



PROGRAMA DE INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS (PIPGCF)

UFSCar/UNESP

**INFLUÊNCIA DA OBESIDADE SOBRE AS MORFOLOGIAS DE ONDA DA
PRESSÃO INTRACRANIANA E CEREBRAL: UM ESTUDO PROSPECTIVO.**

DIEGO ADORNA MARINE

São Carlos

2021



PROGRAMA DE INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS (PIPGCF)

UFSCar/UNESP



DIEGO ADORNA MARINE

**INFLUÊNCIA DA OBESIDADE SOBRE AS MORFOLOGIAS DE ONDA DA
PRESSÃO INTRACRANIA E CEREBRAL. UM ESTUDO PROSPECTIVO.**

Tese apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (PIPGCF) UFSCar/UNESP, como pré-requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas sob orientação da Profa. Dra. Ana Cláudia Garcia de Oliveira Duarte

Área de concentração: Ciências Fisiológicas

SÃO CARLOS

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Diego Adorna Marine, realizada em 13/05/2021.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte (UFSCar)

Profa. Dra. Marcela Sene Fiorese (Anhanguera)

Prof. Dr. Guilherme Borges Pereira (UFSCar)

Prof. Dr. Ricardo Carneiro Borra (UFSCar)

Prof. Dr. Danilo Augusto Cardim (UTSW)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus pais, Everaldo e Claudete, que me incentivaram, e me deram condições para que eu pudesse me dedicar a este desafio, tão duro, e complexo tema.

Dedico também a minha namorada, e inseparável companheira, Geórgia, que se dedica à mim, estando sempre disposta a ouvir, incentivar, e oferecer ajuda. Ela talvez seja a maior responsável por este projeto acontecer.

Dedico também aos meus colegas de trabalho e estudo que são, como eu, um sonhador de dias melhores para a educação deste país.

Dedico à todos aqueles, que se dedicam em ajudar na educação e prevenção da saúde de nossa comunidade, assim como àqueles, que vieram antes de mim e trouxeram a luz do conhecimento sobre o tema desta tese.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais pelo incentivo, e ajuda ao longo desta caminhada, e não somente no período do doutorado. Afinal, estes últimos quatro anos começaram muito antes, com um projeto de vida, e que culmina neste momento.

Agradeço imensamente à minha namorada, que esteve sempre presente no meu dia-dia, ouvindo meus problemas, me ajudando com ideias, me incentivando, e por me apresentar o professor Sérgio Mascarenhas.

Um agradecimento mais que especial, à minha orientadora, professora Dra. Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte, que abriu a porta de seu laboratório para um estudo inovador. O tema não fazia parte de sua linha de pesquisa, e ainda assim, abriu as portas para mim acreditando no sucesso desta pesquisa.

Agradeço ao nosso mais emérito professor, PhD Sérgio Mascarenhas, que me abriu as portas para o estudo sobre a Pressão Intracraniana, e por compartilhar sua visão sobre sistemas complexos, trazendo a mim uma visão mais ampla sobre os preceitos da pesquisa científica.

Quero fazer um agradecimento especial, ao nosso técnico de laboratório, José Alves que me ajudava diariamente no cuidado dos animais, assim como seu cuidado ampliado à mim, um tratamento especial, tipo de pai para filho ou verdadeiro amigo. Fico extremamente lisonjeado, e feliz, que estivesse comigo nesta jornada.

Aos meus colegas de laboratório, cada um com sua devida importância, na condução deste projeto, e que me perdoem em não colocar o nome de todos, mas foram vários, e não posso cometer a deselegância de esquecer alguém. Obrigado pela vossa ajuda, sem à qual seria muito difícil de conduzir de maneira rigidamente científica. Mas entre eles, agradeço ao João Manoel Alves, especialmente, já que esteve diariamente presente comigo, na condução e execução de todas as etapas deste projeto, um valioso amigo.

Por fim, não menos importante, gostaria de agradecer a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), pelo apoio técnico-científico, estrutural e operacional, na figura dos professores, técnicos, e departamentos que fizeram acontecer esta pesquisa. Aos professores da banca de qualificação, que deram sugestões valiosas e orientações importantes para o desenvolvimento deste tese e dos artigos relacionados. Além do apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) no financiamento da pesquisa, assim como ao

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo financiamento do estudante.

RESUMO

Introdução: A obesidade é uma doença inflamatória de baixo grau, que pode levar ao desenvolvimento de outras patologias, como diabetes mellitus, dislipidemias e hipertensão arterial (HA). Considerando a relação entre a pressão arterial (PA) e a Pressão Intracraniana (PIC), dando-se através da pressão de perfusão cerebral, a HA pode ocasionar o aumento da PIC. O aumento da PIC relaciona-se ao Acidente Vascular Cerebral (AVC), enxaquecas, hipertensão ocular, entre outras patologias. Desta forma, o **objetivo** deste estudo foi analisar o comportamento da morfologia de onda da PIC frente à obesidade, analisada **de forma não invasiva**, e prospectar informações a respeito da HA, PIC, aspectos inflamatórios e metabólicos, e morfologia cerebral, em ratos *Wistar*. **Materiais e métodos:** Foram realizados dois estudos paralelos, com tratamento de 24 semanas de dieta hiperlipídica, para indução da obesidade, após uma adaptação prévia de 60 dias, com dieta padrão. No **estudo 1**, 16 ratos foram divididos nos grupos Obeso (OB, n=9) e Não Obeso (NOB, n=7). Todos os animais foram avaliados a cada 4 semanas, sendo: Percentual de gordura (%g), Massa corporal total (MT), Massa livre de gordura (MLG), Conteúdo mineral ósseo (CMO), PA, Frequência Cardíaca (FC) e PIC. No **estudo 2**, 61 animais foram divididos nos grupos, dieta hiperlipídica (DH) e dieta padrão (DP) e subdivididos por semanas em que foram sacrificados, ao longo das 24 semanas (S0, S8, S16, S24). Grupo OB e S-DH foram alimentados com DH e NOB e S-DP com DP. As avaliações das variáveis não invasivas foram realizadas no estudo 2 a cada 8 semanas, e parte dos animais sendo sacrificada. Avaliamos também: peso cerebral, conteúdo de lipídeos cerebrais, número de células da área motora primária (M1), a espessura da matéria cinza desta área, além de glicemia, perfil lipídico, e perfil inflamatório. A eutanásia aconteceu a cada 8 semanas no estudo 2, e no estudo 1 ao final das 24 semanas. **Resultados:** O estudo 1 demonstrou diferença estatística da área sob a curva da PIC, entre OB e NOB, com redução no grupo NOB, permanecendo abaixo de OB durante o tratamento. No estudo 2 não houve diferença entre grupos, apenas probabilidade de aumento do grupo S24-DH. Sobre a PA, não encontramos diferença estatística em ambos estudos. Entretanto, a FC foi diferente estatisticamente no estudo 1 sendo maior em OB, e probabilidade de aumento no estudo 2. MT, %g, MLG, e CMO foi maior nos grupos OB e S24-DH, em relação ao controle. Não houve diferença do conteúdo de lipídeos cerebrais ou do peso relativo cerebral ao final do tratamento. Houve probabilidade de diminuição do peso cerebral nos grupos DH, e também de diminuição do número total de células da M1, além de aumento da espessura da matéria cinza desta mesma área no grupo DH. Encontramos probabilidade de diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), e de aumento de Leptina ao final do tratamento em S24-DH. **Conclusão:** A DH desenvolveu a obesidade em ratos, mas não promoveu dislipidemias ou inflamação crônica. O aumento da glicemia no grupo OB demonstra possível resistência à insulina. Variações na PIC deve-se a melhor complacência cerebral do grupo NOB. A probabilidade de aumento da leptina, da espessura da matéria cinza, da perda do número de células e redução dos níveis circulantes de BDNF podem indicar a perda da plasticidade neural, de células gliais, e aumento de líquido no parênquima cerebral. Este cenário pode ser o início de um prejuízo maior para o cérebro, podendo potencialmente levar ao aumento da PIC.

Palavras chave: Pressão intracraniana. Hipertensão. Obesidade. Inflamação.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is a low-grade inflammatory disease, which can lead to the development of other pathologies, such as diabetes mellitus, dyslipidemias and arterial hypertension (AH). Compare the relationship between blood pressure (BP) and intracranial pressure (ICP), given by the cerebral perfusion pressure, AH can cause an increase in ICP. The increase in ICP is related to stroke, migraines, ocular hypertension, among other pathologies. Thus, the **aim** of this study was to analyze the behavior of the ICP wave morphology in the face of obesity, to **analyze the non-invasive form** and to prospect for information about AH, ICP, inflammatory and metabolic aspects, and cerebral morphology in *Wistar* rats. **Materials and methods:** Two parallel studies were carried out, with a 24-week treatment of a high-fat diet, to induce obesity, after a previous adaptation of 60 days, with a standard diet. In study 1, 16 rats were divided into the Obese (OB, n = 9) and Non-Obese (NOB, n = 7) groups. All animals were adopted every 4 weeks, being: Fat percentage (% g), Body mass (BM), Fat free mass (FFM), Bone mineral content (BMC), BP, Heart rate (HR) and ICP. In study 2, 61 animals were divided into the groups, high-fat diet (HFD) and chow diet (CD) and subdivided by weeks in which they were sacrificed, over the 24 weeks (W0, W8, W16, W24). Group OB and W-HFD were fed with HFD and NOB and W-CD with CD. The evaluations of the non-invasive variables were carried out in study 2 every 8 weeks, and part of the animals being sacrificed. Also extracted were: brain weight, brain lipid content, number of cells in the primary motor area (M1), the thickness of the gray matter in this area, in addition to blood glucose, lipid profile, and inflammatory profile. Euthanasia took place every 8 weeks in study 2, and in study 1 at the end of 24 weeks. **Results:** Study 1 statistical difference in the area under the ICP curve, between OB and NOB, with a reduction in the NOB group, remaining below OB during treatment. In study 2, there was no difference between the groups, only was a probability of an increase in the W24-HFD group. Regarding BP, no statistical difference was found in both studies. However, HR was statistically different in study 1, being higher in OB, and the probability of increase in study 2. BM,%fat, FFM, and BMC were higher in the OB and W24-HFD groups, compared to the control. There is no difference in brain lipid content or relative brain weight at the end of treatment. There was a probability of a decrease in brain weight in the HFD groups, and also a decrease in the total number of M1 cells, in addition to an increase in the thickness of the gray matter of this same area in the HFD group. Discovery of decreased brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and increased leptin at the end of treatment in the W24-HFD group. **Conclusion:** The HFD developed obesity in rats, but did not promote dyslipidemia or chronic inflammation. The increase in blood glucose in the OB group demonstrates possible insulin resistance. Variations in ICP are due to the better cerebral compliance of the NOB group. An increased likelihood of leptin, gray matter thickness, loss of cell number and reduction of circulating BDNF levels may indicate loss of neural plasticity, glial cells, and increased fluid in the brain parenchyma. This scenario may be the beginning of a greater damage to the brain, potentially leading to an increase in the PIC.

Keywords: Intracranial pressure. Hypertension. Obesity. Inflammation.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Pressão intracraniana (PIC)
Pressão arterial sistólica (PAS)
Pressão arterial diastólica (PAD)
Pressão arterial média (PAM)
Frequência cardíaca (FC)
Absorção de raios-x de dupla emissão de energia (DXA)
Percentual de gordura (%g)
Massa corporal total (MT)
Massa livre de gordura (MLG)
Conteúdo mineral ósseo (CMO)
Lipoproteína de alta densidade (HDL)
Triglicérides (TGL)
Lipoproteína de baixa densidade (LDL)
Lipídeos cerebrais (LC)
Massa cerebral (MC)
11 β -Hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 (11 β -HSD1)
Interleucina 1 β (IL-1 β)
Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)
Líquido cefalorraquidiano (LCR)
Volume sanguíneo cerebral (VSC)
Pressão de perfusão cerebral (PPC)
Acidente vascular cerebral (AVC)
Hipertensão intracraniana (HIC)
Dieta padrão (DP)
Dieta hiperlipídica (DH)
Córtex motor primário (M1)
Obeso (OB)
Não Obeso (NOB)
Ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Morfologia da forma de onda da pressão intracraniana.	14
Figura 2: Métodos de análise da PIC.	23
Figure 3: Tipos de morfologias das formas de onda da Pressão Intracraniana (PIC).	24
Figura 4: Desenho experimental do estudo 1 (Longitudinal).	26
Figura 5: Desenho experimental do estudo 2 (Transversal).	27
Figura 6: Análise da morfologia de onda da pressão intracraniana, modelo experimental.	30
Figura 7: Massa corporal total (MT) por DXA.	33
Figura 8: Gordura corporal (%g) por DXA.	34
Figura 9: Massa livre de gordura por DXA (MLG).	34
Figura 10: Massa muscular e conteúdo mineral ósseo (CMO).	35
Figura 11: Pressão intracraniana (PIC), não invasiva.	36
Figura 12: Morfologia da onda da PIC analisada pelo sistema Braincare Analytics.	36
Figura 13: Variáveis hemodinâmicas, pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC).	38
Figura 14: Composição corporal por DXA, peso cerebral relativo, e conteúdo de lipídeos cerebrais.	40
Figura 15: Análise hemodinâmica e da pressão intracraniana (PIC).	43
Figura 16: Variáveis hematológicas em jejum.	45
Figura 17: Análise inflamatória por Elisa em jejum.	46
Figura 18: Histologia do tecido cerebral.	48
Figura 19: Histologia da camada II-III, e V.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização das amostras, nos períodos inicial (S0) e final (S24). 37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. OBESIDADE	16
2.2. HIPERTENSÃO.....	17
2.3. PRESSÃO INTRACRANIANA	19
3. JUSTIFICATIVA	24
4. OBJETIVO.....	24
4.1. Objetivo Geral	24
4.2. Objetivo Específico	24
5. MATERIAIS E MÉTODOS	25
5.1. Animais.....	25
5.2. Desenhos Experimentais	26
5.2.4. Randomização dos animais e eutanásia	27
5.3.1. Dieta Padrão.....	27
5.3.2. Dieta Hiperlipídica.....	27
5.4. Análises	28
5.4.1. Controle de Peso e Consumo Alimentar	28
5.4.2. Composição corporal.....	28
5.4.3. Perfil lipídico e glicemia.....	28
5.4.4. Pressão arterial e Frequência Cardíaca, método não invasivo.....	29
5.4.5. Pressão intracraniana, método não invasivo	29
5.4.6. Histologia	30
5.5. Análise estatística	32
6. RESULTADOS.....	32
6.1. Estudo 1.....	32
6.2. Estudo 2.....	38
7. DISCUSSÃO	49
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS.....	62

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a obesidade é um dos grandes problemas de saúde pública, tanto em países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento. Ao considerar ainda as doenças associadas a ela, temos um aumento dos riscos de morbidade e mortalidade, reduzindo tanto a qualidade como a expectativa de vida destas pessoas (ALLISSON et al, 2008; ALAN; NG; LARBI et al., 2012). Dentre as doenças associadas à obesidade, as doenças cardiovasculares (DCV) são as de maior incidência de mortalidade no mundo. Entre as mortes do ano de 2012, as doenças crônicas não transmissíveis (Câncer, doenças cardiovasculares e doenças respiratórias) foram responsáveis por 82%, e destas, as DCV foram responsáveis por 46% ou 17 milhões de pessoas, entre as 56 milhões de mortes de 2012 (OMS, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) desde 1985 considera a obesidade uma doença, e atualmente atinge índices alarmantes, tornando-a assim um sério problema de saúde pública no mundo (MOKDAD et al., 2003). No Brasil, segundo os dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), a obesidade e o excesso de peso têm aumentado rapidamente nos últimos anos, e em todas as faixas etárias. Neste levantamento, 50% dos homens e 48% das mulheres se encontram com excesso de peso, sendo que 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres são considerados obesos. Entre as crianças, 33,5% de crianças entre cinco a nove anos apresentam excesso de peso, sendo que 16,6% do gênero masculino e 11,8 % do feminino são obesos.

O ganho de peso pode contribuir, entre 65 a 78%, com o aumento de hipertensão arterial (HA) essencial. Existe uma relação quase linear entre o aumento do índice de massa corporal (IMC) e HA. Além disso, a perda de peso previne o aumento da HA e até reduz a pressão arterial de indivíduos obesos (do CARMO et al., 2016). Desta forma, a HA é a doença mais comum associada com a obesidade, e a doença com maior taxa de mortalidade entre as DCV (OMS, 2016).

A HA pode levar ao aumento pressão intracraniana (PIC) (CZONYSKA; PICKARD, 2011; McBRYDE; MALPAS, PALTON, 2017) pelo aumento da pressão arterial média (PAM) acima de 150 mmHg assim como pela diminuição da

complacência cerebral. Ademais, a obesidade e a dieta hiperlipídica tem demonstrado relação com o aumento da Hipertensão intracraniana idiopática, caso clínico em que o paciente apresenta aumento da PIC por fatores não identificáveis facilmente, e esta relação também tem sido proposta através da perda de peso corporal como tratamento e concomitante diminuição da PIC (ANDREWS; LIU; KO, 2014; SZEWKA et al., 2013; SINCLAIR et al., 2010).

No entanto, a morfologia da forma de onda da PIC é diferente da morfologia da forma de onda da PA, pois ela apresenta três picos, sendo: P1, P2 e P3 e cada uma representação fisiológica. P1 representa o influxo arterial, P2 a complacência cerebral e distribuição de sangue pelo córtex, e P3 representa o efluxo venoso, e pode ser observada na figura 1 abaixo.

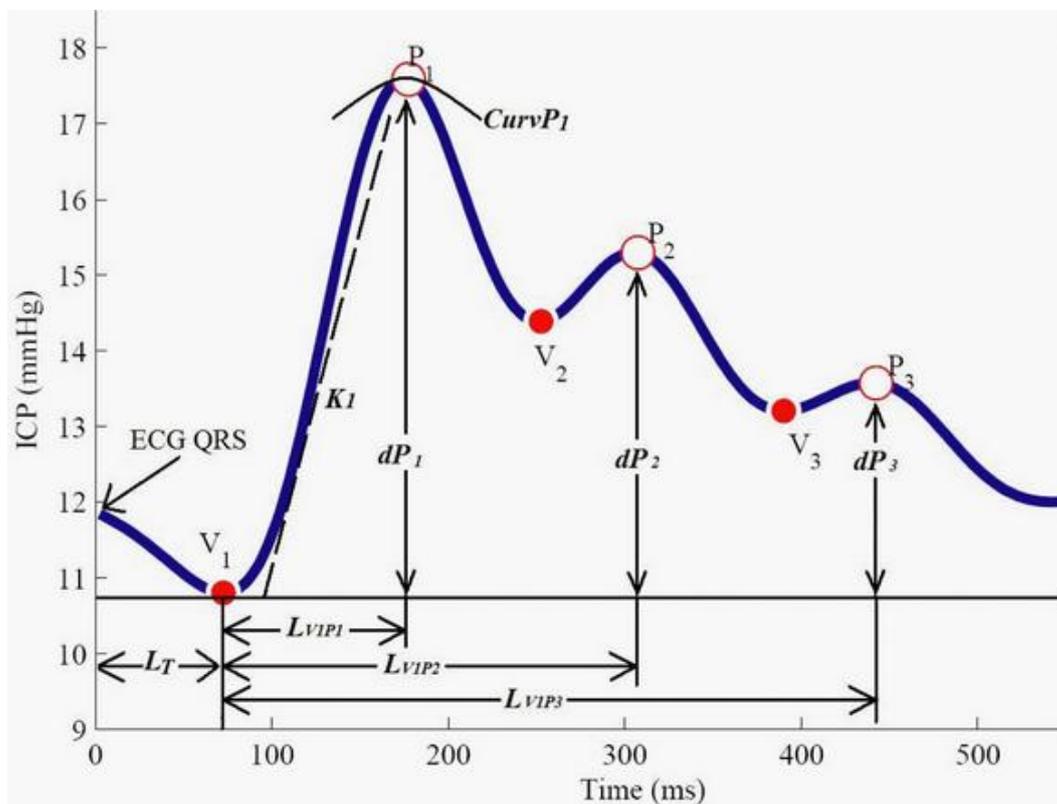


Figura 1: Morfologia da forma de onda da pressão intracraniana. Picos (P1, P2, e P3) em mmHg. Lt: Latência do final do complexo QRS (sístole ventricular) para início de P1. Tempos (ms), sendo LV1P1 para P1, LV2P2 para P2, e LV3P3 para P3.

Portanto, o presente estudo prospectou informações a respeito da PA e PIC, durante o desenvolvimento da obesidade em ratos *Wistar*, avaliando hemodinâmica, perfil inflamatório e metabólico, além da morfologia cerebral. Sendo assim, tentando elucidar quais alterações poderiam ser mais prevalentes e comuns, e se possível qual a ordem, dos efeitos associados a estas alterações. Nossa hipótese era de que a obesidade aumentaria a PA e a razão P2/P1 da PIC ao longo do tempo, com

concomitante aumento do perfil inflamatório crônico, aumento do conteúdo de lipídeos cerebrais, e alteração da morfologia cerebral.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. OBESIDADE

A obesidade é caracterizada pelo excesso de tecido adiposo branco corporal, e junto com o sobrepeso está intimamente associada ao desenvolvimento de DCV, dislipidemia, hipertensão, doenças cerebrais, acidente vascular cerebral (AVC), e resistência à insulina, na qual estando agregado a um ambiente pró-inflamatório eleva os problemas cardiovasculares (ALAN; NG; LARBI et al., 2012; ZALESIN et al., 2011; TESAURO; IANTORNO; CAMPPIA, 2013).

A classificação da obesidade pode ser realizada de diversas formas, sendo uma delas, pelo critério do índice de massa corporal (IMC), e que atualmente observa-se sua classificação através de obesidade do tipo 1, com índice acima de 30Kg/m^2 e abaixo de 35Kg/m^2 em humanos (OMS, 2016). Entretanto, esta classificação tem suas limitações, como para pessoas com grande massa muscular e consequente peso corporal. Desta forma, seria melhor e mais fidedigno realizar uma classificação através do percentual de gordura (%g), sendo que a partir de 25% em homens adultos é considerado obeso (GÓMEZ-AMBROSI et al., 2011).

Estudos envolvendo animais carecem de maiores informações à respeito de um valor de referência para obesidade em animais, uma vez que, pelo alto custo do exame, poucos estudos trazem a avaliação da composição corporal pelo método de Absorção de raios-x de dupla emissão de energia (DXA), padrão ouro de avaliação de composição corporal. Na grande maioria dos artigos publicados sobre obesidade em ratos, a quantidade de gordura do organismo é avaliado com o peso total da gordura extraída após a eutanásia, podendo posteriormente realizar o índice de adiposidade. No entanto o DXA ajuda a observar o desenvolvimento da obesidade sem a necessidade de eutanásia, favorecendo os estudos longitudinais (GERBAIX et al., 2010; YEU et al., 2019).

A obesidade é considerada atualmente uma doença inflamatória crônica de baixa intensidade, pelo fato de poder promover distúrbios metabólicos, apresentar um quadro de inflamação crônica de baixo grau, poder apresentar dislipidemias e consequentemente poder desenvolver outras patologias associadas a ela, como a hipertensão (GERBAIX et al., 2010; OMS, 2016).

Existem três possibilidades de origem da inflamação na obesidade: 1) pela liberação do fígado e células imunes; 2) o tecido adiposo branco libera fatores de estimulação para o fígado e células imunes que medeiam o processo inflamatório; 3) pela própria produção pelo tecido adiposo destes agentes. Atualmente, já foram catalogadas mais de 50 substâncias produzidas e secretadas pelo tecido adiposo, entre elas, as citocinas, que podem ser pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, destacando entre elas, as Interleucinas 1, 2, 6, 8, o Fator de necrose tumoral α (TNF- α), e a Proteína c reativa (PCR), todas pró-inflamatórias na obesidade, e ainda Interleucina 10, e Adiponectina, que são anti-inflamatórias neste mesmo contexto, além da Leptina identificada em 1994, entre outras substâncias (PRADO et al., 2009).

O processo inflamatório causado pelo tecido adiposo, tem sua origem na hipertrofia dos adipócitos, que causam uma compressão sobre os vasos sanguíneos que os circundam, causando hipóxia tecidual, levando ao consequente aumento de sinalização inflamatória através de uma resposta imune, e que persiste cronicamente, enquanto perdurar esta hipóxia (VECCHIÉ et al., 2017). E estas citocinas, tanto liberadas pelo tecido adiposo como pelos macrófagos, perfundem-se pela circulação promovendo efeitos metabólicos em todo o organismo, podendo causar resistência à insulina e hipertensão (PRADO et al., 2009).

O acúmulo de gordura no tecido adiposo ao redor das vísceras, é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de hipertensão (HA), apesar de não estar totalmente elucidada a origem dela (GERBAIX et al., 2010; HALL et al., 2015; SPERETTA et al., 2018). Este tipo de gordura é mais observado em homens, sendo um dos motivos de homens apresentarem maiores índices de hipertensão e DCV (RASKIN et al., 2000).

2.2. HIPERTENSÃO

A HA é um dos problemas de saúde crônicos mais comuns no Brasil, sendo considerada uma doença cardiovascular e que eleva os gastos públicos em saúde do país (Silva et al., 2006). Portanto, ela é uma doença que afeta órgãos alvo, como o coração e cérebro, e aumenta a mortalidade e morbidade (FELDSTEIN, 2007). Segundo a Sociedade Européia de Hipertensão (2012), a hipertensão crônica é assim definida, quando os níveis de pressão sistólica e diastólica estão em 140

mmHg de pressão arterial sistólica (PAS), e/ou 90 mmHg de pressão arterial diastólica (PAD), ou acima destes valores respectivamente, sendo assim necessário tratamento farmacológico. Em pacientes diabéticos ou doença renal crônica os índices são de 130/80 mmHg, de PAS e PAD respectivamente, necessitando em ambos os casos de tratamentos anti-hipertensivos ou de baixos níveis de lipídios (FELDSTEIN, 2007; ANTA et al., 2016).

A HA é uma doença idiopática, mas uma das causas mais comuns é o sobrepeso e a obesidade (HALL et al., 2015; FELDSTEIN, 2007) aliada a má alimentação com excesso de sal e gordura (FELDSTEIN, 2007). Ela pode ser classificada devido a sua causa, como HA primária, que representa 90% dos casos, tendo como causa primária a genética e o estilo de vida. Porém 5-10% das causas são secundárias, ou seja, promovidas por fatores ambientais, como sedentarismo, obesidade, tabagismo, diabetes entre outras patologias (POLTER et al., 2015).

A patogênese mais comum em quadros de HA, é a aterosclerose, que pode começar na primeira infância (aos 3 anos) com lesões do endotélio da aorta. O acúmulo de triglicérides e aumento de colesterol, em especial o aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) estão associados a maior probabilidade do paciente ter aterosclerose. Esta patogênese é a doença causada pelo aumento de depósitos de triglicérides e colesterol no endotélio vascular, principalmente pela deposição causada pelo LDL que por sua vez, deverá causar um ambiente inflamatório para converter estas substâncias infiltradas no endotélio em placas de ateroma. Uma vez as placas de ateroma desenvolvidas, deve causar diminuição cada vez maior da luz do vaso sanguíneo para a passagem de sangue, pois há um contínuo aumento de infiltração de triglicérides e colesterol neste ponto do endotélio, e desta forma, aumentando cada vez mais a PA (SANTOS et al., 2007).

Nesse sentido, a hipertensão também pode ser causada por outros fatores, como a arteriosclerose, que é a perda da função elástica e conseqüente complacência dos vasos, ou ainda por doença renal crônica, hiperaldosteronismo primário, apnéia obstrutiva do sono, doenças endócrinas como hipotireoidismo e hipertireoidismo, diabetes, entre tantas outras (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, 2016). Este cenário, demonstra a dificuldade de avaliar a causa específica da HA, podendo inclusive apresentar mais de uma causa. No entanto,

independente das causas da hipertensão, sabe-se que pode elevar a probabilidade de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC), ataques cardíacos, doenças renais, perda de memória e de tecido neural, prejudicando assim a qualidade de vida e aumentando a incidência de mortalidade e morbidade (ABDULAH et al., 2012; SOLTELO et al., 2014).

Sendo assim, o estudo da hemodinâmica relacionando-a com a PIC é de suma necessidade de avaliação e aprofundamento deste conhecimento, visto que existe critérios estabelecidos de manutenção da complacência cerebral em determinada faixa pressórica sistêmica, que será detalhada abaixo, em pressão intracraniana.

2.3. PRESSÃO INTRACRANIANA

A PIC é a pressão contida dentro da caixa craniana. A caixa craniana tem um volume que contém três componentes: Líquido Cefalorraquidiano (LCR), parênquima cerebral, e o sangue. Qualquer alteração destes componentes pode alterar a PIC (CABELLA et al., 2016; VILELA, 2010).

Apesar de cada um dos componentes poder alterar, e assim modificar o comportamento da PIC, o tecido cerebral, que representa 85% do volume total da caixa craniana (constituído de 75% de água e os 25% restantes de corpos celulares), pode ser alterado por trauma ou tumor, sendo mais constante seu volume. Desta forma, a variação mais recorrente da PIC deve-se ao LCR e ao volume sanguíneo (POPP; BOURKE, 1977). O volume de sangue no sistema nervoso é de 4,5ml/100g de tecido cerebral, sendo 60% do sangue venoso e 40% arterial (MUIZELAAR; OBRIST, 1985).

Vários parâmetros fisiológicos são importantes para o cérebro, como por exemplo o Fluxo Sanguíneo Cerebral (FSC), a Resistência Vascular Cerebral (RVC), a Pressão Arterial Média (PAM), a Pressão Venosa (PV), a Pressão de Perfusão Cerebral (PPC) e a PIC (CARLOTTI Jr.; COLI; DIAS, 1998).

O FSC é o que garante a entrega de sangue para o parênquima cerebral. A RVC é a resistência dos vasos contra a saída de sangue dos vasos para o tecido. A

RVC é inversamente proporcional a grandeza do fluxo, portanto, se tiver aumento da RVC, terá diminuição do FSC (CARLOTTI Jr.; COLI; DIAS, 1998).

A PAM é a pressão arterial média encontrada no sistema, que se dá pela equação: $PAM = \frac{Pressão\ Sistólica + (2 \times Pressão\ Diastólica)}{3}$

A PV é a pressão venosa, que é difícil de ser obtida, mas que ocorre paralela à PIC, portanto sendo considerada para cálculo a PIC.

A PPC é o gradiente de pressão que permite o fluxo de sangue no tecido cerebral, e é diretamente proporcional ao FSC. A PPC é igual a PAM – PV, mas como será considerada a PIC, substitui-se na equação ficando PPC = PAM – PIC (PV).

Desta forma se obtém uma equação para cálculo do FSC, sendo:

$$FSC = \frac{PPC}{RVC} = \frac{(PAM - PIC)}{RVC}$$

O FSC está sujeito a autorregulação cerebral a fim de manter o cérebro nutrido adequadamente, e esta autorregulação pode ser de duas maneiras, pressórica ou metabólica. A autorregulação metabólica se faz pelo acúmulo de CO₂ que é potente vasodilatador da musculatura lisa vascular, com isto o acúmulo de CO₂ tem grande efeito sobre o FSC. A ação do CO₂ é decorrente da alteração do pH do líquido extracelular (VILELA, 2010; MARMAROU; TABADDOR, 1993).

Em resumo, o acúmulo do CO₂ proveniente de acidose, leva o relaxamento da musculatura lisa vascular cerebral que por sua vez, diminui a RVC. O contrário acontece quando há diminuição da concentração de CO₂ e conseqüente aumento do pH, com aumento da RVC por diminuição do relaxamento da musculatura lisa vascular. Embora o FSC permaneça constante, o fluxo sanguíneo se altera com as necessidades metabólicas do cérebro, havendo forte relação entre o fluxo sanguíneo e atividade metabólica do córtex (VILELA, 2010; MARMAROU; TABADDOR, 1993).

A autorregulação pressórica acontece quando a PAM está entre 50 e 150 mmHg, demonstrando que há uma grande faixa de variação da pressão sistêmica, que mesmo assim o córtex mantém o FSC e a PIC em padrões fisiológicos. Desta forma, a autorregulação pressórica é realizada de duas formas, uma em relação ao ambiente de baixa pressão sistêmica e outra com a alta pressão sistêmica. Em

resposta a uma baixa pressão sistêmica, os vasos que nutrem o tecido cerebral tendem a dilatar para facilitar o aporte de sangue para o cérebro, junto a diminuição da RVC. Esta vasodilatação pode ser intensa para manutenção do FSC, que por sua vez pode levar ao ingurgitamento dos vasos, levando a vasoplegia, a piora da perfusão sanguínea e o acúmulo de sangue. Desta forma, uma vez que o aumento de fluxo sanguíneo aumenta a PIC, a PIC chegará a se igualar a PAM interrompendo assim o fluxo sanguíneo para o próprio córtex. Este cenário é muito comum em grandes hemorragias (VILELA, 2010; MARMAROU; TABADDOR, 1993).

Por outro lado, quando há níveis elevados da PAM, há forte vasoconstrição para não permitir grande FSC, que por sua vez elevaria a PIC. Entretanto, acima de 150 mmHg da PAM, deve ocorrer vasodilatação dos vasos, só que por dilatação passiva das altas forças exercidas em virtude da PA, aumentando assim o FSC e conseqüentemente a PIC (VILELA, 2010; MARMAROU; TABADDOR, 1993).

Doenças intracranianas, e doenças secundárias como a obesidade podem causar aumento da PIC (VILELA, 2010; ANDREWS; LIU; KO, 2014). Os valores de PIC normais em humanos estão entre 3 e 15 mmHg. O aumento do FSC e da PIC pode ocasionar diversas complicações decorrentes de acordo com a sua causa e podendo levar a morte (MARMAROU; TABADDOR, 1993; POPP; BOURK, 1977; ANDREWS; LIU; KO, 2014).

Seguindo a mesma causa relacionada ao sistema cardiovascular (idiopática), a hipertensão intracraniana também pode levar ao Acidente Vascular Cerebral (AVC), tanto o hemorrágico quanto o isquêmico. Isto demonstra que a pressão arterial é um componente importante e significativo a ser avaliado e analisado conjuntamente a PIC, pois a literatura já demonstra a fisiologia do sistema, porém a PIC é muito pouco estudada diante das dificuldades encontradas para a sua avaliação sem a necessidade de internação em hospitais (DE-LIMA-OLIVEIRA et al., 2018).

O aumento da pressão arterial tem forte correlação com a diminuição da RVC e aumento do FSC, que por sua vez eleva a PIC (CARDIM et al., 2016). Segundo Cardim et al. (2016), dos casos de infarto cerebral (AVC), 10-25% são de infartos hemorrágicos e isto tem um prognóstico ruim, pois 65% deles levam a morte. E o AVC está relacionado a doenças cardíacas como a hipertensão e ao aumento da PIC. A PIC quando aferida e em estágios iniciais como na Hidrocefalia por exemplo,

a doença pode ser tratada e revertida, tornando-se essencial para o diagnóstico (CABELLA et al., 2016).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a obesidade tem forte correlação com o aumento da hipertensão intracraniana idiopática, principalmente em mulheres e hispânicos (ANDREWS; LIU; KO, 2014; ROWE; SARKIES, 1999), porém ainda não está totalmente elucidada esta questão, pois é uma doença multifatorial de difícil diagnóstico. Segundo Andrews, Liu, e Ko (2014) chineses, coreanos e japoneses tem um menor percentual de hipertensão intracraniana, mas também há um número diminuto de obesidade nestas populações. Estes resultados sugerem, que há uma forte correlação da PIC com a obesidade, mas não somente com a obesidade, outros fatores ambientais, ou genéticos, entre outros fatores, o que torna a hipertensão intracraniana idiopática uma doença de difícil diagnóstico e maus prognósticos. Segundo Rowe, e Sarkies (1999), a hipertensão intracraniana idiopática, e os sintomas relacionados a ela, pode ser causada por edema cerebral, absorção anormal do LCR, e aumento do volume de sangue no cérebro.

Atualmente, pesquisas tem demonstrado que a PIC pode estar relacionado ao perfil inflamatório, que por sua vez pode ter uma ação direta ou indireta sobre o aumento da PIC. Sendo assim, Sinclair et al. (2008), demonstram que a obesidade pode levar a aumentos de agentes pró-inflamatórios como interleucina 1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), Leptina, 11β – Hidroxysteróide Desidrogenase tipo 1 (11β -HSD1), entre outros. IL-1, TNF- α e IL-6, são citocinas que podem ajudar a aumentar a produção de 11β -HSD1, uma molécula que tem sido apresentada com uma forte correlação entre obesidade e PIC, assim como a Leptina podendo provocar o aumento de LCR e água no córtex (SINCLAIR et al., 2008). A 11β -HSD1 é responsável por transformar cortisona em cortisol, que por sua vez aumenta a síntese e produção de Aquaporinas-1, que se fixará na membrana basal do ventrículo, aumentando assim a produção de LCR, que conseqüentemente aumentaria a PIC (ULDALL et al., 2017).

Os estudos relacionados à obesidade encontrados na literatura, como os mencionados acima, tem sido realizados de forma epidemiológica, já que até o momento os métodos de análise para a PIC são realizadas de maneira invasiva (figura 1A). Mascarenhas e Vilela (2013) criaram um novo equipamento e método de análise para a PIC (figura 1B), que demonstrou haver forte correlação ($r=0,82$) com o

método invasivo, em estudo realizado por Cabella et al. (2016), com ratos Wistar, tornando-se seguro e criando outras possibilidades de estudos que antes só eram realizados em leito hospitalar, porém com possibilidades de infecção.

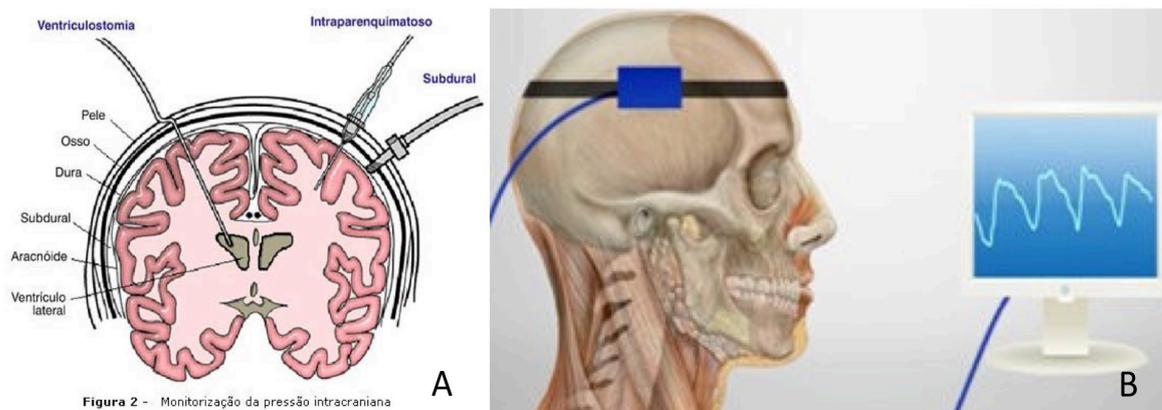


Figura 2: Métodos de análise da PIC. A: método de análise invasivo, e seus três tipos de colocação dos cateteres (intraventricular, intraparenquimatoso, e subdural); B: método análise não invasivo (Braincare[®]), utilizado em seres humanos, colocado sobre o osso temporal.

Desta forma, avaliamos a PIC de maneira não invasiva, pela análise da morfologia da forma de onda da PIC, e através da razão $P2/P1$, a qual se for >1 significa que o P2 está acima de P1, portanto, com prejuízo da complacência cerebral. E na sequência avaliamos a característica de classificação morfológica da onda da PIC. Além da avaliação da morfologia das curvas de pressão da PIC avaliamos comportamento da razão $P2 / P1$ da PIC, e a morfologia cerebral, assim como a PA em relação ao desenvolvimento da obesidade e suas alterações metabólicas, pois tentamos avaliar as interferência da obesidade sobre a morfologia do sistema nervoso, e conseqüente aumento da razão $P2 / P1$, podendo se enquadrar em um estado potencialmente patológico.

A classificação morfológica seguiu a classificação de Nucci et al. (2015), em que demonstra quatro subtipos, das ondas demonstrados na figura 3 abaixo. O processo patológico, segue um processo de desenvolvimento, através do aumento da P2, sobre P1, e continuando posteriormente o aumento de P2 mas com aumento de P3 também sobre P1; seguindo uma diminuição drástica do registro da P1, indo ao desenvolvimento de uma curva em sino.

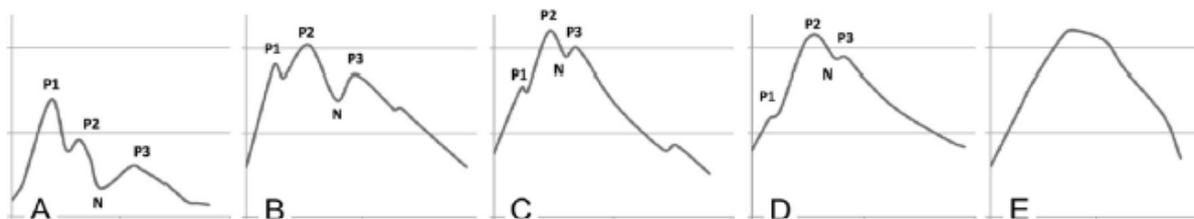


Figure 3: Tipos de morfologias das formas de onda da Pressão Intracraniana (PIC). A) Classe I – Normal; B) Classe II – Potencialmente patológica; C) Classe III – Semelhante a patológica; D e E) Classe IV – Patológica. Retirado de Nucci e colaboradores 2015.

3. JUSTIFICATIVA

Devido a forte relação encontrada entre obesidade e hipertensão já amplamente estudada, e haver grandes indícios de relação entre a obesidade, hipertensão e a pressão intracraniana, este trabalho torna-se um ponto chave e inovador para futuros estudos, já que este projeto tenta prospectar informações sobre esta relação entre obesidade, PIC e HA buscando entender estes efeitos ao longo do tempo sobre a morfologia cerebral e a morfologia de forma de onda da PIC.

Desta forma, a pressão intracraniana, que antes não poderia ser avaliada fora do leito hospitalar, com o novo aparelho citado neste projeto, abre-se esta oportunidade experimental e clínica para estudos aprofundados sobre o tema ainda pouco estudado, e os fatores ambientais que podem exercer influência sobre esta variável. A PIC avaliada de forma não invasiva, além de ser uma inovação nacional reconhecida internacionalmente, fornece índices quantitativos com extrema precisão, e pode ter importante valor sócio-econômico, ao permitir ações preventivas na identificação de casos que podem evoluir para o AVC, por exemplo.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo Geral

Avaliar e prospectar a influência da obesidade sobre a pressão arterial e a pressão intracraniana.

4.2. Objetivo Específico

Avaliar o comportamento da PIC através da morfologia da forma de onda da PIC, picos P1, e P2 durante o desenvolvimento da obesidade em ratos;

Categorizar a obesidade em ratos *Wistar*, por valores de referência;

Quantificar e avaliar a inflamação crônica relacionada a obesidade com relação a hipertensão e a PIC de ratos;

Avaliar a morfologia cerebral da matéria cinza do córtex motor primário (M1) de ratos;

Quantificar e comparar a quantidade de células do córtex motor primário (M1) de ratos;

Quantificar e avaliar os lipídeos no cérebro de ratos;

Quantificar e avaliar o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em relação ao desenvolvimento da obesidade;

Avaliar possíveis efeitos das variáveis analisadas em relação a obesidade utilizando métodos de análise “time-course”.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Animais

Para o desenvolvimento deste trabalho de doutorado foram utilizados um total de 63 ratos *Wistar* machos, com idade inicial de 45 dias, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), e divididos em dois estudos. No entanto, dois animais foram descartados por patologias e retirados do estudo, permanecendo com 61 animais. O estudo 1, estudo longitudinal, utilizou 16 animais divididos nos grupos Obeso (OB, n=9) e Não Obeso (NOB, n=7), e o desenho experimental pode ser observado na figura 2, sendo que os animais OB receberam dieta hiperlipídica e os animais NOB receberam dieta padrão. O estudo 2, estudo transversal, foi divididos em dieta padrão (DP) e dieta hiperlipídica (DH), e subdivididos por semanas de análise, que são detalhados abaixo na figura 3, em desenho experimental transversal, sendo avaliados e eutanasiados a cada 8 semanas (S0, S8, S16 e S24). Todos os animais foram aclimatados durante 60 dias, recebendo dieta padrão, e com 105 dias de vida foram selecionados randomicamente para os grupos e estudos propostos.

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com três animais por caixa, e permaneceram no Biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício, do Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, em

temperatura ambiente entre de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e luz controlada em ciclo de 12h (claro/escuro). A água e a comida foram *ad libitum*. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSCar (parecer CEUA N 8239170317) e seguiram as normas do Concelho Nacional de Cuidados e Experimentação Animal (CONCEA).

5.2. Desenhos Experimentais

5.2.1. Estudo 1: Os grupos experimentais foram compostos por 9 animais por grupo (NOB, n=9, e OB, n=9). No entanto, após falecimento de dois animais do grupo NOB, sendo seus dados retirados do estudo, o grupo NOB ficou com n=7. Todos os animais foram avaliados de maneira não invasiva durante 24 semanas. O desenho experimental pode ser visto abaixo, na figura 4.

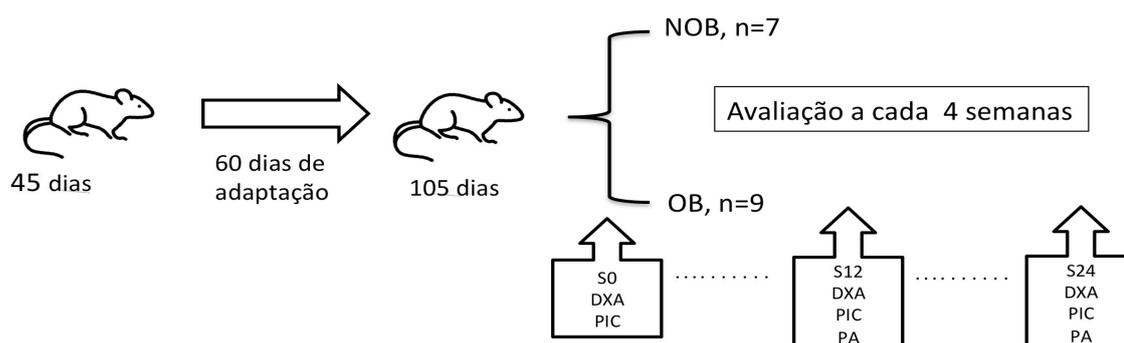


Figura 4: Desenho experimental do estudo 1 (Longitudinal).

5.2.2. Estudo 2: Os grupos experimentais foram compostos por 9 animais por grupo, sendo subdivididos por semanas de avaliação. As avaliações foram realizadas a cada 8 semanas e o animal eutanasiado após as análises não invasivas, referentes a sua semana. As demais avaliações foram realizadas após coleta de tecidos, detalhado abaixo nas suas respectivas metodologias. O desenho experimental pode ser visto abaixo, na figura 5. Os animais foram subdivididos da seguinte forma:

- **Grupo dieta padrão (DP):** Dieta padrão inicial (S0-DP), Dieta padrão semana 8 (S8-DP), Dieta padrão semana 16 (S16-DP), Dieta padrão semana 24 (S24-DP).

- **Grupo dieta hiperlipídica (DH):** Dieta hiperlipídica semana 8 (S8-DH), Dieta hiperlipídica semana 16 (S16-DH), Dieta hiperlipídica semana 24 (S24-DH).

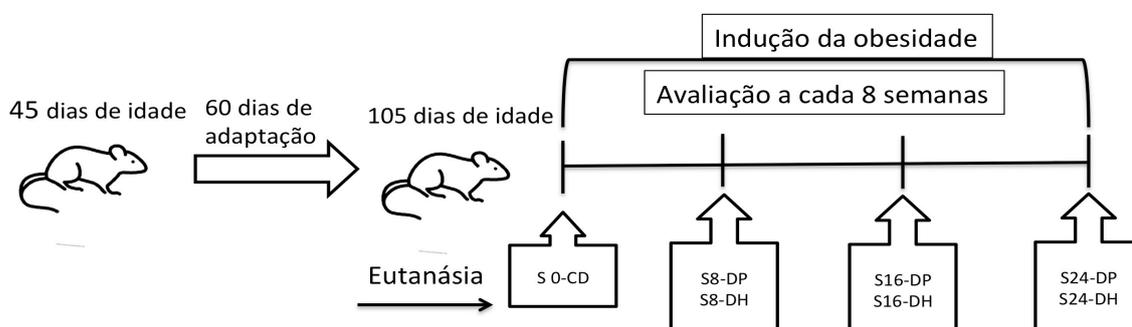


Figura 5: Desenho experimental do estudo 2 (Transversal)

5.2.4. Randomização dos animais e eutanásia

Os animais foram pesados na sua chegada (45 dias) e distribuídos em caixas coletivas, por peso semelhante dos animais. Após os 60 dias de adaptação, todos os animais foram pesados novamente, e realizado distribuição para os grupos experimentais de forma randômica, através de quartis, e divididos por peso semelhantes nas caixas. A eutanásia dos animais foi realizada por decapitação, com horário pré-definido para cada animal, que permaneceu em jejum de 12 horas.

5.3. Composição das dietas

5.3.1. Dieta Padrão

Como dieta padrão, foi utilizado ração balanceada da marca Agromix[®] (São Paulo, Brasil). A composição nutricional conforme a especificação do fornecedor para cada 100g foi de: 22,81g de proteína; 39g de carboidrato; 4,8g de gordura; 5,82g de fibras, e sua densidade calórica de 3,854 Kcal/g, e utilizado nos grupos NOB (estudo 1) e DP (estudo 2).

5.3.2. Dieta Hiperlipídica

A dieta hiperlipídica (DH) para desenvolver obesidade em ratos foi padronizada por Estadella et al. (2004) e também utilizada em outros trabalhos publicados pelo nosso laboratório (DUARTE et al, 2008, 2012; OISHI et al., 2018). Essa dieta é preparada pela mistura de: três parte de ração balanceada; duas partes

de amendoim torrado; duas partes de chocolate ao leite; e uma parte de bolacha maisena. A composição nutricional conforme análise contratada para cada 100g foi de: 18,12g de proteína; 32,9g de carboidrato; 20g de gordura; 2,97g de fibras, e sua densidade calórica de 4,665 Kcal/g. A densidade calórica foi determinada através do calorímetro adiabático (IKA-5000), sendo utilizada nos grupos OB (estudo 1) e NOB (estudo 2)

5.4. Análises

5.4.1. Controle de Peso e Consumo Alimentar

Durante todo o período experimental, o consumo alimentar de cada animal foi controlado diariamente e o peso do animal foi controlado três vezes por semana. Os valores obtidos pela pesagem em balança analítica foram anotados em fichas individuais (DÂMASO, 1996), e apenas para controle de ingesta e peso dos animais, para um possível distúrbio patológico apresentando perda de peso ou consumo alimentar, fato este que indicou a exclusão de dois animais do experimento. Para análise de composição corporal foi utilizado Absorção de Raios X de Dupla Energia (DXA).

5.4.2. Composição corporal

Para análise de composição corporal foi utilizado o DXA (Discovery A, Hologic Inc.[®] – Beldford, MA – USA). Os animais, após serem anestesiados foram posicionados ventralmente no centro do scanner. Foi analisado Massa livre de gordura (MLG (g)), Massa corporal total (MT (g)) Gordura corporal (%g), e Conteúdo mineral ósseo (CMO (g)). O instrumento foi calibrado a cada início de avaliação, sempre realizado no período da manhã com os animais sedados por Ketamina (80 mg/Kg) e Xilazina (32 mg/Kg).

5.4.3. Perfil lipídico e glicemia

As determinações bioquímicas do soro, Colesterol total, HDL-colesterol e Triglicerídeos, foram realizadas por método colorimétrico enzimática através dos kits

Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda (Pinhais/PR), seguindo as recomendações do fabricante. A glicemia foi realizada através de glicosímetro Roche®, por fita pela cauda do animal, coletado antes da eutanásia. Os animais permaneceram em jejum de 12 horas antes da eutanásia seguindo as recomendações para análises posteriores.

5.4.4. Pressão arterial e Frequência Cardíaca, método não invasivo

A pressão arterial (PA) e a Frequência Cardíaca (FC) foram determinadas através de sensor de registro de pressão de volume (VPR) caudal de PA não invasivo, Insight® V3.0, com o animal acordado e com restrições de movimento. Um tubo de medida semelhante ao contentor de movimento era colocado nas caixas dos animais três a cinco dias antes da avaliação, para adaptação e diminuição do estresse. Foram realizadas três a cinco aferições para cada animal, em cada avaliação, sendo estipuladas médias entre elas para análise. Foram aferidas pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). Para isto o animal era pré-aquecido em local designado a uma temperatura próxima de 60°C, para dilatação da artéria caudal. Estas análises, somente foram possíveis a partir da semana 12.

5.4.5. Pressão intracraniana, método não invasivo

A morfologia da onda de pressão intracraniana foi avaliada com os ratos anestesiados com Ketamina (80mg/kg) e Xilazina (32mg/kg) e mantidos com respiração espontânea. Esta análise foi realizada no mesmo período de avaliação da composição corporal, durante o período da manhã. Foi utilizado sensor não invasivo Braincare® BcSs PICNI 1000, fixado em estereotáxico, e colocado sobre a cabeça do animal, na região parietal. Os dados foram coletados no equipamento Braincare® BcMM 3000 com taxa de aquisição de 100Hz durante o período de 10 minutos. Os dados foram carregados no sistema Braincare analytics para posterior análise.

O sistema entrega gráfico, pulso a pulso, assim como dados médios a cada minuto, da morfologia da forma de onda da PIC, frequência cardíaca, P1 e P2 (em

mV), tempos t_1 e t_2 (tempo para os picos P1 e P2 (s)), e time to peak (TTP, tempo para o início do primeiro pico).

Sendo assim, foi realizado a medida da amplitude das curva P1 e P2, e realizado a razão entre P2 e P1 (P_2 / P_1) para cada minuto, e realizando média da razão P_2/P_1 do tempo de observação total de cada animal. Na sequência, foi complementado com análise observacional da morfologia da onda, em relação a classificação citada por Nucci et al. (2016). Esse modelo de avaliação foi previamente avaliado e validado por Cabella et al. (2016), com forte correlação de Pearson (0,82) com o método invasivo.

Ademais, logo abaixo é possível observar na figura 6B a metodologia de análise da morfologia de curva da PIC, registrada em amarelo, durante sua análise. A figura 6A a seguir, demonstra o animal posicionado no estereotático para as medidas.

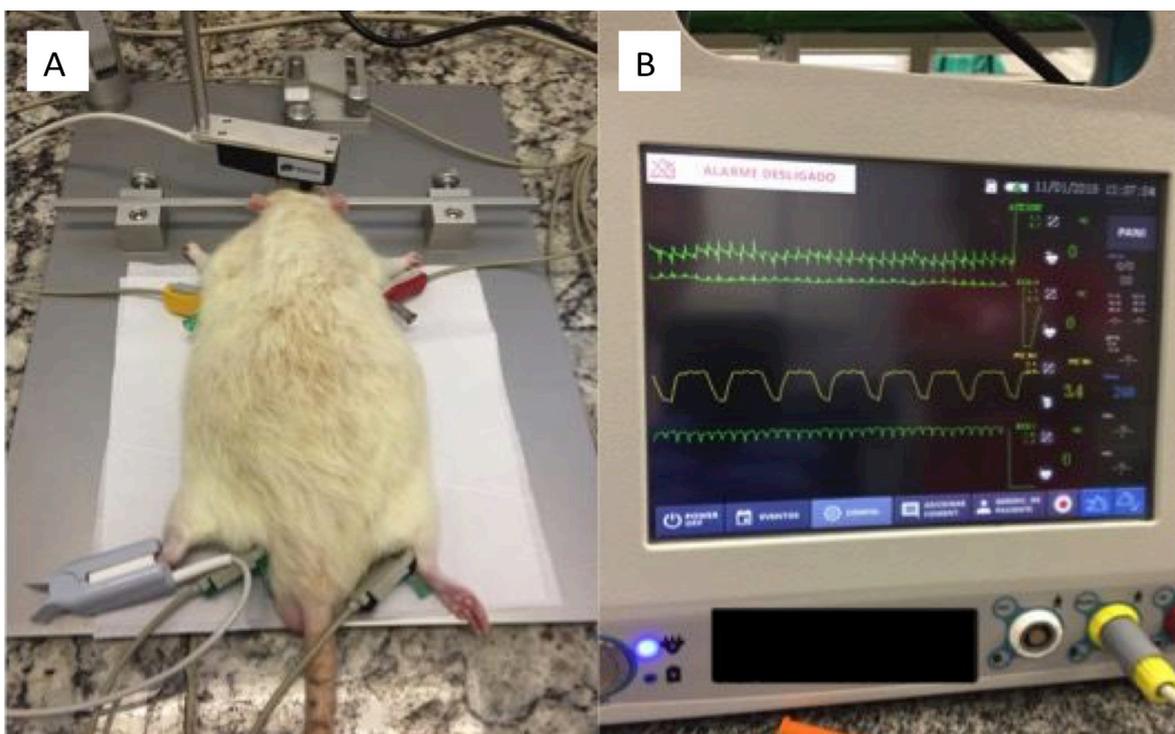


Figura 6: Análise da morfologia de onda da pressão intracraniana, modelo experimental. 4A: animal sedado fixado ao estereotático, com sensor sobre o lobo parietal. 4B: gravação de dados pulso a pulso. Sinal de morfologia da forma de onda ICP (amarelo).

5.4.6. Histologia

Foram coletados trechos de 3 milímetros de corte transversal do cérebro do lobo parietal (interauroal = 6,72mm e bregna = -2,28mm) seguindo mapa histológico de Paxinos; Watson (2005). As amostras foram rapidamente embebidas na solução

fixadora de Karnovsky modificada, contendo solução de glutaldeído 3% (Merk, Alemanha) e formalina 10% por 72 horas. Em seguida, o material foi lavado em água corrente, submetido à desidratação com passagens sucessivas em soluções de concentrações crescentes de etanóis (70% a 100%) e diafanizado por xilol.

A inclusão foi realizada em parafina histológica. Foram realizados cortes de 6 μm de espessura em um micrótomo (Leica, DMR[®]) e coletados em lâminas de vidro para microscopia. Após isso, foram desparafinizados em estufa a 58° C e banhados em séries de xilóis, hidratados em soluções de concentrações decrescentes de etanóis e lavados em água destilada.

A coloração foi realizada com Hematoxilina–Eosina (HE) e utilizado para aquisição de imagem, o “Scanner” Panoramic Desk” (3DHISTECH[®], Budapest, HUNGARY) com objetiva de 40X para digitalizar lâminas histológicas coradas. Para análise das medidas de espessura da matéria cinza (μm) e contagem de células foi utilizado o software Image J (public domain Java[®] image processing program, NIH). Foram analisadas a espessura da matéria cinza do córtex motor primário (M1), quantidade de células totais das camadas granular e piramidal (II e III) e também da camada piramidal (V) desta mesma área (M1); além da quantidade de células piramidais encontrada nas camadas II-III, e V.

5.4.7. Ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA): IL-1 β , BDNF, Leptina, e 11 β Hidroxisteróide Desidrogenase tipo 1.

As concentrações séricas de Interleucina 1 β (IL-1 β), Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), Leptina e 11 β - Hidroxisteróide Desidrogenase tipo 1 foram realizadas a partir da coleta do soro e determinadas pelo método de Ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA), seguindo as especificações correspondentes dos Kits comerciais.

Desta forma, o sangue coletado na eutanásia foi acondicionado em tubos sem anticoagulante por aproximadamente 2 horas até a sua coagulação. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos. O soro resultante desta centrifugação foi aliqüotado em microtubos e congelado a -80°C. As microplacas de alta afinidade foram sensibilizadas com anticorpos monoclonais anti-citocinas e permaneceram “overnight” a temperatura ambiente. Após bloqueio com

tampão fosfato salina (PBS), as placas foram lavadas, adicionados sobrenadantes e efetuados curvas padrão de citocinas recombinantes.

As placas foram mantidas a temperatura ambiente e em seguida, foi realizada a nova lavagem. Foram adicionados anticorpos anti-citocinas biotinilados e mantidos por tempos e temperatura específicos. Os resultados foram expressos em densidade óptica e feito as curvas e equações para cálculo das concentrações em pg/mL.

5.4.8. Massa cerebral e conteúdo de lipídeo cerebral

Após eutanásia por decapitação o cérebro foi coletado, pesado imediatamente, e aliqüotado para futuras análises. Posteriormente, foi realizado sua relativização da massa cerebral (MC) para cada 100g da massa corporal total (MT). O conteúdo de lipídios se deu através de análise de 200mg de tecido homogeneizado com clorofórmio, filtragem e suspensão de outras substâncias, seguindo protocolo de Folch, Lees, e Stanley (1957).

5.5. Análise estatística

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a homocedasticidade e homogeneidade dos dados, por meio de média \pm desvio padrão. No estudo 1, calculou-se a área sob a curva e realizou-se a análise de variância intergrupos (ANOVA Two-Way) com post-hoc de Bonferroni, para análises realizadas nas 24 semanas. Para PAD, PAS, PAM e FC foi realizado um teste t-Student independente após o cálculo da área entre as semanas 12 e 24. No estudo 2, foi realizado análise de variâncias intergrupos (ANOVA One-Way) com post-hoc de Tukey, e Kruskal-Wallis com post-hoc de Dunns para variável não paramétrica. O teste g de Hedges corrigido foi utilizado para observar o tamanho do efeito entre as médias de dois grupos na semana 24, e utilizado a escala d de Cohen para analisar o tamanho do efeito em linguagem comum (TDE-LC) de McGraw e Wong para analisar as probabilidades. A análise estatística foi realizada através do software SPSS v.22. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1. Estudo 1

O estudo longitudinal demonstrou a influência da dieta na composição corporal dos animais ao longo do tempo de estudo. Desta forma, a dieta hiperlipídica promoveu aumento da massa corporal e do percentual de gordura corporal dos animais OB em relação ao grupo NOB. A Figura 7A demonstra o evolução da massa corporal total ao longo das 24 semanas de tratamento, sendo possível observar que os ratos obesos (OB) iniciaram com a mesma condição do grupo NOB, mas obtiveram uma massa corporal muito maior ao final do tratamento.

A obesidade foi classificada primeiramente na semana 12 pela MT com o grupo OB apresentando $601,1 \pm 50,7g$, semelhante aos dados de Leopoldo et al. (2016), que apresentam como valor de referência $546 \pm 56g$ para ratos iniciantes obesos, porém em 15 semanas de experimento. ANOVA two-way demonstrou uma interação entre a covariável tempo e os grupos ($F = 10,42$; $p = 0,0029$). Observa-se ainda, que os animais NOB também ganham peso com o tempo, entretanto a dieta aplicada ao OB apresenta um maior aumento da massa corporal em relação ao NOB, podendo ser observado com um aumento mais significativo da semana 12 ($p < 0,05$) para a semana 24 ($p < 0,001$) mostrado na figura 7B.

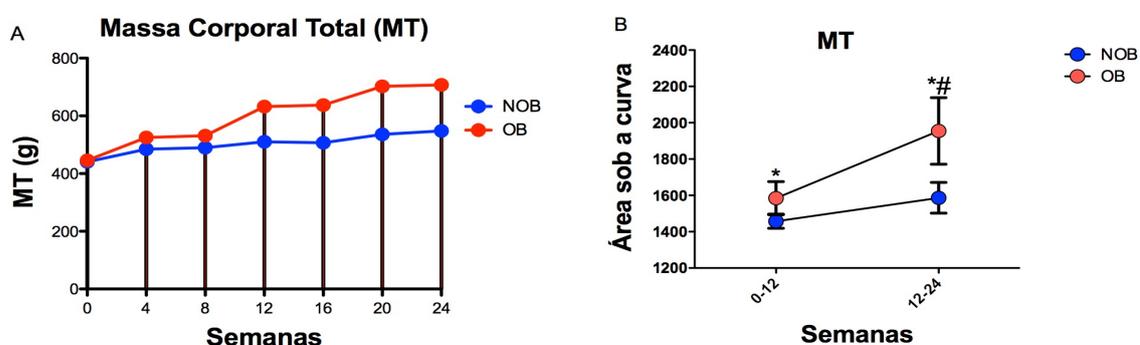


Figura 7: Massa corporal total (MT) por DXA. NOB = ratos não obesos (azul); OB = ratos obesos (vermelho). 7A Desenvolvimento da massa corporal ao longo de 24 semanas (médias do grupo). 7B Área sob a curva entre os períodos 0 - 12 semanas e entre 12 - 24 semanas com ANOVA de duas vias com post-hoc de Bonferroni. * Diferente entre semanas do mesmo período ($p < 0,05$, período de 0 a 12 semanas e $p < 0,001$ de 12 a 24 semanas) # diferente entre os grupos ($p < 0,001$).

Com relação ao %g, ANOVA two-way não demonstrou interação entre os grupos e a covariável tempo ($F = 3,394$; $p = 0,0747$). Porém, os ratos OB apresentaram grande aumento ($p < 0,001$) durante o período de tratamento em relação ao NOB, que se manteve constante. A diferença cresce ainda mais da semana 12 para a semana 24 observada através do aumento na significância, bem

como através da massa corporal, e demonstrada na figura 8B e o maior acúmulo de gordura no OB é mostrado na figura 8A.

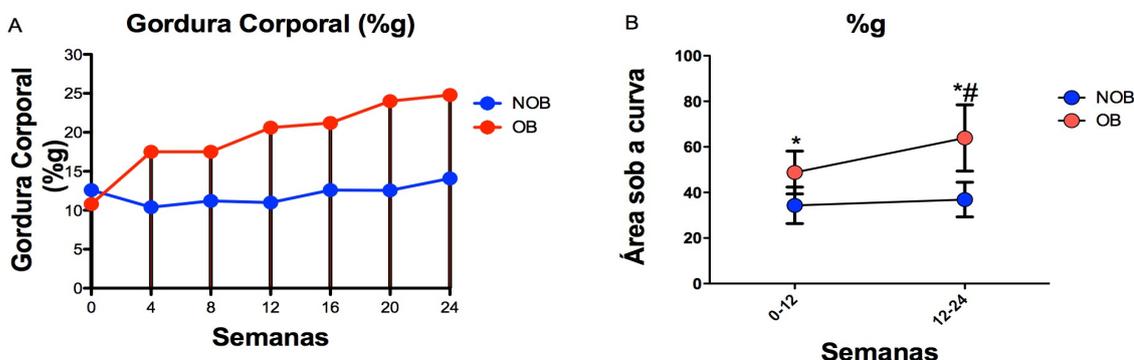


Figura 8: Gordura corporal (%g) por DXA. NOB = ratos não obesos (azul); OB = ratos obesos (vermelho). 8A Desenvolvimento do percentual de gordura ao longo de 24 semanas (médias do grupo). 8B Área sob a curva entre os períodos de 0 a 12 semanas e entre 12 a 24 semanas. ANOVA de duas vias com post-hoc de Bonferroni. *Diferente entre semanas do mesmo período ($p < 0,05$, período de 0 a 12 semanas e $p < 0,001$ de 12 a 24 semanas) # diferente entre os grupos ($p < 0,001$).

Também foi observado no estudo 1 aumento significativo da MLG no grupo OB em relação ao grupo NOB, havendo interação entre os grupos e a covariável tempo ($F = 5,576$; $p = 0,0245$). O desenvolvimento da MLG durante o período pode ser visto na figura 9A. Embora a massa corporal comece na mesma condição inicial, o %g e MLG foram diferentes entre os grupos na semana 0, como pode ser visto na tabela 1. No entanto, houve um aumento significativo entre os grupos entre as semanas 12 e 24, demonstrado pela estatística ($p < 0,001$) na figura 9B.

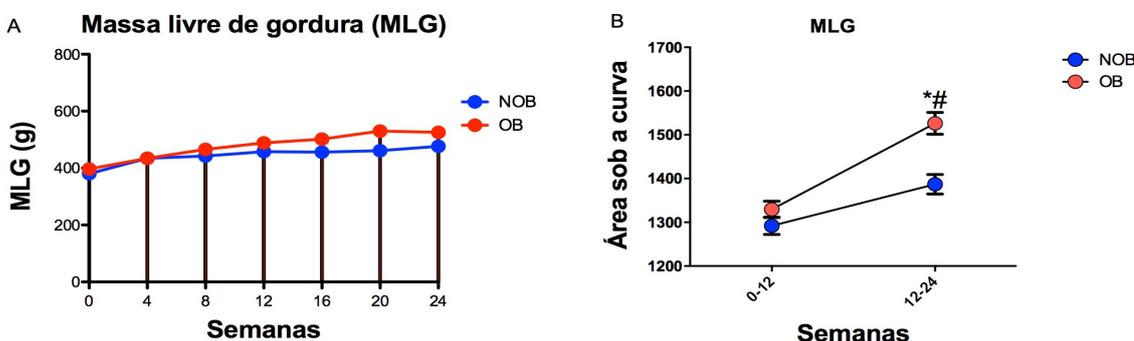


Figura 9: Massa livre de gordura por DXA (MLG). NOB = ratos não obesos (azul); OB = ratos obesos (vermelho). 9A desenvolvimento da MLG ao longo de 24 semanas. 9B Área sob a curva entre 0 - 12 semanas e entre 12 - 24 semanas. ANOVA de duas vias com post-hoc de Bonferroni. *Diferente entre semanas dos mesmos períodos ($p < 0,001$, período de 12 a 24 semanas) #diferente entre os grupos ($p < 0,001$).

Como pode ser observado na figura 10, abaixo, a massa total dos músculos gastrocnêmios, extensor longo dos dedos (EDL), e sóleos de ambos os lados (direito

e esquerdo) retirados durante a eutanásia da semana 24, demonstrou um aumento estatístico do grupo OB em relação ao grupo NOB (OB = $7,36 \pm 0,20$ g vs NOB = $6,37 \pm 0,17$ g), demonstrado na figura 10A. Paralelamente, é possível observar o mesmo efeito e diferença estatística sobre o conteúdo mineral ósseo (CMO), nos mesmo grupos (OB = $18,11 \pm 0,54$ g vs NOB = $14,53 \pm 0,25$ g), demonstrado na figura 10B.

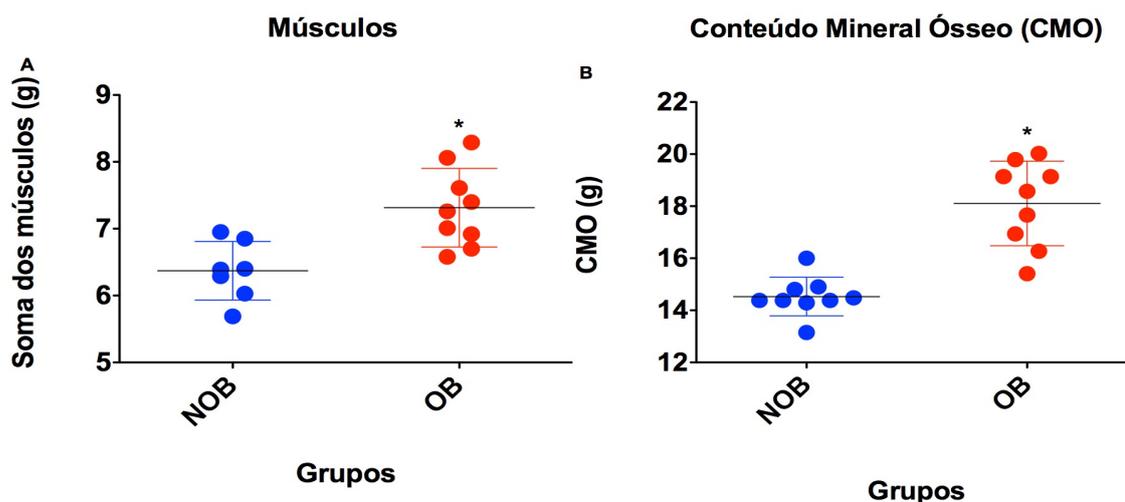


Figura 10: Massa muscular e conteúdo mineral ósseo (CMO). NOB = ratos não obeso (azul); OB = ratos obeso (vermelho). 10A Somas dos músculos: gastrocnêmio, extensor longo dos dedos (EDL) e soleus (direito e esquerdo). 10B Conteúdo mineral ósseo (CMO). Teste t-Student Independente. * $p < 0,005$.

Em relação a razão P2/P1 das onda da PIC, não houve interação entre os grupos e a covariável tempo ($F = 1,299$; $p = 0,2629$). No entanto, os ratos NOB demonstraram uma diminuição razão P2/P1 na semana 8, demonstrado na figura 11A e ficando abaixo do grupo OB, durante o período de tratamento ($p = 0,0001$) entre 12-24 semanas, demonstrado na figura 11B. O valor de repouso encontrado no início do experimento, no grupo OB, foi mantido até o final do experimento com algumas flutuações. As flutuações também existiram no grupo NOB, mas permaneceu sempre abaixo do grupo OB, como pode ser visto na figura 11A. Os valores iniciais e finais são apresentados na tabela 1, como caracterização da amostra.

Apesar dessa diferença entre as razões de P2/P1 entre grupos, não foi encontrado grandes alterações estatísticas ao longo do tempo, ou seja, durante as semanas de análise. Esta manutenção da razão do grupo OB levemente acima do grupo NOB traz esta diferença na área sob a curva a partir da oitava semana. Além

da queda dos valores do grupo NOB na semana 8 houve, na semana 12 houve um pequeno aumento na razão P2/P1 no grupo OB, com alguns animais apresentando uma razão entre 0,7 e 0,75 até o final do experimento. No entanto, essa relação P2/P1 é apresentada como classe I, normal, pois P2 não ultrapassou os valores de P1. Na figura 12 a seguir, pode ser observado o aumento da P2 no grupo OB em relação ao grupo NOB na mesma semana.

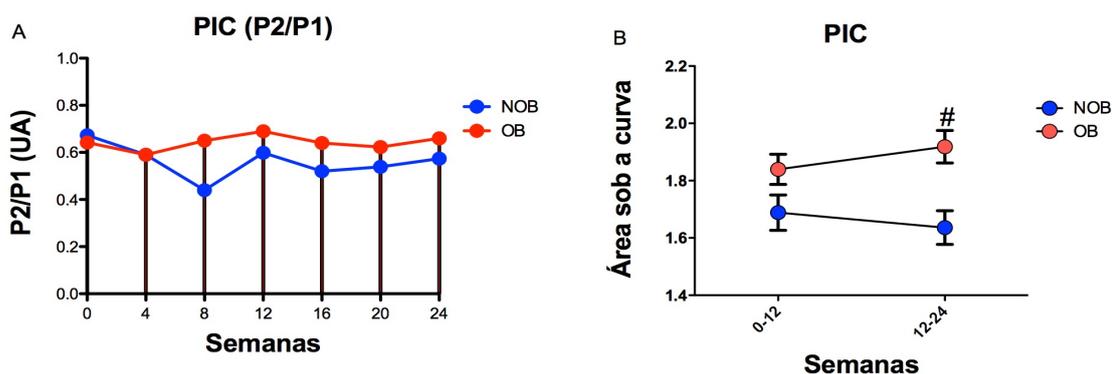


Figura 11: Pressão intracraniana (PIC), não invasiva. NOB = ratos não obesos (azul); OB = ratos obesos (vermelho). 11A Desenvolvimento da proporção de ICP em 24 semanas. 11B Área sob a curva entre os períodos 0 - 12 semanas e entre 12 - 24 semanas. ANOVA de duas vias com post-hoc de Bonferroni. #Diferente entre os grupos ($p < 0,001$).

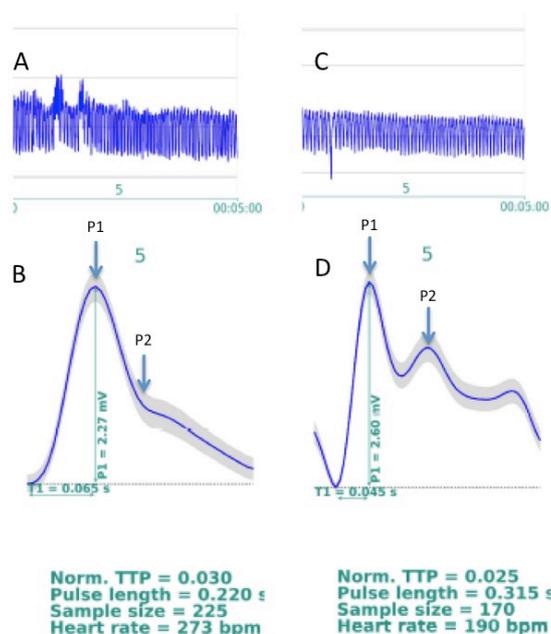


Figura 12: Morfologia da onda da PIC analisada pelo sistema Braincare Analytics. A, B) Amostragem contínua da morfologia da forma de onda ICP de ratos não obesos (NOB) no minuto 5. C, D) Amostragem contínua da morfologia da onda da PIC de ratos obesos (OB) no minuto 5. A, C) Sinais coletados pulso a pulso por 1 minuto; B; D) Pulso médio por minuto mostrando os valores coletados,

como amplitude P1, tempo P1 (t1), tamanho da amostra no minuto, tempo do pulso, frequência cardíaca e tempo até o P1 (TTP).

Como pode ser visto abaixo, na Tabela 1, o desvio padrão encontrado, demonstra que os animais do grupo OB apresentaram maior variabilidade nos dados.

Tabela 1: Caracterização das amostras, nos períodos inicial (S0) e final (S24). OB = obeso e NOB = não obeso. Relação de pressão intracraniana (PIC); Massa corporal total(MT); Gordura corporal (%g); Massa livre de gordura (MLG); Pressão arterial sistólica (PAS); Pressão arterial diastólica (PAD); pressão arterial média (PAM); Frequência cardíaca (FC). Teste t-Student pareado para o intragrupo inicial e final, e não pareado no mesmo período, entre os grupos. * $p < 0,0001$, diferente do período intragrupo inicial. # $p < 0,0001$, diferente do grupo NOB final; § $p < 0,05$ diferente do grupo NOB inicial. ¹ PAS, PAD, PAM, e FC teve avaliação inicial na semana 12.

	NOB		OB	
	S0	S24	S0	S24
	Média ± dp	Média ± dp	Média ± dp	Média ± dp
PIC (UA)	0.65 ± 0.10	0.57 ± 0.07	0.66 ± 0.12	0.65 ± 0.09 [#]
MT (g)	440.9 ± 9.4	556.6 ± 23.1 [*]	442.9 ± 11.0	689.0 ± 73.8 ^{*#}
%g	13.21 ± 2.45	13.99 ± 2.15	10.29 ± 2.21 [§]	24.79 ± 4.45 ^{*#}
MLG (g)	382.6 ± 14.1	480.1 ± 24.6 [*]	396.9 ± 13.4 [§]	519.1 ± 34.9 ^{*#}
PAS (mmHg) ¹	152 ± 13	139 ± 11	159 ± 14	141 ± 2
PAD (mmHg) ¹	117 ± 11	103 ± 7	120 ± 13	105 ± 5
PAM (mmHg) ¹	128 ± 25	114 ± 8	133 ± 14	120 ± 8
FC (bpm) ¹	315 ± 26	302 ± 14	353 ± 22	333 ± 24 [#]

Para a análise das variáveis hemodinâmicas de PAD, PAS e a PAM, obtidas a partir da semana 12 em que a obesidade foi estabelecida, não apresentaram diferença estatística entre os grupos, como pode ser visto nas figuras 13A, 13B e 13C, respectivamente. Porém, a FC dos animais OB foi maior do que o grupo NOB no mesmo período ($p < 0,05$), conforme demonstrado na figura 13D a seguir.

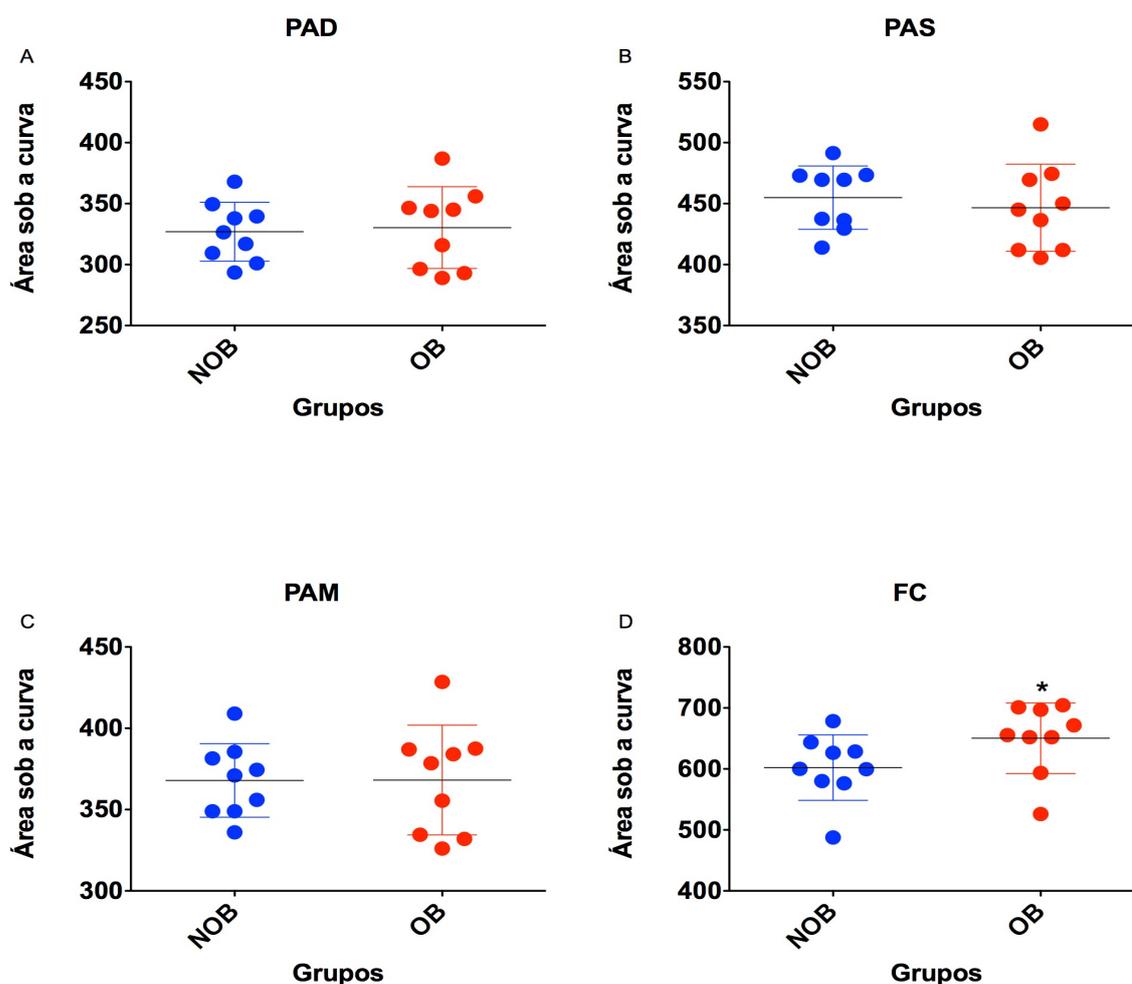


Figura 13: Variáveis hemodinâmicas, pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC). NOB = ratos não obesos (azul); OB = ratos obesos (vermelho). Soma das áreas entre as semanas 12 e 24. 13A Pressão Arterial Diastólica (PAD), 13B Pressão Arterial Sistólica (PAS), 13C Pressão Arterial Média (PAM), 13D Frequência Cardíaca (FC). *Diferença entre grupos ($p < 0,05$).

6.2. Estudo 2

Composição corporal, peso relativo cerebral e conteúdo de lipídeos

Os resultados deste estudo demonstram o desenvolvimento da obesidade dos animais alimentados com dieta hiperlipídica em consonância com o estudo 1. Desta forma, é possível observar na figura 14 que o grupo S24-DH apresentou diferença estatística do %g em relação a condição inicial ($S0-DP = 13,10 \pm 2,06\%$ vs $W24-HFD = 23,79 \pm 5,13\%$) e em relação ao grupo controle ($S24-DP = 13,96 \pm 2,48\%$ vs $S24-DH = 23,79 \pm 5,13\%$), havendo uma probabilidade do %g ser 94,1% maior no grupo DH ao final do tratamento ($d=2,21$; IC: 0,96 – 3,46). Os grupos DP

não apresentaram alteração do percentual de gordura em nenhum momento durante o tratamento.

Com relação à MT, todos os grupos apresentaram aumento de peso corporal para S0-DP, porém, como pode ser observado na figura 14, os grupos DH ganharam muito mais peso e de forma bem rápida. (S0-DP = $430,82 \pm 4,77g$ vs S24-DH = $688,99 \pm 73,82g$). Também houve diferença estatística entre os grupos na última semana (S24-DP = $559,01 \pm 26,13g$ vs S24-DH = $688,99 \pm 73,82g$), tendo probabilidade da MT ser 93,2% maior em S24-DH ($d=2,11$, IC: 0,88 – 3,33). Este aumento vertiginoso no peso corporal do grupo DH, também demonstrou diferença entre grupos, nos momentos avaliados nos cortes transversais, antes mesmo da 24^a semana, assim como dos demais grupos DP, como demonstrado na figura 14D.

Também foram observados aumentos no grupo S24-DH para MLG e CMO, sendo que para MLG, foi encontrado diferença estatística do S24-DH em relação ao S0-DP (S0-DP = $374,29 \pm 46,91g$ vs S24-DH = $519,11 \pm 34,94g$), e também encontrando diferença entre S24-DH para S8-DP, S8-DH, S16-DP e S16-DH. No entanto, não foi observado diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, mas houve uma probabilidade de 78,4% da MLG ser maior em S24-DH ($d=1,1$, IC: 0,05 – 2,17).

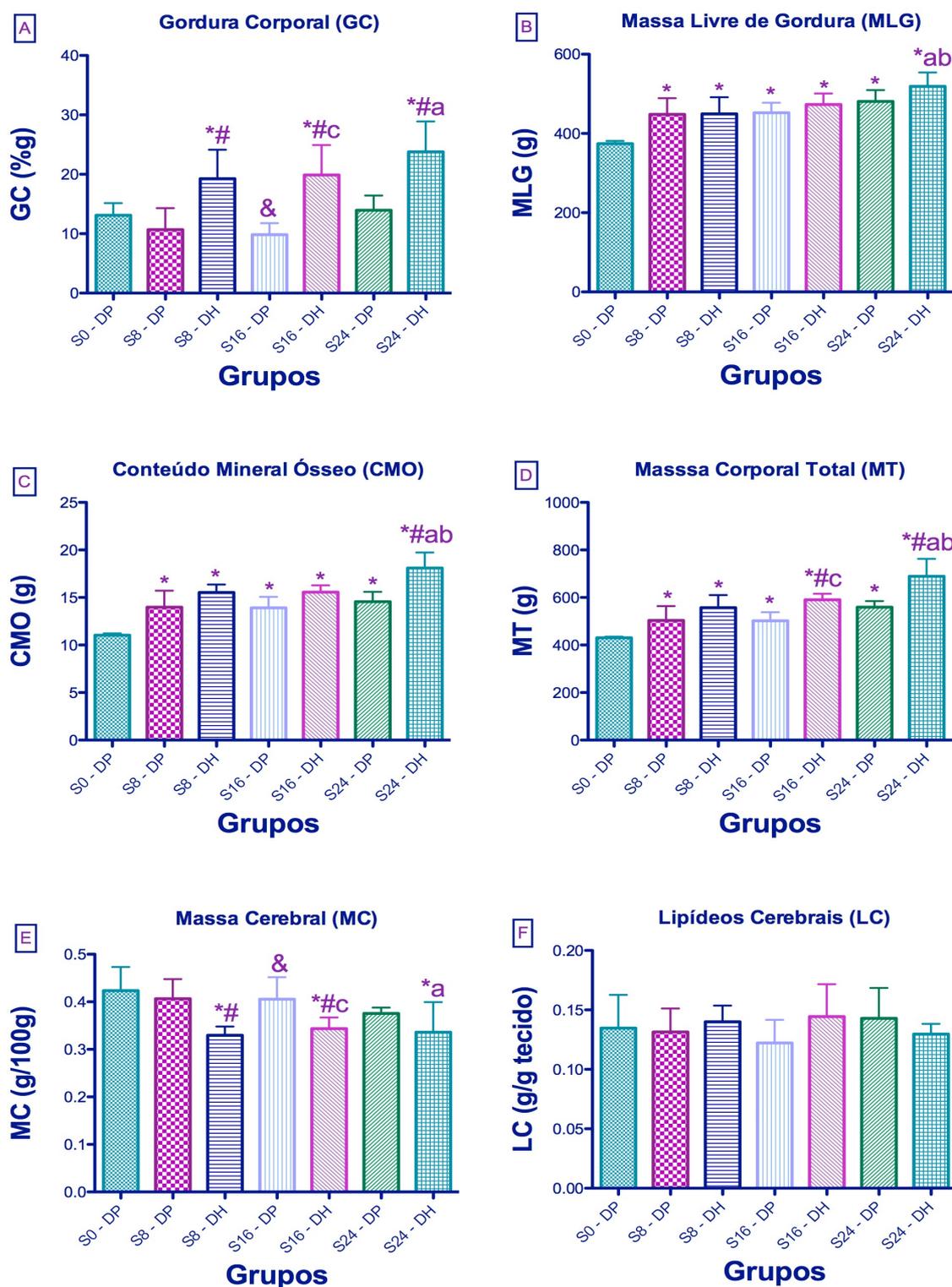


Figura 14: Composição corporal por DXA, peso cerebral relativo, e conteúdo de lipídeos cerebrais. 14A, Percentual de gordura (percentual relativo à massa corporal total); 14B, Massa livre de gordura; 14C, Conteúdo mineral ósseo; 14D, Massa corporal total; 14E, Peso relativo do cérebro em relação à 100g de massa corporal; 14F, Conteúdo de lipídeos no cérebro para cada grama de tecido. * diferença para S0-DP; # diferença para grupo controle na mesma semana; ^a diferença para S8-DP e S16-DP; ^b diferença para S8-DH e S16-DH; ^c diferença para S8-DP; & diferença somente para S8-DH. $p < 0,05$.

Com relação ao CMO houve um aumento de ambos os grupos a partir da semana 8, assim como entre S24-DH e S24-DP. Houve aumento estatístico de S24-DH em relação ao S0-DP (S0-DP = $11,04 \pm 0,19g$ vs S24-DH = $18,11 \pm 1,62g$) assim como entre grupos ao final do experimento (S24-DH = $18,11 \pm 1,62g$ vs S24-DP = $14,56 \pm 1,04g$). Este aumento do S24-DH em relação S24-DP, a CMO obteve uma probabilidade de 95,4% ser maior em S24-DH ($d=2,39$, IC: 1,10 – 3,68), como observado na figura 14.

Houve diferença estatística entre todos os grupos DH e S0-DP, considerando o peso relativizado do cérebro (g/100g de PC do animal), sendo que ao final da semana 24 houve a seguinte diferença, S24-DH = $0,34 \pm 0,06$ g/100g vs S0-DP = $0,42 \pm 0,05$ g/100g. No entanto, não foi observado diferença dos grupos DP para S0-DP. Foi observado diferença entre o grupo S16-DP e S8-DH, assim como dos grupos DH em relação aos grupos DP em momentos anteriores, como pode ser observado na figura 14E. Entretanto, não houve diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, e S24-DH apresentou MC com probabilidade de 70,7% ser menor em relação ao S24-DP ($d=0,77$, IC: -0,26 – 1,79). Em relação ao conteúdo de lipídeos cerebrais não houve diferença estatística entre grupos em nenhum momento, porém, e houve uma probabilidade de 68,7% de LC ser menor em S24-DH em relação ao S24-DP ($d=0,69$, IC: -0,32 – 1,71).

Pressão arterial, Frequência cardíaca, e Pressão Intracraniana

Com relação as variáveis hemodinâmicas de PA E FC de repouso não foi observado diferença estatística entre grupos, apesar da FC ter ficado próximo de uma diferença entre grupos na semana 24 ($p=0,059$). Foi encontrada uma probabilidade de 88,8% da FC ser maior em S24-DH ($d=1,72$, IC: 0,56 – 2,87). A probabilidade da PAS ser maior em S24-DH foi de 52,2% ($d=0,08$, IC: -0,91 – 1,07), PAD de 51,7% ($d=0,06$, IC: -0,93 – 1,05), e PAM de 50,8% ($d=0,03$, IC: -0,96 – 1,02). Ademais, todos os grupos apresentaram valores de PA acima dos valores de normalidade como pode ser observado nas figuras 15A, 15B, 15C e 15D.

Apesar das variações da PA e PIC registradas, este estudo não encontrou diferença estatística da razão P2/P1 da morfologia da onda da PIC, como pode ser observado na figura 15E, diferente do estudo 1. Porém, houve uma probabilidade de

70,4% em ser maior em S24-DH em relação ao S24-DP ($d=0,76$, IC: $-0,27 - 1,78$) e 64,8% maior que S0-DP ($d=0,54$, IC: $-0,40 - 1,48$) devido a algumas flutuações e variabilidade dos dados do grupo DH. Estes resultados sugerem não haver alterações da razão P2/P1 entre grupos, havendo uma probabilidade de aumento no grupo DH e manutenção do grupo DP em relação a S0-DP. Além do mais, a razão P2/P1 da PIC permaneceu em todos os momentos abaixo de 1, não demonstrando alteração na morfologia da forma de ondados curvas durante as análises, sendo classificadas como normais (classe I).

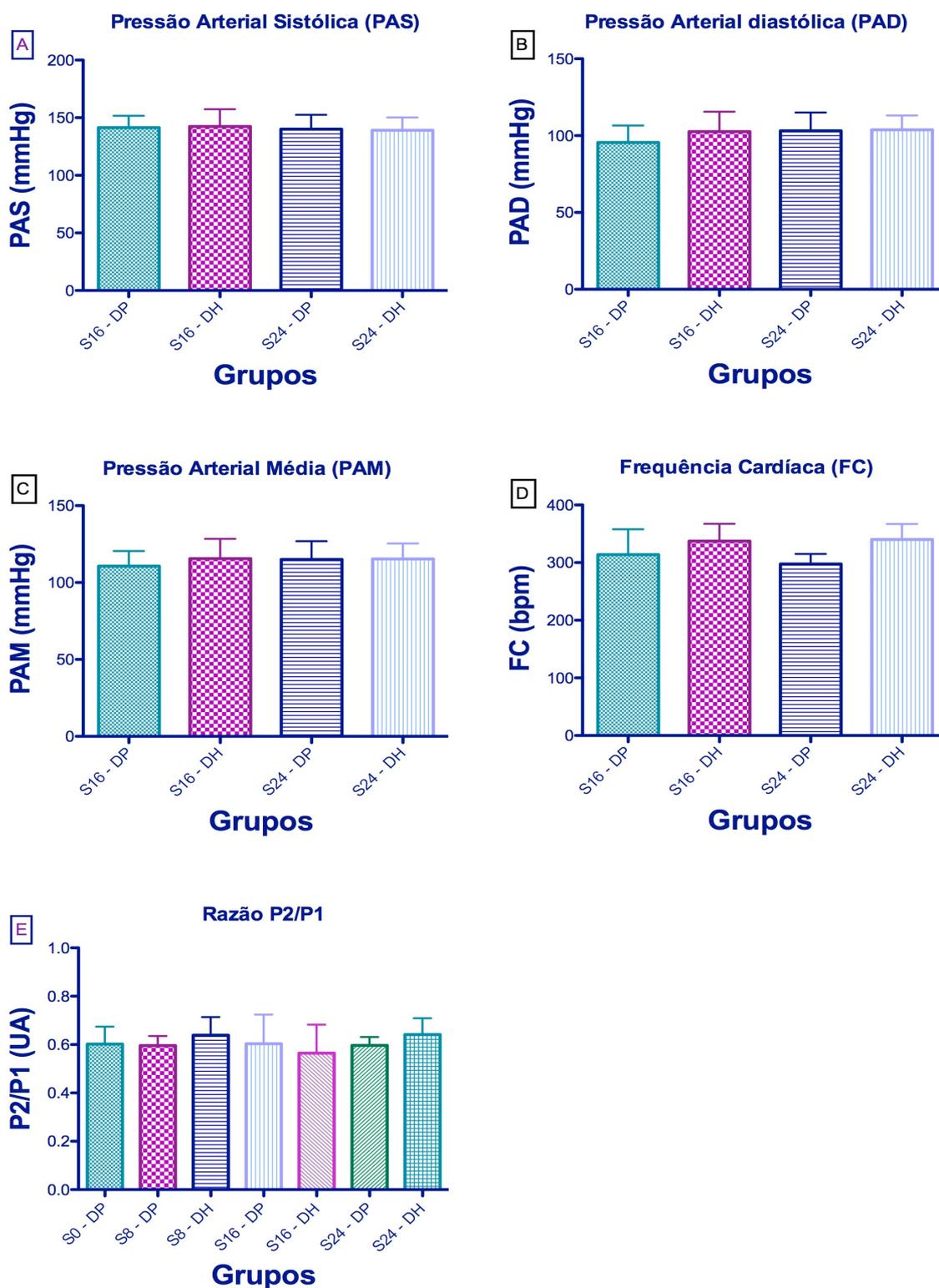


Figura 15: Análise hemodinâmica e da pressão intracraniana (PIC). 15A, Pressão arterial sistólica não invasiva entre as semanas 16 e 24; 15B, Pressão arterial diastólica não invasiva entre as semanas 16 e 24; 15C, Pressão arterial média não invasiva entre as semanas 16 e 24; 15D, Frequência cardíaca não invasiva entre as semanas 16 e 24; 15E Razão P2/P1 da morfologia de onda da pressão intracraniana não invasiva entre grupos obesos e controle durante.

Perfil lipídico e glicemia

Com relação ao perfil lipídico e glicemia, foi encontrado diferença estatística entre os grupos como pode ser observado na figura 16. Observou-se aumento da glicemia dos grupos DH, sobre os grupos dieta padrão em todos os momentos analisados, sendo que, na semana 24, os valores encontrados (S24-DH = $119,78 \pm 9,04$ mg/dL e S24-DP = $91,57 \pm 8,52$ mg/dL), além da probabilidade de 100% da glicemia ser maior em S24-DH ($d=3,2$, IC: 1,58 – 4,46), assumindo valores da condição diabética. Foi observado aumento do S24-DH em relação ao S0-DP (S0-DP = $101,0 \pm 11,8$ mg/dL vs S24-DH = $119,78 \pm 9,04$ mg/dL). No entanto, os grupos DP não diferenciaram do S0-DP durante o período de tratamento.

O HDL diminuiu em S8-DH e S16-DP em relação ao S0-DP. Na semana 16 o grupo S16-DH foi maior que o S16-DP (S16-DP = $27,64 \pm 7,02$ mg/dL vs S16-DH = $46,29 \pm 9,35$ mg/dL) e o grupo S16-DH também foi maior que o S8-DH, porém sem diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, mas com uma probabilidade de 76,4% de ser maior em S24-DH ($d=1,02$, IC: -0,03 – 2,07). O colesterol, por sua vez, diminuiu em todos os grupos com exceção de S16-DP e 24-DP. Também não foi encontrado diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, tendo probabilidade do colesterol de ser 55,3% menor em S24-DH ($d=0,19$, IC: -0,8 – 1,18). Já o triglicérides aumentou na semana 8 nos dois grupos, no entanto, com maior aumento do S8-DH. Foi observado em todos os demais grupos uma diferença somente em relação a este aumento do S8-DH. Sem diferença estatística entre S24-DP e S24-DH e uma probabilidade do triglicérides de 65,1% ser menor em S24-DP ao final do tratamento ($d=0,55$, IC: -0,45 – 1,56).

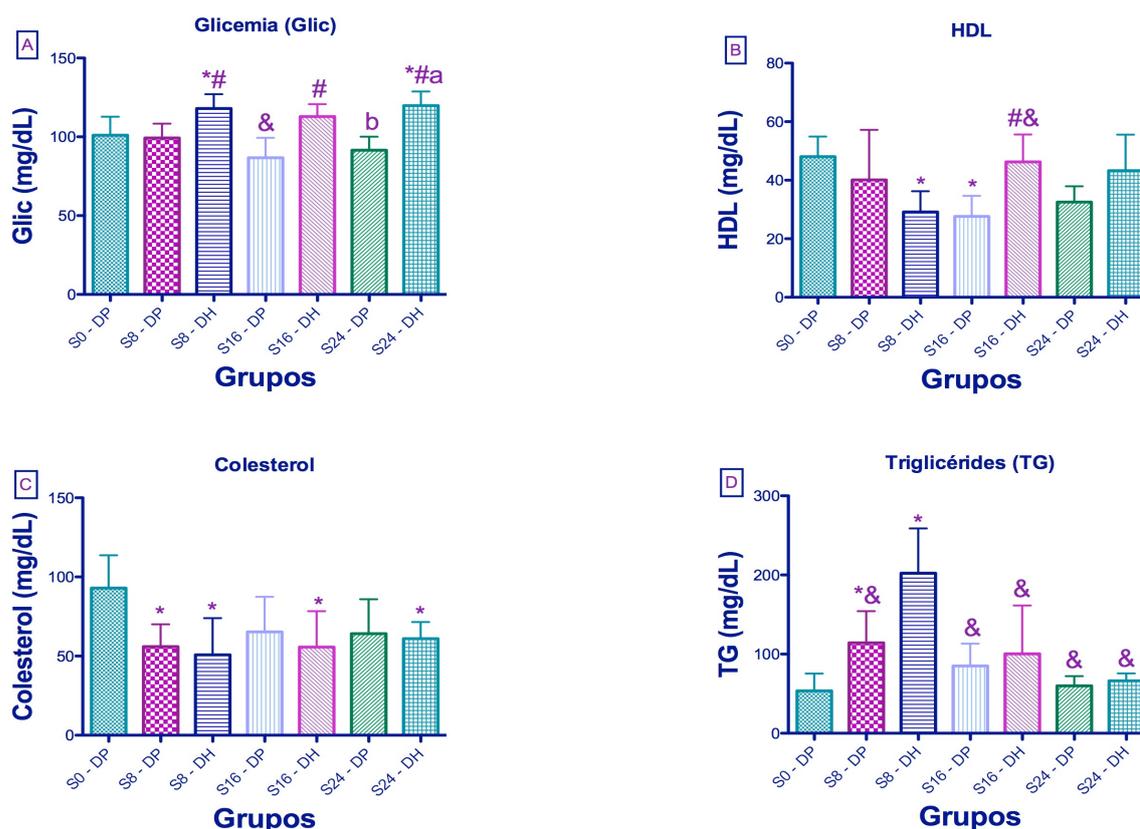


Figura 16: Variáveis hematológicas em jejum. 16A, Glicemia; 16B, Lipoproteína de Alta Densidade (HDL); 16C, Colesterol; 16D, Triglicérides. *diferença para S0-DP; #diferença para grupo controle na mesma semana; ^adiferença para S8-DP e S16-DP; ^bdiferença para S8-DH e S16-DH; &diferença para S8-DH, ($p < 0,05$).

Perfil inflamatório

Não foi encontrado diferença da IL-1 β , com valores muito abaixo do esperado. No entanto, foi encontrado uma probabilidade da IL-1 β ser 50,8% menor em S24-DH ($d=0,03$, IC: -0,96 – 1,01).

Sobre a 11 β -HSD1 foi observado diferença estatística de S16-DH ($1388,0 \pm 546,9$ pg/mL), S24-DP ($1509,0 \pm 757,2$ pg/mL) e S24-DH ($1176,0 \pm 393,0$ pg/mL) em relação a S0-DP ($320,2 \pm 256,1$ pg/mL), S8-DP ($489,1 \pm 361,2$ pg/mL), e S8-DH ($292,6 \pm 165,6$ pg/mL), além de encontrar diferença de S16-DH e S24-DP em relação a S16-DP, como pode ser observado na figura 17A. Entretanto, não foi encontrado diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, mas encontrou-se probabilidade de 65,9% menor em S24-DH ($d=0,58$, IC: -0,46 – 1,55).

Além disso, foi observado diferença estatística da Leptina em S16-DP ($564,7 \pm 185,7$ pg/mL) em relação a S8-DH ($1475,0 \pm 315,2$ pg/mL) e S16-DH ($1532,0 \pm 820,9$ pg/mL). Assim como, encontrou-se um aumento de Leptina em S16-DH

(1532,0 ± 820,9 pg/mL) vs S0-DP (646,5 ± 411,9 pg/mL). Apesar de não ter diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, houve uma probabilidade de 81% maior em S24-DH (d=1,24, IC: 0,16 – 2,31).

Com relação ao BDNF, houve aumento estatístico de S16-DP (2694,0 ± 622,6 pg/mL), S16-DH (2658,0 ± 942,1 pg/mL), e S24-DP (3152,0 ± 781,4 pg/mL) em relação ao grupo S0-DP (1415,0 ± 354,6 pg/mL) e S8-DH (1477,0 ± 519,4 pg/mL), como pode ser observado na figura 15D, e encontrou-se diferença estatística de S24-DP em relação S8-DP (1781,0 ± 441,5 pg/mL). No entanto, não foi encontrado diferença estatística entre S24-DP e S24-DH, mas houve uma probabilidade de 68,7% ser menor em S24-DH (d=0,69, IC: -0,33 – 1,70). Estes resultados podem ser observados abaixo, na figura 17.

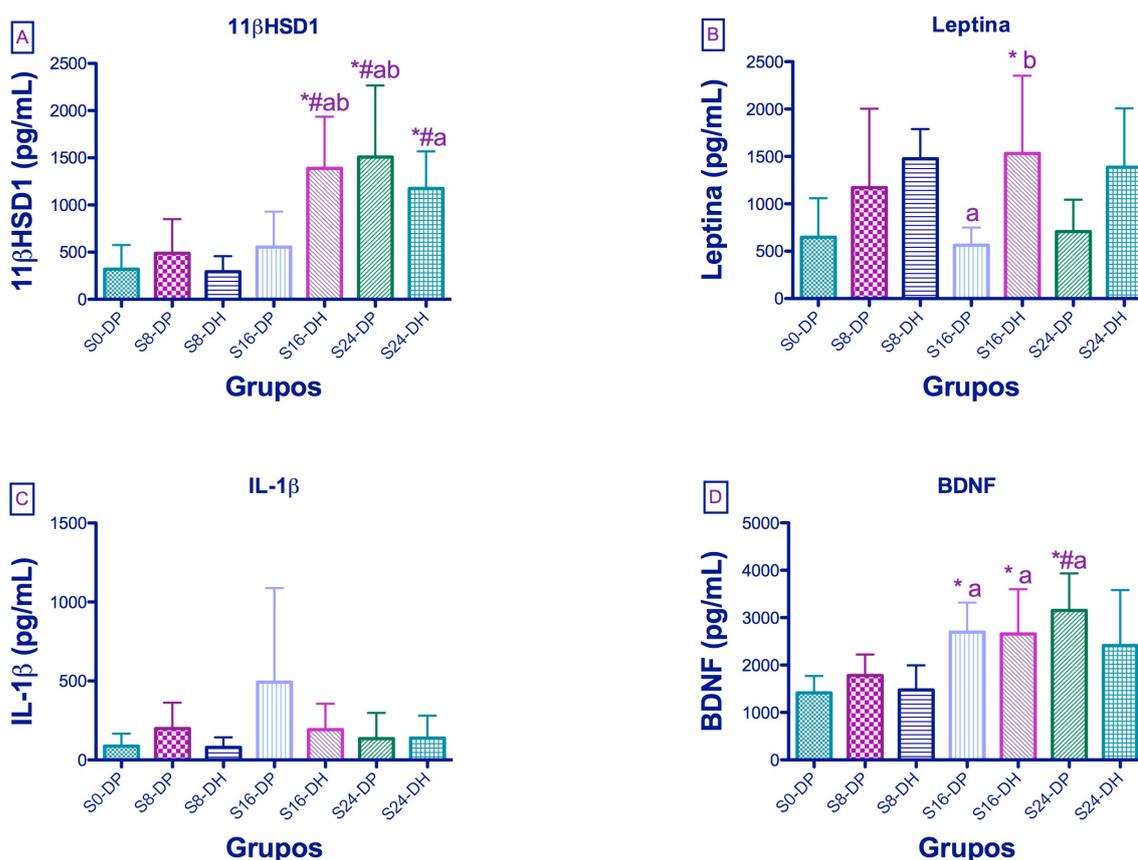


Figura 17: Análise inflamatória por Elisa em jejum. 17A: 11 β Hidróxiesteróide desidrogenase do tipo 1 (11β-HSD1); 17B: Leptina; 17C: Interleucina 1β (IL-1 β), através de Kruskal-Wallis com post-hoc de Dunns; 17D: Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). * diferença para S0-DP; # diferença para S8-DP; ^a diferença para S8-DH; ^b diferença para S16-DP, (p<0,05).

Histologia

A análise do tecido cerebral demonstrou diferença estatística do número total de células da camada V (camada piramidal), apresentando diminuição no grupo S16-DH ($44,54 \pm 0,75$) em relação a mesma semana do grupo controle, S16-DP ($57,66 \pm 6,59$) podendo ser observado na figura 18A. Entretanto, não foi encontrado diferença estatística do número de células piramidais nesta área, assim como não foi encontrado diferença no número total células e células piramidais na camada II-III, demonstrado na figura 19. Por outro lado, foi observado um aumento estatístico da espessura da matéria cinza cortical M1 entre os grupos S8-DH e S24-DH ($1263,0 \pm 65,76 \mu\text{m}$ vs $1512,0 \pm 86,82 \mu\text{m}$, respectivamente) demonstrado na figura 18B, logo abaixo.

Apesar de não ter sido encontrado diferença entre grupos na semana 24, houve uma probabilidade de 80,8% da quantidade total de células do grupo S24-DH ser menor do que no grupo S24-DP ($d=1,23$, IC: 0,15 – 2,30), e ser 71,2% menor em relação a S0-DP ($d=0,79$, IC: -0,17 – 1,75). Além disso, houve probabilidade de diminuição do número de células na camada II-III de 54,5% ($d = 0,16$, IC: -0,83 - 1,15), diminuição de células piramidais na camada II-III de 75,3% ($d = 0,97$, CI: -0,08 - 2,01) e diminuição de células piramidais na camada V de 69,2% ($d = 0,71$, CI: -0,31 - 1,72), sempre do grupo S24-DH em relação ao controle. No entanto, com relação a extensão da matéria cinza M1, foi observado uma probabilidade de aumento no grupo S24-DH de 76,2% em relação ao grupo S24-DP ($d=1,01$, IC: -0,04 – 2,06).

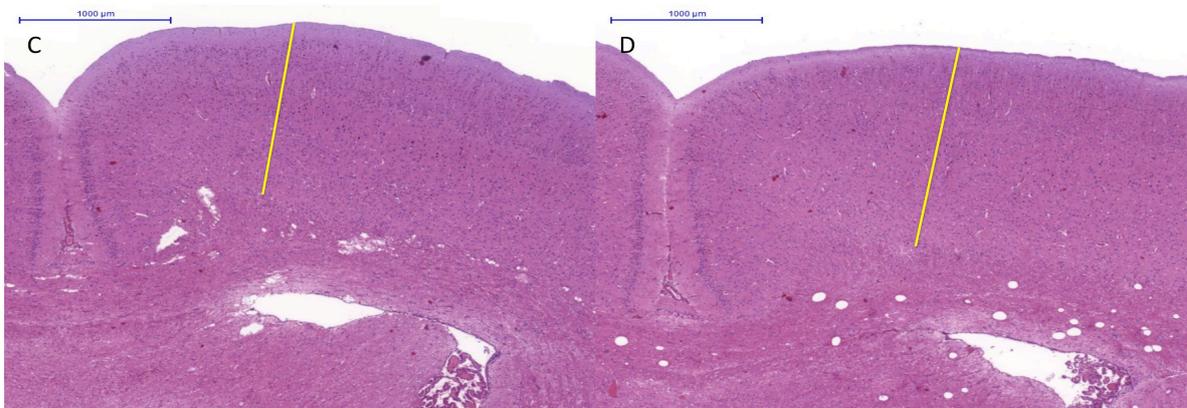
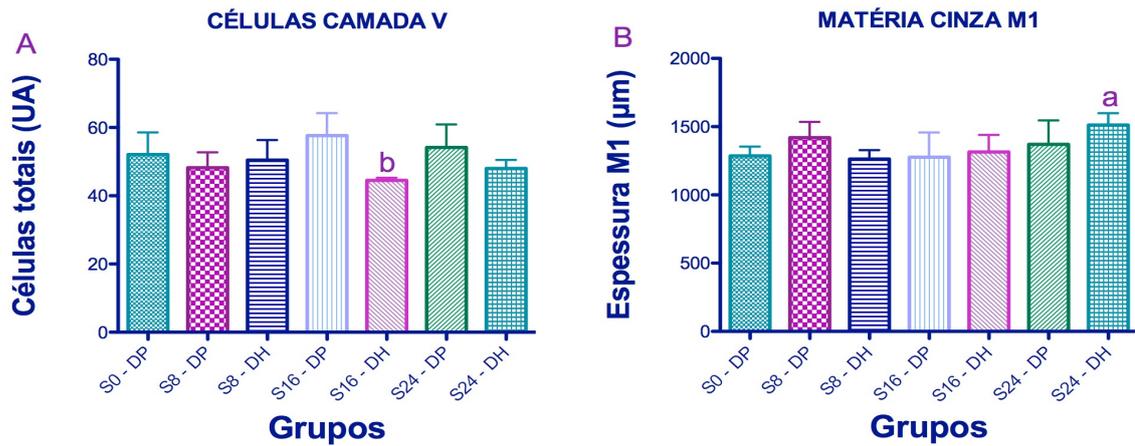


Figura 18: Histologia do tecido cerebral. 18A: Média do número total de células na camada V em ambos os lobos cerebrais; 18B: Espessura da matéria cinza cortical M1. ^bS16-DP diferente de S16-DH ($p < 0,05$); ^aS8-DH diferente de S24-DH ($p < 0,05$); 18C: Matéria cinza córtex motor primário esquerdo (M1) S24-DP; 18D: Matéria cinza córtex motor primário esquerdo (M1) S24-DH.

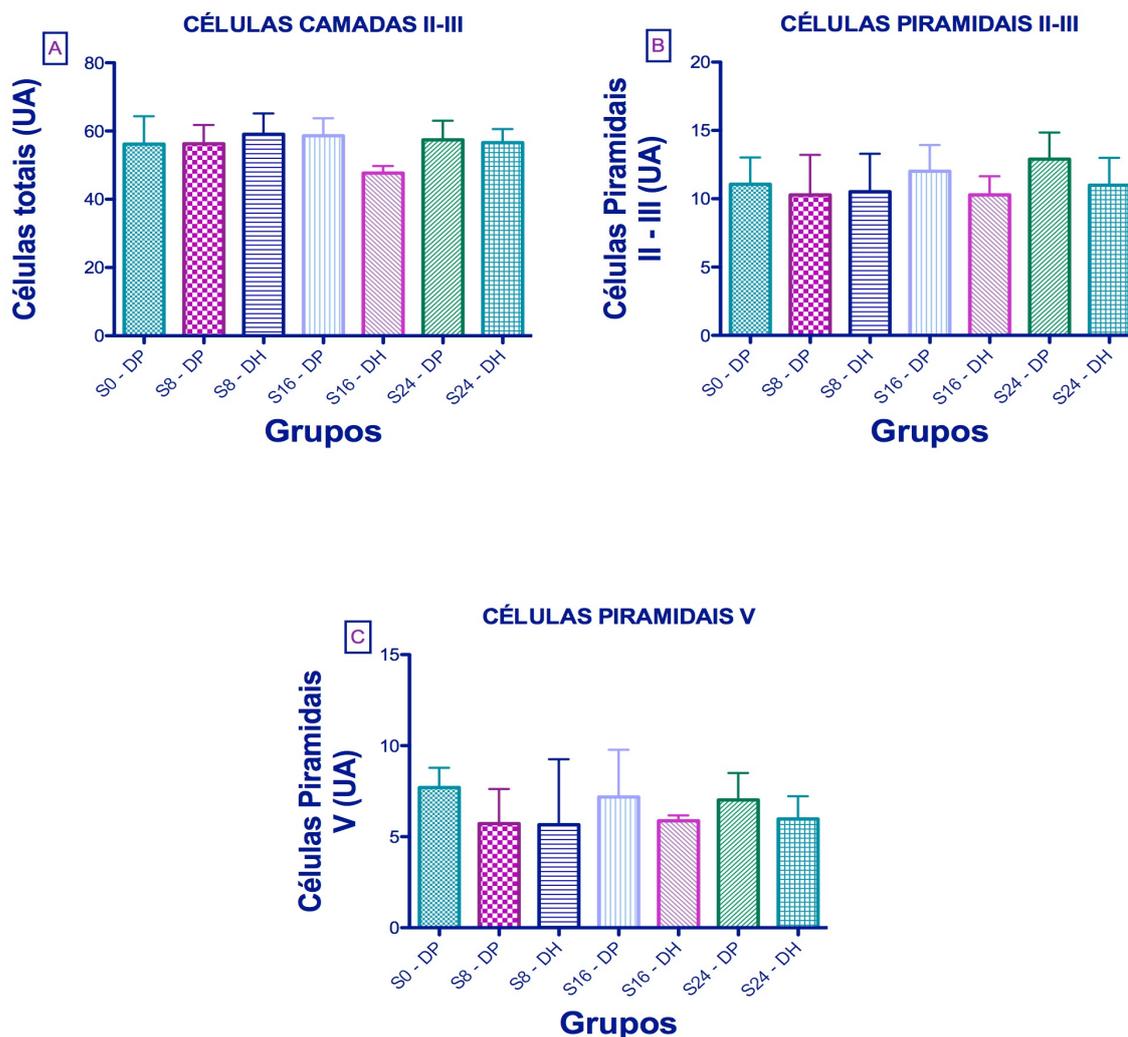


Figura 19: Histologia da camada II-III, e V. 19A: Número de células totais da camada II – III; 19B: Células piramidais da camada II – III; 19C: Células piramidais da camada V.

7. DISCUSSÃO

Estudo 1

O estudo 1 comprovou dados previamente publicados por outros pesquisadores, demonstrando que os ratos OB alimentados com uma dieta rica em gordura apresentaram maior MT e %g do que os ratos NOB (DUARTE et al, 2012; COSTA et al., 2011; WHITE et al., 2013; VILEIGAS et al., 2016; e OISHI et al., 2018); sendo este fenótipo de obesidade semelhante em humanos. Porém, considerando que a literatura não apresenta um IMC consolidado para ratos, e a maioria dos estudos apresenta o %g sempre relacionado aos respectivos grupos

controle, nossos resultados de composição corporal também consolidam nossa perspectiva de termos um padrão de composição corporal de ratos.

Portanto, utilizamos o mesmo padrão para humanos com índice de adiposidade $\geq 20\%$ considerado sobrepeso e $\geq 25\%$, sendo considerado obesos para homens (GÓMES-AMBROSI et al., 2011), sendo um importante valor de referência para futuros trabalhos com ratos. Ao final do experimento, pode-se observar uma média muito próxima a 25% de %g de homens adultos no grupo OB, porém, nossa variabilidade de dados explica uma média um ligeiramente inferior, e a MT também os classifica como obesos a partir da semana 12 (LEOPOLDO et al, 2011; SHIH; KUOK, 2018).

Neste sentido, nossos resultados estão em linha com os apresentados na literatura, e há de observar mais detalhadamente essas alterações ao longo do tempo, com uma avaliação padrão-ouro, como a realizada no presente estudo. Na semana 12, identificamos %g próximo a 20% em ratos OB classificados como sobrepeso, mas a MT foi semelhante a Gómez-Ambrosi et al. (2011) e Leopoldo et al. (2016) com 15 semanas de indução da obesidade, que os classificaram como obesos. Entretanto, a dieta utilizada no presente estudo teve um índice calórico superior. Portanto, acreditamos que a semana 12 pode ser o ponto ideal para induzir a obesidade com a atual dieta. É importante ressaltar também, que o presente estudo apresentou na semana 24 uma MT de ratos OB maior do que os trabalhos citados de Gómez-Ambrosi et al. (2011) e Leopoldo et al. (2016), e foi encontrado %g acima de 25% em alguns animais, sendo classificados como obesos e devido a isto, os animais do presente estudo podem ser classificados como obesos.

Como esperado, em relação à MLG, observamos que o maior aumento no grupo OB foi devido ao aumento do peso muscular e CMO. Observado pela soma dos músculos gastrocnêmio, sóleo e EDL, direito e esquerdo, sendo a massa muscular maior no grupo OB ao final do experimento, e o maior conteúdo mineral ósseo no grupo OB somados.

Esses dados corroboram com a literatura realizada com humanos (SHIH; KUOK, 2018) e ratos (YANAGIHARA et al., 2018), uma vez que obesos apresentam maior sobrecarga muscular e óssea devido ao peso. Importante destacar que, ao final do experimento, esses animais encontravam-se na meia-idade e possivelmente sem sinais de obesidade sarcopênica, o que pode afetar tanto a perda de massa muscular quanto óssea (SOUZA et al., 2014).

Em relação a razão PIC ($P2 / P1$), a relação da morfologia da forma de onda ficou abaixo no grupo NOB em relação ao OB, estando parcialmente de acordo com o estudo de Uldall et al. (2017), que usaram ratos Zucker OB e NOB, e demonstraram aumento da PIC nos animais OB em relação ao NOB. O mecanismo demonstrado por eles, foi o aumento da aquaporina 1 (AQP1) causando o aumento de LCR nos ventrículos. Entretanto, em seu estudo, observaram valores de $7,70 \pm 0,42\text{mmHg}$ para o OB e $5,86 \pm 0,15\text{mmHg}$ para o NOB, que apesar de apresentarem valores superiores e diferentes estatisticamente, são valores normais de PIC quando comparados aos humanos (UNNERBACK; OTTENSEN, 2018).

Além disso, com o aumento do volume na caixa craniana, e diminuição da elastância e complacência cerebral, deve-se aumentar a PIC, sendo que um pequeno aumento no volume levará a um grande aumento na PIC (UNNERBACK; OTTENSEN, 2018; e ALPERIN et al, 2013). Desta forma, inferimos que a menor razão $P2 / P1$ encontrada no grupo NOB, pode ser devido a melhor elastância e complacência cerebral do que do grupo OB. Alperin et al. (2013), demonstraram através de imagens de ressonância magnética aumento do LCR em espaços subdurais, evidenciando complacência cerebral comprometida.

Sendo assim, observando $P1$ relacionado ao influxo arterial, e assim aumentando a VSC, os aumentos da PIC estão atrelados à saída do LCR, aumentando a interação dos fluxos arterial e venoso, alterando a participação dos componentes do volume cerebral na caixa craniana. Portanto, a boa complacência permite acumular outro componente de volume sem maior saída do LCR, dificultando assim as análises da PIC e a compreensão da hemodinâmica e autorregulação desse sistema (UNNERBACK; OTTENSEN, 2018). Entretanto, a complacência cerebral não foi mensurada no presente estudo, assim como o valor médio da PIC em mmHg, e também os valores dos picos que a compõem ($P1$; $P2$; $P3$). Infelizmente, o sistema utilizado neste estudo, assim como outros não invasivos, não permite conhecer esses valores, sendo uma limitação do presente estudo.

Ademais, apesar da diferença entre OB e NOB no presente estudo, nenhum animal apresentou razão $P2 / P1 > 1$, sendo considerado potencialmente patológico ou outra classe, através da classificação de referência, portanto classificado como normal (NUCCI et al., 2016). Não podemos afirmar o valor bruto da PIC (mmHg) desses animais devido a limitação do equipamento utilizado, ainda novidade

tecnológica, e que não realiza esta transdução de sinais, de relação P2/P1 para valores em mmHg.

Existem várias causas para o desenvolvimento da hipertensão intracraniana (HIC) (SINCLAIR et al, 2010), e entre elas, estudos têm mostrado que o sobrepeso e a obesidade podem levar a HIC (SINCLAIR et, 2008, 2010; ANDREWS; LIU; KO, 2014). O presente estudo demonstra que a obesidade pode alterar parcialmente a morfologia da forma de onda da PIC, através de aumento de P2, e isto pode ser um indicador da mudança no comportamento da PIC, aumentando as possibilidades de doenças relacionadas tanto à obesidade quanto às decorrentes do aumento da PIC, como acidente vascular cerebral, cegueira, entre outras.

Em relação à PA, os resultados do presente estudo sugerem não ter diferença estatística entre grupos, indo de encontro aos resultados apresentados por Shiou et al. (2018). Entretanto, a análise deles foi invasiva, com os animais sedados por pentobarbital, e no presente estudo a PA foi realizada nos mesmos animais por 24 semanas, e de maneira não invasiva no estudo 1. Enquanto isso, o sensor de registro de pressão de volume (VPR) usado no presente estudo, tem uma correlação de moderada a alta com a telemetria, uma medida direta da pressão arterial (FENG, 2008).

Ademais, a grande variabilidade de nossos dados também pode explicar a ausência de diferença estatística da PA. Uldall et al. (2017) também demonstraram que não há diferença na PA entre ratos OB e NOB, afirmando que a alteração da PIC não está relacionada ao aumento da PA e FC, pois PA e FC não se alteraram no estudo deles. Porém, no presente estudo, ambos os grupos estavam hipertensos e foi encontrada diferença na FC entre os grupos.

Esta diferença significativa da FC entre ratos OB e NOB, sendo maior em OB, foi diferente de Shiou et al. (2018), e Uldal et al. (2017). Porém, nossos dados corroboram os de Speretta et al. (2018) que demonstraram aumento da FC em ratos obesos, com valores semelhantes ao presente estudo. Desta forma, acreditamos que essa diferença possa estar relacionada ao aumento do trabalho cardíaco e da frequência respiratória (não avaliada neste estudo) devido ao excesso de peso, podendo ter uma relação entre a FC e a PIC, pois no presente estudo os animais deviam estar sedados durante a avaliação da PIC. Essa relação entre FC e PIC precisa ser mais aprofundada em outros estudos.

Estudo 2

Assim como no estudo 1, o DXA, que é uma avaliação padrão ouro para composição corporal e muito pouco utilizado com animais, portanto, difícil encontrar valores de referência padronizados para ratos *Wistar*. Desta forma, foi utilizado valores de referência de humanos por pesagem hidrostática, padrão ouro ≥ 25 %g como obeso (GÓMEZ-AMBROSI et al., 2011), valor médio muito próximo do encontrado no presente estudo. No entanto, foi encontrado vários animais com resultados acima deste valor, sendo que a média ficou pouco mais baixa, devido à alta variabilidade dos dados.

O aumento de MT, e %g já esperado, devido ao estudo longitudinal e estudos prévios, se deve a eficiência alimentar da dieta hiperlipídica e hipercalórica, deste estudo (DUARTE et al., 2008 2012; OISHI et al., 2018; VILEIGAS et al., 2016; WHITE et al., 2013; COSTA et al., 2011). Ademais, a maior massa corporal do grupo obeso promove maior estresse mecânico, o que explica o maior CMO (SHIH; KUOK, 2018; YANAGIHARA et al., 2016) além da probabilidade maior de MLG na semana 24, que pode acontecer devido ao maior carregamento de massa, promovendo adaptações músculo-esqueléticas, resultados estes, semelhantes ao estudo longitudinal. Todos estes resultados de composição corporal, de certa forma, confirmam o estudo longitudinal, sugerindo não haver necessidade de ser realizado estudo longitudinal para comparação de composição corporal.

No estudo 2, também não foi encontrado diferença da PA de repouso, indo de encontro ao estudo de Shiou et al. (2018) com ratos *Wistar*, tanto para animais controle como para alimentados com dieta hiperlipídica, assim como no nosso estudo 1. No estudo de Shiou et al. (2018), vale lembrar que suas análises de PA foram invasivas, com animais sedados por pentobarbital, e seus valores muito próximos do presente estudo. Uldall et al. (2017), outro grupo de pesquisadores que também não encontraram diferenças na PA, como relatado acima, entre ratos magros e obesos, e tampouco apresentaram relação da PA com o aumento da PIC.

Sendo assim, o pequeno aumento da PA que houve nos dois grupos do presente estudo pode não ser suficiente para alteração da PIC. Além disso, observando as pequenas probabilidades de aumento da PA no grupo DH em relação ao grupo DP, sugere que a hipertensão é uma doença idiopática e vários fatores podem contribuir para seu surgimento, mesmo em animais magros; devendo

portanto, ser objeto de outros estudos mais aprofundados sobre o tema.

Entretanto, com relação a FC, o presente estudo não demonstrou diferença estatística entre grupos como no estudo 1, apesar de ter ficado muito próximo de estabelecer esta diferença e estabelecida boa probabilidade deste efeito ocorrer, diferente de Speretta et al. (2018), que demonstraram um aumento da FC no grupo obeso, relatando que pode ser devido ao maior trabalho cardíaco e frequência respiratória destes animais. Mas como não foi avaliado a frequência respiratória no presente estudo, não podemos confirmar ou rejeitar esta hipótese.

Porém, os resultados do presente estudo vão de encontro a outros trabalhos já publicados (SHIOU et al., 2018; e ULDALL et al., 2017). Apesar disto, calcular o tamanho do efeito, e observando estas probabilidades encontradas, tornou a análise de resultados aqui realizada, mais fidedigna, o que sugere, neste caso, que uma pequena variabilidade dos dados interfere nos resultados, e assim, apesar da diferença estatística não encontrada, a probabilidade pode nos dar uma resposta semelhante aos dois estudos realizados neste projeto.

No estudo 2, não foi observado alteração da PIC pela razão P2/P1 em nenhum grupo e momento, diferente do estudo 1, e assim como não houve aumento da razão $P2/P1 > 1$, sendo considerado potencialmente patológico através de classificação de referência (NUCCI et al., 2016), mas com classificação semelhante ao estudo 1. Estudos têm demonstrado que o sobrepeso e obesidade podem levar à HIC (SINCLAIR et al., 2008; MOLLAN et al., 2016; MARKEY et al., 2016; ANDREWS; LIU; KO, 2014), entretanto, o presente estudo não confirma esta hipótese, pela alteração da morfologia de onda da PIC. Vale ressaltar, que no estudo 2, por ser transversal, há necessidade de uma comparação intragrupos, diferente da análise do estudo longitudinal, em que o objetivo da análise é observar o desenvolvimento no mesmo animal. Sendo assim, perde-se a característica da análise da área sob a curva que pode ser o responsável pela diferença estatística no estudo 1 tanto para PIC como para FC.

Uma limitação do presente estudo, já mencionada anteriormente é conhecer o valor médio da PIC em mmHg, assim como os valores de cada pico que a compõe, que é muito importante para avaliação mais fiel. No entanto, Fernandes Silva et al. (2021) demonstraram aumento da PIC na semana 4 e na semana 6 em ratos Wistar induzidos a hipertensão através do método dois rins um clipe avaliados de maneira invasiva. Além, da realização da medida da PIC através do método invasivo,

paralelamente utilizaram a razão P2 / P1 com o método semelhante ao do presente estudo. Na semana 4 encontraram aumento significativo em relação ao grupo controle e período inicial, mas apesar do aumento da razão na semana 6, não houve diferença estatística nesta semana como aconteceu no método invasivo. Importante também destacar que a PAM aferida de maneira invasiva, esteve acima dos 150mmHg já na semana 4 e aumentou ainda mais para a semana 6. O sistema não invasivo utilizado neste estudo, foi semelhante ao presente estudo, e assim como outros métodos não invasivos, não permitem conhecer estes valores, e neste sentido, conhecer a morfologia da forma de onda pode ser uma alternativa bastante interessante e de fácil diagnóstico (NUCCI et al., 2016; FERNANDES SILVA et al., 2021).

Ambos os estudos realizados nesta pesquisa, são pioneiros ao tentar elucidar a influência da obesidade sobre a PIC com um método não invasivo. Outro estudo, já citado anteriormente no estudo longitudinal, através de ratos Zucker mas com análise invasiva, observaram aumento da PIC (mmHg) em relação a ratos magros (ULDALL et al, 2017). No entanto, os valores encontrados neste estudo foram de $7,7\text{mmHg} \pm 0,42\text{mmHg}$ para ratos obesos e $5,86 \pm 0,15\text{mmHg}$ nos magros. Estes valores não apresentam estado patológico de hipertensão intracraniana, apesar da diferença estatística, considerando os valores de referência da literatura para humanos (DUNN, 2002).

A reabsorção do líquido cefalorraquidiano (LCR) nos espaços subdurais (ALPERIN et al., 2013), e pequeno deslocamento do crânio, demonstrando que o mesmo não é tão rígido (MASCARENHAS et al., 2012), e mostram que a complacência cerebral, permite um grande acúmulo de volume sem alterar a PIC, desta forma pode-se inferir que a complacência cerebral ainda não foi afetada no presente estudo, necessitando de aumentos maiores da PAM para aumento significativo da PIC (DUNN, 2012; FERNANDES SILVA et al., 2021).

A dieta hiperlipídica promove desarranjo metabólico, entre eles um menor consumo de glicose pelo organismo, podendo causar a diabetes (SHIOU et al., 2018; GÓMEZ-AMBROSI et al., 2011). Desta forma, os dados do presente estudo confirmam parcialmente esta hipótese, visto que o grupo obeso apresentou um valor médio da classificação limítrofe para diabetes se comparado ao valor de referência de seres humanos e normal para ratos Wistar, demonstrando um possível quadro de resistência insulínica (LEOPOLDO et al., 2016), também caracterizado com pré-

diabetes. Apesar da grande variabilidade do perfil lipídico, os níveis de colesterol e triglicérides ficaram abaixo dos valores de referência para animais (LEOPOLDO et al., 2016), demonstrando que o desenho experimental do presente estudo e a dieta hiperlipídica não foi suficiente para profundas alterações destas variáveis e possível surgimento de aterosclerose, promovendo assim grande desenvolvimento do aumento da PA.

Com relação a Leptina sérica, foi encontrado aumento no grupo S16-DH em relação a mesma semana do grupo controle, e em relação ao início do experimento, em que o avanço da obesidade eleva os índices de Leptina (SINCLAIR et al., 2008). A Leptina tem papel importante na ingestão alimentar, entre outras funções, como ajudar no controle glicêmico, e ainda destacamos que seu aumento pode aumentar o LCR por ação direta no plexo coróide ou no tecido aracnóide, ou ainda indiretamente via mecanismo periférico de absorção e drenagem do LCR (MARKEY et al., 2016). Todavia, ao final do experimento não houve alteração do nível de Leptina em relação ao controle, devido à grande variabilidade dos dados. Porém, inferimos que uma dieta mais hipercalórica e hiperlipídica do que do presente estudo, possa aumentar os níveis de Leptina ainda mais, visto que houve grande probabilidade de aumento, e conseqüentemente possibilidade de aumento da PIC por conta do aumento de LCR.

A 11 β -HSD1 é outro fator que pode explicar a não diferença da PIC no presente estudo, pois seu aumento também foi observado no grupo controle ao final do experimento. Ela vem sendo apontada como uma citocina chave no aumento da PIC com a obesidade, promovendo aumento de cortisol que por sua vez aumenta a produção de Aquaporinas-1 (AQP-1) na membrana apical do plexo coróide, aumentando assim a produção de LCR (SINCLAIR et al., 2010; ULDALL et al., 2017; MARKEY et al., 2016). No entanto, a grande variabilidade encontrada em S24-DP pode ter interferido nesta análise, mas a dieta apesar de causar obesidade, também não causou grande desarranjo metabólico e possivelmente interferiu pouco nos níveis desta citocina, visto que seu aumento depende também do aumento de outras citocinas responsáveis pela inflamação crônica como a IL-1, e IL-6. Com relação a IL-1 β não foi encontrado aumento e relação com a PIC durante o desenvolvimento da obesidade, indo de encontro ao apresentado por Markey et al. (2016).

O presente estudo é o pioneiro também ao avaliar o efeito da obesidade sobre a PIC e o BDNF. O BDNF é uma neurotrofina vastamente expressa pelo

sistema nervoso central, entre outros tecidos, responsável pela modulação da sobrevivência neural, pela sua diferenciação e por plasticidade neural (ALCANTARA et al., 2018; SANDRINI et al., 2018). O BDNF também pode ter um papel protetor, ou regulador dos neurônios, principalmente sobre a memória e desenvolvimento motor.

Um trauma crânio-encefálico leva a aumentos de citocinas, através do rompimento da barreira hematoencefálica, e entre elas a IL-1 β , IL-6, e TNF- α (MARKEY et al., 2016); e o consequente aumento de BDNF acontece posteriormente para regulação e recuperação de áreas lesadas. Como no presente estudo não houve aumento de IL-1 β , e de conteúdo lipídico cerebral, pode-se inferir que o aumento de BDNF ocorrido na semana 16 foi protetor ao estresse da obesidade.

Vale ressaltar, que a alta variabilidade dos dados interferiu em possível diminuição de S24-DH em relação ao S24-DP, mas observou-se probabilidade de ocorrência e assim, pode ser pela perda da ação protetora do BDNF. Desta forma, estes dados sugerem que pode ser o início da perda desta plasticidade neural, através de uma inflamação crônica de baixo grau causada pela obesidade. O BDNF no soro ou plasma pode espelhar a concentração cerebral, e parece haver diminuição de BDNF com a obesidade (SANDRINI et al., 2018). Desta forma, o presente estudo confirma parcialmente o apresentado pela literatura através de grande probabilidade, mas há necessidade de outros estudos para melhor entender esta relação com a obesidade, e principalmente sua relação com a PIC.

Com relação ao conteúdo de lipídios cerebrais, não foi confirmado a hipótese de aumento do conteúdo lipídico cerebral, como postulado por outros autores por causa de lesões na barreira hematoencefálica, causada pela obesidade (DE SOUZA et al., 2005; NASCIMENTO et al., 2015). Além disso, os animais do grupo DH apresentaram menor massa cerebral em relação ao controle na mesma semana, 8 e 16, e que só não ocorreu na semana 24 devido à grande variabilidade dos nossos dados, e que pode ter sido causado pela diminuição de células no tecido cerebral observado pela histologia.

No entanto, a espessura da matéria cinza M1 do grupo S24-DH aumentou em relação a semana 8 do mesmo grupo, porém sem diferença estatística em relação ao grupo S24-DP mas com probabilidade de aumento. Portanto, o presente estudo tem resultado semelhante ao de Ronan et al. (2016) que identificaram, em humanos,

maior extensão cortical no grupo sobrepeso/obeso, mas após análises de vértice a diferença deixa de existir, e assim confirmada pelo presente estudo. O argumento utilizado para o aumento no estudo deles é artefactual, visto que a degeneração da mielina pode interferir na análise de ressonância magnética feita por eles.

Neste sentido, também acreditamos que possa haver artefatos em nossas medidas de histologia, pois não há como fazer cortes precisos no mesmo ponto, por mais que utilize um mapa visual. No entanto, nossos resultados sugerem que o aumento de Leptina demonstra que pode haver uma tentativa de super compensação de substratos e acúmulo de outras substâncias, como LCR ou somente água no local, demonstrando uma tentativa de autorregulação do sistema nervoso, para preservação celular estrutural durante o desenvolvimento da obesidade. Ademais, edema é comum em animais com PAM acima de 150 mmHg, aumento de cálcio e/ou de atividade simpática durante auto-regulação pressórica da PIC, e ainda pode ter este limite alterado através da hipertensão crônica (FERNANDES SILVA et al., 2021). Portanto, apesar de não ter sido encontrado diferença da razão P2 / P1, a sua probabilidade de aumento, e este aumento da espessura da massa cinzenta M1, pode ser o início de um processo patológico sendo instaurado, devendo ser melhor investigado.

Sendo assim, ficam perguntas para futuros estudos: Será que este aumento pode estar relacionado a perda de complacência cerebral, e acúmulo de líquido ou água, e que exacerbaria a PIC? Quais mecanismos estariam envolvidos nesta autorregulação? E como identificá-los a tempo de preservar estas alterações? A análise de Leptina, e BDNF, seria uma avaliação fácil, que poderia indicar um prejuízo para a PIC e para o córtex?

A principal limitação do nosso estudo é o valor absoluto da PIC não ser realizado pelo aparelho utilizado, tanto seu valor médio, como os valores de cada pico. Outra limitação foi não realizar análise de agrupamento, que poderia demonstrar subgrupos, devido às diferentes características morfológicas dos grupos, sendo importante para padrões de referência para composição corporal de ratos, e que retiraria o viés da grande variabilidade de dados.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foram necessárias 12 semanas para classificação da obesidade em ratos *Wistar* utilizando a mesma densidade calórica do presente estudo, através da MT, e que a partir deste momento, as diferenças na composição corporal tornam-se mais evidentes, sendo confirmadas em 24 semanas de tratamento para os valores de %g, e valores de referência semelhantes aos apresentados em seres humanos. O fato de avaliarmos essa variável com DXA nos permitiu monitorar o processo de engorda em percentual de gordura corporal, no mesmo animal, demonstrando de maneira mais satisfatória o desenvolvimento da obesidade. A eficiência calórica da dieta hiperlipídica ofertada no presente estudo, demonstra ser suficiente para o aumento do %g, e MT, assim como o maior peso corporal aumenta CMO e MLG em ratos obesos.

Nossa hipótese sobre a influência da obesidade na PIC foi parcialmente negada, visto que não houve aumento como era esperado na razão P2/P1. Além do mais, não houve alterações da classificação das ondas para a classe II (potencialmente patológica) por exemplo. Enquanto isso, há uma probabilidade aumentada de que a morfologia da forma de onda da PIC em ratos obesos, tende a ter um aumento da razão P2/P1 e desta forma, ser direcionada para o estado potencialmente patológico, pois ocorreram flutuações ao longo do tempo, com P2 um pouco maior em OB. Além disso, a complacência cerebral dos animais do grupo NOB (ou DP) demonstra não haver prejuízo, visto que sua razão P2 / P1 diminuiu.

A composição corporal pode ser um fator de risco importante para as alterações da PIC e não o tempo. Isto indica que não é o desenvolvimento em si da obesidade que levará a perda de complacência cerebral e consequente aumento da PIC, e sim o estado fisiológico do organismo, assim como a dieta hiperlipídica. A PA não difere entre os grupos e o tempo neste estudo, ou influencia a PIC. Da mesma forma, nossos resultados sugerem que a obesidade causa aumento da FC em comparação ao grupo controle e ela deve ser melhor entendida neste processo de relação com a PIC. Os métodos de aferição da PA e FC por pletismografia de cauda do tipo VPR, demonstraram boa correlação com os resultados apresentados por estudos

com técnicas invasivas, sendo importante para a observação em estudo longitudinais com objetivos de avaliação de padrões hemodinâmicos. E a avaliação da morfologia da PIC demonstrou ser uma boa ferramenta e de simples aplicação.

Este trabalho é o primeiro que tenta elucidar o comportamento da morfologia da forma de onda da PIC de forma não invasiva sobre o desenvolvimento da obesidade, também tentando ajudar na elucidação da relação entre obesidade, PA e FC com a PIC. Estudos ainda são necessários para entender quais variáveis da obesidade têm mais influência sobre a PIC e se a FC pode alterar a morfologia da forma de onda da PIC.

A dieta hiperlipídica também demonstrou ser capaz de gerar um quadro de resistência insulínica. No entanto, os animais dos grupos DH permaneceram com níveis normais do perfil lipídico, apesar das flutuações. Sendo assim, para observar um prejuízo maior nestas variáveis, sugerimos um tempo maior de análise ou dieta mais calórica do que do presente estudo.

Confirmou-se não haver aumento da 11β -HSD1, quando não há alteração da PIC, mas não pela interferência da obesidade. Portanto, são necessário mais estudos relacionando ao estresse sobre esta citocina causado pela obesidade no tecido neural. Ademais, parece haver uma relação do BDNF e Leptina com a PIC, e o presente estudo é o primeiro a observar esta relação do BDNF com a PIC.

A Leptina, pode ser um dos responsáveis pelo aumento de LCR, e a possível diminuição do BDNF pode ser um dos responsáveis pela diminuição da massa cerebral. A Leptina como visto anteriormente, pode estar relacionado ao edema cortical através de potencial aumento de LCR, e conseqüente aumento da área M1 cinza, mas neste sentido demonstra não ser um bom resultado, pois o aumento do parênquima cerebral, podendo levar a aumento da PIC futuramente com conseqüente prejuízo cerebral. O potencial efeito da diminuição de células totais, e de células piramidais da área M1, pode estar relacionado à diminuição do BDNF, atualmente sem consenso sobre sua relação com a obesidade, mas que neste estudo sugere haver diminuição enquanto desenvolve a obesidade.

Desta forma, há necessidade de estudar melhor outros fatores neurotróficos, assim como o BDNF, em relação as citocinas e frente ao processo de

desenvolvimento da obesidade, para compreender, qual a sua influência sobre a PIC e quais fatores são necessários para que ocorra esta sinalização.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A.; et al. Global Advances in health medicine. **Health and Medicine**, v.1, n.2, p. 56 - 64, 2012.

ALLISON, D. B.; et al. Obesity as a disease: a white paper on evidence and arguments commissioned by the council of the obesity society. **Obesity**, v.16, n. 6, p.1161 - 1177, 2008.

ALAN, I.; NG, T. P.; LARBI, A. Does inflammation Determine Whether obesity is metabolically health or unhealthy? The aging perspective. **Mediators of Inflammation**, p. 1 - 14, 2012. doi:10.1155/2012/456456.

ALACANTARA, C.C.; et al. Post-stroke BDNF Concentration Changes Following Physical Exercise : A Systematic Review. **Front Neurol**, v. 9, p. 1 – 12, 2018.

ALPERIN, N.; et al. MRI evidence of impaired CSF homeostasis in obesity-associated idiopathic intracranial hypertension. **Am. J. Neuroradiol**, v. 34, p. 29 – 34, 2013.

ANDREWS, L. E.; LIU, G. T.; KO, M. W. Idiopathic Intracranial Hipertension and Obesity. **Horm Res Paediatr**, v. 81, p. 217 - 225, 2014.

ANTA, R. M. O.; et al. Pautas nutricionales en prevención y control de la hipertension arterial. **Nutr Hosp**, v.33, n. 4, p. 54 - 59, 2016.

BOUSTANY, C. N.; et al. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. **Hypertension**, v. 60, p. 1524 - 1530, 2012.

CARLOTTI JR, C. G.; Colli B. O.; Dias L. A. **Hipertensão Intracraniana. Medicina**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 552 - 562, 1998.

CABELLA, B. C. T.; et al. Validation of new noninvasive intracranial pressure monitoring method by direct comparison with a invasive technique. **Acta Neurochirurgica supplement**, v. 122, p. 93 - 96, 2016.

CARDIM, D. **Caracterização do comportamento da pressão intracraniana pelos métodos minimamente invasivos e invasivos no modelo experimental de epilepsia da pilocarpina**. Originalmente apresentado como tese de doutorado, UFSCar/SP, 2014.

CARDIM, D.; et al. Characterization of ICP behavior in an experimental model of hemorrhagic stroke in rats. **Acta Neurochirurgica supplement**, v. 122, p. 121 - 124, 2016.

CARDIM, D.; et al. Assesment of Noninvasive ICP during CSF infusion test: an approach with transcranial Doppler. **Acta Neurochirurgica**, v. 158, p. 279 - 287, 2016.

do CARMO, J. M.; et al. Obesity-Induced Hypertension: Brain Signaling Pathways. **Curr Hypertens Rep**, v. 18, p. 1 – 9, 2016.

COSTA, R. R. S.; et al. High fat diet induces central obesity, insulin resistance and microvascular dysfunction in hamsters. **Microvasc Res**, v. 82, p. 416 – 422, 2011.

CZONYSKA, M.; & PICKARD. J. D. Monitoring and interpretation of intracranial pressure. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 75, p. 813 - 821, 2011.

DÂMASO, A. R. **Efeitos do exercício agudo e crônico sobre o metabolismo lipídico e a celularidade adiposa de ratas durante a lactação e 48 horas após o desmame**. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, Unifesp-Epm, São Paulo, 1996.

DUARTE, F. O.; et al. Food restriction and refeeding induces change in lipids pathways and fat deposition in the adipose and hepatic tissues in rats with diet-induced obesity. **Exp Physiol**, v.97, n. 7, p. 888 - 894, 2012.

DUARTE, F. O.; et al. Caloric restriction and refeeding promoted different metabolic effects in fat depots and impaired dyslipidemic profile in rats. **Nutrition**, v. 24, n. 2, p. 177 – 86, 2008.

Dunn, L. T. Raised intracranial pressure. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 73, p. 23 - 7, 2002.

ESTADELLA, D.; et al. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v.20, n. 2, p. 218 – 24, 2004.

FELDSTEIN, C. Management of hypertensive crises. **American Journal of therapeutics**, v.14, n. 2, p. 135 - 159, 2007.

FENG, M.; et al. Validation of volume-pressure recording tail-cuff blood pressure measurements. **Am J of Hypertension**, v. 21, p. 1288-1291, 2008.

FERNANDES SILVA, M. V.; et al. Intracranial Pressure during the development of renovascular hypertension. **Hypertension**, v. 77, p. 1311 - 1322, 2021.

FOLCH J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Jounal Biol Chem**, v. 226, p. 497 – 509, 1957.

GERBAIX, M.; METZ, L.; RINGOT, E.; et al. Visceral fat mass determination in rodent: validation of dual-energy x-ray absorptiometry and anthropometric techniques in fat and lean rats. **Lipids in Health and Disease**, v.9 , p. 1 - 9, 2010.

GÓMEZ-AMBROSI, J.; et al. Body mass index classification misses subjects with increased cardiometabolic risk factors related to elevated adiposity. **Int. J. Obes**, v. 36, p. 286 – 294, 2011.

HALL, J. E.; et al. Obesity-induced Hypertension: Role of Sympathetic Nervous System, Leptin, and Melanocortins. **J Biol Chem**, v. 285, p. 17271 - 17276, doi: 10.1074/jbc.R110.113175 originally published online March 26, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEORGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares - Pof 2008-2009**, tabela 16, 2010. Disponível Em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_e_ncaa/defaulttabzip_prev.shtm

LEOPOLDO, A. S.; et al. Classification of different degrees of adiposity in sedentary rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 49, p. 1 – 9, 2016.

DE-LIMA-OLIVEIRA, M.; SALINET, A.S.M.; NOGUEIRA, R.C.; et al. Intracranial Hypertension and Cerebral Autoregulation: A Systematic Review and Meta-analysis. **World Neurosurg**, v.113, p. 110 – 24, 2018.

MARMAROU, A.; & TABADDOR, K. Intracranial pressure: physiology and pathophysiology. **Head Injury**, 3^a ed. Baltimore: Williams 7 Wilkins, p. 159 - 176, 1993.

MASCARENHAS, S.; & VILELA, G. H. F. **Noninvasive intracranial pressure system**. Patent N° WO/2013/041973. United States Patent and Trademark Office, 2013.

MARKEY, K. A.; et al. Understanding idiopathic intracranial hypertension: mechanisms, management, and future directions. **Lancet Neurol**, v. 15, p. 78 – 91, 2016. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00298-7

MASCARENHAS, S.; et al. The New ICP Minimally Invasive Method Shows that the Monro-Kellie doctrine is not valid. **Acta Neurochir Suppl**, v. 114, p.117 – 119, 2012.

McBRYDE, F. D.; MALPAS, S. C.; PATON, J. F. R. Intracranial mechanisms for preserving brain blood flow in health disease. **Acta Physiol**, v.219, p. 274 - 287, 2017

MOLLAN, S. P.; et al. Evolving evidence in adult idiopathic intracranial hypertension: pathophysiology and management. **J Neurol Neurosurg Psychiatry** [Internet]. v. 87, p. 982–992, 2016. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26888960>

MUIZELAAR, J. P.; & OBRIST, W. Central nervous system trauma status report. **National Institute for Health**, p. 123 - 137, 1985.

NUCCI, C. G.; et al. Intracranial pressure wave morphological classification: automated analysis and clinical validation. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 158, p. 581 – 588, 2016.

OISHI, J. C.; et al. Endothelial Dysfunction and Inflammation Precedes Elevations in Blood Pressure Induced by a High-Fat Diet. **Arq. Bras. Cardiol**, p. 558 – 567, 2018. doi:10.5935/abc.20180086

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS) Cardiovascular Diseases. Available: <http://www.who.int/cardiovascular diseases/en/>. Accessed 11 October 2016.

PAXINOS, G.; & WATSON, C. **The rat Brain in stereotaxic coordinates**. Elsevier. 5th edição, 2005.

POLTER, N.; et al. Hypertension. **Lancet**, v. 386, p. 801 - 812, 2015.

POPP, J.; & BOURKE, R. S. Cerebral edema: Etiology pathophysiology and therapeutetic considerations. **Contemporary Neurosurgery**, v.1, p.1 - 6, 1977.

PRADO, W. L. et al. Obesidade e adipocinas inflamatórias: práticas para a prescrição de exercício. **Rev Bras Med Esporte**, v. 15, p. 378 - 383

RASKIN, D. B. F.; et al. Fatores associados à obesidade e ao padrão andróide de distribuição da gordura corporal em mulheres climatéricas. **RBGO**, v. 25, p.435 - 441, 2000.

ROWE, F. J.; & SARKIES, N. J. The relationship between obesity and idiopathic intracranial hypertension. **International Journal of Obesity**, v. 23, p. 54v-v59, 1999.

RONAN, L.; et al. Obesity associated with increased brain age from midlife. **Neurobiology of aging**, v. 47, p. 63 - 70, 2016.

SANDRINI, L.; et al. Association between Obesity and Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels: Systematic Review of Literature and Meta-Analysis. **Int J Mol Sci**, v.19, p. 1 – 15, 2018.

SANTOS, M. G.; dos; et al. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arq Bras Cardiol**, v.90, p. 310 - 308, 2007.

SHIH, K.; & KWOK, C. F. Exercise reduces body fat and improves insulin sensitivity and pancreatic β -cell function in overweight and obese male Taiwanese adolescents. **BMC Pediatrics**, v.18, n. 80, p. 1 – 8, 2018. doi:10.1186/s12887-018-1025-y

SHIOU, Y.; Huang, I.; Lin, H. High fat diet aggravates atrial and ventricular remodeling of hypertensive heart disease in aging rats. **J Formos Med Assoc**, v. 117, p. 621 – 631, 2018.

SILVA, E.; et al. Efeito agudo e crônico do treinamento físico aeróbico sobre a resposta de pressão arterial sistêmica de indivíduos hipertensos. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**, v. 1, p. 9 - 20, 2006.

SINCLAIR, A. J.; et al. Exploring the pathogenesis of IIH: An perspective inflammatory. **Journal of Neurology**, p. 1 - 9, 2008.

SINCLAIR, A. J.; et al. Low energy diet and intracranial pressure in women with idiopathic intracranial hypertension: prospective cohort study. **BMJ**, v. 341, c2701, 2010. doi: 10.1136/bmj.c2701. PMID: 20610512; PMCID: PMC2898925.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.107, p.1 - 103, 2016.

SOUTELLO, A. L. S.; et al. Quality of Life on Arterial Hypertension: Validity of Known Groups of MINICHAL, **Arq Bras Cardiol**, v.104, n. 4, p. 299 - 307, 2015.

SOUZA, R. G. M. de; et al. Métodos de análise da composição corporal em adultos obesos Methods for body composition. **Rev Nutr**, v. 27, p.569 – 583, 2014.

SPERETTA, G. F.; et al. High-fat diet increases respiratory frequency and abdominal expiratory motor activity during hypercapnia. **Respir Physiol Neurobiol**, v. 258, p. 32 – 39, 2018.

SZEWKA, A. J.; et al. Idiopathic intracranial hypertension: relation between obesity and visual outcomes. **J Neuroophthalmol**, v. 33, p. 4 - 8, 2013.

TESAURO, M.; IANTORNO, M.; CAMPIA, U. Obesity-related Metabolic Syndrome Vascular Complications. **Int J Endocrinol**, p. 1 - 2, 2013.

Vilela, G. H. F. **Desenvolvimento de um sistema minimamente invasivo para monitorar a pressão intracraniana**. Originalmente apresentado como tese de Doutorado UFSCar/SP, 2010.

VILEIGAS, D. F.; et al. Saturated high-fat diet-induced obesity increases adenylate cyclase of myocardial β -adrenergic system and does not compromise cardiac function. **Physiol Rep**, v. 4, n. 17, p. 1 - 12, 2016.

WHITE, P. A. S.; et al. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 57, p. 339 – 345, 2013.

ULDALLI, M.; et al. Choroid plexus aquaporin 1 and intracranial pressure are increased in obese rats: towards an idiopathic intracranial hypertension model? **International Journal of Obesity**, v. 41, p. 1141 – 1147, 2017.

UNNERBACK, MARTEN, OTTENSEN JHONNY T. R. P. ICP curve morphology and intracranial flow-volume changes: a simultaneous ICP and cine phase-contrast MRI study in humans. **Acta Neurochir. (Wien)**, v. 160, p. 219 – 224, 2018.

YANAGIHARA, G. R.; et al. Influence of high fat diet on bone tissue: an experimental study in growing rats. **J Nutr Heal Aging**, v. 3, p. 1 – 7, 2016.

YEU, J.; et al. Evaluation of iNSIGHT VET DXA (Dual-energy x-ray Absorptiometry) for assessing body composition in obese rats fed with high fat diet: a follow-up study of diet induced obesity model for 8 weeks. **Laboratory Animal Research**, v. 35, p. 1 - 7, 2019.

VECCHIÉ, A; et al. Obesity phenotypes an their paradoxical association with cardiovascular diseases. **European Journal of Internal Medicine**, v. 48, p. 6 – 17, 2018.

ZALESIN, K. C.; et al. Impact of obesity on cardiovascular disease. **Med Clin North Am**, v. 95, n.5, p. 919-37, 2011. doi: 10.1016/j.mcna.2011.06.005.

ANEXO

Pró Reitoria
Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA PA E DA PIC NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA", protocolada sob o CEUA nº 8239170317, sob a responsabilidade de **Diego Adorna Marine e equipe; Aparecida Maira Catai; Sérgio Mascarenhas Oliviera** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 15/05/2017.

We certify that the proposal "LONGITUDINAL EVALUATION OF AP AND ICP IN THE DEVELOPMENT OF OBESITY AND METABOLIC SYNDROME OF RATS FED WITH HYPERLIPIDIC DIETS", utilizing 96 Heterogenics rats (96 males), protocol number CEUA 8239170317, under the responsibility of **Diego Adorna Marine and team; Aparecida Maira Catai; Sérgio Mascarenhas Oliviera** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 05/15/2017.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [05/2017](#) a [10/2017](#)

Área: [Centro de Ciências Biológicas E da Saúde](#)

Origem: [Biotério Central da UFSCar](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [45 a 45 dias](#)

N: [96](#)

Linhagem: [Wistar](#)

Peso: [200 a 250 g](#)

Resumo: Introdução: A obesidade é uma doença inflamatória e que aumenta a cada ano em todo mundo, e o perfil desta doença pode acarretar diversas outras doenças, como a hipertensão arterial (HA). Embora estudos iniciais indicassem pouquíssimas variações na pressão intracraniana (PIC), pesquisas recentes indicam que a HA interfere na PIC, mas ainda não se sabe ao certo quais são os efeitos deletérios para o cérebro deste aumento de pressão. Aumentos da Pressão intracraniana (PIC) tem causado um aumento de casos de Acidente Vascular Cerebral (AVC), e dentre os casos hemorrágicos, 65% tem como prognóstico o óbito. Desta forma, temos o objetivo de analisar o comportamento da HA e da PIC frente à obesidade, e identificar as correlações existentes entre HA, PIC, e marcadores inflamatórios da obesidade. Materiais e métodos: Serão utilizados 96 animais, que serão divididos randomicamente em dois grupos, um grupo denominado dieta hiperlipídica (DH) e outro dieta controle (DC). A partir de três semanas, os ratos de cada grupo serão avaliados, e seis animais por grupo serão eutanasiados. Comporão a bateria de testes a ser realizada nas avaliações a cada 3 semanas: Composição corporal, Pressão arterial sistêmica, e PIC com sistemas não invasivos, e ainda faremos histologia do cérebro, perfil lipídico e análise de marcadores inflamatórios após a eutanásia. O tempo total deste projeto deverá ser de 24 semanas. Resultados esperados: Esperamos demonstrar com este estudo como é comportamento da PIC no desenvolvimento da obesidade, bem como possíveis correlações com a HA e a obesidade. Além disso, esperamos também demonstrar a partir de que momento o aumento da PA desencadeia em aumento da PIC, e assim encontrar um indicador de prevenção das alterações graves para o cérebro.

Local do experimento: Departamento de Educação Física, Nutrição e Motricidade Humana

São Carlos, 15 de maio de 2017



São Carlos, 02 de julho de 2018
 CEUA N 8239170317

Ilmo(a). Sr(a).
 Responsável: Diego Adorna Marine
 Área: Centro De Ciências Biológicas E Da Saúde
 Ana Claudia Garcia De Oliveira Duarte (orientador)

Título da proposta: "AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA PA E DA PIC NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais UFSCar

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 28/junho/2018) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Solicitação de prorrogação do prazo de vigência do projeto. Motivo: O prazo anterior expirou em 10/2017. Necessitamos da aprovação da FAPESP para financiamento do projeto, e por isso não iniciou até a presente data. Desta forma solicito uma nova data para 12/2019, visto que ainda estarei no prazo estabelecido para conclusão do meu doutorado e agora estamos com a aprovação do projeto.".

Comentário da CEUA: "Solicitação aprovada.".

Profa. Dra. Luciana Thie Seki Dias
 Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho
 Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal de São Carlos