sua atividade nos tecidos periféricos responsivos a esse hormônio. A estrutura do receptor da insulina (IR) é uma proteína heterotetramétrica, com atividade quinase intrínseca, composta por duas subunidades α e duas subunidades β , ligados por pontes de dissulfeto. A subunidade α é responsável pela ligação com a insulina, enquanto a subunidade β , possui uma atividade quinase ativada quando a insulina se liga ao IR (SAAD *et. al.*, 1993).

Após a ativação do mesmo, este promove a fosforilação, em resíduos de tirosina, de proteínas citoplasmáticas ancoradas ao mesmo, como os substratos dos receptores de insulina (IRS). Os IRS1 e IRS2 são considerados os mais específicos da via insulínica, quando sofrem fosforilação em tirosina, se ligam e ativam proteínas como a fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) e a proteína quinase ativada por mitógeno. (MANNING; CANTLEY, 2007).

Uma das proteínas alvo da PI3K é a serina-treonina quinase Akt, que tem papel importante na homeostase da glicose, no crescimento e sobrevivência celular, além de promover fosforilação de proteínas que regulam a síntese de glicogênio, lipídeos e proteínas (MANNING; CANTLEY, 2007). A Akt promove no fígado a oxidação da glicose e o seu armazenamento como glicogênio pela indução enzimática, respectivamente da enzima piruvato quinase (PK) e glicogênio quinase (GK) (FRAME;

³ Adaptado Medicine Walker. Disponível em: <<http://www.medicinehack.com/2014/04/diaoxidemechanism-of-action.html>>. Acesso em Out, 2022.

COHEN, 2001), e inibe os processos de gliconeogênese e glicogenólise, o que reduz a produção hepática da glicose (MICHAEL et. al., 2000), estimulando ainda a síntese hepática de lipídeos (WIGGINS; GIBBONS, 1992).

Já nos tecidos muscular e adiposo, a insulina é importante para promoção da captação de glicose; sua utilização como fonte energética, bem como a estocagem do excedente na forma de armazenamento (glicogênio) (FRAME; COHEN, 2001). A captação da glicose nesses tecidos depende da translocação do transportador de glicose (GLUT-4), presente na superfície da célula que é estimulada pela Akt; além disso, esta inibe a lipólise no tecido adiposo branco, através da inibição da lipase hormônio sensível (LHS) (CAPURSO; CAPURSO, 2012). A figura a seguir ilustra e representa a sinalização da insulina e o seu papel nos tecidos responsivos.

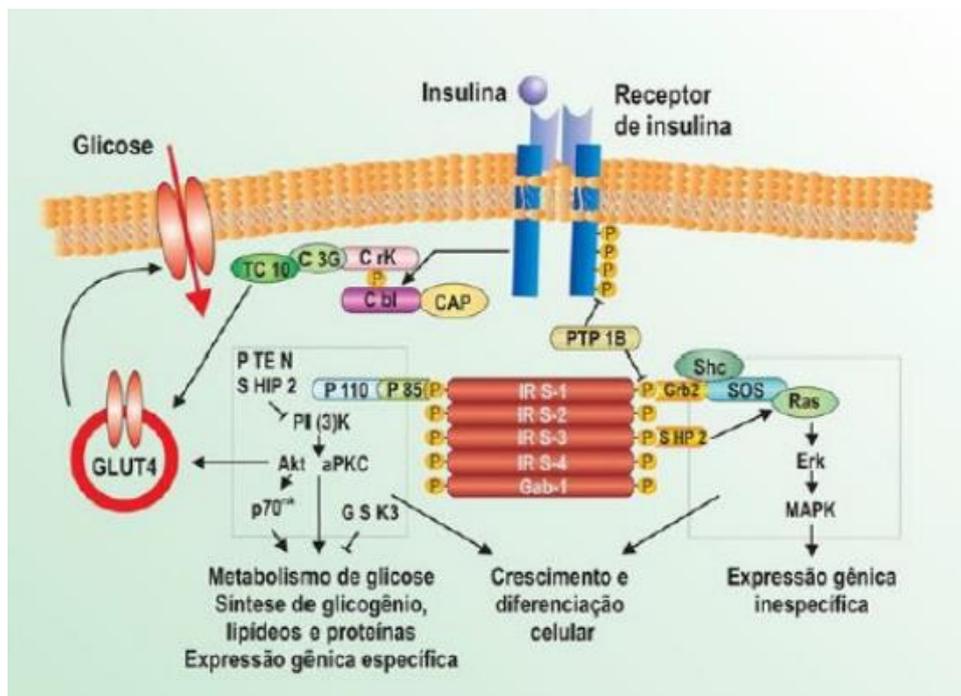


Figura 3 - Mecanismo de ação molecular da insulina. Fonte: Adaptado de Saltiel; Kahn, 2001.

Os glicocorticóides são hormônios naturais produzidos pelo organismo humano pertencentes a um grupo de esteróides secretados no córtex adrenal, conhecidos como cortisol, que atuam sobre receptores específicos do hipotálamo e hipófise. Em situações de estresse ocorre a ativação da secreção adrenal, provocando o aumento dos níveis de cortisol no sangue, que desencadeia o ajuste homeostático incluindo a liberação de carboidratos e da glicose, efeitos sobre a hemodinâmica e o equilíbrio hídrico e efeitos anti-inflamatórios. A liberação de glicocorticóides em excesso no estresse crônico leva à

estimulação da glicose-6-fosfatase, promovendo maior liberação de glicose das células hepáticas para a corrente sanguínea, favorecendo a hiperglicemia e a resistência dos tecidos à ação da insulina. (NAMBI, 2002).

A ligação do hormônio cortisol aos seus receptores intracelulares, no fígado, ativa duas enzimas-chave importantes para a ativação da gliconeogênese (produção de glicose), PEPCK (Fosfoenolpiruvato carboxiquinase, que converte oxaloacetato em fosfoenolpiruvato) e a G-6-Pase (Glicose 6 fosfatase, que retira o fosfato da glicose e a "libera" para o sangue) (SCHÄCKE *et al.*, 2002). Para esse efeito, o cortisol circulante antes vai no músculo e estimula o ciclo da alanina-piruvato, levando assim a proteólise das proteínas musculares para suprir o fígado com aminoácidos glicogênicos, sobretudo a alanina, para que sejam usados como substratos para iniciar o processo da gliconeogênese (SCHÄCKE *et al.*, 2002).

Outro efeito do cortisol que contribui para o aumento da glicemia, é o fato dele atuar nos principais tecidos insulino-dependentes, o músculo esquelético e tecido adiposo, levando a uma dessensibilização pela redução da fosforilação do IRS-1 e da atividade da PI3K (da resposta da insulina, ou seja, causando uma resistência à ação da insulina (SAAD *et al.*, 1993). Segundo estudos apresentados por Yabaluri e Bashyam (2010), nesses tecidos, como consequência do aumento da expressão hepática das enzimas da gliconeogênese, tais como, a PEPCK e G6Pase os corticóides levam a diminuição da ativação do receptor de insulina, o IRS-1, da PI3-K, todas proteínas envolvidas na sinalização da insulina, o que resulta no aumento de produção hepática de glicose, mesmo com hiperinsulinemia, caracterizando, assim, uma resistência insulínica hepática. (YABALURI; BASHYAM, 2010). O cortisol também é lipolítico, aumentando assim os níveis de ácidos graxos, fato que também leva ao aumento da glicemia pela ativação dos receptores TLR4 e inflamação (KONNER e BRUNING, 2011; WEISBERG *et al.*, 2003).

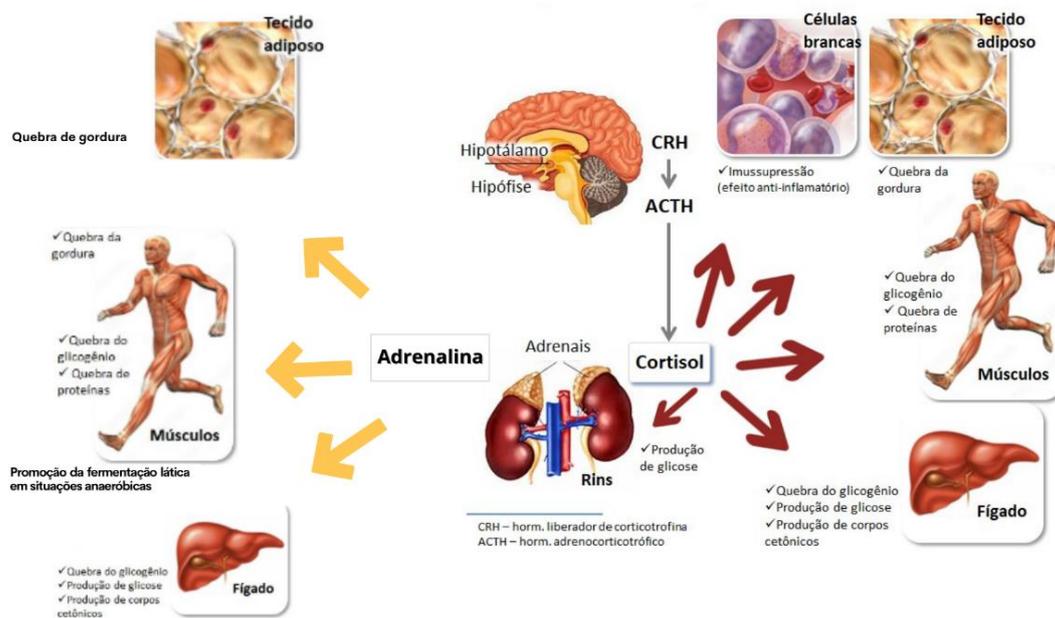


Figura 4: Efeitos da Adrenalina e Cortisol sobre o metabolismo energético. Fonte: O autor.

Acesso em setembro, 2022.

O cortisol atua no metabolismo dos carboidratos estimulando o processo de gliconeogênese que ocorre no fígado e reduzindo a glicólise através da diminuição do uso da glicose periférica, além de ser hiperglicemiante podendo favorecer o desenvolvimento nos indivíduos de um quadro patológico de diabetes adrenal sendo moderadamente resistente à insulina mesmo havendo a liberação desse hormônio na circulação sanguínea. (RODRIGUES, 2016).

No metabolismo dos lipídeos, ele diminui o transporte de glicose para os adipócitos, reduzindo a sensibilidade deste à insulina, e em períodos prolongados pode estimular o processo de lipogênese (RODRIGUES, 2016). Estes mecanismos justificam o porquê de uma exposição a terapias com altas doses de glicocorticoides por períodos prolongados geralmente estar associada a efeitos adversos, como a atrofia muscular, aumento da deposição de gordura visceral e alterações metabólicas, tais como a indução da resistência insulínica (RI) e da intolerância à glicose (BUREN *et al.*, 2008; NUNES *et al.*, 2013; SCHÄCKE *et al.*, 2002).

O estresse e seu envolvimento com processos diversos em todo o organismo evidenciaram através de estudos reações que podem causar ou mesmo agravar inúmeras doenças, cuja fisiopatologia envolve a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), incluindo inúmeras doenças, sendo entre elas, o diabetes mellitus tipo II (DMII).

A DMII é uma das doenças mais importantes atualmente devido sua alta prevalência no mundo, aliada a grandes taxas de morbimortalidade, não só pela doença em si como também devido às suas graves complicações. (PENTEADO e OLIVEIRA, 2009)

O aumento da secreção de cortisol produz efeitos sistêmicos que originam diversos sintomas, como hipertensão arterial, glicose/diabetes, edema, depósitos de gordura, infertilidade, letargia, estados depressivos, entre outros. Assim, o aumento das concentrações plasmáticas de cortisol está relacionado a diferentes tipos de exposições ao qual o organismo está sujeito, provocando no organismo mecanismos que induzem a liberação de glicose na corrente sanguínea (BORGES *et al*, 2012).

Segundo as contribuições de Nonogaki, Nozue e Oka (2007), através de estudos, algumas espécies de camundongos apresentaram hiperglicemia induzida pela gliconeogênese hepática que evoluem para o diabetes tipo 2. Diante dos resultados por eles apresentados, o diabetes insulino-independente induzido pelo isolamento social crônico foi associado ao aumento da expressão de genes gliconeogênicos hepáticos como G6Pase, Fbp1 e Fbp2. Dessa forma, o isolamento social pode ser incluído entre os fatores ambientais relacionados ao desenvolvimento da obesidade e diabetes tipo 2, e o alojamento em grupo aparentemente pode preveni-lo ou pelo menos amenizá-lo.

1.3 Estresse, consumo alimentar e ganho de peso

As principais vias efetoras do sistema de estresse, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e o sistema nervoso simpático (SNS) afetam o metabolismo energético. Durante o estresse agudo, a ativação do SNS desencadeia a liberação de epinefrina, que medeia uma série de mudanças fisiológicas para preparar o corpo para a resposta de “luta ou fuga”. Essas mudanças incluem o aumento dos batimentos cardíacos, aumento do fluxo sanguíneo para os órgãos vitais e mobilização da fonte de energia através do aumento da lipólise e gliconeogênese hepática (SHERWIN e SACCA, 1984). O hormônio liberador de corticotropina (CRH), é liberado do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo. O CRH promove uma supressão imediata da ingestão de alimentos ao inibir os neurônios do neuropeptídeo Y estimulador do apetite (NPY)/peptídeo relacionado ao Agouti (AGRP) no núcleo arqueado (ARC), desviando assim os recursos do corpo para lidar com o estressor (HEINRICHS *et. al*, 1993; RICHARD *et. al*, 2002).

O CRH também induz a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) da hipófise. O ACTH circulante, por sua vez, estimula o córtex adrenal a secretar glicocorticóides, que regulam o metabolismo e a ingestão de alimentos por meio de vários mecanismos. (MANIAM *et. al*, 2012; KYROU *et. al*, 2009). Além de estimular as respostas alimentares, inibindo a liberação de CRH e aumentando a liberação de NPY no hipotálamo (CASTONGUAY, 1991), o cortisol também regula positivamente os genes que codificam os receptores de lipoproteínas e enzimas do metabolismo da glicose, lipídios e aminoácidos.

Portanto, as elevações na secreção de glicocorticóides promovidos pelo isolamento social parecem ter relações que intensificam as emoções e a motivação (DALLMAN *et. al*, 2006; DALLMAN *et. al*, 2005), além de promover a ingestão de alimentos mais palatáveis (BELL *et. al*, 2000; BHATNAGAR *et. al*, 2000). Etiologicamente, o efeito estimulante do apetite dos glicocorticóides repõe a energia usada quando o evento estressante diminui. A ativação do eixo HPA e do SNS em uma resposta normal ao estresse é de duração limitada e tende a retornar ao nível basal quando a homeostase é alcançada. No entanto, durante a ativação prolongada do sistema de estresse, no estresse crônico, ocorre uma ruptura desse equilíbrio. A hipercortisolemia observada no estresse crônico resulta em aumento da ingestão alimentar, induzindo ganho de peso excessivo.

Entretanto os dados são variáveis, posto que estudos em humanos e animais mostraram que o estresse crônico pode levar ao aumento ou mesmo a diminuição da ingestão de alimentos e do peso corporal (GIBSON *et. al*, 2006; TORRES *et. al*, 2007; BLOCK *et. al*, 2009; SERLACHIUS *et. al*, 2007; MARTÍ *et. al*, 1994). Muitos fatores provavelmente estão envolvidos nesta resposta bidirecional ao estresse, e ainda não são totalmente compreendidos (EPEL *et. al*, 2004; STONE E BROWNELL *et. al*, 1994).

Um dos mecanismos que explica a perda de peso é a ativação adrenérgica no estresse, um importante sinal de aumento do gasto energético e mecanismo da queima de gordura do corpo (levando à perda de peso). Por outro lado, o estresse estimula a preferência pela ingestão de alimentos ricos em açúcar e gordura (resultando em ganho de peso), o que leva ao ganho de peso (DALLMAN *et. al*, 2003; KUO *et. al*, 2004; DODT *et. al*, 2003).

Dallman e colaboradores observaram que indivíduos que estão inicialmente acima do peso são mais propensos a aumentar o peso corporal quando estressados, ao contrário, daqueles com peso normal ou baixo que apresentam menor suscetibilidade a alterações

na composição corporal (DALLMAN, 2010). Recentemente, outros estudos sugeriram que as diferenças individuais no nível de grelina e na resposta à sua sinalização podem contribuir para a variabilidade no apetite induzido pelo estresse (SOMINSKY e SPENCER, 2014).

A obesidade representa outro fator diretamente ligado ao aumento dos níveis de cortisol plasmático. Estes indivíduos apresentam ativação inadequada do eixo hipotálamo hipófise-adrenal o que eleva a síntese de cortisol pelas glândulas adrenais (LORDELO *et al*, 2007). Conforme indicam as pesquisas de Arcadepani e colaboradores (2015), a obesidade também está intimamente associada ao surgimento de patologias secundárias que causam elevação na concentração de cortisol.

Através dos estudos realizados mediante análise da farmacocinética do cortisol, observou-se que na obesidade a depuração metabólica desse hormônio está ligada à quantidade de gordura abdominal que o indivíduo apresenta, sendo o cortisol cada vez mais alto quanto maior for a quantidade de gordura visceral no corpo. A depuração de cortisol promovida pelo tecido adiposo leva à redução inicial dos níveis de cortisol sanguíneos, seguida de um aumento da estimulação do eixo HPA para que haja a elevação da produção desse hormônio (LORDELO *et al*, 2007).

Com isso, apesar de não ter-se casos de hipercortisolismo bioquímico, o hipercortisolismo funcional nos estados de obesidade abdominal contribui de forma direta para o agravamento da síndrome metabólica, sendo os sintomas aparentes semelhantes à Síndrome de Cushing⁴ (LORDELO *et al*, 2007).

⁴ Síndrome de Cushing: Condição causada pela exposição a níveis elevados de cortisol por um longo período de tempo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do isolamento social sobre a glicemia e ganho de peso de camundongos C57BL/6, demonstrando os efeitos que uma situação social produz sobre marcadores metabólicos e processos bioquímicos relacionados a homeostase bioquímica do organismo de animais com semelhanças que possibilitam projetar os resultados da análise para indivíduos humanos.

2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar os efeitos do isolamento social sobre a glicemia de jejum e sobre a tolerância à glicose em camundongos C57BL/6 machos e fêmeas;
2. Avaliar os efeitos do isolamento social sobre o consumo alimentar e ganho de peso em camundongos C57BL/6 fêmeas;

3. JUSTIFICATIVA

O estresse representa uma realidade no cotidiano da maioria das pessoas na atualidade, sendo capaz de comprometer-lhes diretamente o bem-estar físico e mental, afetando-as em número crescente a cada dia, em razão da avalanche de demandas que a elas se impõe, pelo ritmo acelerado, volátil e em constante mudança das Sociedades de Consumo na Era da Informação, bem como pelas diversas atividades que elas necessitam executar em suas rotinas diárias, onde as exigências de adaptação são cada vez maiores.

No Brasil, um número cada vez maior de pessoas está vivendo sozinha, o que torna essas pessoas mais suscetíveis a vivenciarem situações de isolamento social. De acordo com dados da Síntese de Indicadores Sociais do IBGE (2016), o número de pessoas morando sozinhas aumentou mais de 40% nos últimos 10 anos, tendo relação com o envelhecimento populacional. Assim sendo, numa análise mais detalhada dos

efeitos orgânicos deste contexto é de extrema importância para construção de informações sobre os efeitos do isolamento social sobre a morbidade⁵ da população.

Desde 2020 o mundo vem enfrentando uma situação atípica, de escala global e inúmeras consequências: a pandemia da COVID 19. Verificou-se que a prevalência global de ansiedade e depressão aumentou em 25% de acordo com dados científicos publicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

O estresse causado pelo isolamento social decorrente da pandemia, ocorrido de modos mais ou menos estruturados em cada país, estava ligado as inúmeras restrições, incluindo a capacidade das pessoas de poderem trabalhar, o envolvimento em suas comunidades, solidão, medo de contrair a infecção, sofrimento, mortes de entes queridos, luto e situações financeiras. Diversos estudos evidenciam a importância do estresse na gênese e na progressão de doenças, como por exemplo o diabetes *mellitus* tipo II (DMII).

Considerando a relação já explicitada entre aspectos emocionais, como o grau de estresse emocional, e as doenças metabólicas, torna-se importante que os mesmos sejam avaliados, acompanhados e tratados a partir de intervenções multiprofissionais que conduzam a uma redução significativa dos fatores de risco (SCHERR *et. al.*, 2010). Com base nisso, entende-se a importância de estudar os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de doenças metabólicas relacionadas ao estresse por isolamento social, o que poderá nortear o desenvolvimento de abordagens em saúde pública voltadas as medidas de prevenção e tratamento.

Destarte, compreender a relação os aspectos psicoemocionais e as doenças metabólicas, desde o prisma da ciência farmacêutica, em interdisciplinaridade com a neurociência, possibilita a construção de contribuições valiosas para produção de soluções mais abrangentes e sistêmicas, capazes de atuar em várias frentes para o alcance da saúde, enquanto equilíbrio dinâmico entre a diversidade de fatores que constitui o ser humano.

⁵ Morbidade é denominada pela taxa de portadores de determinada doença em relação à população total estudada, em determinado local e em determinado momento.

4. MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Protocolo experimental – Animais

Todos os procedimentos com animais foram realizados em estrita conformidade com as recomendações sobre o uso de animais, constantes da Lei Federal 11.794/2008⁶, e foram aprovados pelo Comitê de Ética Institucional (CEUA-UFOP nº. 25488). Todos os esforços foram feitos para máxima redução do possível sofrimento dos animais, bem como para redução do número de animais utilizados.

Foram utilizados 31 camundongos da linhagem isogênica C57BL/6, machos e fêmeas, saudáveis, com 8-10 semanas de vida, obtidos do Biotério Central da UFOP os quais foram alojados individualmente (isolados, n = 13), sendo 6 machos e 7 fêmeas. Os camundongos tiveram acesso *ad libitum* a ração para roedores e água filtrada durante todas as 16 semanas de experimento. Os camundongos foram mantidos à temperatura constante (23 ± 2 °C) e em ciclo claro/escuro 12:12. Os animais foram alojados em caixas de Plexiglas (65 × 25 × 15 cm) com assoalho coberto com serragem, e mantidos em ciclo escuro/claro padrão de 12 h (luzes acesas entre 7:00 e 19:00 h).

4.2 Isolamento social

Para induzir o estresse foi utilizado o modelo de separação social, no qual são gerados efeitos neurais, endócrinos e comportamentais (BRAIN, 1975; KOIKE *et al.*, 2009). Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos e fêmeas com 8 semanas de idade, separados de seus companheiros de caixa por 16 semanas (**FIGURA 5**). Embora as flutuações cíclicas de hormônios durante o ciclo estral possam afetar o comportamento em camundongos fêmeas, as diferenças entre os grupos podem ser detectadas independentemente da variação do ciclo estral dado a extensão temporal do protocolo experimental (MEZIANE *et al.*, 2007).

⁶ EXECUTIVO FEDERAL. **Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008**. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Brasil, 8 out. 2008.

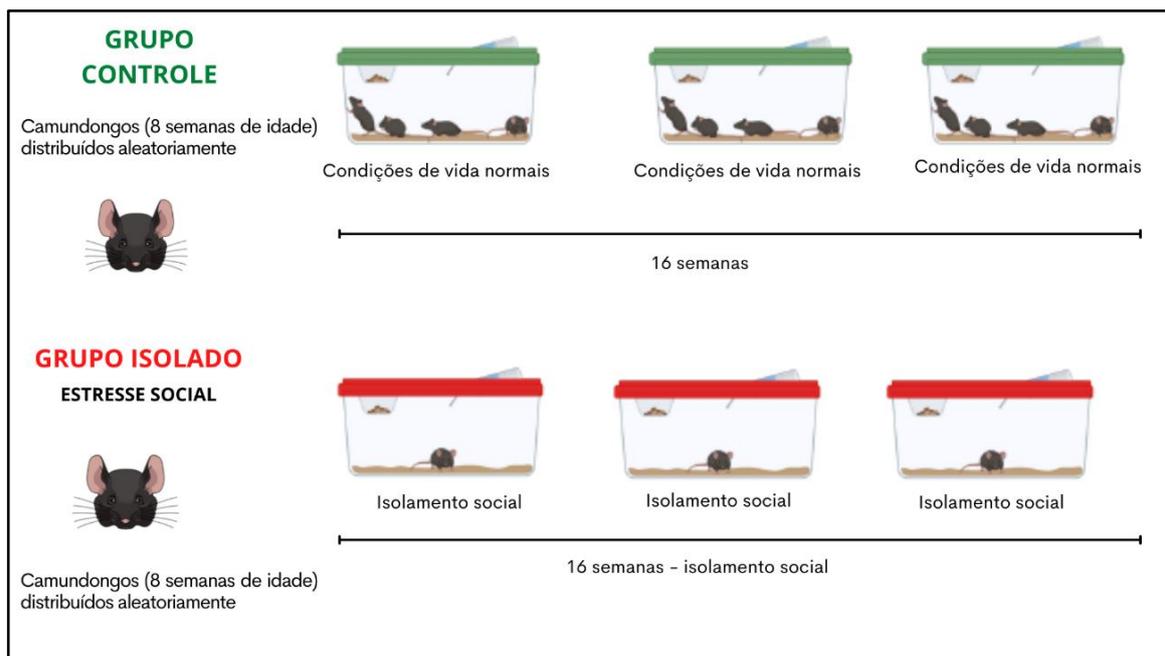


Figura 5. Representação do protocolo experimental do isolamento social. Fonte: O autor.

4.3 Consumo alimentar e ganho de peso

Foram avaliados o consumo alimentar dos camundongos C57BL/6 na 16^a semana de isolamento e mensurados o consumo da ração por 7 dias seguidos (**FIGURA 6**), antes da eutanásia. A cada dia, durante sete dias foram disponibilizados 100 gramas de ração da dieta comercial em cada caixa e o consumo individual diário dos animais era obtido pela média do consumo (descontado sobre da ração) durante os dias, dividido pelo número de animais por caixa. O peso dos animais foi mensurado semanalmente da 13^a à 16^a semana do teste usando uma balança digital (**FIGURA 7**).

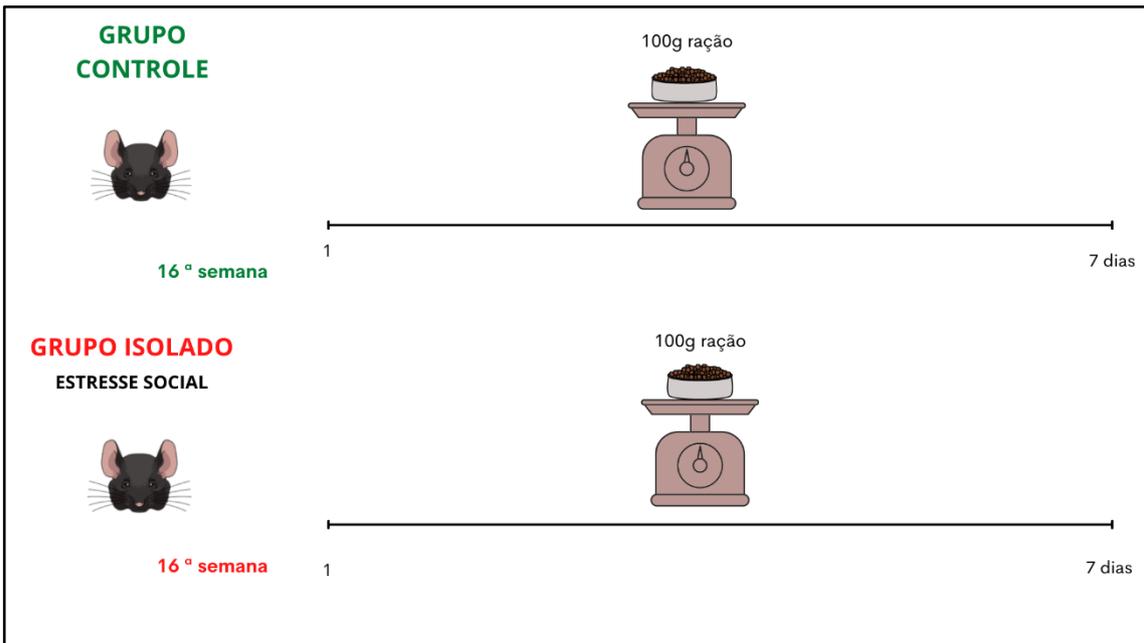


Figura 6. Representação do Protocolo experimental do consumo de ração dos camundongos. O peso da ração foi aferido diariamente durante 7 dias, na 16ª semana do protocolo experimental. Fonte: O autor.

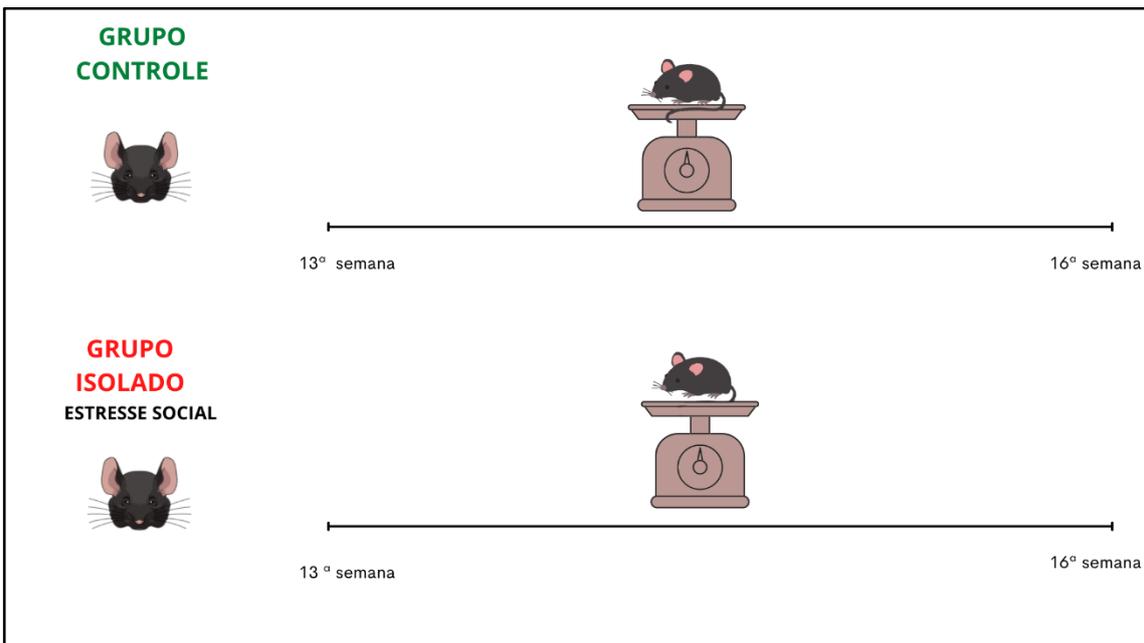


Figura 7. Representação do Protocolo Experimental da mensuração do peso dos camundongos. O peso dos animais foi verificado semanalmente durante as semanas 13 a 16. Fonte: O autor

4.4 Teste de tolerância à glicose

Ao final das 16 semanas de protocolo experimental foi realizado o Teste de Tolerância à Glicose intraperitoneal (ipGTT). Os animais foram mantidos em jejum durante 6 horas, iniciado 2 horas após o início do ciclo claro. Por meio de corte na extremidade da cauda do animal e com auxílio de equipamento glicosímetro (*Accu-Chek Active*), foi efetuada uma primeira coleta de sangue para a dosagem de glicemia de jejum, o que equivale ao tempo zero (t_0) do teste. Em seguida, foi realizada a injeção intraperitoneal com solução de glicose (2 g/Kg de peso corporal) e realizadas novas coletas de sangue pela cauda e aferições da resposta glicêmica ao estímulo, nos tempos 15, 30, 60, 120 minutos para a determinação da glicemia, de acordo com as especificações do fabricante (FIGURA 8). A partir do ipGTT foi construída a curva glicêmica e calculada a área sob a curva (ASC), no software *GraphPad Prism*.

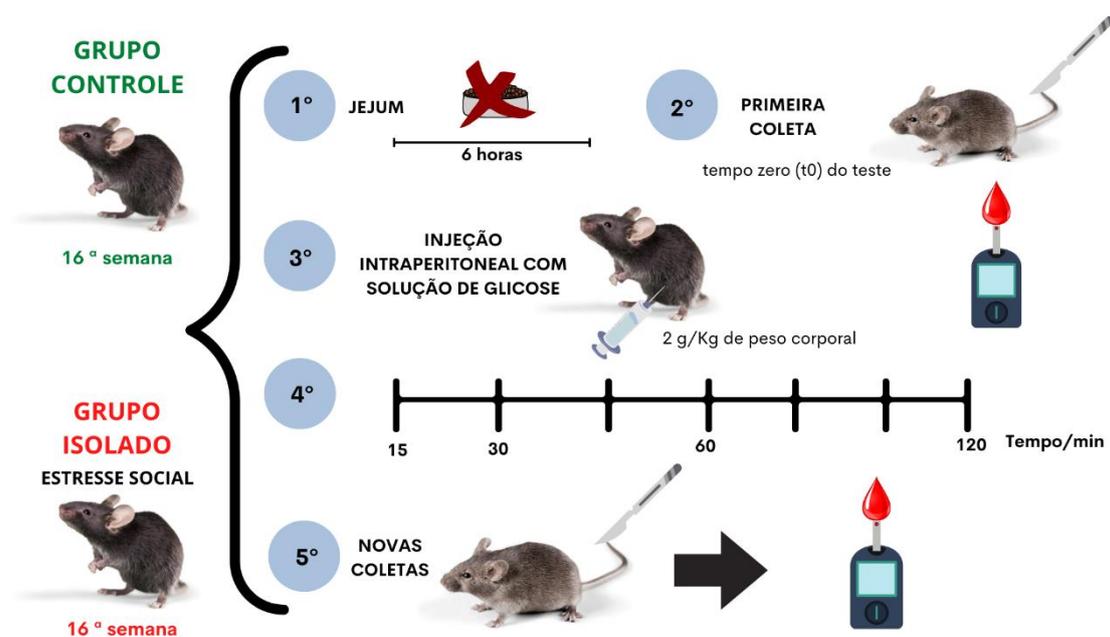


Figura 8: Representação do Protocolo Experimental do Teste de Intolerância à Glicose. Ao final do protocolo experimental os animais foram submetidos a um jejum de 6 horas no início do ciclo claro. Uma pequena incisão na cauda permitiu a coleta de sangue nos tempos zero (t_0 ou jejum) e em 15, 30 60 e 120 minutos após uma injeção intraperitoneal de glicose na dose de 2g/Kg. A glicemia foi aferida com glicosímetro digital. Fonte: O autor.

4.5 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como a média e erro padrão da média (\pm EPM) e para a comparação de médias entre dois grupos foi aplicado o teste t de Student. Foram considerados significativos os valores de $p < 0.05$. Os dados foram analisados utilizando GraphPad Prism 8.

5. RESULTADOS

Estudos clínicos e pré-clínicos observam uma associação entre diferentes situações de estresse e alterações no metabolismo energético e homeostase glicêmica em modelos experimentais de isolamento social em animais (NONOGAKI, K.; NOZUE, K.; OKA, Y. 2007). Neste estudo analisamos os efeitos do isolamento social crônico sobre a homeostase glicêmica e ganho de peso de camundongos C57BL/6 machos e fêmeas e sobre o consumo alimentar das fêmeas.

5.1 O isolamento social causa hiperglicemia de jejum em camundongos C57BL/6 machos e fêmeas

No teste de tolerância à glicose pudemos observar que o isolamento social induziu hiperglicemia de jejum nas fêmeas ($t=3,94$, $df = 17$; $p=0,001$), conforme representado na FIGURA 9A e B. Durante o desafio com uma alta carga de glicose pudemos observar uma resposta similar na elevação e subsequente redução da glicemia, sem diferenças estatísticas entre as fêmeas controle e isoladas, conforme demonstrado na análise da área sob a curva, da curva glicêmica, na FIGURA 9 B e C ($t=1,67$, $df = 14$; $p=0,12$).

Conforme representado na FIGURA 10 A e B, os machos submetidos ao isolamento por 16 semanas também apresentaram elevação na glicemia de jejum, quando comparados aos controles ($t=2,55$, $df = 10$; $p=0,03$). De modo similar às fêmeas, a resposta ao desafio no teste de tolerância à glicose também foi semelhante entre machos controles e isolados ($t=1,15$, $df = 10$; $p=0,28$), FIGURA 10B e C.

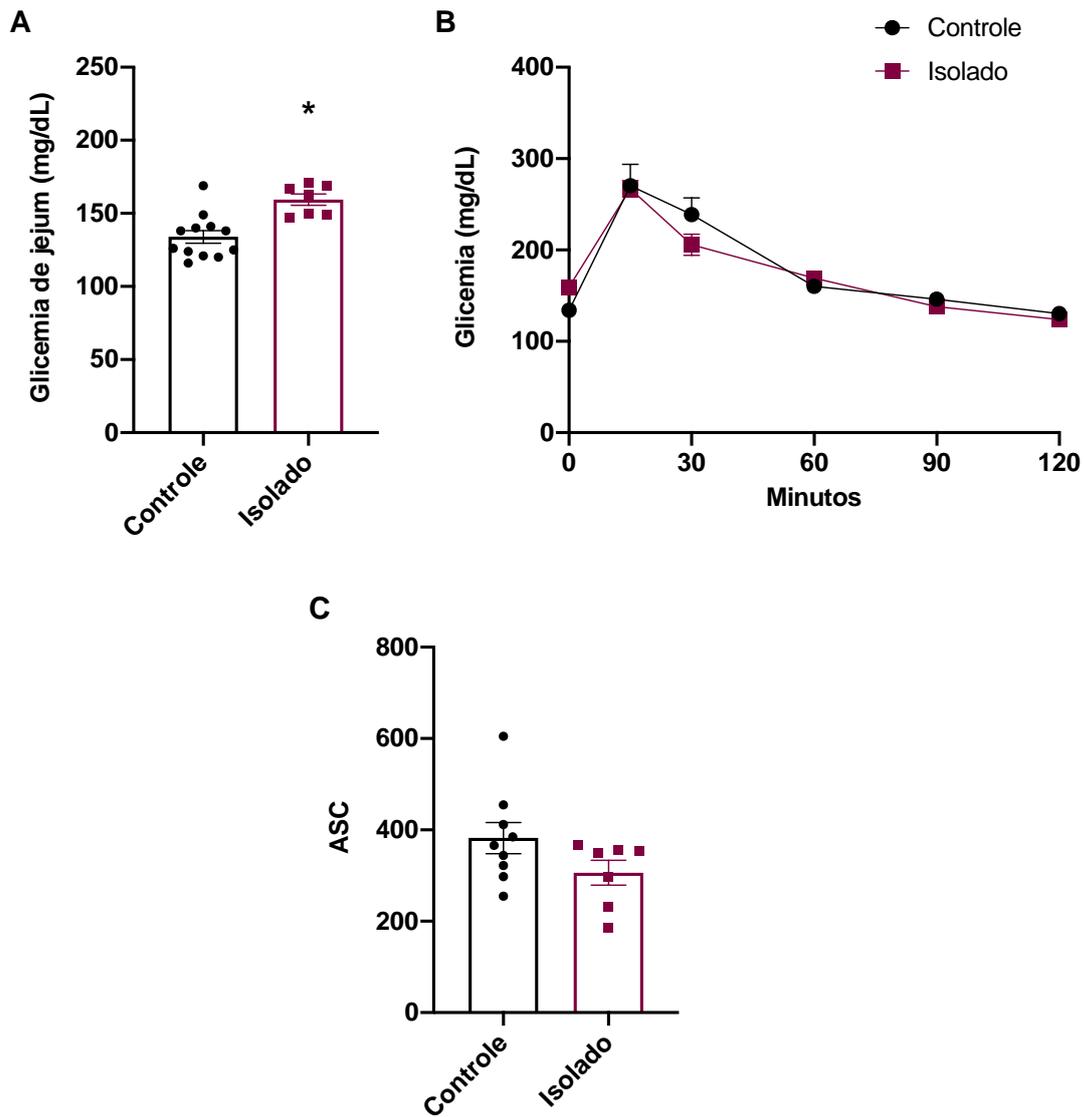


Figura 9. Teste de tolerância a glicose (TOTG) em camundongos fêmeas. A) Glicemia de jejum, ou t0, em mg/dL. B) Curva de tempo de resposta à glicose 2g/Kg. C) Área sob a curva (ASC). n = 7 a 12 por grupo. Teste t de Student. * p < 0,05. Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM).

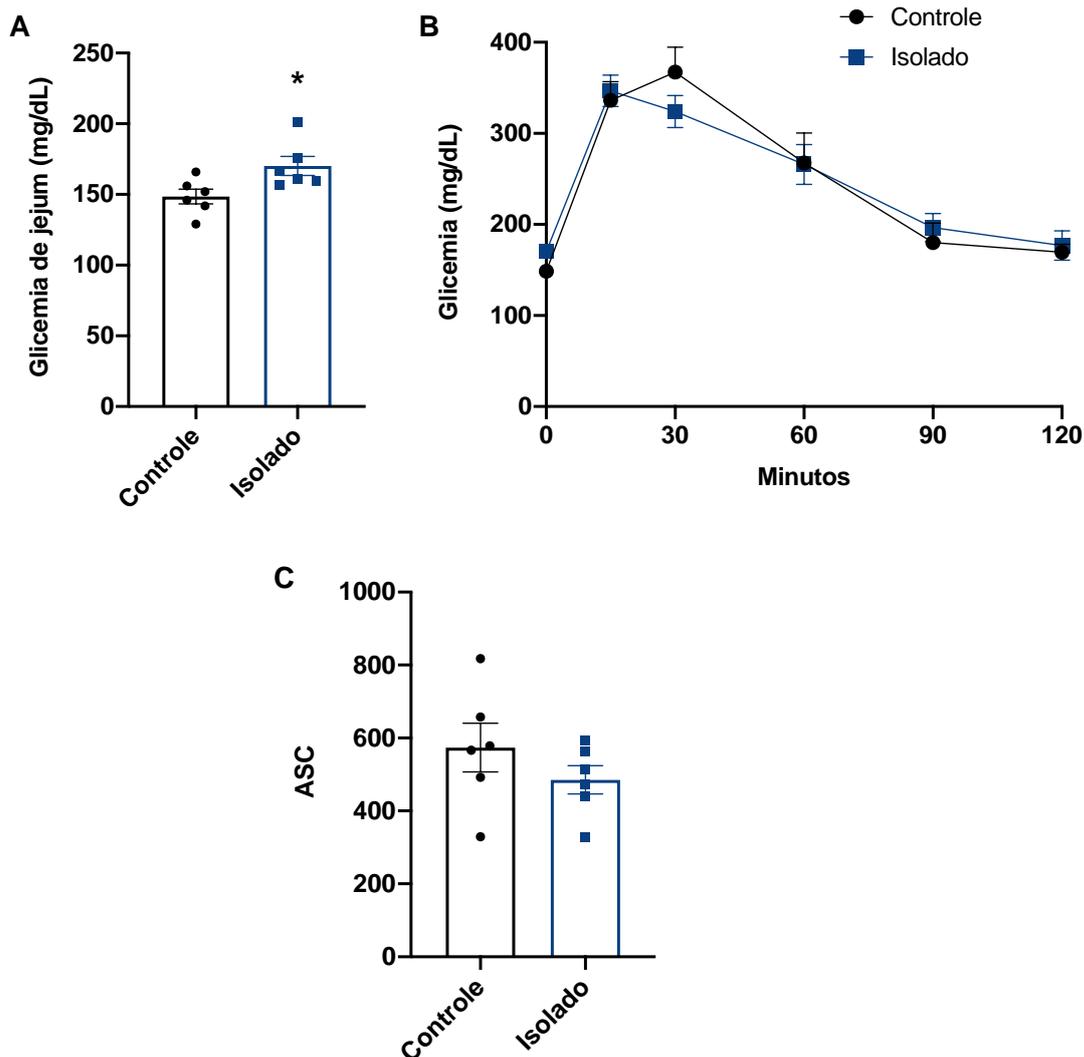


Figura 10. Teste de tolerância a glicose (TOTG) em camundongos machos. A) Glicemia de jejum, ou t₀, em mg/dL. B) Curva de tempo de resposta à glicose 2g/Kg. C) Área sob a curva (ASC). n = 6 por grupo. Teste t de Student. * p < 0,05. Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM).

5.2 O isolamento social promove aumento no consumo alimentar em fêmeas

O peso dos camundongos fêmeas e machos foi acompanhado durante as 4 últimas semanas do protocolo experimental (semanas 13 a 16). Conforme representado nas figuras 11 e 12A, não foram observadas diferenças entre o ganho de peso nas fêmeas,

bem como nos machos, respectivamente, quando comparados os animais controles e isolados.

Por outro lado, o consumo alimentar, que foi avaliado somente nas fêmeas diariamente durante a última semana do protocolo, foi aumentado no grupo isolado, conforme demonstrado na FIGURA 11 B e C. Na FIGURA 11C é possível observar a diferença estatística quando comparados o consumo alimentar acumulado das fêmeas controle e isoladas ($t=6,51$, $df=9$; $p=0,0001$).

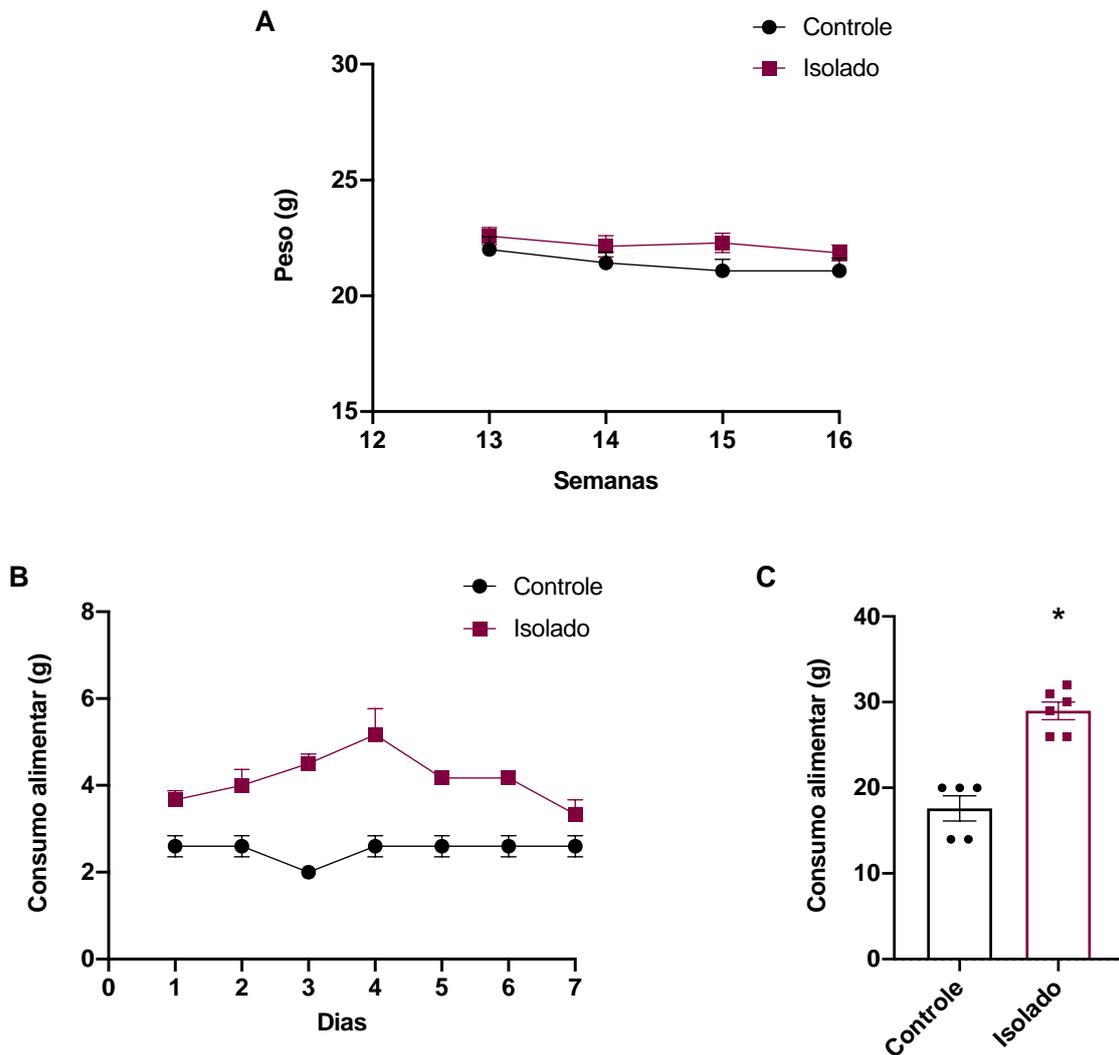


Figura 11. Peso corporal e consumo alimentar em camundongos fêmeas. A) Peso semanal nas semanas 13 a 16. B) Consumo alimentar diário na semana 16. C) Consumo alimentar acumulado nos 7 dias. $n = 5-6$ por grupo. Teste t de Student. * $p < 0,05$. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM).

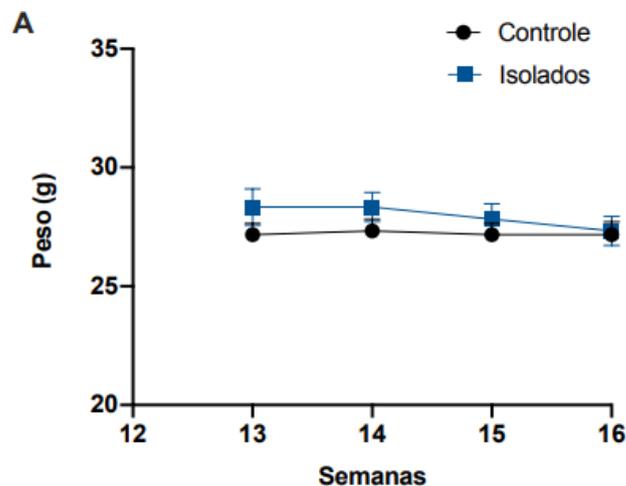


Figura 12. Peso corporal em camundongos machos. A) Peso semanal nas semanas 13 a 16. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM); n = 6.

6. DISCUSSÃO

Modelos animais de estresse crônico são importantes ferramentas para o estudo da fisiopatologia e mediadores moleculares de distúrbios relacionados ao estresse, como as síndromes metabólicas, bem como para a investigação de potenciais tratamentos (NAGY *et. al*, 2002).

Võikar e colaboradores (2005), identificaram que camundongos isolados podem apresentar respostas diferentes ao isolamento dependendo de sua linhagem. Além disso, existe uma discussão acerca da diferença entre isolamento verdadeiro e isolamento individual. Com relação ao isolamento individual, os camundongos não são desprovidos totalmente de receber informações sensoriais de outros camundongos que habitam o biotério por meio do olfato, audição e visão e, de fato, esse é o modelo empregado na maioria dos estudos. (VÕIKAR *et al.*, 2005).

Em nosso estudo, este modelo de estresse induzido por isolamento individual causou hiperglicemia de jejum nos camundongos CB57Bl/6 machos e fêmeas, sem um

ganho de peso significativo, mas com um aumento no consumo alimentar das fêmeas. Estes dados corroboram o estudo de Nonogaki e colaboradores (2007), que mostrou que o isolamento social por 8 semanas, agravou o fenótipo metabólico de camundongos KKA^y (um modelo poligênico de diabetes e obesidade). Quando comparados aos KKA^y alojados em grupo, os KKA^y isolados apresentaram maior glicemia de jejum, maior peso corporal, peso de tecido adiposo e hiperleptinemia. (NONOGAKI, *et. al.*, 2007)

Os autores observaram ainda que os animais isolados apresentaram aumento na expressão de genes envolvidos na gliconeogênese no fígado, independentes de insulina. Portanto, os autores sugerem que o isolamento social crônico pode contribuir para o desenvolvimento e evolução da diabetes associado à obesidade em animais KKA^y.

Por outro lado, nos estudos de Tavares (2014) e Santos (2019), sobre os efeitos do estresse social sobre a glicemia de ratos wistar e camundongos C57BL/6 respectivamente, não foram observadas diferenças significativas entre os animais isolados e agrupados. As consequências do isolamento social em modelos animais estudados sobre a homeostase energética e metabólica podem ser linhagem e tempo-dependentes, dentre outras variáveis. (NONOGAKI, K.; NOZUE, K.; OKA, Y, 2007).

Com relação ao consumo alimentar e o peso dos camundongos, nosso estudo demonstrou que a habitação individual crônica aumentou o consumo alimentar das fêmeas sem alterar significativamente o seu peso corporal, sugerindo que o aumento do gasto energético possa ter evitado um ganho de peso.

Um estudo prévio observou um aumento na atividade espontânea de camundongos C57BL/6 machos submetidos a 7 semanas de isolamento social, o que resultou em menor ganho de peso em comparação aos animais alojados em grupo devido essa linhagem levar um aumento na atividade exploratória (VÖIKAR *et al.*, 2005). Em nosso estudo não monitoramos a atividade espontânea, porém esta seria uma das possibilidades para a manutenção do peso das fêmeas apesar da ingesta alimentar aumentada. Já no estudo de Nanogaki (2007), o isolamento individual acelerou o ganho de peso corporal e a adiposidade em camundongos KKA^y, mas não na espécie C57BL/6, o que também corrobora nossas observações. Por outro lado, o estudo de Pérez observou uma tendência ao ganho de peso sobre o grupo isolado em relação ao grupo social (PEREDA-PÉREZ *et. al.*, 2013). Nesse estudo o período de isolamento chegou a 10 meses, ao passo que, o nosso foi de 4 meses, o que pode sugerir que o ganho de peso se manifesta em períodos de maiores estresse por isolamento social. Assim, é evidente que os efeitos das condições de alojamento sobre o comportamento e sobre a fisiologia de

uma dada linhagem de camundongos não parecem ser previsível, levando-se em conta, os dados obtidos a partir de diferentes linhagens. No entanto, a criação de animais em condições de isolamento é um paradigma relevante para o estudo dos efeitos do estresse no início da vida e para a compreensão da origem de certas doenças neurológicas, psiquiátricas e bioquímicas (MYHRER, 1998; WHITAKER-AZMITIA *et al.*, 2000).

No presente estudo algumas limitações de trabalho impossibilitaram a obtenção resultados mais robustos. Entendemos que a realização de dosagens séricas de corticosterona, leptina, e insulina auxiliariam na compreensão dos mecanismos envolvidos. Além disso, a utilização de uma câmara metabólica possibilitaria a visualização de dados mais sólidos com relação ao gasto energético dos animais em isolamento social.

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou que o estresse causado pelo isolamento social experimental em camundongos elevou a glicemia de jejum, de machos e fêmeas e induziu aumento do consumo alimentar das fêmeas, porém, sem alterações relevantes sobre o peso de ambos os sexos. Este estudo, no entanto, reforça os achados encontrados na literatura contribuindo para melhor entendimento acerca das modificações na homeostase do metabolismo energético em função do isolamento social, como alterações na glicemia de jejum, consumo alimentar e ganho de peso.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A. A. Stone and K. D. Brownell, “**The stress-eating paradox: multiple daily measurements in adult males and females,**” *Psychology & Health*, vol. 9, no. 6, pp. 425–436, 1994.

A. GUIDOTTI, E.; DONG, K. MATSUMOTO, G. PINNA, A. M. RASMUSSEN, and E. COSTA, “**The socially-isolated mouse: A model to study the putative role of allopregnanolone and 5 α -dihydroprogesterone in psychiatric disorders,**” *Brain Research Reviews*, vol. 37, no. 1–3, pp. 110–115, 2001.

A. SERLACHIUS, M. HAMER, and J. WARDLE, “**Stress and weight change in university students in the United Kingdom,**” *Physiology and Behavior*, vol. 92, no. 4, pp. 548–553, 2007.

BARTOLOMUCCI, A., PALANZA, P., SACERDOTE, P., CERESINI, G., CHIRIELEISON, A., PANERAI, A.E., PARMIGIANI, S. Individual housing induces altered immunoendocrine responses to psychological stress in male mice. *Psychoneuroendocrinology*, 28:540-558, 2003.

BHATNAGAR S., BELL M. E., LIANG J., Soriano L., Nagy T. R., Dallman M. F. **Corticosterone facilitates saccharin intake in adrenalectomized rats: does corticosterone increase stimulus salience?** *Journal of Neuroendocrinology*.2000;12(5):453–460. doi:10.1046/j.1365-2826.2000.00487.x.

Bell M. E., Bhatnagar S., Liang J., Soriano L., Nagy T. R., Dallman M. F. **Voluntary sucrose ingestion, like corticosterone replacement, prevents the metabolic deficits of adrenalectomy.***Journal of Neuroendocrinology*.2000;12(5):461–470. doi:10.1046/j.1365-2826.2000.00488.x.

BORGES, F. Z. et al. Síndrome de Cushing subclínica relacionada à hipertensão arterial.

BUENO, J. R; GOUVÊA, C. M. C. P. **Cortisol e exercício: efeitos, secreção e metabolismo.** *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício (RBPFE)*, São Paulo, v.5 n.29, p.435-445. 2011. Disponível em: <<http://www.rbpfef.com.br/index.php/rbpfef/article/view/364/369>>. Acesso em: 16/04/2016.

BUREN, J. et al. Insulin action and signalling in fat and muscle from dexamethasone-treated rats. **Arch Biochem Biophys**, v. 474, n. 1, p. 91-101, Jun 1 2008.

CAPURSO, C.; CAPURSO, A. **From excess adiposity to insulin resistance: the role of free fatty acids.** *Vascul Pharmacol*, v. 57 , n. 2-4, p. 91-97, Sept- Oct 2012.

CASPI, A. et al. Socially isolated children 20 years later: risk of cardiovascular disease. **Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine**,v.160, n.8, p.805-811, 2006.

CASTONGUAY T. W. **Glucocorticoids as modulators in the control of feeding.***Brain Research Bulletin*.1991;27(3-4):423–428. doi: 10.1016/0361-9230(91)90136-8.

C. Dodt, P. Lonnroth, J. P. Wellhöner, H. L. Fehm, and M. Elam, “**Sympathetic control of white adipose tissue in lean and obese humans,**” *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 177, no. 3, pp. 351–357, 2003.

CUESTA, J. M.; SINGER, M. **The stress response and critical illness: A review.** *Critical Care Medicine*, v. 40, n. 12, p. 1–7, 2012.

Dalacorte, R. R. (2008). *Síndrome metabólica e atividade física em idosos de uma comunidade do sul do Brasil*. Tese de Doutorado não publicada, Faculdade de Medicina Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 88 pp. Dallman M. F., Pecoraro N. C., La Fleur S. E. **Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity.** *Brain, Behavior, and Immunity*. 2005;19(4):275–280. doi:10.1016/j.bbi.2004.11.004.

Dallman M. F., Pecoraro N. C., la Fleur S. E., et al. **Glucocorticoids, chronic stress, and obesity.** *Progress in Brain Research*. 2006;153:75–105. doi:10.1016/S0079-6123(06)53004-3

E. Epel, S. Jimenez, K. Brownell, L. Stroud, C. Stoney, and R. Niaura, “Are stress eaters at risk for the metabolic syndrome?” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1032, pp. 208–210, 2004.

E. LEIGH GIBSON, “**Emotional influences on food choice: sensory, physiological and psychological pathways,**” *Physiology and Behavior*, vol. 89, no. 1, pp. 53–61, 2006.

FRAME, S.; COHEN, P. GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. *Biochem J*, v. 359, n. Pt 1, p. 1-16, Oct 1 2001.

FUCHS E.; FLUGGE, G. **Cellular consequences of stress and depression.** *Dialogues Clin Neurosci* 6(2):171–183. (2004)

HEINRICHS S. C., MENZAGHI F., PICH E. M., HAUGER R. L., KOOB G. F. **Corticotropin-releasing factor in the paraventricular nucleus modulates feeding induced by neuropeptide Y.** *Brain Research*. 1993;611(1):18–24. doi:10.1016/0006-8993(93)91771-J.

H. KIM, W.-W. WHANG, H.-T. KIM et al., “**Expressão de neuropeptídeo e colecistocinina não 11696-11701, 2003. relacionada ao estresse devido ao estresse crônico do fígado**”, *Pesquisa do cérebro*, vol. 983, nº. 1-2, pág. 201-208, 2003.

HONG S, FLASHNER B, CHIU M, Ver HOEVE E, LUZ S, BHATNAGAR S (2012) **Social isolation in adolescence alters behaviors in the forced swim and sucrose preference tests in female but not in male rats.** *Physiol Behav* 105(2):269–275.

H. Schäcke, W.-D. Döcke, K. Asadullah, Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids, *Pharmacology & therapeutics*, 96 (2002) 23-43.

J. P. BLOCK, Y. HE, A. M. ZASLAVSKY, L. DING, and J. Z. AYANIAN, “**Psychosocial stress and change in weight among US adults,**” *The American Journal of Epidemiology*, vol. 170, no. 2, pp. 181–192, 2009.

K. NONOGAKI, K. NOZUE, and Y. OKA, “**Social isolation affects the development of obesity and type 2 diabetes in mice,**” *Endocrinology*, vol. 148, no. 10, pp. 4658–

4666, 2007.

KATSUNORI NONOGAKI, KANA NOZUE E YOSHITOMO OKA. **Social Isolation Affects the Development of Obesity and Type 2 Diabetes in Mice.** 2007

Konner AC, Bruning JC. Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM.** 2011;22(1):16-23. Epub 2010/10/05.

KYROU I., TSIGOS C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology.* 2009;9(6):787–793. doi:10.1016/j.coph.2009.08.007.

LADYMAN, S. R.; GRATAN, D. R. **JAK-STAT and feeding.** *Jakstat*, v. 2, n. 2, p. e23675, April 1 2013.

L. E. Kuo, M. Czarnecka, J. B. Kitlinska, J. U. Tilan, R. Kvetnanský, and Z. Zukowska, "Chronic stress, combined with a high-fat/high-sugar diet, shifts sympathetic signaling toward neuropeptide Y and leads to obesity and the metabolic syndrome," **Annals of the New York Academy of Sciences**, vol. 1148, pp. 232–237, 2008.

Lipp, M. E. N. (2000). *Manual do Inventário de Sintomas de Stress para Adultos de Lipp (ISSL)*. São Paulo: Casa do Psicólogo.

LIPP, M. E. N., ARANTES, J. P., BURITI, M. S. & WITZIG, T. **O estresse em escolares.** *Psicologia escolar e educacional*, 6(1),51-56. (2002).

L. SOMINSKY and S. J. SPENCER, "Eating behavior and stress: a pathway to obesity," *Frontiers in Psychology*, vol. 5, p. 434, 2014. MCEWEN, B. S. **The neurobiology of stress : from serendipity to clinical relevance 1.** *Brain Research*, v. 886, p. 172–189, 2000.

MACHADO H, PINHEIRO HS, TERRA MM, GUERRA MO, DE PAULA RB, PETERS VM. **Dissociação da resposta anti-hipertensiva e metabólica à losartana e espirolactona em ratos com síndrome metabólica experimental.** *J Bras Nefrol.* 2012;34(4):328-36

MANIAM J., MORRIS M. J. **The link between stress and feeding behaviour.** *Neuropharmacology.* 2012;63(1):97–110. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.04.017

MANNING, B. D.; CANTLEY, L. C. **AKT/PKB signaling: navigating downstream.** *Cell*, v. 129, n. 7, p. 1261-74, Jun 29 2007

MARIDALVA DE SOUZA PENTEADO, TANIA CRISTINA DE OLIVEIRA. **ASSOCIAÇÃO ESTRESSE-DIABETES MELLITUS TIPO II.** *REV BRAS CLIN MED*, 2009;7:40-45, 2009.

MCEWEN, B. S.; MAGARINOS, A. N. A. M. Stress Effects on Morphology and Function of the Hippocampus ". **Annals of the New York Academy of Sciences**, p. 271–284, 1968.

M. F. DALLMAN, **“Stress-induced obesity and the emotional nervous system,”** Trends in Endocrinology and Metabolism, vol. 21, no. 3, pp. 159–165, 2010.

M. F. Dallman, N. Pecoraro, S. F. Akana et al., **“Chronic stress and obesity: a new view of “comfort food”,”** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 100, no. 20, pp. 11696–11701, 2003.

MYERS, B.; MCKLVEEN, J. M.; HERMAN, J. P. **Neural regulation of the stress response: The many faces of feedback.** Cellular and Molecular Neurobiology, p. 1–20, 2014.

MELLO, Elisângela de Fátima Fernandes de; TEIXEIRA, Adriano Canabarro. A interação social descrita por Vigotski e a sua possível ligação com a aprendizagem colaborativa através das tecnologias em rede. **Anais do Workshop de Informática na Escola**, [S.l.], p. 1362-1365, nov. 2011.

MYHRER T. **Adverse psychological impact, glutamatergic dysfunction, and risk factors for Alzheimer’s disease.** Neurosci Biobehav Rev. 23:131–139, 1998.

NAMBI, V.; HOOGWERF, B. J.; SPRECHER, D. L. A truly deadly quartet: obesity, hypertension, hypertriglyceridemia, and hyperinsulinemia. Clev Clin J Med, v. 69, n. 12, p. 985-989, 2002.

NUNES, E. A. et al. Glucose intolerance induced by glucocorticoid excess is further impaired by co-administration with beta-hydroxy-beta-methylbutyrate in rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 38, n. 11, p. 1137-46, Nov 2013.

O. MARTÍ, J. MARTÍ, and A. ARMARIO, **“Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure,”** Physiology and Behavior, vol. 55, no. 4, pp. 747–753, 1994

PALKOVITS, K. P. A. M. **Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses : Implications for Stress-Related Disorders.** Endocrine Reviews, v. 22, n. 4, p. 502– 548, 2001.

PEI L, WAKI H, VAITHEESVARAN B, WILPITZ DC, KURLAND IJ, TONTONOZ, P. **NR4A orphan nuclear receptors are transcriptional regulators of hepatic glucose metabolism.** Nature Med 12:1048–1055, 2006.

PEREDA-PÉREZ, I. et al. Long-term social isolation in the adulthood results in CA1 shrinkage and cognitive impairment. Neurobiology of Learning Memory, v. 106, p.31-9, 2013.

PEREIRA, A.F.A et al. Relação entre o hormônio cortisol e a síndrome metabólica. XVII SEPA – **Seminário Estudantil de Produção Acadêmica**, UNIFACS, v.17(2018)

PRENTKI, M.; CORKEY, B. E. **Are the beta-cell signaling molecules malonyl-CoA and cystolic long chain acyl-CoA implicated in multiple tissue defects of obesity and NIDDM?** Diabetes, v. 45. n. 3, p. 273-83, Mar 1996.

Raikkonen, K., Matthews, K. A., & Kuller, L. H. (2007). Depressive symptoms and stressful life events predict metabolic syndrome among middle-aged women: a

comparison of World Health Organization, **Adult Treatment Panel III, and International Diabetes Foundation definitions.***Diabetes Care*,30(4),872-877.

RICHARD D., LIN Q., TIMOFEEVA E. **The corticotropin-releasing factor family of peptides and CRF receptors: their roles in the regulation of energy balance.***European Journal of Pharmacology*.2002;440(2-3):189–197. doi:10.1016/S0014-2999(02)01428-0.

R. J. KATZ, “**Animal models and human depressive disorders,**”*Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 5, no. 2, pp. 231–246, 1981.

RODRIGUES, P. Sistema endócrino. 2016. 46f. Trabalho acadêmico (Faculdade de Medicina) – Universidade Federal de Pelotas, 2016. Disponível em: <<http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/download/364/369>>. Acesso em: 14 out. 2016.

ROSMOND, R.. Role of stress in the pathogenesis of the metabolic syndrome.*Psychoneuroendocrinology*,30(1),1-10. (2005).

SAAD, M. J. et. al. **Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1 phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats.** *J Clin Invest*, v. 92, n. 4, p. 2026-72, Oct 1993.

SANTOS, R. L. O. EFEITOS DO ISOLAMENTO SOCIAL CRÔNICO SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E METABÓLICOS EM CAMUNDONGOS DE MEIA IDADE. (Dissertação). UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO CAMPUS BAIXADA SANTISTA. Santos, 2019.

S. BHATNAGAR e C. VINING, "**Facilitation of hypothalamicpituitaryadrenal answers to novel stress after repeat social stress using the resident/intruder paradigm,**"*Hormônios e Comportamento*, vol. 43, nº. 1, pág. 158-165, 2003.

SCHÄCKE, H.; DÖCKE, W.-D.; ASADULLAH, K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. **Pharmacology & therapeutics**, v. 96, n. 1, p. 23-43, 2002.

Scherr, C., Cunha, A. B., Magalhães, C. K., Abitibol, R. A., Barros, M., & Cordovil, I. (2010). **Prevalência da síndrome metabólica e fatores associados na transição e após a menopausa.** *Arq Bras Cardiol*, 94(6).

SELYE, H.*The Stress of Life*.New York: McGraw-Hill, 1956.

Sherwin R. S., Sacca L. **Effect of epinephrine on glucose metabolism in humans: contribution of the liver.***American Journal of Physiology—Endocrinology and Metabolism*.1984;10(2):E157–E165.

S. J. TORRES and C. A. NOWSON, “**Relationship between stress, eating behavior, and obesity,**” *Nutrition*, vol. 23, no. 11-12, pp. 887–894, 2007.

Sociedade Brasileira de Diabetes. Controle da glicemia no paciente hospitalizado. **Posicionamento Oficial SBD nº 03/2015**, 2015.

STEPTOE, A. et al. **Social isolation, loneliness, and all-cause mortality in older men and women.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v.110, n.15, p.5797-5801, 2013.

TAKEUCHI, T., NAKAO, M., NOMURA, K., INOUE, M., TSURUGANO, S., SHINOZAKI, Y., & YANO, E. (2009a). **Association of the metabolic syndrome with depression and anxiety in Japanese men: a 1-year cohort study.***Diabetes Metab Res Rev*,25(8),762-767.ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, J. P. **Neural Regulation of Endocrine and Autonomic Stress Responses.** Nature Reviews Neuroscience, v. 10, n. 6, p. 397–409, 2014.

TAVARES, E. S. G. M. EFEITO DO TAMANHO DO GRUPO SOBRE PARÂMETROS INDICADORES DE ESTRESSE EM RATOS WISTAR, *Rattus norvegicus*. (Dissertação). UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONA, Manaus. 2014.

TEIXEIRA, P. J. R., & ROCHA, F. L. (2007). Associação entre síndrome metabólica e transtornos mentais. *Rev. psiquiatr. clín.*(São Paulo),34(1),28-38.

T.R NAGY, D. KRZYWANSKI, J. LI, S. MELETH E R. DAMOND, “**Efeito do grupo vs. liga única na variação fenotípica em camundongs C57BL/6J**”,Procure por obesidade, vol. 10, não. 5, pág. 412-415, 2002.)

TSIGOS C, CHROUSOS GP. Hypothalamic-pituitary-adrenalaxis, neuroendocrine factors and stress. *J PsychosomRes*, 2002;53:865-871.

ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, J. P. **Neural Regulation of Endocrine and Autonomic Stress Responses.** Nature Reviews Neuroscience, v. 10, n. 6, p. 397–409, 2014.

Vetter, M. L., Wadden, T. A., Lavenberg, J., Moore, R. H., Volger, S., Perez, J. L., Sarwer, D. B., & Tsai, A. G. (2011). **Relation of health-related quality of life to metabolic syndrome, obesity, depression and comorbid illnesses.***Int J Obes (Lond)*,35(8),1087-1094. doi: 10.1038/ijo.2010.230.

VÕIKAR, V. et al. **Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences.** Genes, Brain and Behavior, v.4, n.4, p.240-252, 2005.

WEISBERG SP, MCCANN D, DESAI M, ROSENBAUM M, LEIBEL RL, FERRANTE AW, JR. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **The Journal of clinical investigation.** 2003;112(12):1796-808. Epub 2003/12/18.

WHITAKER-AZMITIA P, ZHOU F, HOBIN J, BORELLA A. **Isolation-rearing of rats produces deficits as adults in the serotonergic innervation of hippocampus.** Peptides. 21:1755-1759, 2000.

YABALURI, N.; BASHYAM, M. D. **Hormonal regulation of gluconeogenic gene transcription in the liver.** J Biosci, v. 35, n. 3, p. 473-84, Sep 2010.