

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
ÁREA DE FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA**

**MATEUS MONTEIRO CEREIJO**

**EFEITOS DO CONSUMO DE CERVEJA EM RATOS TRATADOS COM  
DIETA DE CAFETERIA**

**PONTA GROSSA**

**2023**

**MATEUS MONTEIRO CEREIJO**

**EFEITOS DO CONSUMO DE CERVEJA EM RATOS TRATADOS COM  
DIETA DE CAFETERIA**

Dissertação apresentada como requisito à obtenção do título de mestre em Ciências Biomédicas, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, na área de Fisiologia/Fisiopatologia.

Orientador: Prof. Dr. Edmar Miyoshi

**PONTA GROSSA**

**2023**

C414 Cereijo, Mateus Monteiro  
Efeitos do consumo de cerveja em ratos tratados com dieta de cafeteria /  
Mateus Monteiro Cereijo. Ponta Grossa, 2023.  
55 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas - Área de Concentração:  
Fisiologia e Fisiopatologia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

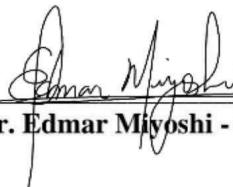
Orientador: Prof. Dr. Edmar Miyoshi.

1. Obesidade. 2. Cerveja. 3. Comportamento. 4. Dieta de cafeteria. 5. Ratos.  
I. Miyoshi, Edmar. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fisiologia e  
Fisiopatologia. III.T.

CDD: 613.25

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA 03/2023 DO MESTRANDO Mateus Monteiro Cereijo REALIZADA NO DIA 28 DE JUNHO DE 2023, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.**

No dia vinte e oito de junho do ano de dois mil e vinte três, às 9h20min, na sala 58 do Bloco M - Setor de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em seção pública, sob a presidência da **Professor Dr. Edmar Miyoshi** reuniu-se a Banca Examinadora de defesa da Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas do mestrando Mateus Monteiro Cereijo na linha de pesquisa “ Fisiopatologia do Sistema Nervoso Central ”, constituída pelas demais Doutoras (membros titulares): **Prof. Dr. Bruno Rodrigo Minozzo - UNICESUMAR (membro externo a UEPG) e Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro (membro interno ao PPG/UEPG)**. Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem a defesa da dissertação de Mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição. O título da dissertação avaliada foi: “**Efeitos do consumo de cerveja em ratos tratados com dieta de cafeteria**”. Encerrada a defesa, e após reunião, a banca comunicou o resultado final da avaliação da dissertação como **aprovado**. Considerado requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas, a aluna deverá entregar uma cópia da versão final, no prazo estipulado no item 8 da IN 01/2015, referente a defesa de dissertação com as modificações sugeridas pelos membros da banca examinadora. Para a obtenção do título de mestre, o aluno terá até 6 meses, após a data da defesa da sua dissertação, para apresentar ao Colegiado a carta de submissão do seu artigo em revista indexada no estrato mínimo B3 dentre os periódicos indicados pela área de Ciências Biológicas II vigente. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.



Prof. Dr. Edmar Miyoshi - UEPG/PR



Prof Dr. Bruno Rodrigo Minozzo – Unicesumar/PG/PR



Prof Dr Marcelo Machado Ferro – UEPG

Ponta Grossa, 28 de junho de 2023.

**Dedico aos meus pais, Raquel e Walter, familiares, namorada e amigos!**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela proteção e por me dar forças durante toda esta caminhada. Obrigado Senhor! Sem sua ajuda nada disso seria possível.

A minha família, que sempre me deu suporte e se mobilizou para me ajudar nos momentos difíceis.

As minhas irmãs, Maisa por todo o esforço e cuidado, e Mariana pelo cuidado, atenção, risadas e carinho. Agradeço também ao meu pai Walter, e ao meu irmão Renato. Sem o suporte de vocês eu não teria conseguido.

Agradeço em especial, a Amanda Araújo por toda compreensão, auxílio e apoio. Você foi a minha melhor companhia! Em momentos bons e ruins, ter você por perto tornou a vida mais leve.

Aos meus amigos que me escutaram falar/teorizar sobre meu trabalho por inúmeras vezes! Hahaha

Aos meus colegas de mestrado, pela amizade e apoio.

Ao meu orientador, Edmar Miyoshi, pela oportunidade e confiança em meu trabalho! Sempre tirou minhas dúvidas e me direcionou com maestria quando necessário. Saiba que lhe admiro como profissional. Obrigado!

A professora Dionízia e também a minha colega Any, vocês me proporcionaram a oportunidade de ingressar na vida científica.

A professora Marcia Helena Appel e professor Thiago Rentz, pelo profissionalismo e pela inspiração que suas aulas me causaram!

As bioteristas Marilene e Jô, por toda a ajuda. Agradeço também ao técnico Marcelo, por toda a ajuda prestada nos laboratórios.

A Ana, Gabriela, Karen, Marias Isabel, Isabelle e Fernanda, e a todos os alunos e alunas de iniciação científica que me ajudaram.

Aos professores membros da banca de defesa, pelas contribuições com o aperfeiçoamento do trabalho.

A Capes, pelo apoio financeiro!

A todos que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.

**“Faça o teu melhor, nas condições que você tem, enquanto você não tem condições melhores para fazer melhor ainda”**

**(Mario Sergio Cortella)**

## RESUMO

A ingestão contínua de cerveja pode estar associada à obesidade e distúrbios comportamentais. Entretanto, estudos apontam uma influência benéfica da cerveja sobre a resistência à insulina e a neuroinflamação. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se o consumo das cervejas, com ou sem álcool, tem efeito sobre os parâmetros comportamentais, bioquímicos e o acúmulo de gordura corporal em ratos. Noventa ratos machos da linhagem Wistar foram divididos em seis grupos: controle (CTL); controle + cerveja sem álcool (CTL+SA); controle + cerveja com álcool (CTL+CA); dieta de cafeteria (DIE); dieta de cafeteria + cerveja sem álcool (DIE+SA); dieta de cafeteria + cerveja com álcool (DIE+CA). A dieta de cafeteria iniciou aos 30 dias de vida dos animais, e o fornecimento de cerveja aos 60 dias. A partir dos 91 dias de vida, os animais foram submetidos a testes comportamentais e posteriormente eutanasiados. O soro sanguíneo foi coletado e armazenado para as análises bioquímicas. Os estoques de gorduras foram retirados e pesados para verificar o desenvolvimento da obesidade. Não encontramos diferença entre os tratamentos com as cervejas (com ou sem álcool) nas variáveis analisadas. Os ratos dos grupos dieta de cafeteria apresentaram comportamento tipo-depressivo e maior nível de adiposidade e peso corporal em relação aos seus respectivos grupos controle. Concluímos que o consumo das cervejas, na frequência e duração aderidas neste trabalho, não altera os aspectos comportamentais, bioquímicos e ganho de peso.

**Palavras-chave:** Obesidade, cerveja, comportamento, dieta de cafeteria, ratos.



## ABSTRACT

Continuous beer intake may be associated with obesity and behavioral disorders. However, studies point to a beneficial influence of beer on insulin resistance and neuroinflammation. Therefore, the objective of this study was to evaluate whether the consumption of beers, with or without alcohol, has an effect on behavioral and biochemical parameters and the accumulation of body fat in rats. Ninety male Wistar rats were divided into six groups: control (CTL); control + non-alcoholic beer (CTL+SA); control + beer with alcohol (CTL+CA); cafeteria diet (DIE); cafeteria diet + non-alcoholic beer (DIE+SA); cafeteria diet + beer with alcohol (DIE+CA). The cafeteria diet started at 30 days of life of the animals, and the supply of beer at 60 days. From the 91st day of life, the animals were submitted to behavioral tests and later euthanized. Blood serum was collected and stored for biochemical analysis. Fat stores were removed and weighed to check for the development of obesity. We found no difference between treatments with beers (with or without alcohol) in the analyzed variables. Rats in the cafeteria diet groups showed depressive-like behavior and higher levels of adiposity and body weight compared to their respective control groups. We conclude that the consumption of beers, in the frequency and duration adhered in this work, does not change the behavioral, biochemical and weight gain aspects.

**Keywords:** Obesity, beer, behavior, cafeteria diet, rats.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Delineamento experimental .....	24
<b>Figura 2</b> - Sequência de realização dos testes comportamentais .....	30
<b>Figura 3</b> - Consumo de quilocalorias a cada semana .....	33
<b>Figura 4</b> - Consumo de cerveja a cada semana .....	34
<b>Figura 5</b> - Evolução do peso dos animais a cada semana .....	35
<b>Figura 5.a</b> - Evolução do peso semanal a partir da semana 7 .....	35
<b>Figura 6</b> - Peso final e diferença do peso final para o peso inicial.....	36
<b>Figura 7</b> - Peso dos estoques de gordura somados e separados .....	36
<b>Figura 8</b> - Índice de adiposidade .....	37
<b>Figura 9</b> - Índice de Lee .....	38
<b>Figura 10</b> - Teste de labirinto em cruz elevado .....	40
<b>Figura 11</b> - Teste de campo aberto .....	40
<b>Figura 12</b> - Teste de reconhecimento de objetos .....	41
<b>Figura 13</b> - Teste de nado forçado .....	41
<b>Figura 14</b> - Splash Test .....	42

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Critérios para Síndrome Metabólica segundo o NCEP .....	19
<b>Quadro 2</b> - Composição da dieta de cafeteria .....	25
<b>Quadro 3</b> - Composição das cervejas .....	26
<b>Quadro 4</b> - Resultados do cálculo alométrico .....	34
<b>Quadro 5</b> - Resultados da quantificação de flavonoides .....	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Exames bioquímicos relacionados à síndrome metabólica .....	38
<b>Tabela 2</b> - Exames bioquímicos relacionados à atividade hepática .....	39

## LISTA DE SIGLAS

5 - HT	Hidroxitriptamina (Serotonina)
ADH	Álcool desidrogenase
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CA	Campo aberto
DCAF	Dieta de cafeteria
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
FAL	Fosfatase alcalina
GABA	Ácido gama-aminobutírico
HED	Human equivalent dose
ID	Índice de discriminação
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
Kcal	Quilocalorias
LCE	Labirinto em cruz elevado
LHS	Lipase hormônio sensível
LPL	Lipase lipoproteica
NCEP	National Cholesterol Education Program
NF	Nado forçado
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SM	Síndrome metabólica
ST	Splash test
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TRO	Teste de reconhecimento de objetos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
2.1 CERVEJA .....	16
2.2 OBESIDADE .....	18
2.3 SAÚDE MENTAL: ANSIEDADE, DEPRESSÃO E MEMÓRIA .....	20
2.4 DIETA DE CAFETERIA .....	21
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
4.1 COMITÊ DE ÉTICA .....	24
4.2 DELINEAMENTO EXPERIENTAL .....	24
4.2.1 Animais .....	24
4.2.2 Divisão de grupos .....	24
4.2.3 Ambiente .....	25
4.2.4 Alimentação .....	25
4.2.5 Mensuração do peso .....	26
4.2.6 Consumo alimentar .....	26
4.2.7 Consumo de cerveja .....	26
4.2.8 Cálculo alométrico .....	27
4.2.9 Quantificação do conteúdo de flavonóides totais das cervejas .....	28
4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS .....	28
4.3.1 Teste de labirinto em cruz elevado .....	28
4.3.2 Teste de campo aberto .....	29
4.3.3 Teste de reconhecimento de objetos .....	29
4.3.4 Teste de nado forçado .....	30
4.3.5 Splash test .....	30
4.4 ANÁLISE “ex vivo” .....	31
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	32
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
5.1 CONSUMO ALIMENTAR .....	33
5.2 CONSUMO DE CERVEJA .....	33
5.2.1 Cálculo alométrico .....	34
5.2.2 Quantificação do conteúdo de flavonóides .....	34
5.3 DADOS BIOMÉTRICOS .....	35
5.4 DADOS BIOQUÍMICOS .....	38
5.5 TESTES COMPORTAMENTAIS.....	39
5.5.1 Teste de labirinto em cruz elevado .....	39
5.5.2 Teste de campo aberto .....	40
5.5.3 Teste de reconhecimento de objetos .....	41
5.5.4 Teste de nado forçado .....	41
5.5.5 Splash test .....	42
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>

<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO CEUA .....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida produzida a partir da fermentação de cereais e possui carboidratos, etanol, água e minerais em sua composição (DE GAETANO *et al.*, 2016). A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2018) aponta a cerveja como a segunda bebida alcoólica mais consumida no mundo. No Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) de 2019, 26,4% das pessoas com 18 anos ou mais costuma consumir bebida alcoólica ao menos uma vez na semana.

Uma das grandes preocupações sobre o consumo de bebidas alcoólicas é a sua relação com a ansiedade e depressão (GAVIN *et al.*, 2015). O etanol é uma das substâncias que ativa o sistema de recompensa presente no cérebro, e seu uso contínuo e abusivo pode causar uma dessensibilização deste sistema. Tal dessensibilização está relacionada com distúrbios comportamentais (OLIVEIRA & MALBERGIER, 2014; SANTOS *et al.*, 2014).

Além de sua relação com o sistema nervoso central, o etanol fornece calorias (7,1 kcal/g) uma vez que é derivado da fermentação de alimentos que contém carboidratos (KACHANI; BRASILIANO; HOCHGRAF, 2008). Em humanos, o consumo de etanol também está relacionado com o hábito de uma maior ingestão de alimentos. Sendo assim, a ingestão contínua de etanol, e demais componentes presentes na cerveja, fornece uma quantidade substancial de calorias que pode favorecer o desenvolvimento de obesidade (MMATH & LEATHERDALE, 2017; INAN-EROGLU *et al.*, 2020)

A obesidade é definida pela OMS como um acúmulo excessivo de gordura corporal e está relacionada às doenças cardiovasculares, diabetes e doenças mentais, como a ansiedade e a depressão (PERRY; GUILLORY; DILKS, 2021). O consumo de bebidas e alimentos com alta quantidade de sódio, carboidrato e lipídio é apontado como um dos principais fatores causadores de um aumento demasiado na gordura corporal (ENES; CAMARGO; JUSTINO, 2019).

A análise da literatura não permite estabelecer com clareza a relação entre o consumo de cerveja, obesidade e alterações de comportamento do tipo-depressivo e tipo-ansioso. Alguns estudos colocam o consumo diário de cerveja, geralmente associado a um estilo de vida sedentário, como um fator ligado a uma maior chance de desenvolver sobrepeso e obesidade (INAN-EROGLU *et al.*, 2020; MADER *et al.*, 2020). Outros estudos apontam efeitos benéficos da ingestão moderada de cerveja na lipoproteína de alta densidade (HDL) e sensibilidade à insulina (DE GAETANO *et al.*, 2016; GALLEGO *et al.*, 2020). Todavia os dados são inconclusivos.



Existem estudos em ratos que analisaram o consumo de bebidas alcoólicas, ganho de peso e enzimas envolvidas no processo oxidativo. Além destes estudos, pesquisadores analisaram marcadores inflamatórios e o dano hepático causado pela ingestão excessiva de calorias, ou então, buscaram estabelecer valores de referência para enzimas relacionadas à atividade hepática em ratos. (LIMA *et al.*, 2014; BORTOLIN *et al.*, 2018; KOLOTA *et al.*, 2019).

Poucos estudos em ratos e/ou camundongos analisaram diretamente a interação entre cerveja, obesidade e alterações comportamentais. Sendo assim, é muito relevante realizar pesquisas que ajudem a esclarecer alguns aspectos da ligação entre o consumo de cerveja e o estado de obesidade.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CERVEJA

A Cerveja é uma bebida que resulta da fermentação, a partir de leveduras, do mosto de cevada malteada (BRASIL, 2019). O início da fabricação de cervejas não dispõe de uma data exata na literatura, no entanto estudos indicam que as primeiras cervejas foram produzidas a mais de 2000 anos antes de cristo (KUNZE, 2004; BREDÁ et al., 2022). Habitantes da antiga Mesopotâmia produziam uma espécie preliminar de cerveja que, juntamente ao pão, era distribuída para a força de trabalho da época. Desde então, a cerveja vem sendo adaptada e melhorada de acordo com a necessidade e o interesse dos seres humanos (KUNZE, 2004; HUGHES, 2014; RAIHOFER et al., 2022).

Nos dias atuais a cerveja é uma das fontes de etanol mais consumida no mundo. Segundo o relatório sobre etanol e saúde publicado pela OMS em 2018, na região das américas (norte, central e sul) a cerveja representa 53,8% do consumo de etanol entre pessoas com 15 anos completos ou mais. Já no Brasil, especificamente, esta porcentagem aumenta para 62%. Em 2019, uma pesquisa conduzida pela Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) apontou a cerveja como a bebida alcoólica mais consumida em países da América Latina, onde o Brasil representou 30,8% da amostra total. As estatísticas encontradas mostraram uma alta ingestão de cerveja a nível mundial, o que nos levou a investigar mais sobre os componentes desta bebida e seus possíveis efeitos.

As principais matérias-primas da cerveja são lúpulo, água, leveduras e cereais como arroz, trigo, milho e aveia (DE KEUKELEIRE *et al.*, 2003; GIOVENZANA; BEGHI; GUIDETTI, 2014). Após o processo de fermentação a bebida em questão obtém em sua composição etanol, carboidratos, proteínas, vitaminas do complexo B e minerais como sódio, potássio, magnésio, ferro e fósforo (DE GAETANO *et al.*, 2016). Entre os vários componentes da cerveja os não alcoólicos são os mais citados quando se trata de possíveis efeitos benéficos.

Os polifenóis são compostos não alcoólicos que podem variar de acordo com a matéria-prima e processo de fabricação da bebida (OSORIO-PAZ; BRUNAUER; ALAVEZ, 2019). Tais substâncias derivam, principalmente, do malte e do lúpulo. Vale destacar a ação de polifenóis como os flavonóides, dentre eles o xanthohumol e isoxanthohumol, e também do grupo de ácidos iso- $\alpha$ -acids, compostos os quais possuem ação antioxidante e anti-inflamatória no organismo. Estes compostos podem exercer um efeito supressor sobre o

desenvolvimento de obesidade, neuroinflamação e declínio mental (AYABE *et al.*, 2018; SAMUELS; SHASHIDHARAMURTHY; RAYALAM, 2018; OSORIO-PAZ; BRUNAUER; ALAVEZ, 2019; TIRADO-KULIEVA *et al.*, 2023).

Os efeitos benéficos da cerveja estão associados ao seu consumo moderado (aproximadamente 330 ml/dia para mulheres e 660 ml/dia para homens) (DE GAETANO *et al.*, 2016; PADRO *et al.*, 2018). No entanto, o consumo excessivo de cerveja possui riscos devido a alta ingestão de etanol.

O etanol é definido pela OMS como uma substância tóxica e psicoativa que pode afetar estruturas do sistema nervoso central. A ingestão de etanol em sua fase inicial (de maneira leve à moderada) ativa um sistema de recompensa no cérebro, este sistema está relacionado, principalmente, com a dopamina. A liberação de dopamina está associada à sensação de prazer. Entretanto, quando consumido de maneira abusiva o etanol aumenta o ritmo do funcionamento de neurônios dopaminérgicos. Uma liberação alta e contínua de dopamina pode levar à dessensibilização do sistema de recompensa, a qual está relacionada com a obesidade e sintomas de ansiedade e depressão (OLIVEIRA & MALBERGIER, 2014; SANTOS *et al.*, 2014; GAVIN *et al.*, 2015).

Além de estar ligado a distúrbios comportamentais, o consumo de etanol em excesso pode causar um acúmulo de gordura no fígado. Aproximadamente 2% a 10% da quantidade ingerida de etanol é eliminada pelos rins e pulmões. O restante, após ser absorvido pelo trato gastrointestinal, é levado ao fígado para ser oxidado. Uma das principais vias de metabolização do etanol no fígado é a da enzima álcool desidrogenase (ADH), responsável pela transformação do etanol em aldeído acético. O aldeído acético inibe a  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos na mitocôndria do hepatócito, resultando em um excesso de ácidos graxos no fígado. (MARTINS, 2013; MENG *et al.*, 2019).

Ademais, a ingestão de etanol fornece uma quantidade considerável de calorias sem valor nutricional (7 kcal/g). O consumo exagerado de etanol em humanos é relacionado à uma maior ingestão de alimentos que, juntamente às calorias provenientes dos componentes não alcoólicos da cerveja, pode ocasionar um superavit calórico que favorece o ganho de peso e desenvolvimento de obesidade (KACHANI; BRASILIANO; HOCHGRAF, 2008; YEOMANS, 2010; MMATH & LEATHERDALE, 2017).

## 2.2 OBESIDADE

A obesidade é uma doença crônica, multifatorial, que tem como característica o excesso de adiposidade (TAVARES; NUNES; SANTOS, 2010; PORET *et al.*, 2018). O tecido adiposo tem como função conhecida o armazenamento de energia, para quando necessário, mas também possui participação no sistema imunológico (STOLARCZYK, 2017). O organismo acumula energia, como triglicerídeos, em células denominadas adipócitos (TURER *et al.*, 2012). Um grande acúmulo de triglicerídeos gera um aumento do tecido adiposo (subcutâneo e visceral), o que torna o organismo mais suscetível ao desenvolvimento de obesidade (PORET *et al.*, 2018).

Existe mais de um tipo de tecido adiposo no organismo. Um deles é o tecido adiposo marrom (TAM), o qual possui um papel termogênico relacionado com a manutenção da temperatura corporal. Isso ocorre devido à grande quantidade de mitocôndrias e consequente capacidade oxidativa alta (FUSTER *et al.*, 2016). Outro tipo de tecido adiposo é o branco (TAB), que estoca energia em forma de lipídeos e também tem a função de liberar citocinas e hormônios (LACERDA; MALHEIROS; DE ABREU, 2016). Por fim, existe o tecido adiposo bege que é derivado de uma transformação de adipócitos brancos, processo conhecido como “escurecimento” do TAB. O tecido adiposo bege é similar ao TAM em aspectos histológicos e pode captar glicose e ácidos graxos para gerar calor (KURYLOWICZ & PUZIANOWSKA-KUZNICKA, 2020; CHENG *et al.*, 2021).

Quando os adipócitos presentes nas regiões subcutânea e visceral aumentam de tamanho de maneira exagerada, células como monócitos, T CD4 e CD8, provenientes do sistema imunológico, entram no tecido adiposo estimulando a liberação de agentes pró-inflamatórios (WASINSKI *et al.*, 2013). A seguir, abordaremos as principais citocinas e demais agentes envolvidos no processo inflamatório.

O fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) está presente em situações como apoptose, indução de resistência à insulina e produção de outras citocinas como a interleucina 1 (IL-1) e 6 (IL-6). A ação do TNF- $\alpha$  envolve o estímulo na expressão da lipase hormônio sensível (LHS), o que diminui a lipase lipoproteica (LPL) e dificulta a captação de glicose dos adipócitos (LACERDA; MALHEIROS; DE ABREU, 2016; STOLARCZYK, 2017).

A IL-6 tem ação inflamatória, age no metabolismo de carboidratos e lipídeos, e está relacionada com o aumento de peso corporal, resistência à insulina e inibição da LPL. O

conteúdo plasmático aumentado de IL-6 pode estimular a supressão de leptina e a síntese hepática de triacilgliceróis (LACERDA; MALHEIROS; DE ABREU, 2016).

A interleucina 10 (IL-10) assim como a adiponectina tem ação anti-inflamatória, inibindo a síntese de TNF- $\alpha$  e IL-6. Tanto a IL-10 quanto a adiponectina parecem estar relacionadas com a atenuação de aterosclerose. Ainda, a adiponectina está correlacionada positivamente com a sensibilidade à insulina e sua expressão diminui quando o tecido adiposo aumenta (SIPPEL *et al.*, 2014).

A leptina é uma importante adipocina que tem ação no hipotálamo, reduzindo a ingestão de alimentos. Além de agir no hipotálamo, a leptina favorece a sensibilidade à insulina, aumenta a oxidação lipídica no músculo esquelético e reduz a síntese hepática de triacilglicerol (SIPPEL *et al.*, 2014; LACERDA; MALHEIROS; DE ABREU, 2016; STOLARCZYK, 2017).

O estado inflamatório causado pela obesidade pode levar a distúrbios metabólicos como a síndrome metabólica (SM). A definição de SM é complexa, entretanto a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) se refere a esta condição como um grupo de doenças com base na resistência à insulina. O componente observado com mais frequência na SM é a obesidade abdominal, e pode estar relacionada com um estilo de vida sedentário, dislipidemias e hipertensão (GIERACH *et al.*, 2014; MYERS; KOKKINOS; NYELIN, 2019). No quadro 1 são apresentados os critérios para diagnóstico de SM segundo *National Cholesterol Education Program* (NCEP).

**Quadro 1** - Critérios para síndrome metabólica segundo o National Cholesterol Education Program

CRITÉRIOS	NCEP
Obesidade	Cintura abdominal > 102 cm em homens e > 88 cm em mulheres
Glicose plasmática	$\geq 110$ mg/dl
Triglicerídeos	$\geq 150$ mg/dl
HDL	< 40 mg/dl em homens e < 50 mg/dl em mulheres
Pressão arterial	Pressão sistólica $\geq 130$ mmHg ou diastólica $\geq 85$ mmHg

Fonte: adaptado de Santos; Schrank e Kupfer (2009)

Nota: Resistência à insulina não aparece como critério obrigatório no NCEP

Quando não tratada, a SM aumenta a chance de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). As DCNT, como *diabetes mellitus* tipo II e doenças

cardiovasculares, constituem uma das principais causas de mortalidade no mundo (BORTOLETTO *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2021; FAHED *et al.*, 2022).

Ademais, os distúrbios metabólicos causados pela obesidade podem alterar a funcionalidade de estruturas cerebrais (FUCHS *et al.*, 2004; KIM *et al.*, 2016). Uma destas estruturas é o hipocampo, o qual se encontra nos lobos temporais do cérebro, e está relacionado a criação de memórias e regulação de respostas emocionais, como ansiedade e depressão (BOLDRINI *et al.*, 2014). O dano inflamatório decorrente da obesidade pode prejudicar o hipocampo, gerando uma diminuição na expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (THOMPSON RAY *et al.*, 2011). A redução na expressão do BDNF é um dos principais fatores que desencadeiam alterações comportamentais de ansiedade e depressão (MARTINOWICH; MANJI; LU, 2007; LARSEN *et al.*, 2010; SCHMIDT; SHELTON; DUMAN, 2011).

### 2.3 SAÚDE MENTAL: ANSIEDADE, DEPRESSÃO E MEMÓRIA

A ansiedade é uma resposta fisiológica própria do ser humano, tendo seu valor adaptativo como motivadora para lidar com situações da vida. Entretanto, quando a resposta à estímulos causadores é exacerbada, a ansiedade pode se tornar patológica. Existem vários tipos de ansiedade, estando eles associados à tensão muscular e preparação excessiva para o perigo futuro (MANUAL DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS; DMS-5, 2014; LENHARDTK & CALVETTI, 2017).

A depressão é um distúrbio mental caracterizado pela persistência da tristeza, falta de interesse em atividades recompensadoras, sentimento de vazio e irritabilidade. A causa deste transtorno é associada a fatores sociais, psicológicos e biológicos que alteram a capacidade de funcionamento do indivíduo (MANUAL DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS; DMS-5, 2014; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2023).

A memória se refere à capacidade de codificar, reter e evocar informações. Existem três tipos principais de memória, a memória de trabalho, a de curto prazo e a de longo prazo. A memória de longo prazo pode ser classificada como declarativa ou não-declarativa (KANDEL *et al.*, 2014).

Os transtornos de comportamento descritos acima, assim como problemas de memória, estão ligados com distúrbios da função encefálica, como por exemplo a regulação de neurotransmissores (KANDEL, 2014; CASTILLO *et al.*, 2019). Um dos principais

neurotransmissores envolvidos em funções psicofisiológicas é a serotonina. Também conhecida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), a serotonina tem importante papel na formação de memórias e seu desequilíbrio no cérebro pode levar a comportamentos de ansiedade e depressão (KANDEL *et al.*, 2014; MENDONÇA *et al.*, 2022).

Outro neurotransmissor importante é o ácido gama-aminobutírico (GABA), o qual tem função inibitória no sistema nervoso central. Do ponto de vista biológico, neurotransmissores que tem ligação com o estado de depressão, tais como serotonina e GABA, também se relacionam com a ansiedade. Sendo assim, existe a possibilidade destes transtornos mentais se desenvolverem de forma conjunta (MARTINS, 2013; GAVIN *et al.*, 2015).

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central. No estado fisiológico, o glutamato possui função na plasticidade sináptica e memória. Entretanto, em condições patológicas este neurotransmissor provoca neurotoxicidade. A atividade glutamatérgica aumentada está presente em pessoas com depressão (CASTILLO *et al.*, 2019).

É importante ressaltar a ação de dois neuropeptídeos, a ocitocina e arginina-vasopressina. A ação central da ocitocina tem efeito ansiolítico e antidepressivo, já a arginina-vasopressina possui efeito ansiogênico e depressivo. Os efeitos opostos destes neuropeptídeos destacam a relevância da homeostase no organismo em relação às respostas emocionais (CASTILLO *et al.*, 2019; YOON & KIM, 2022).

## 2.4 DIETA DE CAFETERIA

A partir de uma perspectiva histórico-evolutiva o consumo exagerado de alimentos facilmente convertidos em energia é coerente, considerando a necessidade que havia de economia e estoque de energia. Atualmente, os alimentos com maior acessibilidade e mais consumidos por seres humanos são produtos ultraprocessados e com alto teor calórico. Sendo assim, para uma representação mais próxima do padrão alimentar atual, em estudos com animais, usam-se as dietas hipercalóricas (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005; SAMPEY *et al.*, 2011).

A dieta de cafeteria (Dcaf) consiste em um conjunto de alimentos de alta palatabilidade, ricos em açúcar e gordura, que proporcionam grande ingestão de quilocalorias (kcal). O consumo de alimentos com tais características leva à ativação do sistema de recompensa, através de estímulos à uma região do cérebro, que por sua vez pode causar o comportamento de comer excessivamente (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005; BORTOLIN *et al.*, 2018).

A Dcaf é considerada um modelo de indução à obesidade adequada para se usar em animais de laboratório, visto que estes possuem respostas metabólicas similares aos humanos. O uso da dieta hipercalórica pode causar em ratos as condições necessárias para representar, de maneira semelhante, a SM em humanos. Isso pode ser verificado, e avaliado, através da hiperglicemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (SAMPEY *et al*, 2011; BORTOLIN *et al.*, 2018).



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar se o consumo das cervejas com ou sem álcool interfere nos parâmetros bioquímicos, comportamentais e o acúmulo de gordura corporal de ratos tratados com dieta de cafeteria.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar se o consumo das cervejas com ou sem álcool aumentam o ganho de peso induzido pela dieta de cafeteria;
- Verificar se o consumo das cervejas com ou sem álcool alteram a concentração plasmática de glicose, triglicerídeos e colesterol em animais tratados com dieta de cafeteria;
- Verificar o efeito do consumo das cervejas com ou sem álcool no comportamento tipo-ansioso e locomoção de ratos tratados com dieta de cafeteria através do Teste de Labirinto em cruz elevado e Teste de Campo Aberto;
- Avaliar o efeito do consumo das cervejas com ou sem álcool no comportamento tipo-depressivo de ratos tratados com dieta de cafeteria através do Teste de Nado Forçado e Splash Test;
- Avaliar o efeito do consumo das cervejas com ou sem álcool na memória de reconhecimento de ratos tratados com dieta de cafeteria através do Teste de Reconhecimento de Objetos;

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Ponta Grossa, sob o número 0575721/2021.

### 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O desenho do experimento está representado na figura 1.

**Figura 1** -Delineamento experimental



Fonte: o autor

#### 4.2.1 Animais

Foram utilizados 90 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus Novergicus*), obtidos no Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

#### 4.2.2 Divisão de grupos

No 21º dia de vida, os 90 animais utilizados foram divididos em seis grupos: controle (CTL) (1); controle e cerveja sem álcool (CTL+SA) (2); controle e cerveja com álcool (CTL+CA)

(3), dieta de cafeteria (DIE) (4); dieta de cafeteria e cerveja sem álcool (DIE+SA) (5) dieta de cafeteria e cerveja com álcool (DIE+CA) (6), totalizando 15 animais por grupo. No entanto, para a realização do experimento a amostra total foi dividida em quatro levadas, sendo três levadas de 24 animais (4 ratos por caixa) e uma leva com 18 animais (3 ratos por caixa). Todos os animais receberam água e ração *ad libitum*.

#### 4.2.3 Ambiente

Os animais foram mantidos no Biotério Central da UEPG em caixas para roedores, com cama de maravalha, em condições de temperatura controlada de  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , com luminosidade em ciclo claro/escuro de 12 horas.

#### 4.2.4 Alimentação

Os ratos receberam a ração padrão (Nuvilab - CR 1) de acordo com o consumo de cada grupo. A dieta de cafeteria (Dcaf) foi ofertada aos animais dos grupos experimentais a partir dos 30 dias de vida. A composição da Dcaf foi baseada nos cardápios 1, 2 e 3, ofertados de maneira alternada toda segunda, quarta e sexta-feira, respectivamente, como consta no quadro 2.

**Quadro 2** - Composição da dieta de cafeteria

Alimento	Qtd (g-ml)	Cardápio 1				
		Kcal/g-ml	Carboidrato (g)	Proteína (g)	Lipídio (g)	Sódio (mg)
Ração padrão	1	3,39	0,55	0,22	0,04	0,00
Salgadinho de milho	1	5,4	0,48	0,064	0,36	7,84
Bolacha Wafer	1	5,13	0,66	0,04	0,23	1,63
Refrigerante de cola	1	0,42	0,10	*	*	0,05
<b>Cardápio 2</b>						
Ração padrão	1	3,39	0,55	0,22	0,04	0,00
Marshmallow	1	3,05	0,61	0,03	*	0,51
Apresentado	1	1,72	0,10	0,16	0,085	14,17
Refrigerante de cola	1	0,42	0,10	*	*	0,05
<b>Cardápio 3</b>						
Ração padrão	1	3,39	0,55	0,22	0,04	0,00
Salgadinho sabor bacon	1	4,8	0,56	0,11	0,22	6,44
Bolacha maria	1	4,46	0,73	0,08	0,13	3,53
Refrigerante de cola	1	0,42	0,10	*	*	0,05

Fonte: adaptado de Didek., et al (2019)

Nota: \*segundo informações do fabricante, não possui quantidades significativas do nutriente marcado.

As cervejas que fornecemos para os ratos foram disponibilizadas, a partir dos 60 dias de vida dos animais, em bebedouros a cada terça, quinta-feira e sábado. A composição das cervejas (com e sem álcool) ofertadas está presente no quadro 3.

**Quadro 3** - Composição das cervejas

<b>Bebida</b>	<b>Qtd (ml)</b>	<b>Kcal/ml</b>	<b>Carboidrato (g/ml)</b>	<b>etanol (%/ml)</b>	<b>Proteína (g)</b>	<b>Sódio (mg)</b>
<b>Cerveja Brahma® (lata - 350 ml) sem álcool</b>	1	0,24	0,05	0	0,001	0,07
<b>Cerveja Brahma® (lata - 350 ml) com álcool</b>	1	0,41	0,03	4,8	0,003	0,06

Fonte: o autor

Nota: Informações retiradas da tabela nutricional do produto.

#### 4.2.5 Mensuração do peso

Os animais foram pesados semanalmente, desde os 21 dias de vida até a data da eutanásia. As medidas foram tabuladas em Excel e analisadas no programa Graphpad Prism versão 5, para a obtenção do valor de ganho de peso corporal dos ratos.

#### 4.2.6 Consumo alimentar

Durante o experimento, ração e alimentos da Dcaf foram pesados a cada troca de cardápio (segunda, quarta e sexta-feira) para calcular a quantidade em gramas e consequente quantidade de kcal consumida semanalmente por animal. Calculamos o consumo de ração e dieta através da diferença entre a quantidade colocada de alimento e a quantidade restante de alimento na grade. Dividimos o resultado desta conta pelo número de ratos na caixa. Realizamos este cálculo a cada troca de cardápio.

#### 4.2.7 Consumo de cerveja

O consumo de cerveja foi medido e anotado para posterior cálculo de consumo em ml por semana. A fórmula usada é a mesma do consumo de alimentos, porém, os valores referentes aos alimentos foram substituídos por valores referentes à cerveja. As quilocalorias

provenientes das cervejas, com ou sem álcool, foram adicionadas a soma de consumo de kcal/semana.

Utilizamos um método de indução ao consumo de cerveja para minimizar as chances de um baixo consumo de bebida por parte dos animais. Tal método consiste em retirar a água durante o ciclo escuro dos ratos para fazê-los consumir mais, porém no ciclo claro a água foi recolocada. (MILAT *et al.*, 2017; KOLOTA *et al.* 2020).

#### 4.2.7. 1 Cálculo alométrico

O cálculo alométrico é um método que permite comparar animais de massas diferentes e estabelecer um padrão numérico para eles. Este método consiste em utilizar uma dose já obtida em relação ao consumo ou administração de uma substância em um determinado animal e, a partir desse valor, extrapolar a dose equivalente para um animal alvo.

Inicialmente o cálculo alométrico era baseado apenas no peso/massa corporal dos animais de diferentes portes. Porém, autores relataram que considerar apenas o peso corporal não gerava um resultado com uma boa precisão. Assim, surgiu o método de extrapolação alométrica baseado na área de superfície corporal dos animais. Este método se mostrou mais eficiente ao correlacionar bem as várias espécies de mamíferos, considerando parâmetros biológicos como utilização de oxigênio e gasto calórico (REAGAN-SHAW; NIHAL; AHMAD, 2007).

O cálculo alométrico foi realizado com a finalidade de, a partir do consumo de cerveja dos ratos, obter um valor equivalente para o consumo de cerveja por humanos. Utilizamos o trabalho de Reagan-Shaw; Nihal e Ahmad (2007) como base para a realização do cálculo, através da seguinte fórmula:

(1)

$$HED (mg/kg) = Animal\ dose (mg/kg) \text{ multiplied by } \frac{Animal\ Km}{Human\ Km}$$

Onde *HED* significa “Human Equivalent Dose” e *Animal dose* corresponde a dose já obtida de um determinado animal. Por fim, *Animal Km* e *Human Km* se referem aos valores de área de superfície corporal divididos pelo peso de cada animal.

#### 4.2.8 Quantificação do conteúdo de flavonóides totais das cervejas

O protocolo utilizado para a quantificação de flavonóides foi o proposto por Kosalec e colaboradores (2004), que envolve a captura e complexação de alumínio. Em uma placa (ELISA) de 96 poços, preparou-se uma curva de calibração com padrão do flavonoide quercetina à partir de uma solução  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  e adicionamos  $100 \mu\text{L}$  de metanol,  $100 \mu\text{L}$  de uma solução aquosa de cloreto de alumínio  $\text{AlCl}_3$  10% (m/v) e  $112 \mu\text{L}$  de água ultra pura para completar o volume. A variação da curva foi feita nas seguintes concentrações 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5 e  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  da solução de quercetina. Para a reação das amostras, adicionamos  $100 \mu\text{L}$  de cada cerveja (com e sem álcool), após o conteúdo perder todo o gás. Feito isso, adicionamos  $100 \mu\text{L}$  de uma solução aquosa de cloreto de alumínio,  $\text{AlCl}_3$  10% (m/v). A leitura da placa foi realizada em um aparelho de espectrofotometria, com comprimento de onda de 415 nm. Para o cálculo do conteúdo de flavonóides utilizamos os valores da curva padrão de quercetina. As análises foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos em mg de quercetina (QER) por ml de amostra.

#### 4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

Os testes utilizados visam avaliar o comportamento tipo-depressivo, tipo-ansioso, a memória de curto prazo e atividade locomotora dos ratos. A aplicação dos testes começou a partir dos 91 dias de vida dos animais e foi registrada através de filmagens. Os testes comportamentais realizados foram os seguintes:

##### 4.3.1 Teste de labirinto em cruz elevado (LCE)

O teste de LCE é usado para verificar os aspectos relacionados a ansiedade, baseados na movimentação do animal frente a um ambiente desconhecido em conjunto a uma tendência natural de desviar de espaços abertos (TORRES & ESCARABAJAL, 2002; MORATO, 2006). A estrutura do equipamento é composta de 4 braços, sendo 2 abertos e 2 fechados, ambos opostos, formando uma cruz a 50 centímetros do chão. Os ratos são posicionados ao centro do labirinto, voltados para a parte aberta para exploração livre durante 5 minutos. O tempo que o animal permanece nos braços abertos e fechados, assim como, tempo de permanência na área central são fatores registrados por filmagem para posterior análise. A cada início de teste é feita uma higienização do labirinto com álcool 5% (PINTO *et al.*, 2012).

#### 4.3.2 Teste de campo aberto (CA)

Este teste avalia a locomoção espontânea do animal. O CA é uma arena iluminada, de 1 m<sup>2</sup>, com bordas de 40 cm de altura, dividida em 25 quadrados (20 x 20 cm). O rato é colocado no centro da arena para uma livre exploração do ambiente durante cinco minutos. A realização do teste é filmada para a análise do número de linhas cruzadas pelo animal (ESTRELA *et al.*, 2015). Antes da aplicação de um novo teste é feita a limpeza da arena com solução etílica 5%.

#### 4.3.3 Teste de reconhecimento de objetos (TRO)

Este teste é usado para avaliar a memória de reconhecimento. A estrutura utilizada para o teste é a mesma do CA. A aplicação do teste leva quatro dias consecutivos, sendo três para fins de habituação do animal ao ambiente do teste e um dia para realização do teste. O protocolo adotado é adaptado de Ennaceur e Delacour (1992). Na fase de habituação (3 dias), o animal é colocado no centro da estrutura de teste durante o período de 10 minutos sem a presença de objetos. No dia do teste (4º dia), a execução é feita em duas partes, com intervalo de 30 minutos entre a 1ª e 2ª parte. Primeiramente são colocados dois objetos iguais, denominados “a” e “b”, na estrutura, cada um de um lado da caixa a uma distância de aproximadamente 10 cm das paredes. O rato é colocado no centro da caixa e é gravado durante cinco minutos para investigação dos objetos. Considera-se como comportamento de investigação o momento em que o animal aproxima suas narinas a, pelo menos, dois centímetros do objeto. Após os primeiros cinco minutos de teste, é realizado um intervalo de 30 minutos, seguido de um novo período de investigação. No segundo período, o rato é colocado novamente na caixa de teste, porém, o objeto “b” colocado inicialmente é trocado por um objeto de formato e cor diferente. Após a troca, são cronometrados mais cinco minutos para o animal explorar os objetos. O critério utilizado para análise dos resultados foi o índice de discriminação (ID). O ID é calculado pela diferença entre o tempo de exploração do objeto novo (b) e o tempo de exploração do objeto familiar (a), dividida pelo tempo total de exploração, como representado na seguinte fórmula:

$$\frac{b - a}{b + a} \quad (2)$$

#### 4.3.4 Teste de nado forçado (NF)

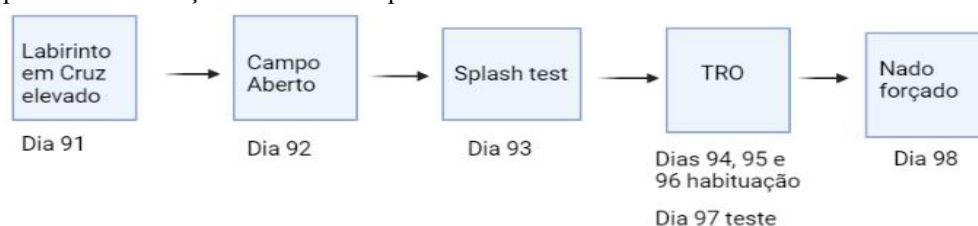
Usado para avaliar aspectos do comportamento semelhante a depressão em ratos. Para a aplicação do teste, é utilizado um cilindro de 50 cm de altura e 20 cm de diâmetro. Aproximadamente 2/3 do cilindro são preenchidos com água a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ . A realização do teste é feita em duas partes: treino e teste propriamente dito, separados por um período de 24 horas. No treino, o animal é colocado por 15 minutos no cilindro, de modo a não encostar no fundo, proporcionando um ambiente inescapável ao animal. Durante o teste os animais são colocados no tubo cilíndrico e filmados por cinco minutos. O parâmetro observado foi o tempo de imobilidade. Ao final de cada etapa do teste, os animais são retirados e secados (ESTRELA *et al.*, 2015; HU *et al.*, 2017). Entre cada etapa realizada, ocorre a troca de água para que o teste sempre inicie com água limpa.

#### 4.3.5 Splash test (ST)

Avalia um comportamento semelhante a sintomas de anedonia e comportamento apático. A aplicação do teste é feita através do esguicho de uma solução de sacarose 10% no dorso do animal. Em seguida, os animais são colocados em uma estrutura, como a do CA, para avaliação comportamental. Por causa de sua composição viscosa, a solução de sacarose adere-se a pelagem dos ratos, fazendo com que os animais iniciem o comportamento de autolimpeza (*grooming*). Após ser feita a aplicação da solução de sacarose, os animais são filmados e observados por 5 minutos. A avaliação das filmagens é feita a partir dos seguintes critérios: latência para o início do *grooming* e duração total da autolimpeza. Ao final de cada teste, a caixa usada é higienizada com álcool 5% para a retirada de odores (SMOLINSKY *et al.*, 2010; HU *et al.*, 2017).

A sequência de realização dos testes é apresentada na figura 2.

Figura 2 - Sequência de realização dos testes comportamentais



Fonte: o autor



#### 4.4 ANÁLISE “*ex vivo*”

Após a finalização dos testes comportamentais, os animais foram submetidos à eutanásia por uma sobredose de cetamina (150mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) após permanecer em jejum por um período de 12 horas.

Para averiguar o desenvolvimento de obesidade nos animais, foram mensuradas as medidas naso-anal e peso corporal. Estas medidas foram aplicadas ao índice de Lee utilizando a seguinte fórmula:

$$\frac{\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)}}}{\text{comprimento naso - anal (cm)}} \quad (3)$$

As reservas de gordura retroperitoneal, mesentérica e perigonadal dos ratos foram retiradas e pesadas. Os valores obtidos foram utilizados no cálculo de adiposidade corporal através da fórmula:

$$\text{índice de adiposidade corporal} = \frac{\text{soma das gorduras}}{\text{peso corporal final}} \times 100 \quad (4)$$

Coletamos o sangue dos animais logo após a sobredose de anestésico fazer efeito. Com o auxílio de um bisturi, realizamos uma sequência de cortes logo abaixo do esterno até a exposição do músculo diafragma do rato. Feito isso, perfuramos o diafragma para expor o coração e, com o auxílio de uma seringa (uma por rato), coletamos o sangue por punção. As amostras foram centrifugadas para a obtenção do soro sanguíneo e posteriormente armazenadas, duas amostras por animal, em um freezer -20° C.

As análises bioquímicas foram feitas com a utilização de kits comerciais específicos para a verificação das concentrações de glicose, triglicérides, colesterol total, aspartato aminotransferase (AST/TGO), alanina aminotransferase (ALT/TGP) e fosfatase alcalina (FAL) presentes no soro. Os kits utilizados foram: GLICOSE MONOREAGENTE (1000 ML) - K082 - 3, TRIGLICÉRIDES MONOREAGENTE (400 ML) - K117 - 3, COLESTEROL MONOREAGENTE (400 ML) - K083 - 3, GOT(AST) UV, GPT(ALT) UV, ALP 405 AA. Realizamos os exames com as amostras e reagentes em temperatura ambiente. Efetuamos a análise das amostras em um aparelho de espectrofotometria (CT 300i - Wiener Lab Group) com o ajuste de comprimento de onda recomendado pelo fabricante para cada exame. A

determinação das concentrações foi realizada de acordo com as fórmulas descritas pelo fabricante.

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

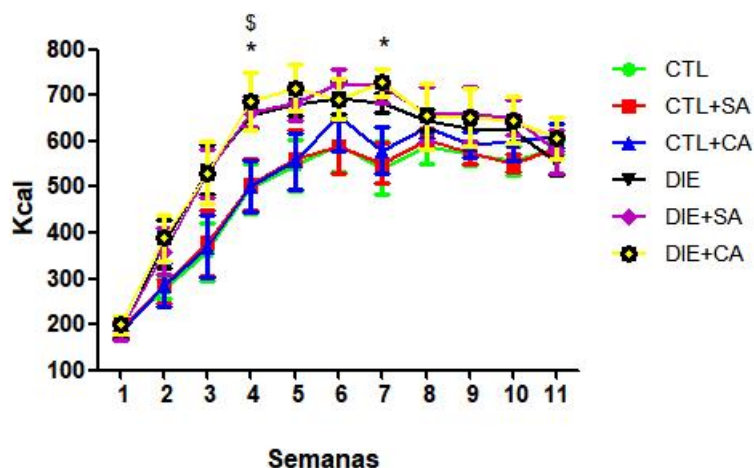
Adotamos o teste de Shapiro-Wilk para analisar a distribuição dos dados. Realizamos a comparação das variáveis entre os grupos através dos testes de ANOVA two-way ou ANOVA para medidas repetidas, para amostras independentes e dados paramétricos. Quando houve diferença significativa utilizamos o *post-test* de Bonferroni. Todas as análises foram feitas por meio do software GraphPad Prism 5. O nível de significância utilizado foi  $p \leq 0,05$  e os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 CONSUMO ALIMENTAR

A análise do consumo alimentar mostrou que houve um maior consumo de kcal por parte do grupo DIE+CA em relação aos grupos CTL e CTL+SA, com diferença estatisticamente significativa nas semanas 4 e 7. Na semana 4, especificamente, houve um maior consumo de kcal por parte do grupo DIE+CA em relação ao CTL+CA, como representado na figura 3.

Figura 3 - Consumo de quilocalorias a cada semana



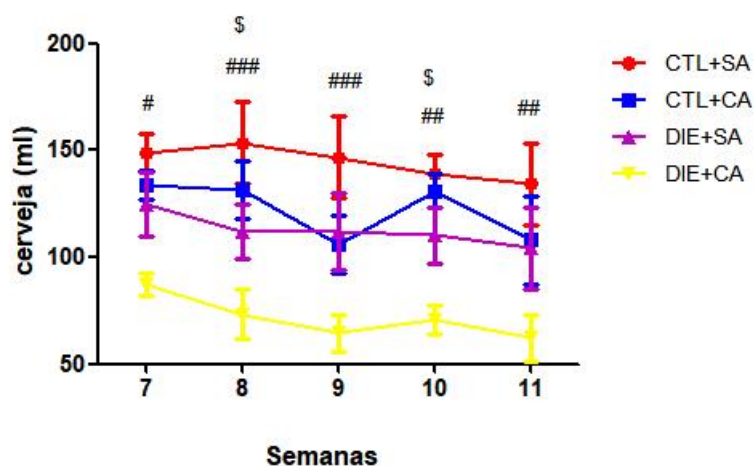
Fonte: o autor

Nota: Valores de consumo de kcal/semana de cada grupo a partir do início do experimento. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* ( $p < 0,05$ ) indica um maior consumo dos grupos dieta em relação aos grupos controle, \$ indica diferença entre um grupo dieta e um grupo controle específicos, ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

### 5.2 CONSUMO DE CERVEJA

Houve um maior consumo de cerveja por parte do grupo CTL+SA em relação ao grupo DIE+CA das semanas 7 à 11. Nas semanas 8 e 10 houve um maior consumo por parte do grupo CTL+CA em relação ao grupo DIE+CA, como consta na figura 4.

Figura 4 - Consumo de cerveja a cada semana



Fonte: o autor

Nota: Valores do consumo de cerveja/semana de cada grupo a partir 7ª semana de experimento. Dados expressos como média ± erro padrão da média. # ( $p < 0,05$ ); ## ( $p < 0,01$ ); ### ( $p < 0,001$ ) indica um maior consumo dos grupos controle em relação aos grupos dieta, \$ indica diferença de consumo entre grupos controle e dieta específicos, ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

### 5.2.1 Cálculo alométrico

Para cada grupo multiplicamos o valor da HED em ml/kg por 70, uma vez que padronizamos um humano adulto de 70 quilos na realização do cálculo. Os resultados do cálculo alométrico estão presentes no quadro 4.

Quadro 4 - Resultados do cálculo alométrico

Grupos	Média do consumo semanal em ml - rato	Consumo semanal equivalente para humanos (ml)	Consumo semanal equivalente para humanos (em latas de 350 ml)
<b>CTL+SA</b>	150 ± 3,9	6.667	19
<b>CTL+CA</b>	135 ± 3,1	5,552	15
<b>DIE+SA</b>	126 ± 7,0	4.864	13
<b>DIE+CA</b>	88 ± 2,5	3.362	9

Fonte: o autor

### 5.2.2 Quantificação do conteúdo de flavonóides

Os resultados referentes a quantificação do conteúdo de flavonóides totais são apresentados no quadro 5.

Quadro 5 - Resultados da quantificação de flavonoides

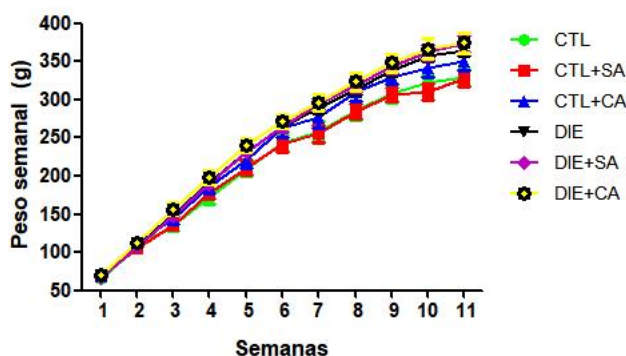
Cerveja com álcool (QER - mg/ml)	Cerveja sem álcool (QER - mg/ml)
3,01	2,62

Fonte: o autor

### 5.3 DADOS BIOMÉTRICOS

Ao analisarmos os valores de peso corporal dos grupos a cada semana, observamos que os grupos que receberam a dcaf (DIE, DIE+SA e DIE+CA) apresentaram um maior peso corporal em relação aos grupos controle a partir da semana 7. O teste de ANOVA mostrou que o grupo DIE+SA ganhou mais peso durante o experimento, especificamente, em relação ao grupo CTL+SA.

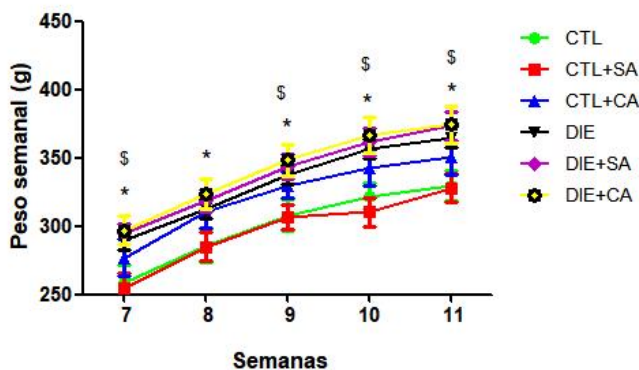
Figura 5 - Evolução do peso dos animais a cada semana



Fonte: o autor

Nota: Valores de peso semanal (g) de cada grupo. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

Figura 5.a - Evolução do peso semanal a partir da semana 7

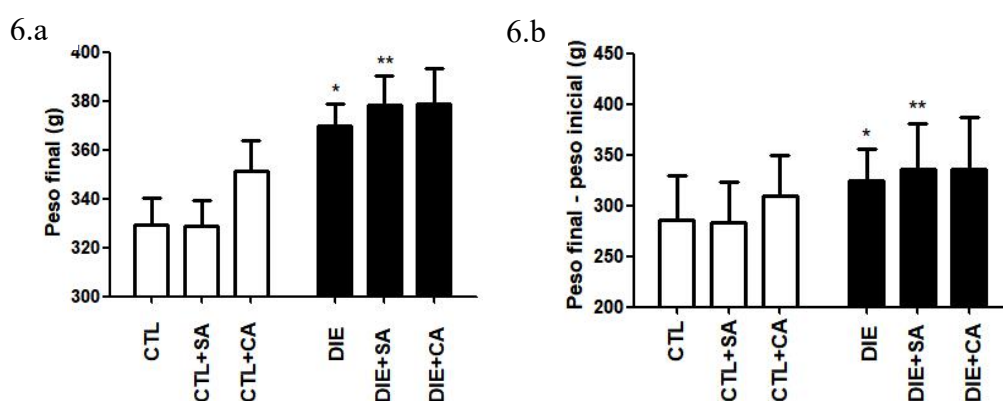


Fonte: o autor

Nota: Peso semanal a partir da 7ª semana de experimento. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* ( $p < 0,05$ ) indica diferença dos grupos dieta em relação aos grupos controle, \$ indicadiferença entre grupos dieta e controle específicos; ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

A Dcaf causou aumento significativo nos seguintes aspectos: peso final dos animais, diferença entre o peso final e peso inicial, estoques de gordura perigonadal, retroperitoneal e mesentérica (tanto separadamente quanto somados), índice de adiposidade e índice de Lee. Não houve diferença significativa entre os grupos DIE+CA e CTL+CA em relação ao peso final, e peso final - peso inicial. Estes dados são apresentados nas figura 6 a 9.

Figura 6 - Peso final e diferença do peso final para o peso inicial

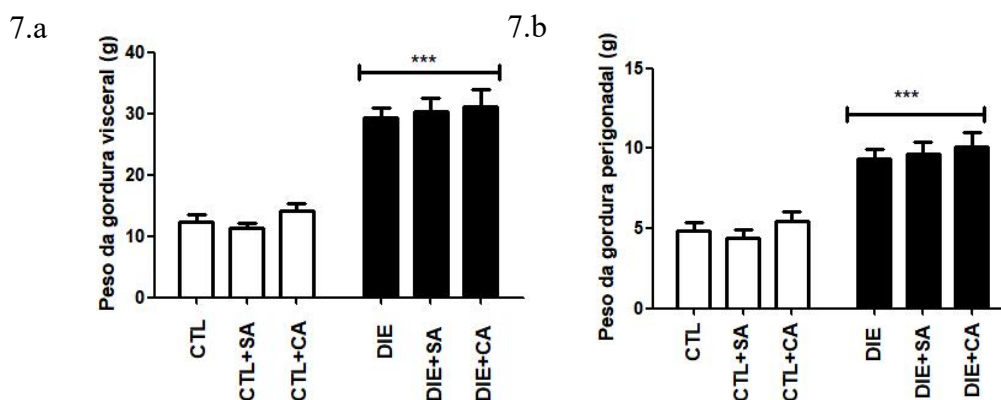


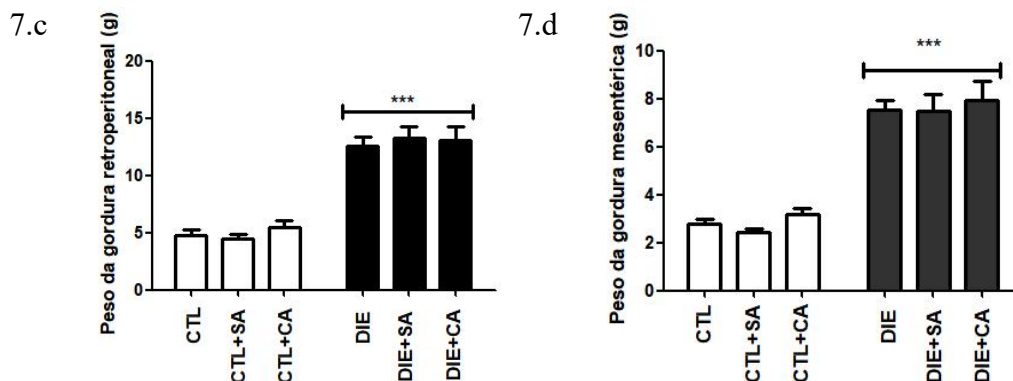
Fonte: o autor

□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Nota: Valores de peso dos animais, (a) peso final, (b) diferença entre peso final e inicial. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,01$ ), indica diferença dos grupos dieta em relação aos grupos controle; ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

Figura 7 - Peso dos estoques de gordura somados e separadamente



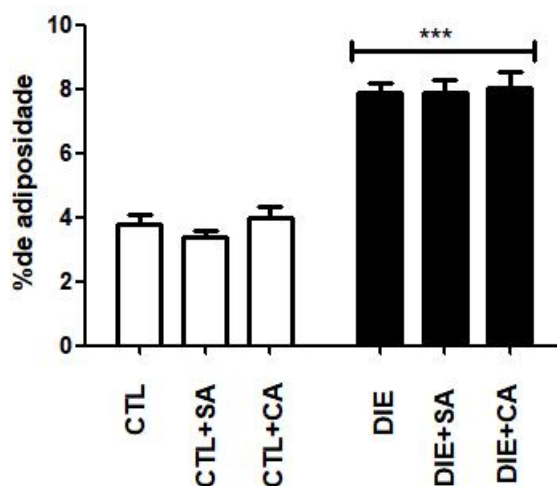


Fonte: o autor

□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Nota: Valores da gordura visceral, (a) soma dos estoques coletados, (b) gordura perigonadal, (c) gordura retroperitoneal, (d) gordura mesentérica. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \*\*\* ( $p < 0,001$ ), indica diferença dos grupos dieta em relação aos grupos controle; ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

Figura 8 - Índice de adiposidade

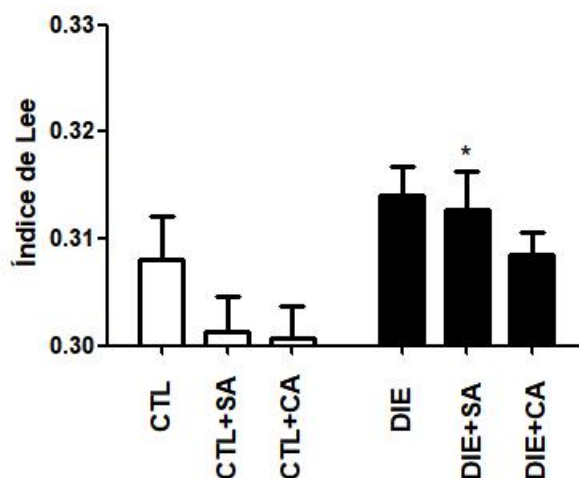


Fonte: o autor

□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Nota: Valores do índice de adiposidade dos animais. Dados expressos com média  $\pm$  erro padrão da média. \*\*\* ( $p < 0,001$ ), indica diferença dos grupos dieta em relação aos grupos controle; ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

Figura 9 - Índice de Lee



Fonte: o autor

□ Dieta normal ■ Dieta de cafeteria

Nota: Valores do índice de Lee dos animais. Dados expressos em média ± erro padrão da média. \* ( $p < 0,05$ ) indica diferença de um grupo dieta em relação a um grupo controle; ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

#### 5.4 DADOS BIOQUÍMICOS

Não encontramos diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores de glicose ( $p = 0,5033$ ), triglicérides ( $p = 0,1106$ ) e colesterol total ( $p = 0,5548$ ), como apresentado na tabela 1.

Tabela 1 - Exames bioquímicos relacionados à síndrome metabólica

	Glicose (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)	Triglicérides (mg/dl)
<b>CTL</b>	134,64 ± 6,28	124,57 ± 4,69	149,97 ± 6,38
<b>CTL+SA</b>	159,03 ± 15,81	119,35 ± 5,49	153,02 ± 7,12
<b>CTL+CA</b>	134,56 ± 3,55	117,52 ± 7,94	165,76 ± 12,92
<b>DIE</b>	159,97 ± 13,60	122,01 ± 7,68	170,68 ± 10,54
<b>DIE+SA</b>	147,01 ± 10,29	107,80 ± 5,91	167,70 ± 14,23
<b>DIE+CA</b>	140,29 ± 14,52	122,29 ± 6,09	173,52 ± 12,35

Fonte: o autor

Nota: Valores de concentrações das análises bioquímicas de glicose, triglicérides e colesterol total. Dados expressos em média ± erro padrão da média. ANOVA two-way (n por grupo = 11).

Nas análises bioquímicas referentes a FAL, AST e ALT, o grupo CTL+SA apresentou uma maior concentração de AST em relação ao grupo DIE+SA. Quanto à ALT encontramos



diferença dos grupos controle para os grupos dieta, porém não conseguimos encontrar esta diferença entre grupos específicos. Não encontramos diferenças nas concentrações de FAL. Estes dados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Exames bioquímicos relacionados à atividade hepática

	<b>TGO/AST (U/l)</b>	<b>TGP/ALT (U/l)</b>	<b>FAL (U/l)</b>
<b>CTL</b>	187,67 ± 31,52	55,67 ± 4,81	213,33 ± 27,27
<b>CTL+SA</b>	208,67 ± 18,39*	66,50 ± 6,61	208,17 ± 14,35
<b>CTL+CA</b>	180,67 ± 20,99	64,20 ± 4,40	197,17 ± 26,88
<b>DIE</b>	131,17 ± 15,14	41,80 ± 3,60	219,33 ± 8,27
<b>DIE+SA</b>	131,50 ± 10,41	45,80 ± 11,63	238,67 ± 31,03
<b>DIE+CA</b>	115,83 ± 17,37	52,67 ± 11,24	192,33 ± 17,64

Fonte: o autor

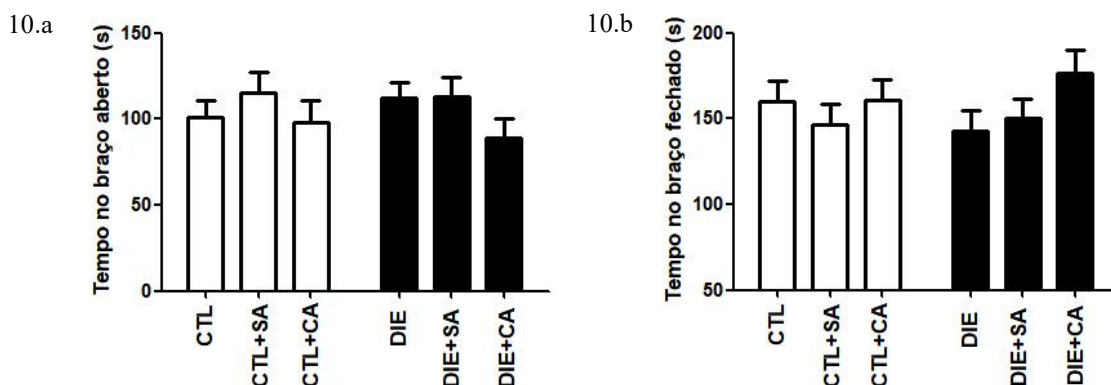
Nota: Valores de concentrações das análises bioquímicas de AST, ALT, FAL. \*p<0,05. Houve diferença significativa na concentração de AST do grupo CTL+SA para o grupo DIE+SA. Dados expressos em média ± erro padrão da média. ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 6).

## 5.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

### 5.5.1 Teste de labirinto em cruz elevado

Não houve diferença significativa entre os grupos no tempo de permanência no braço fechado e aberto, como apresentado na figura 10.

Figura 10 - Teste de labirinto em cruz elevado



Fonte: o autor

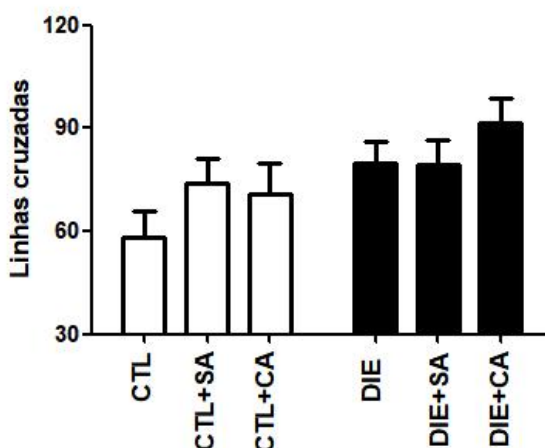
□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Nota: Valores referentes ao teste de labirinto em cruz elevado, (a) tempo braço aberto, (b) tempo braço fechado. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão da média. ANOVA two-way (n por grupo = 15).

### 5.5.2 Teste de campo aberto

Os resultados do teste de CA mostraram uma diferença dos grupos que receberam a Dcaf em relação aos grupos controle. Todavia, não encontramos diferença entre grupos específicos, como consta na figura 11.

Figura 11 - Teste de campo aberto



Fonte: o autor

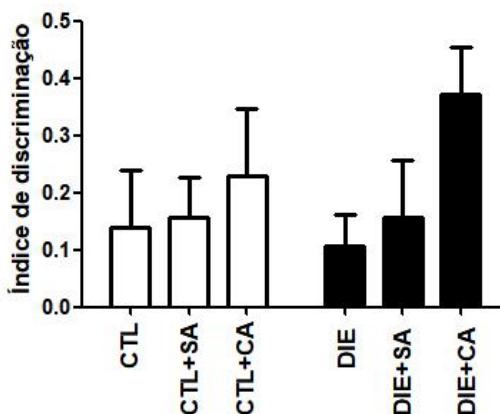
□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Nota: Número de linhas cruzadas no teste de CA. Houve diferença dos três grupos Dcaf em relação aos três grupos controle, porém a análise de ANOVA two-way não apontou diferença entre grupos específicos. Dados expressos em média  $\pm$  erro padrão da média. (n por grupo = 15)

### 5.5.3 Teste de reconhecimento de objetos

Como apresentado na figura 12, não encontramos diferença significativa entre os grupos nos valores referentes ao TRO.

Figura 12 - Valores TRO



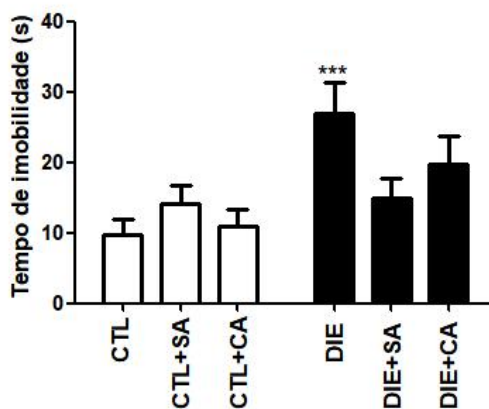
Fonte: o autor

Nota: Valores referentes ao TRO. Dados expressos como média ± erro padrão da média. ANOVA two-way (n por grupo = 15).

### 5.5.4 Teste de nado forçado

Nos resultados de NF, o grupo DIE mostrou um tempo de imobilidade significativamente maior em relação ao grupo CTL, como consta na figura 13.

Figura 13 - Teste de nado forçado



Fonte: o autor

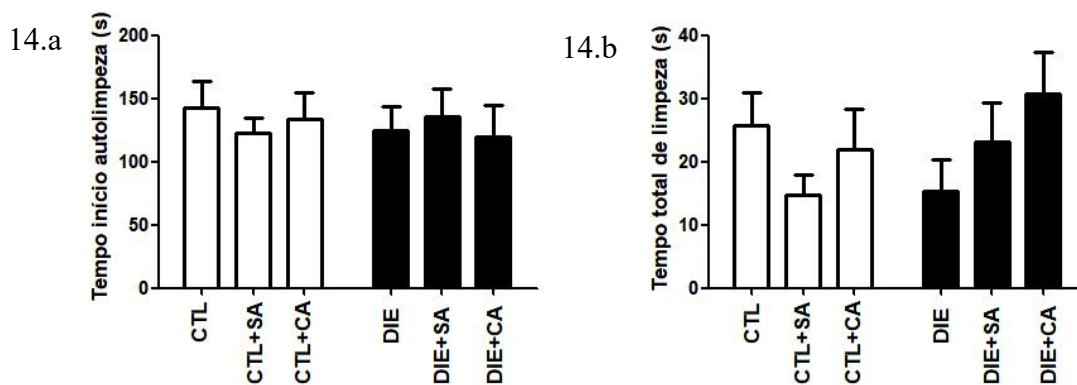
□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Figura 13. Valores referentes ao teste de NF. Dados expressos como média ± erro padrão da média. \*\*\* ( $p < 0,001$ ) indica diferença de um grupo dieta em relação a um grupo controle, ANOVA two-way seguido de post-hoc de Bonferroni. (n por grupo = 15).

### 5.5.5 Splash test

Não houve diferença significativa entre os grupos nos parâmetros de tempo para iniciar a limpeza e tempo total de limpeza, como apresentado na figura 14.

Figura 14 - Splash Test



Fonte: o autor

□ Dieta normal ■ Dieta cafeteria

Nota: Valores referentes ao ST, (a) tempo para iniciar a autolimpeza, (b) tempo total de limpeza. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. ANOVA two-way. (n por grupo = 15).

## 6 DISCUSSÃO

O consumo de cerveja, neste estudo, não alavancou o ganho de peso nem o comportamento tipo-depressivo induzido pela Dcaf. Observamos que a Dcaf induziu a um aumento significativo no peso corporal dos animais, bem como a um comportamento tipo-depressivo durante as semanas de experimento. Houve diferença significativa no peso dos estoques de gordura visceral, índice de Lee, índice de adiposidade e na comparação entre o peso final e o peso inicial.

O modelo de obesidade induzida por dieta vem sendo utilizado em ratos da linhagem Wistar, mostrando-se adequado por causa da similaridade das respostas metabólicas provocadas pela obesidade em humanos (ROSINI; DA SILVA; DE MORAES, 2012). A dieta de cafeteria é composta de um conjunto de alimentos hiperpalatáveis e com quantidade excessiva de calorias, com baixa quantidade de proteínas e alta quantidade de carboidratos e gordura (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005; BORTOLIN *et al.*, 2018).

Verificamos que os ratos alimentados com Dcaf + cerveja com álcool consumiram mais kcal em comparação ao grupo controle, mostrando também um maior peso corporal. Nossos achados vão ao encontro do que há na literatura no que tange ao uso da dieta hipercalórica como meio de indução de obesidade. Segundo Bortolin *et al* (2018) e Lang *et al* (2019) a ingestão de alimentos com alta palatabilidade leva ao consumo alimentar excessivo, através do sistema de recompensa, que contribui para o aumento de peso e desenvolvimento de obesidade.

Com relação ao consumo de cerveja, constatamos que os grupos CTL+SA e CTL+CA ingeriram uma quantidade maior de cerveja em relação ao grupo DIE+CA. Acreditamos que este resultado se deve ao quesito palatabilidade, ou seja, após ingerir alimentos da dieta os animais perdem parte do interesse por alimentos e bebidas com menor palatabilidade. No trabalho de Kolota e colaboradores (2019) foi relatado um menor consumo da dieta padrão após os animais ingerirem vinho. Isto corrobora com nossos achados ao mostrar uma preferência dos animais pelo componente com maior palatabilidade ofertado no tratamento.

Neste estudo, as análises referentes ao peso corporal dos animais não mostraram diferença significativa entre os grupos dieta e controle que receberam a cerveja com álcool. Uma das hipóteses para este achado é a de que a cerveja (com álcool), aliada à dieta, teve um efeito protetivo. Este efeito pode ter sido causado por componentes da fermentação de cereais presentes na cerveja, tais como os flavonóides e o grupo de ácidos iso- $\alpha$ -acids. Estas substâncias podem exercer um efeito supressor sobre o estado inflamatório causado pela

obesidade (AYABE *et al.*, 2018; SAMUELS; SHASHIDHARAMURTHY; RAYALAM, 2018; OSORIO-PAZ; BRUNAUER; ALAVEZ, 2019). No estudo de Ehrlich; Pirchl e Humpel (2012), ratos tratados com uma solução contendo etanol apresentaram diminuição no peso corporal, entretanto a memória espacial dos ratos foi prejudicada. Isto indica que o etanol, presente na cerveja, também pode estar ligado a um menor ganho de peso, porém pode danificar estruturas cerebrais.

Ainda, a cerveja com álcool pode ter potencializado o ganho de peso do grupo controle que a consumiu. A obesidade é uma doença complexa e multifatorial, o que torna difícil determinar com exatidão a sua etiologia, entretanto uma das causas mais apontadas é a ingestão excessiva de calorias (ERLANSON-ALBERTSSON, 2005; ROSINI; DA SILVA; DE MORAES, 2012; VENTURINI *et al.*, 2013). Sendo assim, não descartamos a hipótese de que a cerveja com álcool, através do valor calórico do etanol e seus outros componentes, tenha induzido a um ganho de peso suficiente para o não aparecimento de diferença significativa, quando comparados os grupos controle e dieta que receberam cerveja com álcool.

No presente estudo, o consumo das cervejas (com e sem álcool) não influenciou o acúmulo de gordura corporal dos animais. Entretanto, verificamos que no índice de Lee houve diferença significativa entre os grupos controle e dieta que receberam a cerveja sem álcool. Todavia, atribuímos essa diferença ao efeito da Dcaf no aumento de peso, uma vez que não verificamos diferença significativa entre os grupos DIE, DIE+SA e DIE+CA. Kolota e colaboradores (2019) também não encontraram um maior ganho de peso em ratos tratados com cerveja.

Em relação aos estoques de gordura visceral e índice de adiposidade, encontramos diferença significativa dos três grupos dieta para seus respectivos grupos controle. Este resultado indica que a Dcaf foi eficaz em induzir um aumento na quantidade de gordura visceral. Sendo assim, é importante que o índice de Lee seja acompanhado de outros dados biométricos para a determinação do estado de obesidade, assim como para a identificação dos fatores que causaram um aumento demasiado na gordura corporal.(BERTOLO, 2020).

Não encontramos diferença significativa entre os grupos nos exames bioquímicos de glicose, triglicérides e colesterol total. A partir disso, concluímos que os ratos alimentados com Dcaf desenvolveram obesidade mas não chegaram a um quadro de síndrome metabólica. Uma possível explicação para os resultados que obtivemos nos exames de glicose é a de que a concentração de insulina no sangue dos ratos estava alta, controlando a concentração de glicose sérica (NEWSHOLME; KRAUSE, 2012), porém não avaliamos a concentração de

insulina neste estudo. Desta forma, é possível que a síndrome metabólica estivesse em desenvolvimento.

Ainda, quanto aos exames bioquímicos, segundo Rosini; da Silva e de Moraes (2012) poucos são os estudos que mostram um aumento no nível de glicemia. Didek e colaboradores (2019) relataram diferença significativa nas concentrações séricas de glicose e triglicérides em seus animais, alimentados com Dcaf. Já Bertolo (2020) constata não ter encontrado diferença nos exames de glicose, triglicérides e colesterol em ratas alimentadas com Dcaf.

Uma outra hipótese para nossos achados nos exames bioquímicos é uma composição inadequada da Dcaf. Scomparin (2023) aponta que a Dcaf não possui um padronização de alimentos que forneçam, em sua composição, o mínimo necessário de proteínas e micronutrientes aos roedores. O déficit proteico pode prejudicar a regulação de glicose e o ganho de peso dos roedores (REIS *et al.*, 1997; MEIRELES *et al.*, 1999).

Assim, presumimos que o desenvolvimento de síndrome metabólica em ratos, por meio da Dcaf, com início após o desmame, ainda não está bem consolidado na literatura. Acreditamos que o tempo de tratamento utilizado neste estudo, e em outros, pode não ter sido o suficiente para atingir alguns dos efeitos gerados pela indução à obesidade.

Na análise bioquímica de AST, ALT e FAL, o grupo CTL+SA apresentou uma atividade hepática maior em relação ao grupo DIE+SA. Todavia, estes dados são inconclusivos e não devem ser considerados como padrão. No trabalho de Lima e colaboradores (2014) foi realizado um estudo com ratos Wistar para estabelecer valores de referência em aspectos bioquímicos e hematológicos. Os autores relataram que os valores podem variar de acordo com o local (cidade/estado, biotério), e sugeriram que cada instituição estabeleça os próprios valores de referência para auxiliar nos estudos com ratos.

Apesar da possível relação entre cerveja, Dcaf e distúrbios comportamentais, não observamos diferença entre os grupos nos testes relacionados à memória (TRO) e ansiedade (LCE). Isto indica que a memória de curto prazo e o comportamento tipo-ansioso não foram aspectos afetados nos animais. Entretanto, encontramos diferença significativa do grupo DIE para o grupo CTL no teste de NF. Este resultado indica que a Dcaf induziu os ratos a um comportamento tipo-depressivo, uma vez que um maior tempo de imobilidade no teste de NF está relacionado ao comportamento semelhante à depressão (HU *et al.*, 2017).

Concluimos que o comportamento tipo-depressivo demonstrado pelos animais do grupo DIE se deu por uma via neurológica, e não motora. Afinal, não houve diferença significativa no teste de CA do grupo DIE em relação ao grupo CTL. Isto indica que a mobilidade dos animais não foi afetada. Sendo assim, o stress oxidativo e dano inflamatório, causados pelo

acúmulo excessivo de gordura corporal, tornam-se explicações mais plausíveis para o resultado encontrado.

Acreditamos que o comportamento tipo-depressivo pode ter sido desencadeado pelo aumento exacerbado dos estoques de gordura subcutânea, não medidos neste estudo, e visceral. O acúmulo exagerado dos estoques de gordura resulta na liberação de agentes pró-inflamatórios, como TNF- $\alpha$  e IL-6 (WASINSKI *et al.*, 2013). A IL-6 pode exercer um papel supressor sobre a leptina, responsável pela sinalização da saciedade., o que pode levar à uma ingestão calórica demasiadamente alta (LACERDA; MALHEIROS; DE ABREU, 2016). Além disso, o aumento de citocinas pró-inflamatórias circulantes, presente na obesidade e depressão, está relacionado com uma maior atividade da via da quinurenina. A superativação desta via pode levar à depleção de triptofano, um precursor na síntese de serotonina. A diminuição de triptofano leva a menores níveis de serotonina no organismo, o que pode causar sintomas de depressão (ZÁDOR *et al.*, 2021).

Ademais, o ambiente inflamatório, e de baixo grau, causado pela obesidade prejudica o hipocampo (KIM *et al.*, 2016). O hipocampo é uma estrutura presente no cérebro, e que está relacionado com a memória e regulação de respostas emocionais, como ansiedade e depressão (BOLDRINI *et al.*, 2014). Devido ao estresse oxidativo, e ambiente inflamatório, as alterações causadas em estruturas cerebrais diminuem a expressão da proteína BDNF. A redução nos níveis de BDNF é uma das principais causas de alterações comportamentais (MARTINOWICH; MANJI; LU, 2007; LARSEN *et al.*, 2010; SCHMIDT; SHELTON; DUMAN, 2011).

Por fim, devido à escassez de pesquisas que utilizaram uma bebida alcoólica em conjunto com uma dieta hipercalórica em ratos, sugerimos que estudos futuros levem em consideração as seguintes indicações: utilizar ratos Wistar na idade adulta no início do tratamento, organizar a composição da Dcaf de acordo com as necessidades nutricionais dos animais, iniciar o fornecimento das cervejas (com e sem álcool) junto com a Dcaf, fornecer uma caixa por rato para um melhor controle do consumo de bebidas e alimentos e aumentar o tempo de tratamento. Assim, será possível alcançar resultados mais abrangentes e esclarecedores sobre a relação entre o consumo de cerveja, acúmulo de gordura corporal e alterações comportamentais.



## **7 CONCLUSÃO**

Concluimos que o consumo de cerveja com e sem álcool, na frequência e duração utilizadas neste estudo, não potencializa o ganho de peso, comportamento tipo-depressivo e comportamento tipo-ansioso, nem prejudica a memória de curto prazo na obesidade induzida.

## REFERÊNCIAS

American Psychiatric Association - **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais: DMS-5**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

AYABE, T. *et al.* Iso- $\alpha$ -acids, bitter components of beer, prevent obesity-induced cognitive declin. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 47-60, mar. 2018.

BERTOLO, G. M. **Influência da obesidade sobre o comportamento e perfil lipídico de ratas e de seus filhotes machos**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

BOLDRINI, M. *et al.* Benzodiazepines and the potential trophic effect of antidepressants on dentate gyrus cells in mood disorders. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 17, p. 1923-1933, jun. 2014.

BORTOLETTO, M. S. S. *et al.* Síndrome metabólica, componentes e fatores associados em adultos de 40 anos ou mais de um município da Região Sul do Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 24, n. 4, mar. 2016.

BORTOLIN, R. *et al.* A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. **International Journal of Obesity**, v. 42, p. 525-534, mar. 2018.

BRASIL. Decreto nº 9.902, de 8 de julho de 2019. Altera o anexo ao decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas. **Presidência da República - Secretaria Geral**, Brasília, 8 jul. 2019. Disponível em: <[D9902 \(planalto.gov.br\)](https://www.planalto.gov.br)>. Acesso em: 13 abr. 2023.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saúde 2019 : percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal: Brasil e grandes regiões**. Rio de Janeiro: Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2020.

BREDA, C.; BARROS, A. I.; GOUVINHAS, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant capacity of Portuguese craft beers. **International journal of Gastronomy and Food Science**, v. 27, mar. 2022.

CASTILLO, M. C. *et al.* Depression as a Neuroendocrine Disorder: Emerging Neuropsychopharmacological Approaches beyond Monoamines. **Advances in Pharmacological Sciences**, jan. 2019.

CHENG, L. *et al.* Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. **Adipocyte**, v. 10, n. 1, p. 48-65, dez. 2021.

DE GAETANO, G. *et al.* Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 26, p. 443-467, jun. 2016.

- DE KEUKELEIRE, J. *et al.* Formation and accumulation of alpha-acids, beta-acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L. ). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p 4436-4441, jul. 2003.
- DIDEK, D. *et al.* Association Between Exercise and Treatment of Liraglutide in Obese Rats by Cafeteria Diet. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, jun. 2019.
- EHRlich, D.; PIRCHL, M.; HUMPEL, C. Effects of long-term moderate ethanol and cholesterol on cognition, cholinergic neurons, inflammation and vascular impairment in rats. **Neuroscience**, v. 205, p. 154-166, mar. 2012.
- ENES, C. C.; CAMARGO, C. M.; JUSTINO, M. I. C. Ultra-processed food consumption and obesity in adolescents. **Revista de Nutrição**, v. 32, 2019.
- ENNACEUR, A & DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. Spatial vs, non-spatial working memory. **Behavioural Brain Research**, v. 51, n. 1, p. 83-92, out. 1992.
- ERLANSON-ALBERTSSON, C. How Palatable Food Disrupts Appetite Regulation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 97, p. 61-73, jul. 2005.
- ESTRELA, D. C. *et al.* Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. **Physiology & Behavior**, v. 151, p. 252 – 263, nov. 2015.
- FAHED, G. *et al.* Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, jan. 2022.
- FUCHS, E. *et al.* Alterations of neuroplasticity in depression: the hippocampus and beyond. **Eur. Neuropsychopharmacol**, v. 14, p. 481-490, dez. 2004.
- FUSTER, J. J. *et al.* Obesity-Induced Changes in Adipose Tissue Microenvironment and Their Impact on Cardiovascular Disease. **Circulation Research**, v. 118, p. 1786-1807, mai. 2016.
- GALLEGO, R. M. *et al.* Effect of an alcohol-free beer enriched with isomaltulose and a resistant dextrin on insulin resistance in diabetic patients with overweight or obesity. **Clinical Nutrition**, v. 39, n. 2, p. 475-483, fev. 2020.
- GAVIN, R. S. *et al.* Associação entre depressão, estresse, ansiedade e uso de álcool entre servidores públicos. **SMAD – Revista Eletrônica Saúde Mental Álcool e Drogas**, v. 11, n. 1, p. 2-9, jan/mar. 2015.
- GIERACH, M. *et al.* Correlation between Body Mass Index and Waist Circumference in Patients with Metabolic Syndrome. **International Scholarly Research Notices**, mar. 2014.
- GIOVENZANA, V.; BEGHI, R.; GUIDETTI, R. Rapid evaluation of craft beer quality during fermentation process by vis/NIR spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 142, p 80-86, dez. 2014.

HU, C. *et al.* Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. **Plos One**, v.20, n.12, set. 2017.

HUGHES, G. **Cerveja feita em casa: tudo sobre os ingredientes, os equipamentos e as técnicas para produzir a bebida em vários estilos**. 1. ed. São Paulo: Publifolha, 2014.

INAN-EROGLU, E. *et al.* Is There a Link between Different Types of Alcoholic Drinks and Obesity? An Analysis of 280, 183 UK Biobank Participants. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, p. 51-78, jul. 2020.

KACHANI, A. T.; BRASILIANO, S.; HOCHGRAF, P. B. The impact of alcohol consumption on weight gain. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n. 1, p 21-24, fev. 2008.

KANDEL, E. R. *et al.* **Princípios de Neurociências**. 5. ed. Porto Alegre: AMGH EDITORA, 2014.

KIM, H. K. *et al.* Neuropathological relationship between major depression and dementia: a hypothetical model and review. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 67, p. 51-57, jun. 2016.

KOLOTA, A. *et al.* Influence of Alcohol Consumption on Body Mass Gain and Liver Antioxidant Defense in Adolescent Growing Male Rats. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 13, jun. 2019.

KOLOTA, A. *et al.* Oxidative Stress Parameters in the Liver of Growing Male Rats Receiving Various Alcoholic Beverages. **Nutrients**, v. 12, n. 1, jan. 2020.

KOSALEC, I. *et al.* Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica*, v. 54, p. 65-72, mar. 2004.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 3. ed. Berlim: VLB, 2004.

KURYLOWICZ, A. & PUZIANOWSKA-KUZNICKA. Induction of Adipose Tissue Browning as a Strategy to Combat Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, ago. 2020.

LACERDA, M. S.; MALHEIROS, G. C.; DE ABREU, A. O. W. Tecido Adiposo, uma Nova Visão: As Adipocinas e seu Papel Endócrino. **Revista Científica da FMC**, v. 11, p. 25-31, dez. 2016.

LANG, P. *et al.* Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. **Scientific Reports**, dez. 2019.

LARSEN, M. H. *et al.* Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the chronic unpredictable stress rat model and the effects of chronic antidepressant treatment. **Journal of Psychiatric Research**, v. 44, p. 808-816, out. 2010.

LENHARDTK, G & CALVETTI, P. U. Quando a ansiedade vira doença? Como tratar transtornos ansiosos sob a perspectiva cognitivo-comportamental. **Aletheia**, v. 50, p. 111-122, jan/dez. 2017.

- LIMA, C. M. *et al.* Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus Novergicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**, v. 10, mar. 2014.
- MADER, S. *et al.* Healthy nutrition in Germany: a survey analysis of social causes, obesity and socioeconomic status. **Public Health Nutrition**, v. 23, n. 12, p. 2109- 2123, ago. 2020.
- MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. **Nature Neuroscience**, v. 10, p. 1089-1093, set. 2007.
- MARTINS, O. A. Efeito do consumo de bebidas alcóolicas no organismo – uma revisão. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência (REEC)**, v. 3, n. 2, p. 07-10, 2013.
- MEIRELES, C. L. *et al.* Nutrition and Chronic Renal Failure in Rats: What is an Optimal Dietary Protein. **J Am Soc Nephrol**, v. 10, p. 2367-2373, nov. 1999.
- MENDONÇA, C. R. *et al.* Effects of flavonols on emotional behavior and compounds of the serotonergic system: A preclinical systematic review. **European Journal of Pharmacology**, v. 916, fev. 2022.
- MENG, W. *et al.* n-3 Polyunsaturated fatty acids for the management of alcoholic liver disease: A critical review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 116-129, 2019.
- MILAT, A. M. *et al.* Effects of White Wine Consumption on Weight in Rats: Do Polyphenols Matter?. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, out. 2017.
- MMATH, B. K & LEATHERDALE, S. T. Estimating how extra calories from alcohol consumption are likely an overlooked contributor to youth obesity. **Health Promotion and Chronic Disease Prevention in Canada: Research, Policy and Practice**, v. 37, n. 36, jun. 2017.
- MORATO, S. O Papel da Visão na Aversão aos Espaços Abertos no Labirinto em Cruz Elevado. **Psicologia USP**, São Paulo, v.17, n.4, p. 159-174. 2006.
- MYERS, J.; KOKKINOS, P.; NYELIN, E. Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. **Nutrients**, v.11, jul. 2019.
- NEWSHOLME, P. & KRAUSE, M. Nutritional Regulation of Insulin Secretion: Implications for Diabetes. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 33, n. 2, p. 35-47, mai. 2012.
- OLIVEIRA, H. P. & MALBERGIER, A. Comorbid psychiatric disorders and stage of change in cannabis-dependent, treatment-seeking patients. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 36, p. 101-105, abr/jun. 2014.
- Organização Mundial da Saúde (OMS). **Global status report on alcohol and health 2018**. Disponível em: < <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639>>. Acesso em: 30 mai. 2021.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 3 jun. 2021.

Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). **Uso de álcool durante a pandemia de COVID-19 na América Latina e no Caribe, 2020**. Disponível em: [<OPASNMHMCovid-19200042\\_por.pdf \(paho.org\)>](https://opasnmhmcovid-19200042_por.pdf(paho.org)). Acesso em: 13 abr. 2023.

OSORIO-PAZ, I.; BRUNAUER, R.; ALAVEZ, S. Beer and its non-alcoholic compounds in health and disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 20, nov. 2019.

PADRO, T. *et al.* Moderate Beer Intake and Cardiovascular Health in Overweight Individuals. **Nutrients**, v. 10, n. 9, set. 2018.

PERRY, C.; GUILLORY, T. S.; DILKS, S. S. Obesity and Psychiatric Disorders. **Nursing Clinics of North America**, v. 56, n. 4, p 553-563, dez. 2021.

PINTO, W. B. V. R. *et al.* Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de laboratório**, v. 1, n. 1, p. 102- 120, jan. 2012.

PORET, J. M. *et al.* High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. **International Journal of Obesity**, v. 42, p. 535-541, mar 2018.

RAIHOFER, L. *et al.* A short history of beer brewing: Alcoholic fermentation and yeast technology over time. **EMBO Reports**, v. 23, n.12, dez. 2022.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 3, p. 659-661, 2007.

REIS, M. A. *et al.* Glucose-induced insulin secretion is impaired and insulin-induced phosphorylation of the insulin receptor and insulin receptor substrate-1 are increased in protein-deficient rats. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 403-410, mar. 1997.

RODRIGUES, M. C. *et al.* Prevalência e fatores associados à síndrome metabólica em população vulnerável do norte do Brasil: um estudo transversal. **Journal of Human Growth and Development**, v. 31, n. 2, p. 291-301, 2021.

ROSINI, T. C.; DA SILVA, A. S. R.; DE MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo de distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, p 383-387, jun. 2012.

SAMPEY, B. P. *et al.* Cafeteria Diet is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**, v. 19, jun. 2011.

SAMUELS, J. S.; SHASHIDHARAMURTHY, R.; RAYALAM, S. Novel anti-obesity effects of beer hops compound xanthohumol: role of AMPK signaling pathway. **Nutrition & Metabolism**, v. 15, n. 42, jun. 2018.

- SANTOS, A. F. S. *et al.* Influência da dopamina e seus receptores na gênese da obesidade: revisão sistemática. **Revista Neurociência**, v. 22, n. 3, p. 373-380, 2014.
- SANTOS, C. E.; SCHRANK, Y.; KUPFER, R. Análise crítica dos critérios da OMS, IDF e NCEP para síndrome metabólica em pacientes portadores de diabetes melito tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, p. 1096-1102, dez. 2009.
- SCHMIDT, H. D.; SHELTON, R. C.; DUMAN, R. S. Functional biomarkers of depression: diagnosis, treatment, and pathophysiology. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, p. 2375-2394, 2011.
- SCOMPARIN, D. X. **A Abordagem Científica nas Ciências da Saúde**. 1. ed. Ponta Grossa: Texto e Contexto, 2023.
- SIPPEL, C. *et al.* Processos Inflamatórios da Obesidade. **Revista de Atenção à Saúde**, v.12, p. 48-56, dez. 2014.
- SMOLINSKY, A. N. *et al.* Analysis of Grooming Behavior and Its Utility in Studying Animal Stress, Anxiety and Depression. **Springer Protocols**, v. 42, p. 21- 36, out. 2010.
- Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia - (SBEM). Síndrome Metabólica. Disponível em: <<https://www.endocrino.org.br/sindrome-metabolica>> . Acesso em: 23 mar. 2023.
- STOLARCZYK, E. Adipose tissue inflammation in Obesity: a metabolic or immune response. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 35-40, ago. 2017.
- TAVARES, T. B.; NUNES, S. M.; SANTOS, M. O. Obesidade e qualidade de vida: revisão da literatura. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 20, p. 359-366, jul/set. 2010.
- THOMPSON RAY, M. *et al.* Decreased BDNF, trkB-TK+ and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 36, p. 195-203, mai. 2011.
- TIRADO-KULIEVA, V. A. *et al.* A comprehensive review of the benefits of drinking craft beer: Role of phenolic content in health and possible potential of the alcoholic fraction. **Current Research in Food Science**, v. 6, mar. 2023.
- TORRES, C & ESCARBAJAL, M. D. Validation of a behavioral recording automated system in the elevated plus-maze test. **Life Sciences**, v.70, p. 1761-1762, mar. 2002.
- TURER, A. T. *et al.* Adipose Tissue Biology and Cardiomyopathy: Translational Implications. **Circulation Research**, v. 111, p. 1565-77, dez. 2012.
- VENTURINI, C. D. *et al.* Prevalência de obesidade associada à ingestão calórica, glicemia e perfil lipídico em uma amostra populacional de idosos do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 16, n. 3, p. 591-601, set. 2013.
- WASINSKI, F. *et al.* Exercise and caloric restriction alter the immune system of mice submitted to a high-fat diet. **Mediators of Inflammation**. mar. 2013.

YEOMANS, M. R. Alcohol, appetite and energy balance: Is alcohol intake a risk factor for obesity? **Physiology & Behavior**, v. 100, p. 82-89, abr. 2010.

YOON, S & KIM, Y. K. Possible oxytocin-related biomarkers in anxiety and mood disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 116, jun. 2022.

ZÁDOR, F. *et al.* Pro-Inflammatory Cytokines: Potencial Links between the Endocannabinoid System and the Kynurenine Pathway in Depression. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, mai. 202



## ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO CEUA

 UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <a href="https://uepg.br">https://uepg.br</a>	
<b>CARTA</b> <b>PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO</b> <b>COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS</b>  <b>CARTA DE APROVAÇÃO</b>	
Processo/Process CEUA: 0575721/2021 Protocolo UEPG: 21.000026509-8	
<b>Título:</b> Efeito do consumo de cerveja na obesidade <b>Interessado:</b> Edmar Miyoshi <b>e-mail:</b> edmar@uepg.br <b>Data de Entrada:</b> 19/07/2021 <b>Resultado:</b> Aprovado	
<b>Considerações</b> A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa acima especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA), estabelecida pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizada a utilização de 90 animais da espécie <i>Rattus norvegicus</i> , linhagem/raça: Wistar, sexo: machos, idade: 21 dias e peso aproximado de 30 gramas, no início do experimento, para a execução desse projeto.	
Ponta Grossa, 07 de agosto de 2021  Profa. Dra. Luciana da Silva Leal Karolewski Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UEPG	
	Documento assinado eletronicamente por <b>Luciana da Silva Leal Karolewski, Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais/PROPESP</b> , em 07/08/2021, às 08:25, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.
	A autenticidade do documento pode ser conferida no site <a href="https://sei.uepg.br/autenticidade">https://sei.uepg.br/autenticidade</a> informando o código verificador <b>0575721</b> e o código CRC <b>8FC4A114</b> .
21.000026509-8	0575721v2