

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA
E DO ADOLESCENTE

**ESTUDO TRANSLACIONAL SOBRE O USO DO
ALIMENTO DO TIPO “*COMFORT FOOD*” COMO
ALÍVIO NOS SINTOMAS DE ANSIEDADE
RELACIONADA AO TRAUMA NA INFÂNCIA**

TESE DE DOUTORADO

TANIA DINIZ MACHADO

Porto Alegre, Brasil

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

**ESTUDO TRANSLACIONAL SOBRE O USO DO
ALIMENTO DO TIPO “*COMFORT FOOD*” COMO
ALÍVIO NOS SINTOMAS DE ANSIEDADE
RELACIONADA AO TRAUMA NA INFÂNCIA**

TANIA DINIZ MACHADO

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof^a. Dra. Patrícia Pelufo Silveira
Co-orientadora: Dra. Cristie Noschang

Porto Alegre, Brasil

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Diniz Machado, Tania

Estudo translacional sobre o uso do alimento do tipo "comfort food" como alívio nos sintomas de ansiedade relacionada ao trauma na infância / Tania Diniz Machado. -- 2015.

107 f.

Orientador: Patrícia Pelufo Silveira.

Coorientador: Cristie Graziottin Noschang.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Trauma. 2. Ansiedade. 3. Cortisol. I. Pelufo Silveira, Patrícia, orient. II. Graziottin Noschang, Cristie, coorient. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

17 / 07 / 2015

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Profa. Dra. Elsa Regina Justo Giugliani
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Marcia Kauer Sant Anna
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Luísa Amalia Diehl
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Luciano, Rosely e ao meu irmão, Bruno, por compartilharem comigo esta
conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me guiar sempre em minha caminhada.

Aos meus pais Rosely e Luciano e ao meu irmão Bruno pelo apoio incondicional, pelos incentivos constantes em minha vida e por compartilharem dessa minha trajetória acadêmica!

À minha orientadora, Profa. Dra. Patrícia Pelufo Silveira, pela confiança em mim depositada, pelo auxílio contante e, principalmente, por acreditar que eu sempre poderia ir além. Nossa “parceria” de trabalho se iniciou no Mestrado e se estendeu até o Doutorado e tenho a certeza de que continuará ainda em muitos outros trabalhos. Muito obrigada, esta conquista seria impossível sem a tua constante orientação!!

Agradeço à minha co-orientadora Cristie Noschang pela ajuda e pelo apoio.

A todos participantes do Grupo DOHaD, pelas contribuições para a realização desta pesquisa, pela oportunidade de crescimento profissional e pelo aprendizado.

À professora Gisele Gus Manfro, pela oportunidade de trabalhar em parceria no projeto PROTAIA.

A todos meus colegas, em especial, à Roberta Dalle Molle, Roberta Sena Reis, Daniela Pereira Laureano pela amizade e ajuda incondicional.

À Ana Carla Araújo Cunha, pela ajuda constante tanto na parte experimental com os animais quanto na parceria de digitações dos dados ao longo do Projeto PROTAIA.

A Roberto Spies Lopes pelo carinho.

À equipe da Unidade de Experimentação Animal (UEA/HCPA) pelos constantes auxílios.

Aos órgãos de pesquisa por terem viabilizado este trabalho.

À secretária Rosane do PPGSCA pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ao Programa de Pós-Graduação em

Saúde da Criança e do Adolescente, PROPG (Pró Reitoria de Pós Graduação) por terem me proporcionado auxílio financeiro no doutorado, em 2013, para a participação no XXIST Annual Meeting of the Society for the Study of Ingestive Behavior (New Orleans, LA, Lousiana) onde o trabalho apresentado foi divulgado mundialmente.

RESUMO

Introdução: Em roedores, variações do cuidado materno programam o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal persistentemente, sendo que filhotes de mães pouco cuidadoras são mais ansiosos e reagem com maiores níveis de corticosterona frente a um estressor na vida adulta. Em nosso grupo, vimos, através de um modelo experimental em roedores, que o trauma neonatal afeta o cuidado materno, levando à maior ansiedade na vida adulta. A ansiedade foi mensurada, através da medida do consumo alimentar em um ambiente novo, e esses animais traumatizados na infância responderam com maiores níveis de corticosterona ao estresse agudo na vida adulta. Sugere-se que os níveis aumentados de corticosterona estejam envolvidos nas alterações de comportamento alimentar observadas nesse modelo. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do consumo de “*comfort-food*” sobre comportamentos relacionados à ansiedade, à resposta neuroendócrina ao estresse e à ativação cerebral em indivíduos com e sem exposição ao trauma no início da vida, utilizando um modelo animal e uma amostra clínica. **Métodos:** A partir do segundo dia de vida, ninhadas de ratos Wistar e suas genitoras foram submetidas à redução de material para confeccionar o ninho (intervenção-modelo de trauma neonatal). Durante 5 semanas na vida adulta, as fêmeas receberam a opção de dieta do tipo “*comfort food*” + dieta regular (similar à ração padrão). Após, os animais foram subdivididos e direcionados a três experimentos onde foram avaliados: 1) a ansiedade que foi mensurada usando o teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT), e a 2) a resposta neuroendócrina a 20 minutos de estresse por contenção foi verificada pela mensuração dos níveis plasmáticos de corticosterona no basal, imediatamente, 20, 40 e 70 minutos após o fim do estresse, 3) e a avaliação do consumo de “*comfort food*” após a aplicação farmacológica de diazepan. Nos humanos, o projeto é o seguimento de uma pesquisa realizada com crianças e adolescentes em 2008 que avaliou aspectos nutricionais e psiquiátricos. Em 2013, uma amostra representativa desta amostra inicial realizou reavaliação que incluía o *Parental Bonding Instrument* (PBI) (avaliação da percepção do cuidado materno recebido), avaliação do consumo alimentar num ambiente desconhecido (refeição à escolha na lancheria do Centro de Pesquisa Clínica - CPC), assim como coleta de cortisol salivar. Dados de neuroimagem desses indivíduos ao visualizar imagens de alimentos palatáveis versus alimentos neutros foram processados e analisados. **Resultados:** No estudo experimental, as genitoras do grupo intervenção apresentaram cuidado materno com menos variabilidade e menor qualidade quando comparadas às genitoras controles. Após o consumo crônico de “*comfort food*”, o grupo intervenção apresentou menores níveis de corticosterona em teste de estresse por contenção de movimentos e não diferiu em relação ao grupo controle na ansiedade e no consumo calórico de alimento de conforto após o uso de ansiolítico. No estudo clínico, houve interação entre cuidado materno, ansiedade e cortisol basal no consumo calórico em um ambiente novo (lanche). Nos indivíduos ansiosos que receberam menor cuidado materno na infância, o consumo calórico varia em função do cortisol, sem efeito nos outros grupos. Os dados de neuroimagem funcional sugerem que os indivíduos que receberam alto cuidado materno, conforme aumenta a ansiedade, ocorre uma diminuição da ativação da área cerebral relacionada com impulsividade (giro frontal superior e médio), deixando-os menos inibidos. Em contrapartida, nos indivíduos que receberam baixo cuidado materno isso não ocorreu. Além disso, no grupo com alto cuidado materno, há menor ativação do precúneo frente à visualização de alimentos palatáveis versus itens neutros independente da ansiedade. **Conclusão:** O consumo de alimento palatável foi utilizado pelas fêmeas do grupo intervenção, para inibir os sintomas de ansiedade e, conseqüentemente, diminuir os níveis de corticosterona. Nos humanos, o consumo calórico varia em função do cortisol, sem efeito nos outros grupos. A resposta de diminuição da ativação do giro frontal seria considerada uma resposta “padrão/normal”, pois à medida que aumenta a ansiedade, aumenta conseqüentemente a vontade de ingerir alimentos palatáveis, o que não ocorre nos indivíduos de baixo cuidado materno, permitindo-nos inferir que o sistema esteja tão alterado que essa região específica relacionada à impulsividade não responda mais ao estímulo específico de

visualização de alimentos. Esses resultados em humanos reproduzem os achados em roedores e demonstram que variações de cuidado materno podem mediar a relação entre cortisol/ansiedade e as alterações de comportamento alimentar na vida adulta.

Palavras-Chave: Trauma, ansiedade, cortisol.

ABSTRACT

Introduction: Variations in maternal care in rats can program the function of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis persistently; pups raised by low maternal care mothers are more anxious and secrete more corticosterone in response to stress in adulthood. In our research group, we demonstrated that early life stress affects maternal care and increases anxiety, measured by food consumption in a new environment, as well as exacerbates the HPA response to an acute stress. It is suggested that increase in corticosterone levels modulate the altered feeding behavior observed in this model. The objective of this research was to investigate the effect of “comfort-food” consumption on the anxiety-related behaviors the neuroendocrine response to acute and brain activation in individuals exposed or not to early life adversity, using a rodent model and a clinical sample. **Methods:** By the second day of life litters of Wistar rats were subjected to reduced nesting material protocol (Early–Life Stress) or standard care (Controls). During five weeks the both groups received *ad libitum comfort food* diet and regular diet on their homecage. The following experiments were performed: 1) anxiety was assessed using the novelty-suppressed feeding test (NSFT), 2) the neuroendocrine stress response to 20 minutes restraint stress was verified by measuring plasma corticosterone levels at baseline and immediately, 20, 40, and 70 min. following the stress exposure 3) *comfort food* consumption after diazepam injected. In the human study, the project is a follow up of a project that evaluated nutritional and psychiatric aspects in children and adolescents in a comunitariam sample in 2008. In 2013, a representative subsample was evaluated using the Parental Bonding Instrument (PBI-maternal care evaluation), food consumption in a new environment (meal choice at a snack bar- at Clinical Research Center-CPC), as well as baseline salivary cortisol. Neuroimaging data were analyzed in a task facing palatable foods versus neutral objects. **Results:** In the experimental study, ELS dams demonstrated lower variability and poorer quality of maternal care compared to controls. After the chronic comfort food exposure, ELS group showed lower levels of corticosterone in response to restraint stress and the previously reported differences in anxiety were not seen anymore. Food consumption after anxiolytic injection was similar among the groups. In the clinical study, it was found an interaction between maternal care, anxiety and baseline cortisol levels in the total calories consumption (snack) in a new environment. In anxious individuals that reported low maternal care during childhood, calories consumption varies according to cortisol (negative correlation), while in non-anxious the correlation is opposite, without other groups effects. The neuroimaging data suggests that individuals receiving high maternal care, have diminished activation in the superior and middle frontal gyrus according to increasing anxiety symptoms score, but individuals receiving low maternal care this relationship was not seen. In addition the group reporting high maternal care had decreased activation in the precuneus independent of the anxiety levels. **Conclusion:** Palatable food intake by ELS females rats was used to ameliorate anxiety symptoms and consequent to diminish corticosterone levels in response to acute stress. In humans, the calories consumption varies according to cortisol and anxiety scores in those reporting low maternal care, without other groups effects. Brain responses to food pictures also vary according to early rearing and anxiety symptoms. These results in humans reproduced experimental research findings and demonstrate that variations in maternal care mediate the cortisol and anxiety effects on feeding behavior in adulthood.

Keywords: Trauma, Anxiety , cortisol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema mostrando a distribuição das ninhadas nos diferentes experimentos realizados.....	32
Figura 2 - Linha de tempo do procedimento experimental e teste comportamental.	33
Figura 3 - Figura do grupo controle neonatal.....	34
Figura 4 - Figura do grupo intervenção neonatal.	35
Figura 5 - Posturas de amamentação.	38
Figura 6 - Posturas de amamentação.	38
Figura 7 - Vista frontal da arena utilizada para o teste de Supressão Alimentar pela Novidade (NSFT).....	41
Figura 8- Contensor artificial para imobilização de roedores.....	42
Figura 9 - Linha de tempo do estudo clínico.....	44
Figura 10 – Expositor dos lanches na Cantina do CPC – HCPA	46
Figura 11– Exemplos de escolhas alimentares.....	46
Figura 12 - Barra de cereal e suco de caixinha.....	49
Figura 13 e Figura 14 - Aquisição de imagens de ressonância magnética cerebral, no Instituto do Cérebro- PUCRS.	49
Figura 15- Linha do tempo que ilustra o modelo de sessão realizada no paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros.	52
Figura 16 - Identificação das áreas cerebrais ativadas de acordo com as coordenadas da ativação fornecidas pela análise de <i>secondlevel</i> (SPM) na interface do <i>Talairach Client</i>	55
Figura 17- Peso corporal, ao longo de 6 semanas de vida, após o desmame.	59
Figura 18 - Peso corporal, ao longo de 5 semanas (semana 2 a 6) com as dietas utilizando o peso basal da semana anterior (semana 1) sem as dietas.....	60
Figura 19 – Consumo de dieta palatável ao longo de quatro horas após o uso de diazepam ou veículo.	61
Figura 20- Consumo de dieta palatável em uma hora após o uso de diazepam ou veículo.....	62
Figura 21 - Latência para o consumo de Froot Loops® no teste de supressão alimentar pela novidade.	63

Figura 22 - Consumo de ração palatável no teste de supressão alimentar pela novidade.	63
Figura 23 - Consumo de ração padrão no teste de supressão alimentar pela novidade.....	64
Figura 24 - Curva de corticosterona em resposta ao estresse.....	65
Figura 25 - Relação entre qualidade do cuidado materno, cortisol, ansiedade e consumo calórico num ambiente novo.....	69
Figura 26 – A figura demonstra menor ativação das áreas cerebrais: giro frontal superior e médio (conforme aumenta a ansiedade) e precúneo (independente da ansiedade) nos indivíduos que percebem ter recebido alto cuidado materno.	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação entre as médias das variáveis relacionadas com o cuidado materno..	58
Tabela 2 - Percentual de gordura abdominal, conforme grupo neonatal.....	66
Tabela 3 - Características dos indivíduos que participaram e não participaram da avaliação em 2013.	67
Tabela 4- Características dos indivíduos que participaram da coleta em 2013.	68
Tabela 5 – Ativação cerebral encontrada no contraste alimentos palatáveis>itens neutros, utilizando regressão múltipla (FWE corrigido para comparações múltiplas, $p<0,05$).	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABEP	Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
Abd total	Gordura abdominal total
BOLD	<i>Blood oxygen level-dependent</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CPC	Centro de pesquisa clínica
CPE	Centro de pesquisa experimental
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CSF	Líquido cefalorraquidiano
D2	Receptor de dopamina do tipo 2
DOHaD	Origem desenvolvimentista da saúde e da doença
fMRI	Ressonância magnética funcional
GAD-7	<i>Generalized Anxiety Disorder Scale, 7-item</i>
GEE	Equações de estimativas generalizadas
GLM	<i>General Linear Model</i>
GR	Receptores de glicocorticóides
GPPG	Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HF	Dieta <i>high fat</i> ; rica em gordura e açúcar
HPA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
INSCER	Instituto do Cérebro
IAPS	<i>International Affective Picture System</i>
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Calorias

K-SADS-PL	<i>Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version</i>
LG	<i>Licking and grooming – lambar os filhotes</i>
MINI	<i>International Neuropsychiatric Interview</i>
NHI	<i>National Institutes of Health</i>
NSFT	Teste de supressão alimentar pela novidade
PUC/RS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PVN	Núcleo paraventricular do hipotálamo
RetroP	Gordura retroperitoneal
Rpm	Rotações por minuto
SBCAL/COBEA	Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório
SCARED	<i>Screen for Children and Anxiety Related Emotional Disorders</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
UEA	Unidade de Experimentação Animal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Trauma na infância e o impacto no eixo HPA	19
2.2 O efeito do consumo do alimento tipo “ <i>comfort-food</i> ” na resposta do eixo HPA	21
2.3 Ansiedade	23
2.4 Alterações neurofuncionais relacionadas ao trauma na infância.....	25
3 JUSTIFICATIVA	27
4 OBJETIVOS	28
4.1 Objetivo geral	28
4.2 Objetivos específicos.....	28
5 HIPÓTESE.....	30
6 METODOLOGIA.....	31
6.1 ESTUDO EXPERIMENTAL	31
6.1.1 Animais.....	31
6.1.2 Grupos neonatais	34
6.1.3 Observações do cuidado materno	35
6.1.4 Avaliação do ganho de peso corporal.....	39
6.1.5 Início das novas dietas.....	39
6.1.6 Teste farmacológico	40
6.1.7 Teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT)	40
6.1.8 Curva de corticosterona em resposta ao estresse por restrição de movimento.....	42
6.1.9 Avaliação do ciclo estral das fêmeas.....	42
6.1.10 Coleta e armazenamento de tecidos	43
6.1.11 Análises bioquímicas.....	43
6.2 Estudo clínico	43
6.2.1 Sujeitos	43
6.2.2 Primeira fase do estudo – Centro de Pesquisa Clínica	45"
6.2.2.1 Avaliação antropométrica.....	45
6.2.2.2 Teste de escolha alimentar.....	45
6.2.2.3 Avaliação psiquiátrica	47
6.2.2.4 Classificação socioeconômica	47
6.2.3 Segunda fase do estudo – instituto do cérebro/inscer (puc)	48
6.2.3.1 Neuroimagem funcional e coleta de cortisol salivar	48
6.2.3.2 Aplicação do questionário de cuidado materno (PBI).....	49

6.2.3.3 Paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros	51
6.2.3.4 processamento dos dados de neuroimagem funcional.....	52
6.4 Aspectos éticos	55
6.4.1 Estudo experimental	55
6.4.2 Estudo clínico	56
6.5 Análises estatísticas	56
6.5.1 Estudo experimental	56
7 RESULTADOS	58
7.1 Estudo experimental	58
7.1.1 Cuidado materno	58
7.1.2 Peso ao longo das primeiras 6 semanas após o desmame	58
7.1.3 Peso ao longo das primeiras 5 semanas com as dietas	60
7.1.4 Teste farmacológico com diazepam	61
7.1.5 Teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT)	62
7.1.6 Resposta neuroendócrina ao estresse por contenção	64
7.1.7 Gordura abdominal	65
7.2 Estudo clínico	66
7.2.1 Qualidade do cuidado materno recebido, interação com cortisol, ansiedade e consumo calórico num ambiente novo.....	68
7.2.2 Neuroimagem funcional	69
8 DISCUSSÃO	72
9 CONCLUSÃO.....	84
10 REFERÊNCIAS	85
11 ANEXOS	106

1 INTRODUÇÃO

A vida pré-natal, a primeira infância, a infância e a adolescência são períodos críticos caracterizados por uma maior vulnerabilidade ao estresse (KASSI *et al.*, 2000), desse modo, insultos ocorridos nestes períodos tão sensíveis podem levar a agravos como, por exemplo, danos neuronais (MCEWEN, 2009; MCCLELLAND *et al.*, 2011) que se mantêm na vida adulta (MACMILLAN *et al.*, 2001). Esses agravos deixam “marcas” tornando o indivíduo vulnerável ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos na vida adulta (CATTANEO *et al.*, 2015).

Estudos em seres humanos demonstram que a experiência de maus tratos na infância (MELLO *et al.*, 2009; MACMILLAN *et al.*, 2001; TRICKETT *et al.*, 2010; DESANTIS *et al.*, 2011), o cuidado materno de baixa qualidade (MCCLELLAND *et al.*, 2011) ou ter vivido em instituições/orfanato por algum tempo (GUNNAR *et al.*, 2001; FRIES *et al.*, 2008; GUNNAR *et al.*, 2009; MCLAUGHLIN *et al.*, 2015) resultam em alteração de um dos sistemas responsáveis pela resposta ao estresse: o eixo hipotálamo hipófise adrenal (HPA).

Tentando entender melhor essas experiências traumatizantes na infância, são utilizados na literatura modelos animais que tentam mimetizar essas experiências. Um exemplo disso é o modelo trauma na vida precoce que mimetiza situações de abuso e de negligência, onde o trauma neonatal ocorre pela redução do material para confeccionar o ninho disponibilizado à genitora. Em consequência, o comportamento maternal é profundamente alterado (menor variabilidade, comportamento estereotipado) e a prole na vida adulta apresenta comportamento ansioso, maiores níveis de corticosterona em resposta ao estresse e apresenta preferência por alimento do tipo “*comfort food*”¹ (MACHADO, *et al.*, 2013). Evidências em humanos e roedores sugerem que o consumo deste tipo de alimento leva à atenuação da atividade do eixo HPA em resposta ao estresse crônico na vida adulta

1 Alimento calórico rico em gordura e açúcar altamente palatável que induz à sensação de prazer/conforto.

(EPEL *et al.*, 2001; TOMIYAMA *et al.*, 2011), porém pouco se sabe sobre os efeitos do estresse vivenciado no período neonatal sobre o consumo, a modulação da preferência e as consequências do uso desse tipo de alimentos na vida adulta.

Neste contexto, é importante estudar a relação entre o trauma na vida precoce, consumo de alimento do tipo “*comfort food*” e a resposta neuroendócrina do eixo HPA ao estresse, usando uma abordagem translacional. Desse modo, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do consumo de “*comfort food*” no comportamento ansioso e na resposta do eixo HPA em ratos e humanos submetidos ao trauma na vida precoce.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Trauma na infância e o impacto no eixo HPA

O estado de homeostase é essencial para a vida. Este equilíbrio é desafiado constantemente por adversidades reais ou percebidas, ou seja, os estressores. O estresse é definido como uma desarmonia, ou ameaça à homeostase, que ativa um complexo sistema de resposta fisiológicas e comportamentais visando restabelecer a homeostase (resposta adaptativa). Esse sistema complexo envolve estruturas do sistema nervoso central e periférico. A incapacidade do indivíduo em responder adequadamente ao estresse pode levá-lo a doenças e, além disso, afetar funções importantes como crescimento, reprodução, o metabolismo, desenvolvimento da personalidade e comportamento (KASSI *et al.*, 2012). Quando isso ocorre, forçando o organismo a atuar além de sua capacidade, e/ou há dano físico, denomina-se “trauma”. Em consequência, hormônios e neurotransmissores envolvidos na resposta ao estresse modificarão a função e a estrutura de neurônios em diferentes regiões cerebrais, no intuito de proteger o cérebro de danos permanentes (MCEWEN, 2009). O estresse agudo ativa rapidamente o sistema nervoso simpático e, em seguida, o eixo HPA. Agudamente, a ativação desses dois componentes é o principal mecanismo de resposta ao estresse, porém o nível de ativação depende do tipo do estressor (ORTOLANI *et al.*, 2014). Em relação ao eixo HPA, o estresse é percebido pelos órgãos de captação de informação, culminando com a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Este age na glândula pituitária (HERMAN *et al.*, 2003), estimulando a liberação de adrenocorticotrofina (ACTH) na corrente sanguínea, que é responsável por promover a liberação de glicocorticóides pelo córtex da adrenal (HERMAN e CULLINAN, 1997). Neste processo, existe um controle de retroalimentação negativa do eixo para que a atividade cesse (HALASZ *et al.*, 1997).

O fato de ter recebido um cuidado materno de baixa qualidade é considerado um trauma. Crianças institucionalizadas apresentam resposta atenuada do eixo hipotálamo hipófise adrenal (HPA) em resposta ao estresse psicossocial, quando comparadas a crianças institucionalizadas alocadas num ambiente familiar cujas respostas de estresse se aproximam daqueles com desenvolvimento típico (MCLAUGHLIN *et al.*, 2015). Situações traumatizantes na vida precoce, como abuso físico e sexual (HEIM *et al.*, 2000), estão associadas à hiperativação do eixo HPA. Um bom cuidado maternal é fundamental no aprendizado da criança para lidar com adversidades e na diminuição dos riscos para doenças como ansiedade e depressão na vida adulta (PARKER *et al.*, 1999; PARKER *et al.*, 1979). A interação negativa na relação entre mãe e filha prediz o comer emocional, ou seja, um cuidado materno ruim influencia a ingestão alimentar que é ativada em resposta a um estímulo emocional (ESCOBAR *et al.*, 2014).

Estudos experimentais demonstram que a breve separação do filhote da mãe, 3 minutos por dia, aumenta o comportamento de cuidado materno ao ser devolvido para sua mãe sendo, portanto, benéfico. Em consequência, isso implica numa melhor capacidade em lidar com situações estressantes, menor comportamento do tipo ansioso e dos níveis de corticosterona (LEVINE *et al.*, 1967). Longos períodos de separação, contudo, têm efeito oposto, sendo extremamente estressante para a prole, demonstrando comportamento do tipo ansioso, depressivo e associação com desordem alimentar na vida adulta (JAHNG, 2011).

Tentando modelar situações de abuso e negligência vivenciadas em humanos, foi proposto na literatura um modelo de trauma precoce em roedores em que se reduz a disponibilidade de material para confeccionar o ninho em ratas lactantes. Esse modelo de intervenção neonatal é altamente estressante para a genitora, o que culmina com a redução e modificação do cuidado materno com a prole (IVY *et al.*, 2008; DALLE MOLLE *et al.*, 2012, MACHADO *et al.*, 2013) e altera a resposta do eixo HPA (AVISHAI-ELINER *et al.*, 2001; BRUNSON *et al.*, 2005; RICE *et al.*, 2008). Reproduzindo esse protocolo, é visto que esse

ambiente adverso neonatal leva à ansiedade na vida adulta (DALLE MOLLE *et al.*, 2012; MACHADO *et al.*, 2013), a maiores níveis de corticosterona em resposta ao estresse por contenção de movimentos e à preferência por alimento do tipo “*comfort food*” em fêmeas (MACHADO *et al.*, 2013).

2.2 O efeito do consumo do alimento tipo “comfort-food” na resposta do eixo HPA

“*Comfort-food*” são alimentos palatáveis, contêm açúcar e/ou gorduras, que são consumidos como forma de conforto aliviando os sintomas do estresse, sendo capazes de diminuir a resposta neuroendócrina ao estresse e reforçar o hábito alimentar (PECORARO *et al.*, 2004; DALLMAN, 2010).

Mulheres com altos níveis de estresse crônico apresentam atenuação da resposta ao estresse, com baixos níveis de cortisol salivar frente a uma tarefa de estresse agudo, assim como maior ingestão calórica de alimento do tipo “*comfort-food*” num *buffet* (TRYON *et al.*, 2013). Seguindo nesta mesma linha, mulheres que se autoclassificam como estressadas apresentam maior consumo alimentar e, em consequência, aumento da circunferência abdominal, do índice de massa corporal (IMC) e menores níveis de cortisol quando comparadas com controles (TOMIYAMA *et al.*, 2011). Entretanto, a literatura demonstra níveis elevados de cortisol noturno em pessoas que comem motivadas pelo estresse (EPEL *et al.*, 2004). Em outra fase da vida, a adolescência, meninas que comem impulsionadas pelo estresse apresentam alta prevalência de sobrepeso, obesidade abdominal e maior adiposidade corporal em comparação com as que não apresentam esse comportamento (JÄÄSKELÄINEN *et al.*, 2014) porém, neste estudo, não foram avaliados os níveis de cortisol. Tanto em animais como em humanos há evidências que demonstram que o excesso de glicocorticóides está envolvido no desenvolvimento da obesidade via aumento da ingestão de alimentos, levando à maior deposição de gordura visceral (ADAM e EPEL, 2007). O acesso ao alimento “*comfort-*

food” atenua os efeitos fisiológicos do estresse agudo indicando que ele atua como um alimento confortante. O consumo desse tipo de alimento modula a liberação de neurotransmissores envolvidos na resposta hedônica a reforçadores naturais (ex.: alimento) e artificiais (ex.: drogas), indicando uma capacidade de levar à dependência. A retirada desses alimentos confortantes, após uso crônico, leva a uma reação semelhante à de estresse (MORRIS *et al.*, 2014) ou abstinência (COLMAN *et al.*, 2015; da SILVA BENNETI *et al.*, 2014). Por outro lado, também é vista a busca pelo conforto via outros métodos, como o uso de substância alécoolica ao longo da vida em crianças que passaram pela experiência adversa de terem sido expostas à guerra civil (KEYES *et al.*, 2014).

O estresse crônico em roedores está associado a um perfil ansioso e a maiores níveis de corticosterona; no entanto o acesso a alimento do tipo “*comfort-food*” atenua a resposta ao estresse diminuindo os níveis de corticosterona (ORTOLANI *et al.*, 2014). O estresse físico (choque) em roedores leva à redução da preferência por bebida com sacarina comparada à água. Porém, na situação de estresse emocional, ocorre o oposto, os animais preferem a bebida doce (PIJLMAN *et al.*, 2003).

É proposto na literatura que a preferência por ingerir alimentos do tipo “*comfort-food*” em situações estressantes funcione como uma “automedicação”, para controlar os níveis de corticosterona (ratos) e cortisol (humanos) (PECORARO *et al.*, 2004; TOMIYAMA *et al.*, 2011). Sugere-se que o estresse crônico estimule o eixo HPA, resultando na exposição aos glicocorticóides que podem desempenhar um papel relevante no desenvolvimento da obesidade visceral (ADAM e EPEL, 2007) e, a longo prazo, podendo ter a obesidade como consequência (DALLMAN, 2010).

É importante destacar que os desfechos podem variar de acordo com o tipo de estresse aplicado. Apesar da vasta literatura demonstrando que o estresse crônico na vida adulta leva à maior ansiedade e ao consumo de alimentos “*comfort-food*”, pouco se sabe sobre a capacidade de o trauma neonatal também levar aos mesmos desfechos, em especial,

quando se trata do modelo de redução do material disponível para a confecção do ninho. O primeiro estudo de que se tem conhecimento neste modelo é o de MACHADO *et al.*, 2013. Neste estudo, foi demonstrado que este tipo de estresse neonatal leva ao desenvolvimento de comportamentos relacionados à ansiedade, assim como à maior preferência por alimentos *comfort foods* e à maior secreção de corticosterona em resposta ao estresse agudo na vida adulta.

2.3 Ansiedade

A ansiedade é um sintoma cuja causa está relacionada a fatores genéticos, ambientais e epigenéticos. Através de um estímulo, seja ele real ou não, o organismo reage ativando o sistema fisiológico e organiza a mudança comportamental de defesa preparando o indivíduo para luta ou fuga (NOLTE *et al.*, 2011; STEIMER, 2002). Naturalmente, as mulheres são mais propensas em relação aos homens a desenvolver transtornos de ansiedade e depressão, vale destacar que, ao longo do período de flutuação hormonal, esses defechos podem apresentar-se de maneira mais marcante sugerindo que os hormônios gonadais participem fortemente deste processo no sexo feminino (KESSLER *et al.* 2003; SOLOMON e HERMNAN, 2009). Indivíduos de ambos os sexos que foram abusados sexualmente na infância são propensos a apresentar transtornos psiquiátricos na vida adulta. Enquanto os homens acabam, ao longo da vida, tendo mais chance de consumir drogas ilícitas e apresentar depressão, as mulheres têm mais chance de desenvolver desordens psiquiátricas em geral (MACMILLAN *et al.*, 2001).

Estudos demonstram que eventos adversos no início da vida levam a desfechos não favoráveis na vida adulta tais como: ansiedade, depressão e dificuldade de aprendizado, baixa autoestima (SHIKANAI *et al.*, 2013; BARAM *et al.*, 2012; JAHNG, 2011; STEIMER, 2011, CHIBA *et al.*, 2012; KUO *et al.*, 2011). O estresse na vida adulta leva à preferência pelo alimento do tipo “*comfort-food*”, possivelmente, atuando como “medicação” (PECORARO *et*

al., 2004; ULRICH-LAI *et al.*, 2011). Logo, a concomitância entre aplicação do estresse e oferta do alimento do tipo “*comfort food*” ameniza os escores de comportamentos relacionados à ansiedade em roedores fêmeas (KROLOW *et al.*, 2010). Interessantemente, quando o consumo é capaz de ser revertido pelo uso de ansiolítico diazepam, entende-se que o mesmo estava sendo motivado pela ansiedade (ELY *et al.*, 1997). Em contrapartida, animais manipulados no início da vida não apresentam diminuição do consumo após do uso de diazepam, demonstrando que o consumo não era relacionado à ansiedade (SILVEIRA *et al.*, 2005).

Os fármacos tranquilizantes são divididos nos grupos das fenotiazinas (exemplo: acepromazina), butirofenonas (exemplo: droperidol) e benzodiazepínicos (exemplo: diazepam) (NEVES *et al.*, 2013). Os benzodiazepínicos são uma classe de fármaco capazes de inibir os sintomas de ansiedade (ANDERSEN *et al.*, 2004). O tratamento agudo com este fármaco é capaz de reverter o comportamento de inibição comportamental no teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT) (MERALI *et al.*, 2003). O NSFT caracteriza-se por ser um teste de simples execução, não é necessário treinamento e é indolor e efetivo (BELZUNG *et al.*, 2001; BLANCHARD *et al.*, 1998). Neste teste, o animal previamente passa por jejum (entre 12 -24h) e enfrenta o conflito entre se aproximar e ingerir um alimento que se encontra no meio de uma arena aberta desconhecida ou a possibilidade de ficar no canto, evitando o centro e não atingir o alimento. É avaliada tanto a latência para o início do consumo no ambiente novo como a quantidade de ração consumida durante 5 minutos, após o animal retornar a sua caixa moradia (DULAWA e HEN, 2005). Durante o teste, os animais com maior latência para iniciar o consumo no ambiente novo, assim como o menor consumo de ração, ao retornar à caixa moradia, são classificados como ansiosos (SAMUELS e HEN *et al.*, 2011).

2.4 Alterações neurofuncionais relacionadas ao trauma na infância

É possível avaliar a atividade cerebral, através do impulso neuronal que ocorre no cérebro, desencadeando um aumento do fluxo sanguíneo. Essa ação despense energia, ocasionando mudanças rápidas no fluxo sanguíneo e no consumo de oxigênio (ATTWELL *et al*, 2010). A oxigenação sanguínea (*blood oxygen level-dependent (BOLD) signal*) é avaliada na ressonância magnética sendo dependente da hiperemia cerebral (UĞURBIL *et al*, 2000) . Esta metodologia fornece a oportunidade de avaliar os sistemas cerebrais através da atividade neuronal, sendo um método não invasivo (GRAHAM *et al*, 2015).

Ter recebido cuidado materno de uma mãe depressiva, sintomatologia detectada antes da gestação e aos 3 meses após nascimento de seu filho, pode ser considerado um evento traumático. Independente de sintomas depressivos maternos pós-natais, a depressão materna pré-natal está associada positivamente com a conectividade funcional amígdala esquerda (região do cérebro envolvida na ativação e regulação dos estados emocionais) em crianças com 6 meses de idade. Interessantemente, a descoberta sugere que o desenvolvimento de circuitos neurais com características de maior vulnerabilidade para a depressão já é evidente na infância e ocorre em função das características maternas na gestação (QIU *et al.*, 2015).

Estudos envolvendo ressonância magnética e trauma na infância demonstram que o trauma vivenciado na vida precoce está relacionado com a aceleração no desenvolvimento do volume da glândula pituitária durante a adolescência de meninas. Portanto, quanto mais severo for o trauma maior é o volume da glândula pituitária na amostra avaliada (GANELLA *et al*, 2015).

Maior atividade da amígdala frente ao estímulo visual de faces de tristeza foram vistas em crianças de 3 a 5 anos com trauma precoce. Contudo, essa resposta não foi vista em resposta a outras faces emocionais (SUZUKI *et al.*, 2014). Esse tipo de trauma precoce, em específico o abuso emocional mensurado através do *Childhood Trauma Questionnaire*

(CTQ), leva à menor conectividade funcional em estado de repouso entre amígdala direita e o córtex em jovens do sexo masculino (FAN *et al.*, 2014). Estudos de neuroimagens têm identificado regiões cerebrais que estão envolvidas com recompensa do consumo alimentar resultando na ativação do córtex direito, amígdala e estriado (O'DOHERTY *et al.*, 2002).

São escassos na literatura estudos que abordem o tema trauma na infância, alterações neurofuncionais na fMRI diante da tarefa visualização de alimentos “*comfort-food*”. Um estudo recente realizado em adolescentes que sofreram trauma na infância não encontrou diferença neurofuncional em resposta à visualização de imagens de alimentos entre os grupos expostos e não expostos a essa adversidade no início da vida (ELSEY *et al.*, 2015). Apesar disso, existem muitos estudos em obesos.

Indivíduos obesos tendem a apresentar maior ativação de regiões somatossensoriais orais e no córtex gustativo, antecipando o consumo alimentar frente ao alimento palatável. Essa resposta ocorre através da visualização de alimentos palatáveis sugerindo que essa tarefa pode distinguir pessoas obesas, ou com risco para o desenvolvimento desta doença, que apresentam o comportamento alimentar de comer em excesso (STICE *et al.*, 2009). A dopamina está relacionada com o comer patológico e estudos de neuroimagem demonstram que, similarmente a pessoas viciadas em drogas de adição, os obesos apresentam menores receptores de dopamina (D2) no estriado, o que os induz à busca por comida para compensar a deficiência desse neurocircuito cerebral (WANG *et al.*, 2009).

Contudo, apesar de saber que o estresse (KROLOW *et al.*, 2010; JÄÄSKELÄINEN *et al.*, 2014; MIKOLAJCZYK *et al.*, 2009) assim como o trauma (MACHADO *et al.*, 2013) modificam o comportamento alimentar, não se sabe como o trauma na infância modula a resposta neuronal à visualização de alimentos.

3 JUSTIFICATIVA

Estudos experimentais e em seres humanos demonstram que a exposição a eventos estressores no período neonatal levam a psicopatologias e a alterações neuroendócrinas, assim como podem afetar persistentemente a regulação do comportamento alimentar. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito dos alimentos do tipo “*comfort-food*” sobre esses desfechos em indivíduos expostos ao trauma neonatal. Sabendo que o comportamento alimentar inadequado pode levar a risco para obesidade e doenças crônicas, o entendimento dessa relação pode auxiliar na compreensão e prevenção de doenças crônicas, especialmente, em indivíduos vulneráveis (que passaram por trauma na infância). Como as fêmeas são menos favorecidas nos estudos em roedores, destaca-se o uso das mesmas no presente estudo. A utilização da pesquisa translacional viabiliza que as hipóteses sejam inter-relacionadas, possibilitando maior abrangência no entendimento do tema proposto.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Investigar o efeito do consumo de “*comfort-food*” sobre comportamentos relacionados à ansiedade, à resposta neuroendócrina ao estresse e à ativação cerebral em indivíduos com e sem exposição ao trauma no início da vida, utilizando um modelo animal e uma amostra clínica.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o comportamento maternal entre as genitoras e o crescimento dos filhotes dos grupos controle e intervenção, como importantes co-variáveis para os objetivos principais.
- Avaliar o comportamento do tipo ansioso e a resposta ao estresse em ratas fêmeas na vida adulta, após a exposição por 5 semanas de dieta “*comfort-food*”, através do teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT) e a curva de corticosterona em resposta ao estresse por imobilização comparando os grupos controle e intervenção.
- Comparar o efeito da exposição crônica à dieta “*comfort-food*” sobre o acúmulo de gordura abdominal em ratas fêmeas na vida adulta.
- Comparar a resposta alimentar, entre os grupos controle e intervenção, diante do uso agudo de um benzodiazepínico em ratas fêmeas na vida adulta.
- Verificar a interação entre cuidado materno recebido na infância, ansiedade e cortisol na ingestão de alimento, em um novo ambiente, em seres humanos. Relacionar o

cuidado materno com possíveis mudanças no padrão de ativação cerebral frente à visualização de alimentos palatáveis e itens neutros na amostra clínica.

5 HIPÓTESE

O livre acesso a “*comfort food*” levará a menores níveis de corticosterona e à diminuição dos sintomas de ansiedade em animais expostos a trauma no início da vida. Nos humanos, indivíduos que sofreram trauma (percepção de baixo cuidado materno recebido) apresentarão variações do comportamento alimentar e da resposta central à visualização de alimentos palatáveis vs. itens neutros em função da ansiedade e da resposta ao estresse.

6 METODOLOGIA

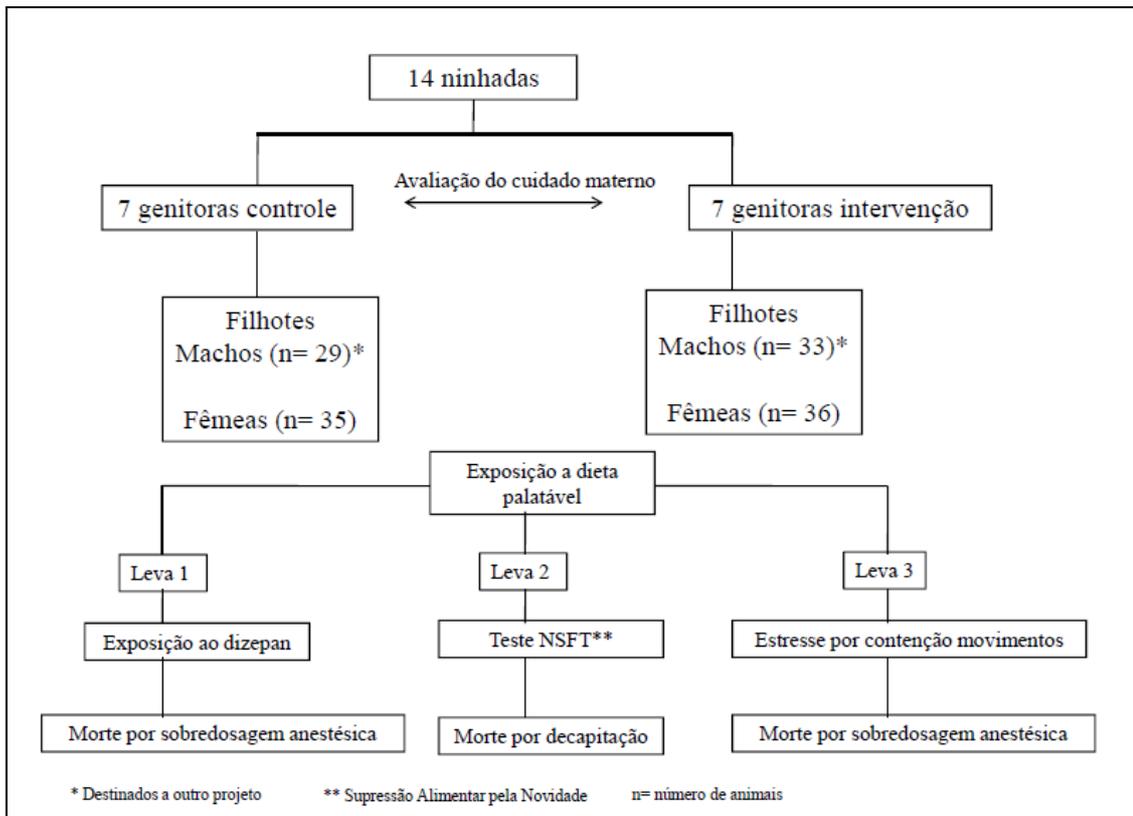
6.1 Estudo Experimental

6.1.1 Animais

Ratas Wistar nulíparas, provenientes da Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (UEA-HCPA), foram acasaladas nesse local e permaneceram em caixas-moradia padrão da UEA. A partir do sétimo dia gestacional, as genitoras foram alocadas em caixas-moradia individuais, especialmente desenvolvidas para este modelo animal, medindo 40cm x 40cm x 30cm, com assoalho de malha metálica (1cm x 1cm) que permitisse apenas a passagem das fezes e da urina para um coletor localizado na parte inferior da caixa. As genitoras foram mantidas nessas caixas-moradias com o assoalho recoberto com maravalha e em um ambiente controlado: ciclo claro/escuro de 10/14horas (luzes acendiam às 9h e apagavam às 19h), temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, água e comida *ad libitum*. A limpeza das caixas-moradia foi realizada uma vez por semana. O dia do nascimento dos filhotes foi considerado o Dia 0. No dia 2, as genitoras e suas ninhadas foram randomizadas para dois grupos, controle e intervenção. O cuidado materno foi avaliado do dia 2 ao dia 9 de vida os filhotes. No dia 10, as genitoras e seus filhotes foram removidos para uma caixa-moradia padrão, medindo 46 cm x 31cm x 16cm, com o assoalho recoberto com maravalha e mantidos no mesmo ambiente controlado, conforme citado acima. No dia 21 de vida, os filhotes foram desmamados e separados por sexo, em três por caixa-moradia, e mantidos em um ambiente controlado: ciclo claro/escuro de 12/12h (luzes acendiam às 7h e apagavam às 19h), temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, água e comida *ad libitum*. Os machos foram destinados a outro projeto (número 140168) e, neste trabalho, foram utilizadas somente as fêmeas.

Foram utilizadas no total 14 ninhadas, sendo os filhotes distribuídos para diferentes experimentos, conforme a figura 1. O tamanho da ninhada variou de 4 a 13, mas a média do número de filhotes não foi diferente entre os grupos (média±DP – controle: 9,14±2,60 e intervenção: 9,85±2,19, $p=0,589$), sendo esta variável utilizada como co-variável em determinadas análises (ver “Análises Estatísticas”). As 14 ninhadas utilizadas para a observação do cuidado materno foram divididas em duas coortes e, ao comparar os componentes do cuidado materno entre as duas, não foram observadas diferenças estatísticas significativas.

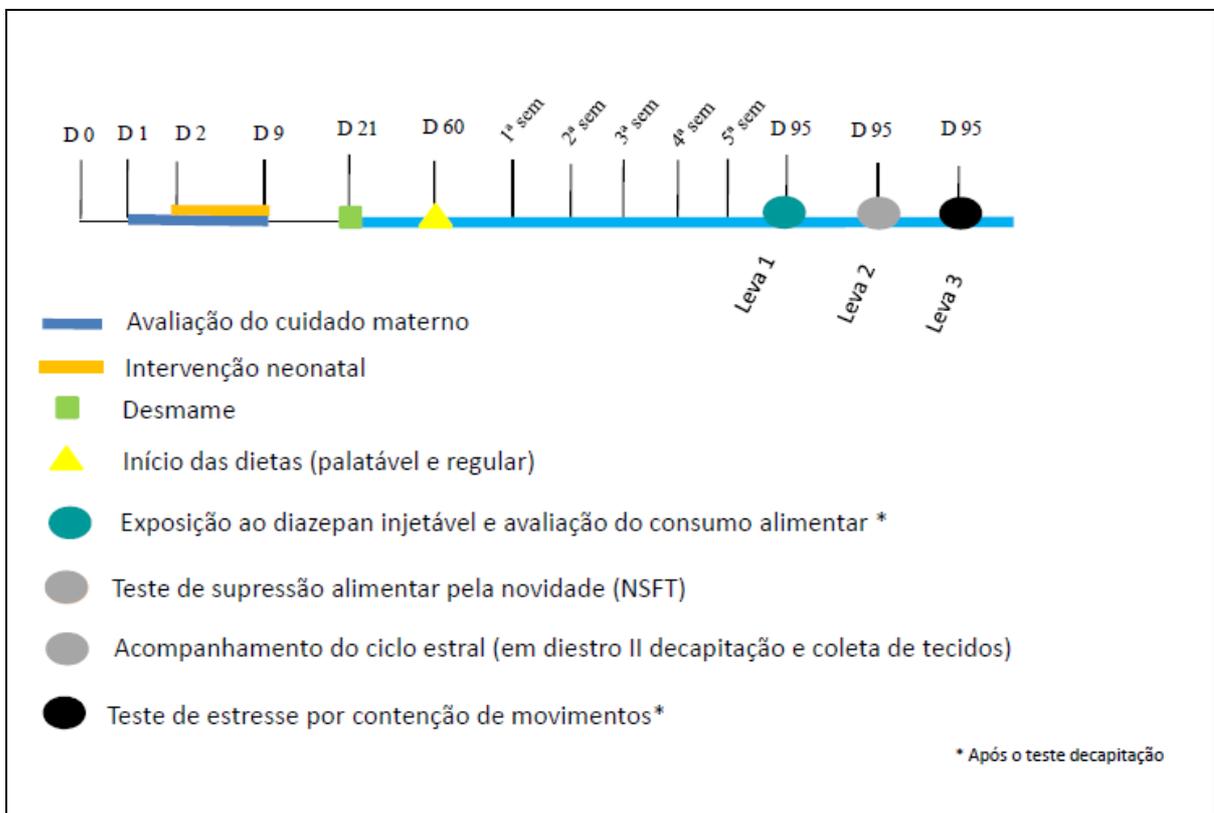
Figura 1 - Esquema mostrando a distribuição das ninhadas nos diferentes experimentos realizados.



A partir do 60^o dia de vida, os animais foram expostos à opção de dois tipos de dieta: dieta regular (similar à ração padrão do laboratório) e a dieta “*comfort-food*” até o fim da vida.

Aos 95 dias de vida, iniciaram-se os testes, quando os animais foram subdivididos em 3 experimentos: teste de exposição ao fármaco diazepam, teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT), e teste estresse por contenção de movimentos. Os testes foram realizados em salas comportamentais aclimatadas na UEA-HCPA. Antes das coletas de tecidos, houve acompanhamento do ciclo estral das fêmeas. A figura 2 ilustra a linha de tempo do procedimento experimental e dos testes comportamentais.

Figura 2 - Linha de tempo do procedimento experimental e teste comportamental.



D: dia de vida; sem: semana

6.1.2 Grupos Neonatais

Grupo intervenção (ambiente neonatal hostil): seguindo os procedimentos descritos por Ivy *et al.* (2008), o grupo intervenção teve restrição do material para a confecção do ninho durante oito dias (do dia 2 ao dia 9 pós-natal). A restrição consistiu em remover a maravalha da caixa-moradia, no dia 2, sem tocar nos animais, e em oferecer um total de apenas 2000 cm³ de papel toalha para a confecção de um ninho rudimentar neste período. A urina e as fezes dos animais eram depositadas no coletor localizado na parte inferior da caixa, e o assoalho de malha metálica era, geralmente, conservado limpo pela genitora. Todas as ninhadas foram mantidas sem troca do papel toalha do dia 2 ao dia 9.

Grupo controle: no grupo controle, as genitoras tiveram à sua disposição uma quantidade suficiente de maravalha para a construção do ninho (aproximadamente 7200 cm³). Todas as ninhadas foram mantidas com este volume de maravalha, sem troca de caixa-moradia do dia 2 ao dia 9.

Figura 3 - Figura do grupo controle neonatal.



Fonte: Machado, 2012

Figura 4 - Figura do grupo intervenção neonatal.



Fonte: Machado, 2012

6.1.3 Observações do cuidado materno

Os procedimentos de avaliação do cuidado materno ocorreram na unidade de experimentação animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) por integrantes do Grupo de pesquisa DOHaD.

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre conta, em sua estrutura, com o Centro de Pesquisa Experimental (CPE). O CPE promove a integração entre os diferentes grupos de pesquisadores e a racionalização de recursos de pesquisa, disponibilizando infraestrutura completa para as atividades em seis laboratórios multiusuários e área física para o desenvolvimento de projetos específicos em vinte laboratórios temáticos. Além disso, compreende a Unidade de Experimentação Animal que possui vários alojamentos para diferentes espécies, salas de comportamentos, procedimentos, cirurgias de pequeno e grande porte e necropsia, equipadas com diversos aparatos e equipamentos para uso compartilhado.

O grupo de pesquisa DOHaD-Porto Alegre conta com a participação de alunos de diferentes níveis (iniciação científica, mestrado, doutorado e pós-doutorado) e diferentes expertises que trabalham em conjunto em diversos projetos. Dessa forma, a equipe se mantém

em frequente contato com os diferentes procedimentos como, por exemplo, observação do cuidado maternal, análise comportamental e dissecação de estruturas. Isso permite a qualificação dos componentes do grupo, assim como a possibilidade de capacitação dos novos participantes. Mesmo assim, procedimentos que contam com a dissecação da gordura abdominal, geralmente, são feitos pela mesma pessoa para um determinado projeto. No caso do projeto atual, procedeu-se igualmente desse modo.

Seguindo os procedimentos descritos por CHAMPAGNE *et al.*, (2003), o comportamento maternal de cada genitora foi observado diariamente em cinco períodos, de 72 minutos cada, do dia 1 ao dia 9 pós-natal, por vários observadores do nosso grupo de pesquisa, DOHaD, previamente treinados através de observações supervisionadas repetidas. Além disso, foi realizada a supervisão da análise diária das planilhas, onde os dados eram registrados por observador experiente do nosso grupo de pesquisa. As observações ocorriam sempre nos mesmos horários, sendo três períodos durante a fase clara (10h, 13h, 17h) e dois períodos durante a fase escura (07h e 20h). Em cada período de observação, o comportamento da genitora foi registrado a cada três minutos ($25 \text{ observações/dia} \times 5 \text{ períodos/dia} = 125 \text{ observações/genitora/dia}$), sendo que o observador registrava o comportamento que estava acontecendo no instante em que olhava para os animais (ou seja, como se o observador tirasse uma fotografia do que estava acontecendo exatamente no instante da observação). Os seguintes comportamentos maternos foram registrados:

- a) Genitora em contato com os filhotes – no mínimo 3 filhotes.
- b) Genitora fora do ninho.
- c) Genitora amamentando os filhotes, conforme a posição do dorso arqueado: (1), (2), (3) ou (4); sendo a posição (1) a menos arqueada e a posição (4) a mais arqueada.

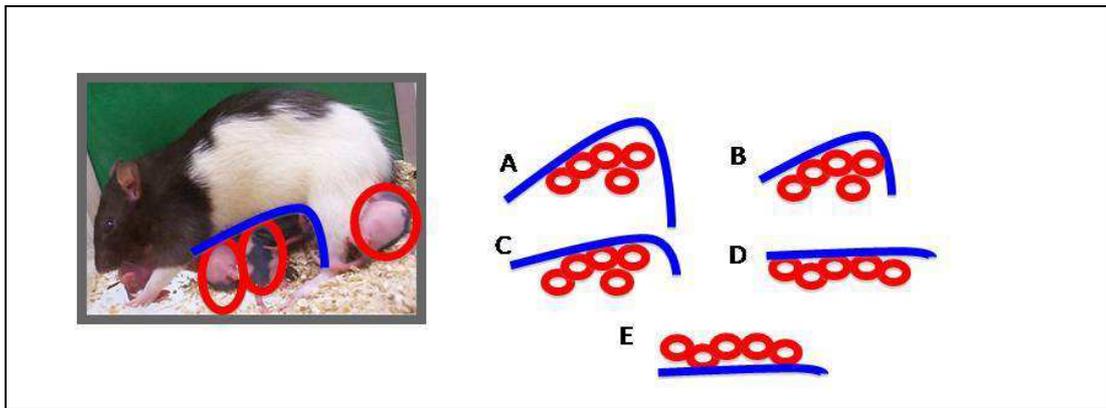
- d) Genitora amamentando os filhotes de forma passiva, ou seja, quando ela está deitada de costas ou de lado ao amamentar.
- e) Genitora lambendo (*licking and grooming* ou LG) qualquer filhote.

As variáveis de cuidado materno utilizadas neste trabalho foram a avaliação das posturas de amamentação, a frequência de lambidas e o contato com a prole. Os escores de cada comportamento foram calculados, dividindo a frequência do comportamento pelo número total de observações e utilizando uma planilha de Microsoft Excel®.

As posturas de amamentação são classificadas conforme a posição do dorso arqueado. Na posição 4, a genitora está imóvel e numa postura de alto arqueamento dorsal, apoiada por patas dianteiras e traseiras rígidas e a cabeça baixa, com o tronco e membros simétricos bilateralmente. A maioria ou todos os filhotes estão sendo amamentados. As posições 3 e 2 são posturas progressivamente menos intensas da posição 4 (ver figuras 5 e 6); nesses casos, a genitora está sobre os filhotes, relativamente imóvel, membros colocados de forma simétrica bilateralmente, com a cabeça na posição de repouso (não baixa) numa postura de arqueamento dorsal baixo apoiada por patas dianteiras e traseiras rígidas (posição 3) ou numa postura de menor arqueamento dorsal baixo, apoiada por patas dianteiras ou traseiras rígidas (posição 2). Na posição 1, a genitora se coloca sobre os filhotes sem arqueamento dorsal com pouco ou nenhum apoio de membros. Na posição passiva, a genitora está amamentando um ou mais filhotes deitada com o ventre para cima ou de lado (LONSTEIN *et al.*, 1998; PRYCE *et al.*, 2001).

A frequência do comportamento de lambidas é avaliada por anotar o número de vezes em que a genitora encontra-se lambendo um ou mais filhotes durante a observação do cuidado materno. As lambidas podem acontecer de forma concomitante a outros comportamentos como a amamentação.

Figura 5 - Posturas de amamentação.



A linha representa o ventre da genitora visto lateralmente, e os círculos representam os filhotes A) postura 4; B) postura 3; C) postura 2; D) postura 1 e E) postura passiva. Fonte: Machado, 2012.

Figura 6 - Posturas de amamentação.



Fonte: autor

6.1.4 Avaliação do ganho de peso corporal

O peso corporal foi avaliado uma vez por semana, utilizando uma balança da marca Marte® com precisão de 0,01g. Após o desmame, os animais foram separados por sexo, machos e fêmeas, e padronizou-se pesar os animais no mesmo dia.

6.1.5 Início das novas dietas

Aos 60 dias de vida, os grupos neonatais (controle e intervenção) foram subdivididos em:

- a) Controle com as opções de dieta regular + dieta palatável “*comfort-food*” (rica em gordura e açúcar);
- b) Intervenção com as opções de dieta regular + dieta palatável “*comfort-food*” (rica em gordura e açúcar).

Todos os grupos receberam rações novas às quais não estavam acostumados durante 5 semanas, portanto, mesmo a ração regular era diferente da ração padrão (22% de proteína, lipídeos 4,5%, carboidratos 54%, 2,95Kcal/g; marca NUVILAB®) consumida pelos animais até então. Isso foi feito para que todos os animais enfrentassem os efeitos da neofobia alimentar e, portanto, esse viés pudesse ser diluído entre os diferentes grupos experimentais. A composição da ração regular era: 22% proteína, 4% de gordura, 60% carboidrato, 3,64Kcal/g; a dieta palatável consistia em 14% de proteína, 34% de gordura, 30,2% de carboidrato (sendo 20% em sacarose); 4,82Kcal/g. Ambas as dietas foram produzidas pelo laboratório Prag Soluções Biociências® (São Paulo, Brasil), visando minimizar possíveis vieses. O consumo alimentar neste presente trabalho não foi avaliado. O mesmo já foi detalhado utilizando o mesmo protocolo e as mesmas dietas, através de um equipamento que

permite a avaliação minuciosa do consumo alimentar em episódios no estudo de Machado *et al.* (2013).

6.1.6 Teste farmacológico

No dia 95 de vida, um subgrupo de animais foi individualizado e os mesmos permaneceram em jejum por 6 horas, sendo habituados na sala do teste por 1 hora. Posteriormente, os grupos controle e intervenção neonatal receberam injeção farmacológica intraperitoneal de diazepam ou veículo oleoso (40% de propilenoglicol, 10% de etanol, 10% de benzoato de sódio/ácido benzóico, pH 7.4, confeccionado pela empresa Stilolab®) conforme utilizado pelo estudo de Silveira e colaboradores em 2005, na dose de 0.4ml/Kg de peso corporal. Os animais foram posicionados com a sua face ventral voltada para cima. A injeção foi aplicada no quadrante inferior do abdome, do lado direito do animal e do lado esquerdo em relação ao pesquisador que estava segurando o animal, na cavidade peritoneal entre os órgãos abdominais (NEVES *et al.* 2013).

Logo após, foram recolocados em suas caixas moradia com quantidade de ração (regular e palatável) conhecida. A quantidade consumida foi avaliada a cada hora, no período de 4 horas.

6.1.7 Teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT)

No 95º dia de vida, outro subgrupo de animais foi conduzido para a realização do teste comportamental. Os animais foram habituados ao novo alimento (Froot Loops® da Kelloggs - rosquinhas de amido de milho, trigo e sacarose), recebendo três unidades por animal, durante 4 dias, dentro de sua caixa moradia. As habituações ocorreram no horário de 12h às 13h.

Após 16 horas de jejum, as ratas fêmeas foram colocadas individualmente em uma arena (54x43cm) contendo 1 pellet de Froot Loops (Kellogs ®) no centro. Mediu-se o tempo que cada animal levou para iniciar o consumo do pellet (tempo de latência) e foi estipulado um tempo máximo de 10 minutos de espera para início desse comportamento, e imediatamente cada fêmea foi recolocada em sua caixa moradia, com quantidade previamente conhecida de ração palatável e regular, por um período de 5 minutos. Após, mediu-se o remanescente de ração utilizando uma balança da marca Marte® com precisão de 0,01g. Após cada teste, a arena foi higienizada com álcool 70%. Classicamente, a inibição do consumo alimentar pela novidade é interpretada como uma medida de ansiedade (GROSS *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2010).

Figura 7 - Vista frontal da arena utilizada para o teste de Supressão Alimentar pela Novidade (NSFT).

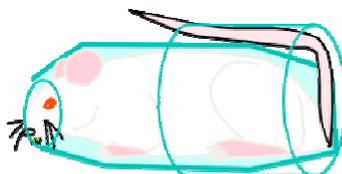


Fonte: Machado, 2012

6.1.8 Curva de corticosterona em resposta ao estresse por restrição de movimento

Após 5 semanas de exposição às dietas, ao redor dos 95 dias de vida, um subgrupo de animais intactos (ou seja, que não tinham realizado nenhum teste comportamental) representativo de cada grupo neonatal foi submetido a esse experimento. Os animais foram envolvidos em uma toalha e tiveram 3 mm da ponta de sua cauda cortada com um bisturi. Um pequeno volume de sangue (0,15 ml) foi coletado da cauda do animal, realizando massagens suaves da base até a ponta. Depois disso, os animais foram rapidamente imobilizados em um tubo plástico de diâmetro variável (ver figura 8), com uma das extremidades aberta para permitir a entrada de ar, fixado com fita adesiva, de forma a restringir a mobilidade dos grandes grupos musculares. Os animais ficaram imobilizados por 20 minutos e amostras adicionais de sangue foram obtidas ao final da imobilização e aos 20, 40 e 70 minutos subsequentes (TANNENBAUM *et al.*, 1997). As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos heparinizados, entre as 9h e 11h, centrifugadas a 4000 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos a 4°C e o plasma foi armazenado a -80°C até serem analisados os níveis de corticosterona, conforme descrito abaixo.

Figura 8– Contensor artificial para imobilização de roedores.



6.1.9 Avaliação do ciclo estral das fêmeas

Após o término do teste NSFT, esse subgrupo de animais teve o ciclo estral acompanhado, determinado através de esfregaço vaginal todas as manhãs das 9h-10h. Todas

as ratas foram decapitadas no segundo dia do diestro (diestro II), quando a variação hormonal é menor (TER HORST *et al.*, 2012; SEVERINO *et al.*, 2004).

6.1.10 Coleta e armazenamento de tecidos

No dia da confirmação do diestro II, as fêmeas foram decapitadas após jejum de aproximadamente 16 horas, em torno dos 95 dias de vida. O sangue do tronco foi coletado em tubos com EDTA e as amostras sanguíneas foram centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos a 4°C e o plasma separado e armazenado a -80°C.

As duas maiores porções de gordura abdominal (gonadal e retroperitoneal) foram dissecadas e pesadas por 2 pesquisadores treinados, usando uma balança da marca Marte® com precisão de 0,01g. Os resultados da quantidade de gordura abdominal foram calculados como percentual do peso corporal.

6.1.11 Análises bioquímicas

A corticosterona foi avaliada por ELISA, usando os kits comerciais Corticosterone EIA Kit Enzo Life Sciences Int'l Inc., Plymouth Meeting, PA, USA, seguindo as instruções dos fabricantes. As determinações de corticosterona foram realizadas no Laboratório de Neurobiologia do Estresse do Departamento de Bioquímica da UFRGS.

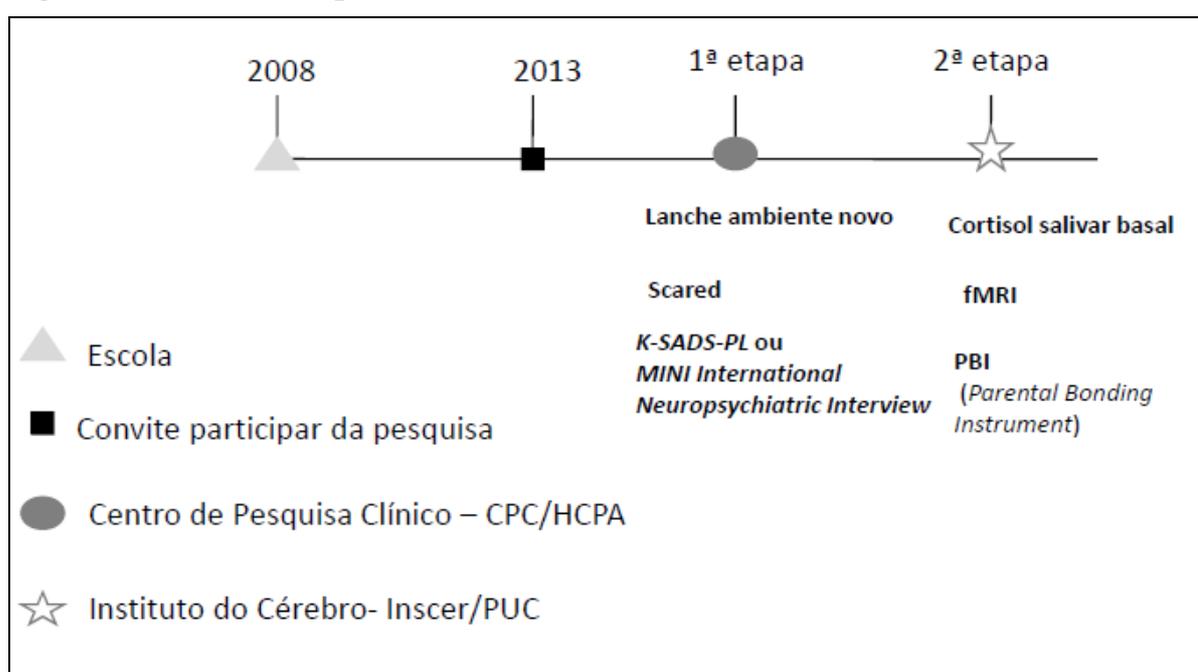
6.2 Estudo Clínico

6.2.1 Sujeitos

Os adolescentes e adultos jovens que participaram deste estudo são provenientes de uma amostra comunitária selecionada a partir de seis escolas pertencentes à área de

atendimento da Unidade Básica de Saúde Santa Cecília. Em 2008, as crianças e os adolescentes que estudavam nessas escolas foram convidados para participar do projeto PROTAIA (Avaliação multidimensional e tratamento da ansiedade em crianças e adolescentes) que incluiu avaliação psiquiátrica e nutricional Salum et al, 2011(64). De um total de 242 participantes que completaram a avaliação em 2008, seis foram excluídos por retardo mental e sete por parentesco com outro participante, totalizando 229 elegíveis para participar deste estudo. Planejou-se realizar uma reavaliação mais detalhada em aproximadamente 30% da amostra elegível, considerando que essa coleta configura a quarta etapa de um estudo de seguimento longo (conforme sugerido por BARBIERI *et al.*, 2006). A reavaliação, realizada em 2013/2014, incluiu: (1) diagnóstico psiquiátrico; (2) avaliação antropométrica e do comportamento alimentar; (3) coleta de sangue e saliva para extração do DNA e avaliação bioquímica; (4) avaliação com neuroimagem funcional. Setenta e cinco participantes compareceram à coleta de dados no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA (CPC - HCPA) e 43 realizaram a ressonância magnética funcional (fMRI) no Instituto do Cérebro da PUCRS (INSCER), (figura 9).

Figura 9 - Linha de tempo do estudo clínico.



6.2.2 Primeira fase do estudo – Centro de Pesquisa Clínica

6.2.2.1 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA, no turno da manhã, por pesquisadores previamente capacitados pelo grupo de pesquisa. Todas as medidas foram aferidas com os participantes em jejum. A medida de peso foi realizada em uma balança digital eletrônica, com capacidade de 180 kg e precisão de 100g marca Filizola®. A estatura foi aferida utilizando um estadiômetro fixo com precisão de 1 mm da marca Harpenden®.

6.2.2.2 Teste de escolha alimentar

Após a coleta de sangue e aferição das medidas antropométricas, realizadas em jejum, os participantes receberam um vale, com valor igual para todos, para a aquisição de um lanche de sua escolha na cafeteria do CPC – HCPA (Figura 10). Os participantes tinham a liberdade de escolher qualquer lanche, desde que ficasse dentro do valor fornecido, e as escolhas alimentares eram fotografadas (Figura 11). As notas que incluíam detalhadamente os produtos selecionados e os valores gastos foram guardadas e anexadas aos respectivos protocolos. Posteriormente, os valores gastos, as receitas dos lanches não industrializados e as escolhas alimentares foram digitados em uma planilha de dados do Excel® (Microsoft). A composição nutricional das receitas e dos lanches de cada participante foi calculada com o auxílio de uma tabela de medidas caseiras PINHEIRO *et al.*, 2005 e da tabela nutricional americana (USDA, 2013).

Figura 10 – Expositor dos lanches na Cantina do CPC – HCPA



Fonte: Dalle Molle, 2014

Figura 11– Exemplos de escolhas alimentares.



Fonte: Dalle Molle, 2014

6.2.2.3 Avaliação psiquiátrica

O diagnóstico psiquiátrico foi realizado através de dois instrumentos: (1) entrevista semi-estruturada *Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version* (K-SADS-PL) Kaufman *et al.*, 1997, realizada com os adolescentes e (2) versão brasileira do instrumento MINI (*International Neuropsychiatric Interview*) AMORIM, 2000, utilizada nos maiores de 18 anos. Esses instrumentos de pesquisa foram aplicados por estudantes de medicina e psicologia capacitados para tal atividade e revisados por um psiquiatra da infância e adolescência. Utilizou-se o *Screen for Children and Anxiety Related Emotional Disorders* (SCARED) que avalia sintomas de ansiedade na infância e adolescência (ISOLAN *et al.*, 2011). E a GAD-7 (*Generalized Anxiety Disorder Scale, 7-item*) que avalia sintomas de Ansiedade Generalizada em adultos (auto-aplicada) – equivalente adulto da subescala de ansiedade generalizada da SCARED (SPTIZER *et al.*, 2006).

6.2.2.4 Classificação socioeconômica

A classificação socioeconômica foi baseada nos critérios da ABEP (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa), que classifica a condição socioeconômica conforme pontuação obtida de acordo com a posse de determinados itens e o grau de instrução do chefe da família em: Classe A – 35 a 46; Classe B – 23 a 34; Classe C – 14 a 22; Classe D – 8 a 13 e Classe E – 0 a 7.

6.2.3 Segunda fase do estudo – Instituto do Cérebro/Inscer (PUC)

6.2.3.1 Neuroimagem funcional e coleta de cortisol salivar

Todos os participantes que compareceram à avaliação no CPC-HCPA foram convidados a participar do exame de neuroimagem funcional. Após contato telefônico, verificação dos critérios de exclusão (presença de metais no corpo, tatuagem recente e gestação) e aceite do responsável e/ou participante, o exame foi agendado no Instituto do Cérebro da PUCRS. Os participantes foram orientados a permanecer em jejum, de no mínimo quatro horas, antes de comparecer no local. Na chegada, foi realizada em sequência a coleta de saliva, em torno de 40 minutos antes do exame de imagem. Foi aplicada uma escala de fome/saciedade (anexo A) antes e depois do fornecimento de um lanche padronizado (Figura 12). Foi executado a fMRI com duração de 1h45min a 2h e, logo após o exame, foi coletada a saliva e novamente. A última coleta de saliva foi realizada 30 minutos após o exame. A fMRI (figuras 13 e 14) foi considerada um evento estressor pela imobilidade (MACHADO *et al.*, 2013) e cansaço causado por este exame. A saliva foi coletada pelo kit Salivit Labvitrus®, congelada e transportada para o Laboratório de Análises Clínicas do HCPA, para determinar o cortisol pelo método de quimioluminescência. Apenas 24 participantes tiveram disponíveis as análises do cortisol salivar nos três pontos necessários para avaliar a responsividade (pré, logo após e 30 minutos após o estresse), sendo que os outros participantes tiveram, no mínimo, uma das três medidas abaixo do limite de detecção do método de análise do cortisol.

Figura 12 - Barra de cereal e suco de caixinha.



Valor nutricional do lanche = 174 kcal, 39g de carboidratos - 90% das calorias totais; 0,9 g de proteínas - 2% das calorias totais; e 1,6g de lipídeos - 8% das calorias totais. Fonte: Fonseca, 2014

Figura 13 e Figura 14 - Aquisição de imagens de ressonância magnética cerebral, no Instituto do Cérebro- PUCRS.



Fonte: Rodrigues, 2015

6.2.3.2 Aplicação do questionário de cuidado materno (PBI)

Após a coleta da última saliva, os pacientes responderam ao questionário de cuidado parental (*Parental Bonding Instrument-PBI*, ver anexo B) desenvolvido por PARKER em 1979 e adaptado para o português por Hauck e colaboradores em 2006. Esse instrumento apresenta boa confiabilidade e validade com base em vários estudos. Ele é composto por 25

questões autoaplicáveis nas quais o indivíduo responde o quão parecido aquele comportamento é com o comportamento de seu pai ou sua mãe até os seus 16 anos (Hauck, 2006. As pontuações do PBI demonstram ser estáveis ao longo do tempo, independente do estado de humor atual, sendo eficaz em refletir a relação parental (WILHELM *et al.*, 2005). Grande parte dos estudos que avaliam cuidado materno em seres humanos utiliza o PBI, pois ele é um forte instrumento, caracterizado pela sua alta validade e confiabilidade, utilizado para mensurar retrospectivamente o cuidado parental (PARKER *et al.*, 1979; ENGERT *et al.*, 2010 (a)); ENGERT *et al.*, 2010(b); PRUESSNER *et al.*, 2004; MUHAMMAD *et al.*, 2014; NEUWALD *et al.*, 2014; CANETTI *et al.*, 1997; AVAGIANOU e ZAFIROPOULOU, 2008; KIM *et al.*, 2015).

Diferentes análises do PBI demonstram que a versão composta por 16 questões (é igual ao PBI de 25 questões, porém foram retiradas 9 questões) apresenta melhor ajuste dos dados (COX *et al.*, 2000; KENDLER, 1996). O instrumento é capaz de avaliar três dimensões: cuidado, proteção e autoritarismo. Cada questão pertence a uma dessas dimensões e apresenta uma pontuação de acordo com a resposta. Neste questionário, 7 questões contemplam a dimensão cuidado parental caloroso “*care*”, por exemplo, “*Falava comigo com um voz meiga e amigável*” ou negativo: “*parecia emocionalmente frio comigo*”. Posteriormente ao ler cada questão, o indivíduo tem as opções de marcar se a afirmativa é: “muito parecido”, “moderadamente parecido”, “moderadamente diferente” ou “muito diferente” do contato parental recebido (KENDLER, 1996; SEGANFREDO *et al.*, 2009). Neste presente estudo foi aplicado o PBI de 25 questões, porém, para análise dos dados, optou-se por usar a versão de 16 questões.

No presente estudo, foi utilizado somente o PBI relacionado ao cuidado recebido pela mãe até os 16 anos. O escore de cada indivíduo foi posteriormente calculado após o preenchimento deste instrumento. Atribuição das categorias de cuidado baseia-se em pontos

de corte. Seguindo o estudo de SEGANFREDO e colaboradores (2009), considerou-se o ponto de corte para o cuidado caloroso (positivo) ≥ 18 .

6.2.3.3 Paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros

Paradigmas em fMRI representam o conjunto de tarefas que o indivíduo deve realizar no momento do exame para identificar as áreas de atividade cerebral (DELLA JUSTINA, 2005; MAZZOLA, 2009). O paradigma utilizado neste trabalho foi adaptado do estudo desenhado para avaliar as respostas cerebrais dos indivíduos frente à visualização de imagens de alimentos altamente palatáveis, imagens de alimentos não palatáveis e de imagens de itens neutros (objetos não relacionados à alimentação). As figuras foram selecionadas de um banco de imagens da Faculdade de Psicologia da UFRGS (DELUCHI, 2014) e do *International Affective Picture System* (IAPS) (LANG *et al.*, 2008). Um estudo piloto realizado com adolescentes da mesma faixa etária desta pesquisa determinou quais alimentos seriam classificados como altamente palatáveis e não palatáveis. O paradigma foi criado e apresentado no *software* E-Prime versão 2.0 (*Psychological Software Tools Inc.*) e dividido em três sessões, cada uma com vinte e uma imagens randomizadas (sete alimentos altamente palatáveis, sete alimentos não palatáveis e sete itens neutros) e com duração sete minutos. Antes da realização do paradigma de palatáveis, os indivíduos eram treinados, visualizando as imagens da tarefa na tela de um computador.

As sessões do paradigma foram estruturadas da seguinte forma:

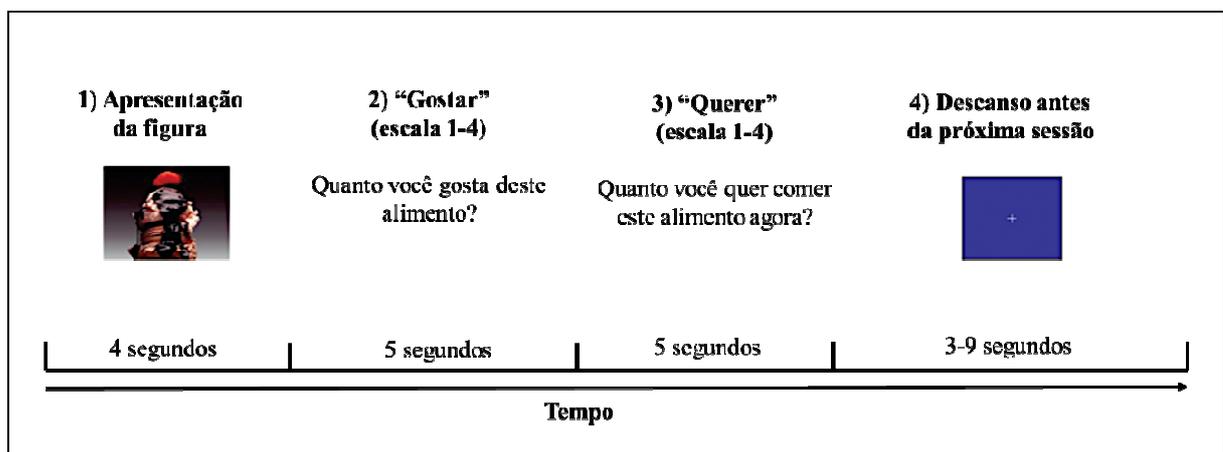
- 1) Apresentação da figura de um alimento altamente palatável ou um alimento não palatável ou um item neutro (duração 4 segundos).
- 2) Escala do “gostar”: Quanto você gosta deste alimento? (duração 5 segundos).
- 3) Escala do “querer”: Quanto você quer comer este alimento agora? (duração 5 segundos).

As escalas dos itens 2 e 3 eram formadas por respostas que variavam de 1 (nada) a 4 (muito).

4) Ponto de fixação (duração média de 6 segundos), configurando o descanso entre as sessões.

Para imagens de itens neutros, as perguntas eram reformuladas da seguinte maneira: “Quanto este objeto é importante para você?” e “Quanto você utiliza este objeto?”. A figura 15 ilustra o paradigma de alimentos palatáveis/não palatáveis.

Figura 15- Linha do tempo que ilustra o modelo de sessão realizada no paradigma fMRI - alimentos palatáveis/não palatáveis/itens neutros.



Fonte: Adaptada de Page *et al.* (2011)

6.2.3.4 Processamento dos dados de neuroimagem funcional

A aquisição das imagens foi realizada em equipamento de 3,0 Tesla (GE Healthcare modelo Signa HDxT), com uso de bobina de crânio de oito canais para recepção do sinal. Foram adquiridas, inicialmente, imagens estruturais de crânio total em T1, com *voxels* com resolução isotrópica espacial de 1mm³, sendo adquiridas 170 fatias contíguas, com matriz de imagem de 256 x 256 (frequência e fase). Imagens foram do tipo *Inversion Recovery* com TE 2.18ms e TR 6.1ms. A aquisição estrutural foi seguida pela aquisição de imagens funcionais. A ressonância funcional de repouso foi realizada através da aquisição de imagens ecoplanares

T2* (EPI) BOLD, com 26 fatias axiais intercaladas, com uma espessura de corte de 4,0mm e com *gap* de 0,4mm, FOV 240mm x 240mm e tamanho da matriz de 80 x 64, TE 30ms, TR 2000ms, ângulo flip de 90°, com 210 volumes, com um tempo de aquisição de 7 minutos. Durante a ressonância funcional de repouso, os participantes permaneceram de olhos abertos, olhando para um ponto fixo no meio da tela e foram orientados a relaxar e evitar pensar em algo específico.

O pré-processamento de imagens foi realizado utilizando o programa StatisticalParametricMapping (SPM, versão 8, *UniversityCollege London, UK*; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>). Inicialmente, as imagens foram convertidas de DICOM (formato do *scanner*) para o formato Nifti-1. Em seguida, realizou-se a interpolação temporal dos dados (*slice-timing correction*) (HENSON *et al.*, 1999 ; SLADKY *et al.*, 2011) para compensar as diferenças temporais entre as fatias (*slices*). Logo após, as imagens foram processadas para corrigir diferenças relacionadas a pequenos movimentos da cabeça durante a aquisição. Cada imagem foi transformada a partir de seis parâmetros de transformação de corpo rígido onde foi aplicado um modelo autorregressivo de movimento, para corrigir mudanças na posição da cabeça (FRISTON *et al.*, 1996). Quatro participantes foram excluídos por movimentação excessiva durante o exame. As imagens corrigidas foram co-registradas com imagens anatômicas individuais de alta resolução (ASHBURNER e FRISTON, 1997); estas imagens de alta resolução foram segmentadas em substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano (CSF) (ASHBURNER e FRISTON, 2005). Após a suavização das imagens, a substância cinzenta foi transformada em espaço padrão, utilizando-se uma transformação de doze parâmetros e modificação quadrática tridimensional de seis parâmetros (WRIGHT *et al.*, 1995; ASHBURNER e FRISTON, 2000). Os parâmetros para normalização do espaço padrão foram aplicados nas imagens funcionais e anatômicas de cada indivíduo. Após a normalização, os dados funcionais foram suavizados utilizando filtro gaussiano de 8x8x8mm *fullwidthathalfmaximum* (FWHM) para análises estatísticas (MIKL *et*

al., 2008). O processamento das imagens também foi realizado no programa Statistical Parametric Mapping (SPM). Neste programa, a análise de dados de vários sujeitos prossegue em duas etapas, utilizando modelos de dois níveis (ASHBURNER *et al.*, 2014). As análises estatísticas de primeiro nível (*firstlevel*), são usadas para implementar uma análise intrassujeito, havendo muitos modelos de primeiro nível, pois há vários sujeitos (POLDRACK *et al.*, 2011; ASHBURNER *et al.*, 2014).

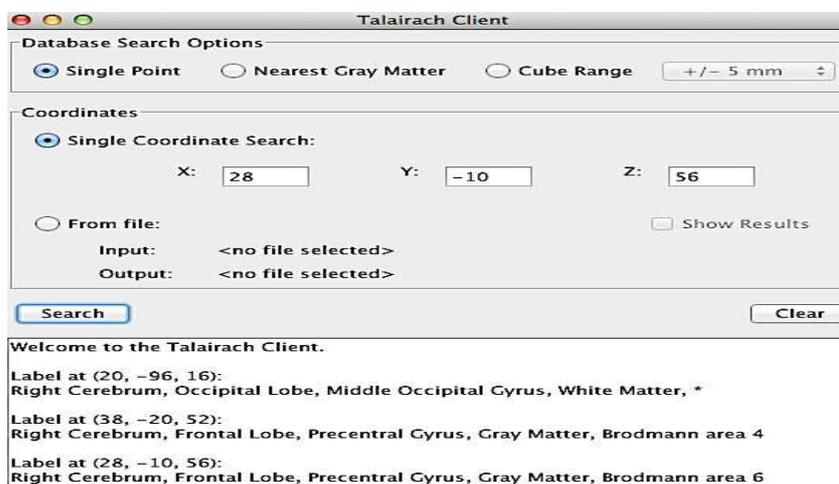
Nessa etapa, são consideradas as informações sobre as diferentes condições/contrastos, o tempo de início (*onsets*) e a duração para todos os *scans* combinados do sujeito (SPM 8 Processing Manual). Os modelos de primeiro nível podem ser utilizados para produzir um resumo adequado dos dados que serão utilizados para as análises de segundo nível (*secondlevel*) (ASHBURNER *et al.*, 2014). O segundo nível leva em consideração as estimativas dos parâmetros específicos do sujeito e as estimativas de variância do primeiro nível (POLDRACK *et al.*, 2011). Trata-se de uma análise de grupo (ASHBURNER *et al.*, 2014). Neste trabalho, o segundo nível foi utilizado para verificar as diferenças de ativações cerebrais em dois grupos: um grupo dos indivíduos caracterizados como alto cuidado materno através do PBI (n= 21) e o outro grupo dos indivíduos caracterizados como baixo cuidado (n=11), conforme a variação no escore de ansiedade medido pela SCARED (contínuo). Foram considerados três tipos de contrastes, definidos de acordo com o paradigma fMRI realizado e também utilizado no primeiro nível, conforme descrição:

- 1) alimentos palatáveis > itens neutros;
- 2) alimentos palatáveis > alimentos não palatáveis;
- 3) alimentos não palatáveis > itens neutros.

Para este trabalho, utilizamos apenas o contraste 1 (alimentos palatáveis vs. itens neutros). Utilizou-se o teste *t* para duas amostras independentes como análise estatística, corrigindo para comparações múltiplas (FWE, *family-wise error*, com valor de $p < 0,05$).

Para localizar as regiões cerebrais identificadas, inseriram-se as coordenadas X, Y, Z encontradas pela análise de *secondlevel* (SPM) na interface do *Talairach Client* (<http://www.talairach.org/>), conforme ilustrado na Figura 16. As ativações relacionadas ao córtex visual e substância branca distantes 2mm ou mais do córtex são descritas, mas não serão discutidas.

Figura 16 - Identificação das áreas cerebrais ativadas de acordo com as coordenadas da ativação fornecidas pela análise de *secondlevel* (SPM) na interface do *Talairach Client*.



6.4 Aspectos Éticos

6.4.1 Estudo Experimental

Todos os procedimentos realizados com animais foram aprovados em seus aspectos éticos e metodológicos pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (GPPG/HCPA) (número do protocolo 130424). Os procedimentos foram realizados de acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* e de acordo com as considerações estabelecidas pela Sociedade Brasileira da Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA) e pela Lei Arouca (Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008).

6.4.2 Estudo Clínico

A pesquisa clínica foi cadastrada na Plataforma Brasil e aprovada, em seus aspectos éticos e metodológicos, pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (GPPG/HCPA) (número CAAE 5278112500005327, número do protocolo no GPPG 12-0254), estando em conformidade com as regulamentações vigentes no âmbito da pesquisa envolvendo seres humanos, em especial a Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, e suas resoluções complementares, além das normas e dos regulamentos da própria instituição.

Tanto os participantes maiores de 18 anos quanto os menores de 18 anos e seus respectivos pais ou responsáveis foram informados e esclarecidos acerca dos objetivos da pesquisa e consentiram participar da mesma, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. Foi garantido o sigilo com relação à identidade, à privacidade e à confidencialidade dos dados obtidos.

6.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

6.5.1 Estudo Experimental

Todos os dados coletados foram digitados e analisados no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 18.0 (SPSS Inc., IBM Company, Chicago, EUA). Os dados foram analisados por Teste t de *Student*, usando o grupo neonatal como fator (NSFT), ou ANOVA de medidas repetidas (ganho de peso e teste farmacológico), usando grupo neonatal como fator e ajustado pelo tamanho da ninhada. ANOVA de uma via foi usada para o cuidado materno, utilizando como fator o grupo neonatal e ajustado para o tamanho da ninhada. Utilizando como fator o grupo neonatal foi utilizada ANOVA de uma via para

avaliar gordura abdominal. ANOVA de uma via foi realizada utilizando como co-variável o tamanho da ninhada e como fator foi utilizada a variável criada grupo neonatal e fármaco para avaliar o consumo alimentar em 1 hora no teste farmacológico diazepam.

A análise por Equações de Estimação Generalizadas (GEE) foi usada para a resposta hormonal ao estresse agudo (corticosterona), seguido por *pos hoc* de Bonferroni. Em todas as análises, foi considerado o nível de significância de 5%.

6.5.1 Estudo Clínico

Todos os dados coletados foram digitados e analisados no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 18.0 (SPSS Inc., IBM Company, Chicago, EUA). As variáveis quantitativas foram descritas como média \pm erro padrão da média (EP) e as variáveis categóricas, utilizando as frequências absolutas (n) e relativas (%). As comparações entre dois grupos foram realizadas através do Teste T de *Student* para as variáveis contínuas e através do Teste Qui-Quadrado para as variáveis categóricas.

Baseado na proposta de Holmbeck (2002), foi realizado modelo de regressão linear simples (General Linear Model-GLM) para avaliar as variáveis cuidado materno (categórica), diagnóstico de ansiedade (categórica) o cortisol salivar basal (contínua); o consumo calórico num ambiente novo (contínua). Em todas as análises, foi considerado o nível de significância de 5%.

7 RESULTADOS

7.1 Estudo Experimental

7.1.1 Cuidado Materno

As genitoras do grupo intervenção apresentaram uma menor média de LG comparadas às genitoras do grupo controle [F (1, 11)=7,421, p=0,020], ficaram maior tempo em contato com a prole [F (1, 11)=8,902, p=0,012], apresentaram comportamento de deixar os filhotes agrupados [F (1, 11)=11,150, p=0,007], porém passaram menos tempo amamentando [F (1, 11)=11,490, p=0,006], com maior tempo na posição 1 e 2 [F (1, 11)=4,840, p=0,050], consideradas posturas menos eficazes, sem diferença estatisticamente significativa entre as posições 3 e 4 [F (1, 11)=1,480, p=0,249] e a posição passiva [F (1, 11)=4,093, p=0,068], (tabela 1).

Tabela 1 - Comparação entre as médias das variáveis relacionadas com o cuidado materno.

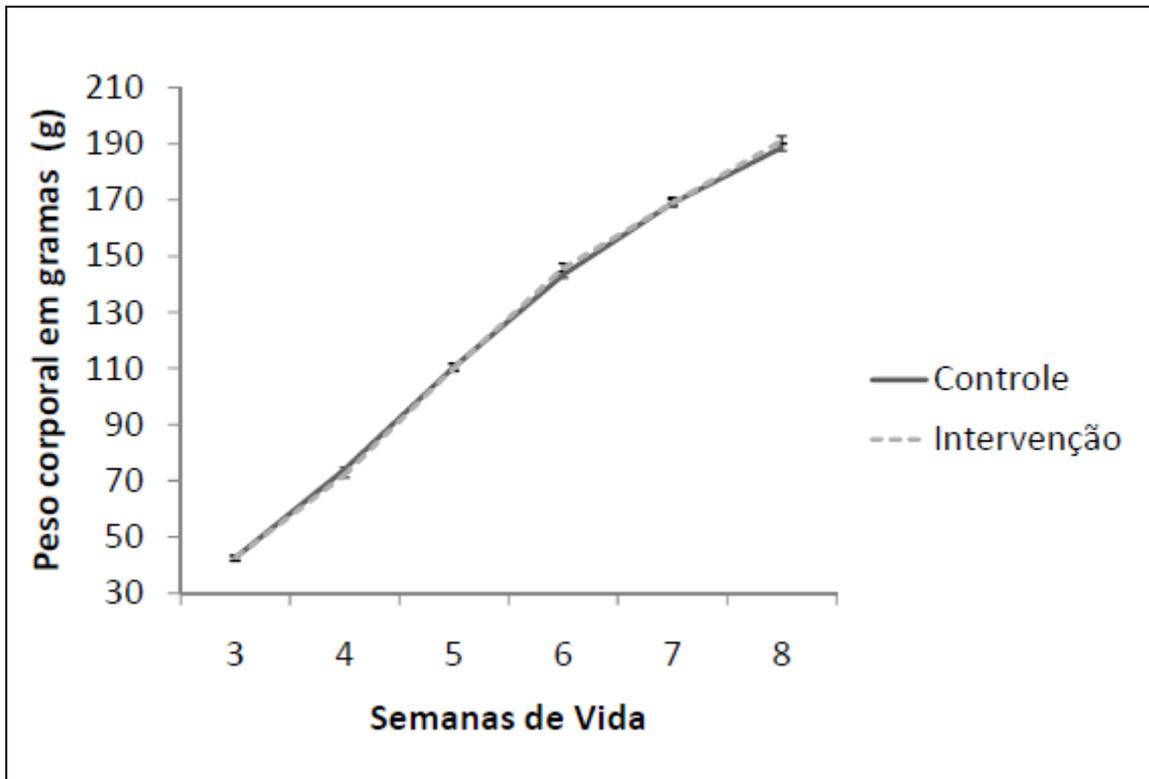
Variáveis	Controle (n=7)	Intervenção (n=7)	Valor p
LG	20.113±1.31	15.264±4.26	0.020*
Amamentação Total	49.23±15.24	35.50±8.84	0.006*
Posição de amamentação 1	8.78±2.02	13.52±4.00	0.022*
Posição de amamentação 1 e 2	25.60±4.27	32.99±7.28	0.050*
Posição de amamentação 3 e 4	10.92±1.86	9.29±3.42	0.249
Posição de amamentação passiva	4.33±2.27	2.48±1.58	0.068
Contato Puro	5.19±0.87	7.20±1.74	0.012*
Filhotes separados	17.16±12.28	4.26±5.83	0.007*

ANOVA de uma via; usando como co-variável o tamanho da ninhada; valores expressos em média ± DP; *p<0,05

7.1.2 Peso ao longo das primeiras 6 semanas após o desmame

A ANOVA de medidas repetidas do peso corporal, considerando 6 semanas após o desmame e utilizando o tamanho da ninhada como co-variável, demonstrou que houve efeito isolado do tempo [F (5, 340)=281,206, $p<0,0001$], no qual os animais ganharam peso ao longo das semanas. Não houve interação entre o tempo e o tamanho da ninhada [F(5, 340)=1,852, $p=0,102$]. Também não foi vista interação entre tempo e grupo neonatal [F(5, 340)=1,636, $p=0,150$]. Não se observou interação entre outras variáveis (Figura 17).

Figura 17- Peso corporal, ao longo de 6 semanas de vida, após o desmame.

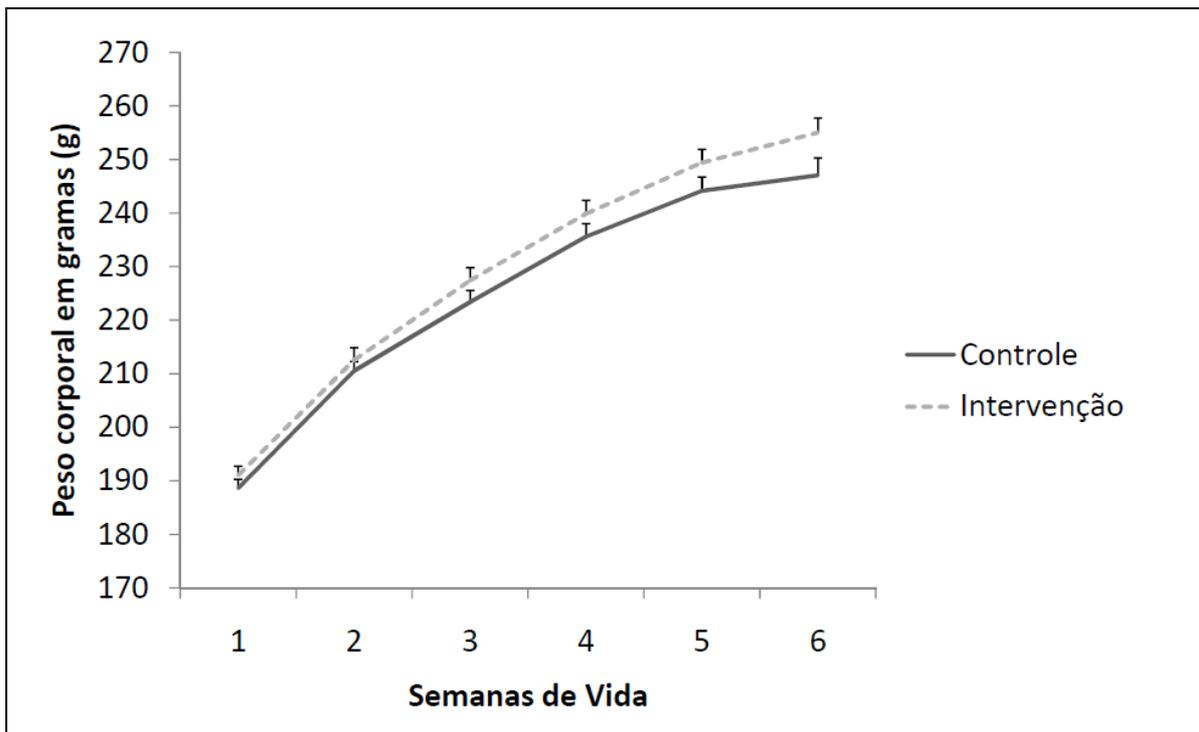


Fêmeas controle (n=35), fêmeas intervenção (n=36). Dados expressos em média \pm EP. ANOVA de medidas repetidas mostrou somente efeito isolado do tempo ($p<0,0001$) sem interação entre tempo e grupo neonatal ($p=0,150$).

7.1.3 Peso ao longo das primeiras 5 semanas com as dietas

A ANOVA de medidas repetidas de acompanhamento do peso, considerando o peso basal antes do início das dietas e as 5 semanas consecutivas, utilizando como co-variável o tamanho da ninhada, demonstrou interação entre tempo e grupo neonatal [$F(5, 340)=2,323$, $p=0,043$], no qual as fêmeas do grupo intervenção ganharam mais peso ao longo do tempo comparadas com às fêmeas do grupo controle. Houve também interação entre tempo e tamanho da ninhada [$F(5, 340)=2,952$, $p=0,013$] e efeito isolado do tempo [$F(5, 340)=40,537$, $p<0,0001$] (figura 18).

Figura 18 - Peso corporal, ao longo de 5 semanas (semana 2 a 6) com as dietas utilizando o peso basal da semana anterior (semana 1) sem as dietas.

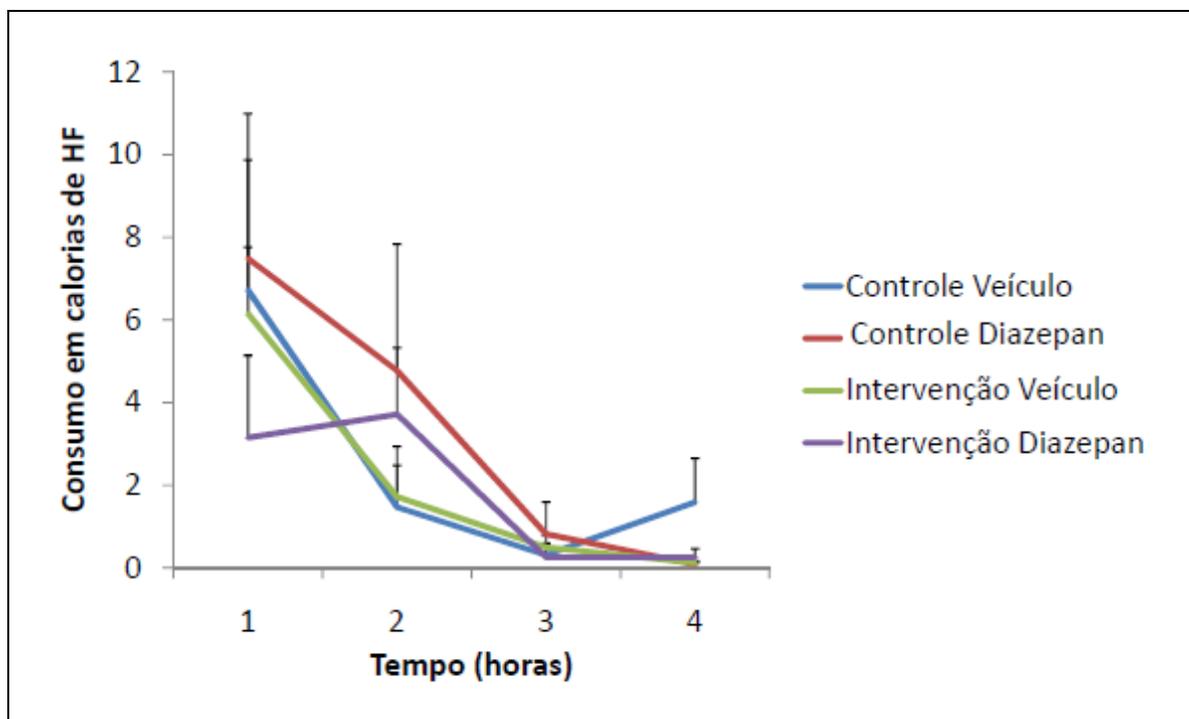


Fêmeas controle (n=35), fêmeas intervenção (n=36). Dados expressos em média \pm EP. ANOVA de medidas repetidas mostrou interação entre tempo e grupo neonatal ($p=0,043$) e tempo e tamanho da ninhada ($p=0,013$) e um efeito isolado do tempo ($p<0,0001$).

7.1.4 Teste farmacológico com diazepam

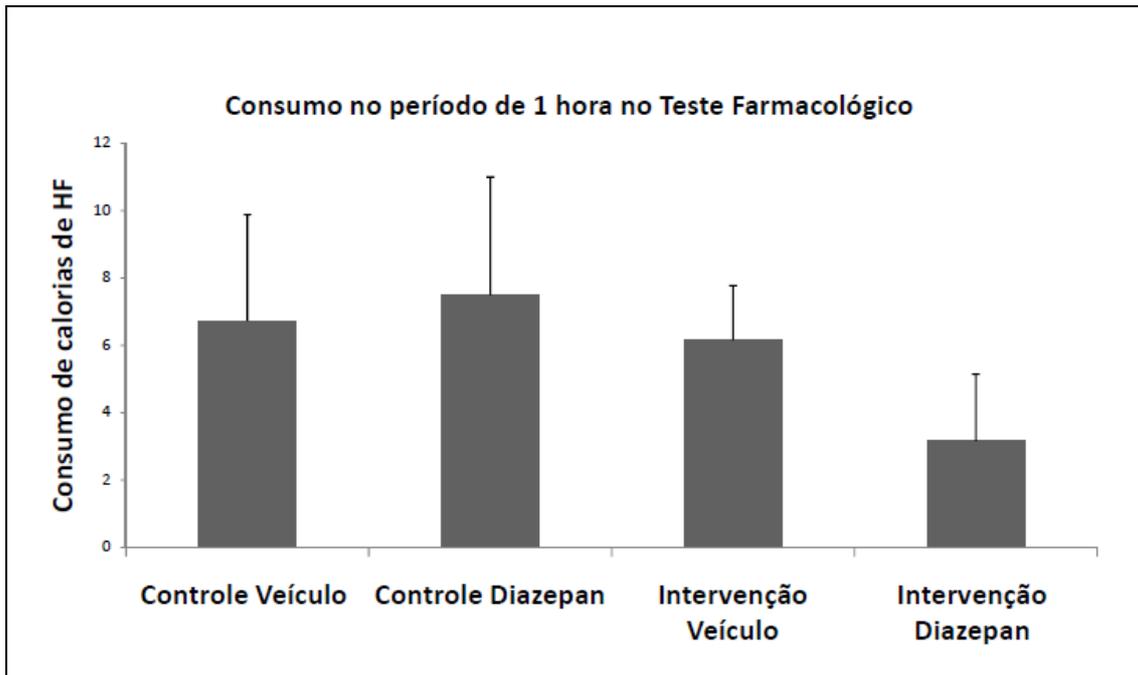
ANOVA de medidas repetidas, utilizando como co-variável o tamanho da ninhada, e como co-fatores e grupo neonatal e grupo fármaco, considerando o consumo ao longo de quatro horas após a exposição ao fármaco ou veículo, não demonstrou efeito isolado do tempo [F (3, 51)=1,646, p=0,190], nem interação entre tempo e tamanho da ninhada [F (3, 51)=2,563, p=0,065] sem outros efeitos ou interações (figura 19). ANOVA de uma via foi realizada, utilizando como co-variável o tamanho da ninhada, e como fatores as variáveis grupo neonatal e fármaco, porém não demonstrou diferença no consumo calórico de dieta palatável entre os grupos na primeira hora após a exposição ao fármaco ou veículo [F (3, 17)=0,396, p=0,758] (figura 20). Com relação ao consumo de ração padrão, somente 2 animais consumiram a ração padrão ao longo do teste.

Figura 19 – Consumo de dieta palatável ao longo de quatro horas após o uso de diazepam ou veículo.



ANOVA de medidas repetidas, utilizando como co-variável o tamanho da ninhada, não demonstrou efeito isolado do tempo (p=0,190), nem interação entre tempo e o tamanho da ninhada (p=0,065) sem outros efeitos ou interações sobre o consumo. Controle veículo (n=4), controle diazepam (n=6), intervenção veículo (n=6), intervenção diazepam (n=6). HF= dieta palatável rica em gordura e açúcar.

Figura 20- Consumo de dieta palatável em uma hora após o uso de diazepam ou veículo.

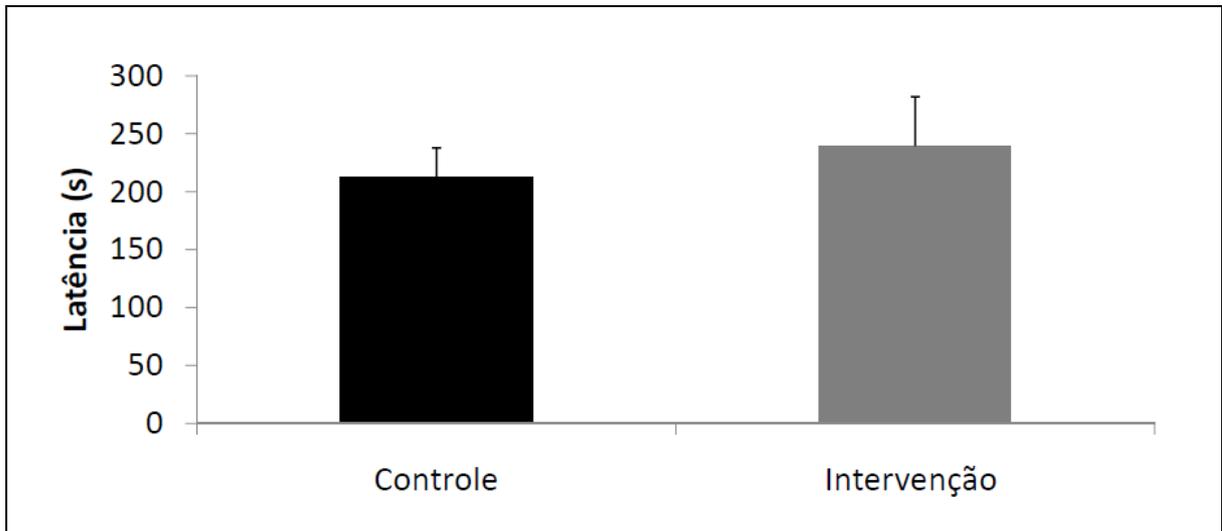


ANOVA de uma via, utilizando como co-variável o tamanho da ninhada, e como fator a variável grupo neonatal e fármaco, não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos $p=0,758$ no consumo em 1 hora. HF= dieta palatável rica em gordura e açúcar.

7.1.5 Teste de supressão alimentar pela novidade (NSFT)

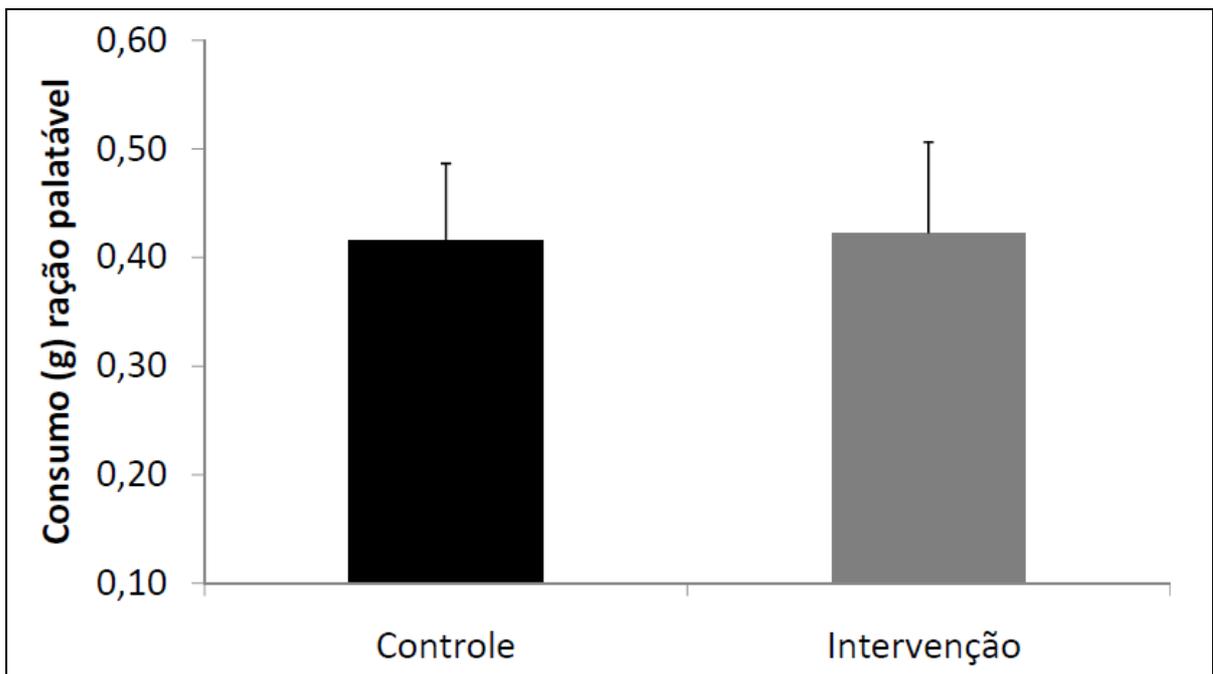
O Teste t de *Student* não demonstrou diferença no tempo de latência entre os grupos para o consumo de froot loops® (Figura 21), nem no consumo das rações palatável e regular quando recolocado na caixa-moradia, imediatamente após a exposição à novidade (figuras 22 e 23).

Figura 21 - Latência para o consumo de Froot Loops® no teste de supressão alimentar pela novidade.



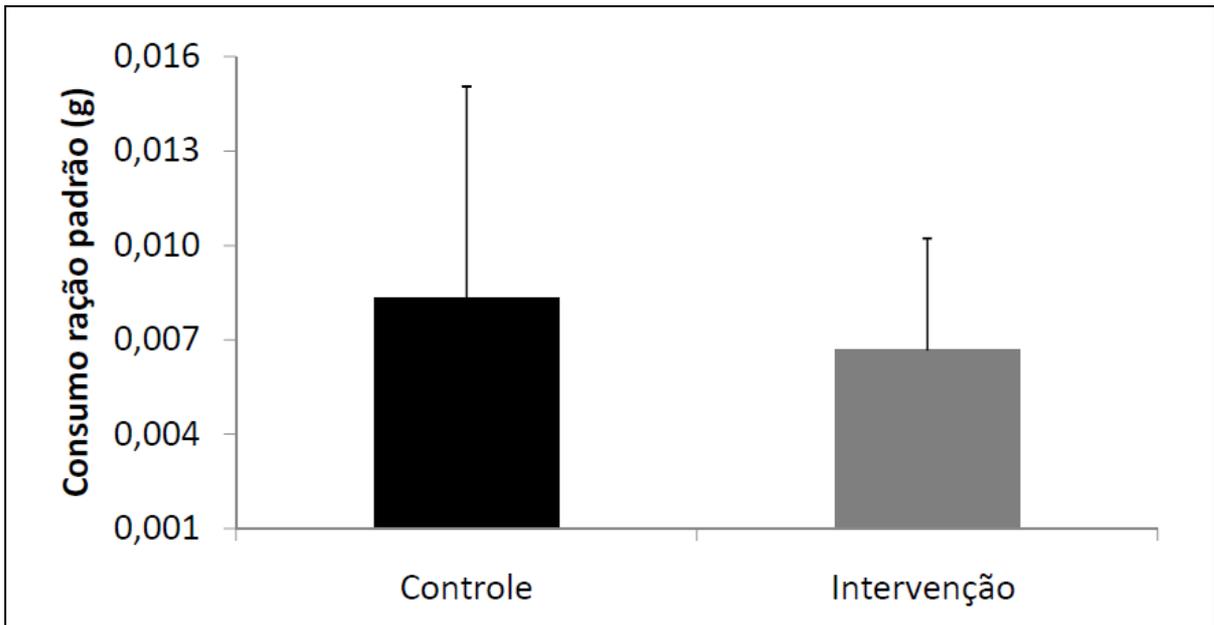
Fêmeas controle (n=12) intervenção (n=12). Dados expressos em média \pm EP. Teste t de Student não demonstrou diferença no tempo médio de latência entre os grupos ($p=0,592$). s = segundos

Figura 22 - Consumo de ração palatável no teste de supressão alimentar pela novidade.



Fêmeas controle (n=12) intervenção (n=12). Dados expressos em média \pm EP. Teste t de Student não demonstrou diferença no consumo de ração palatável entre os grupos ($p=0,952$).

Figura 23 - Consumo de ração padrão no teste de supressão alimentar pela novidade.

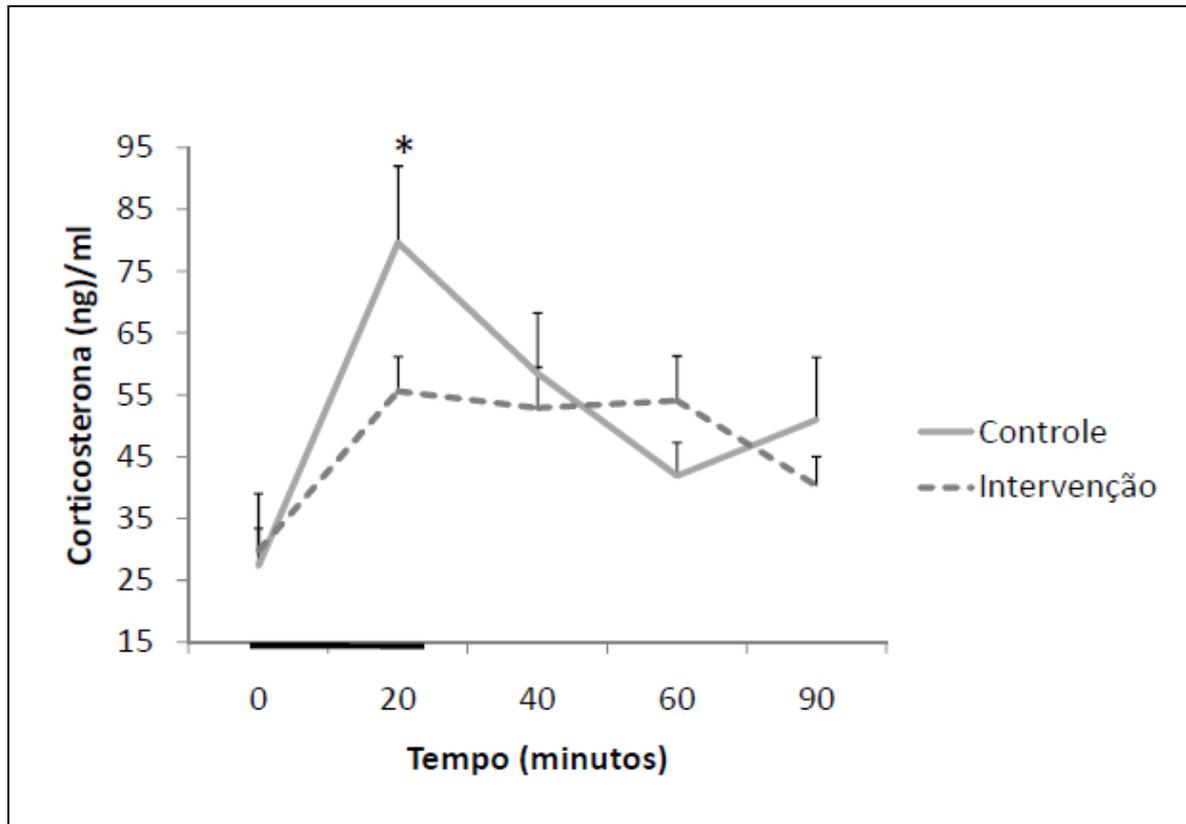


Fêmeas controle (n=12) intervenção (n=12). Dados expressos em média \pm EP. Teste t de *Student* não demonstrou diferença no consumo de ração padrão entre os grupos (p=0,829).

7.1.6 Resposta neuroendócrina ao estresse por contenção

Houve interação entre o grupo neonatal e o tempo nos níveis periféricos de corticosterona em resposta ao estresse [GEE, 9, 278: 4, p=0,050]. Houve efeito do tempo [GEE, 49, 235: 4, p<0,0001], não houve efeito isolado do grupo neonatal [GEE, 0, 435: 1, p=0,509]. Teste Post Hoc de Bonferroni demonstrou que houve diferença no tempo de 20 minutos, momento em que os grupos saem da imobilização [GEE, 5, 131: 1, p=0,024] (figura 24).

Figura 24 - Curva de corticosterona em resposta ao estresse.



Fêmeas controle (n=9-11) e intervenção (n=9-10). A barra escura no eixo X representa o tempo de exposição ao estresse por contenção de movimentos. Dados expressos em média \pm EP. GEE; Interação entre grupo e tempo $p=0,05$. Efeito do tempo $p<0,0001$ e não houve efeito isolado do grupo neonatal $p=0,509$. No tempo de 20 minutos, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos $*p=0,024$.

7.1.7 Gordura abdominal

A análise da gordura abdominal como percentual do peso corporal, através da ANOVA de uma via, não demonstrou diferença entre os grupos no acúmulo de gordura retroperitoneal [$F(1, 21)=0,001$, $p=0,976$] nem na gordura gonadal [$F(1, 21)=0,130$, $p=0,722$] e, conseqüentemente, no total de gordura abdominal [$F(1, 21)=0,126$, $p=0,727$]. Não houve outros efeitos ou interações no percentual de gordura abdominal, conforme apresentado na tabela 2.

Tabela 2 - Percentual de gordura abdominal, conforme grupo neonatal.

Fêmeas		
% gordura	Controle (n=12)	Intervenção (n=12)
RetroP	1,22±0,15	1,36±0,16
Gonadal	1,75±0,15	1,92±0,13
Abd. Total	2,97±0,30	3,28±0,29

ANOVA de uma via; valores expressos em média \pm EP; não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Fêmeas controle n=12 e fêmeas intervenção n=12.

RetroP: retroperitoneal; Abd. Total: abdominal total

7.2 Estudo Clínico

Setenta e cinco sujeitos participaram das avaliações realizadas em 2013 no Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CPC - HCPA). Desses, quarenta e três participaram da ressonância magnética funcional (fMRI) no Instituto do Cérebro (INSCER) da PUC/RS. Trinta e dois desses participantes tinham a medida de cortisol salivar basal disponível, que foi coletada antes de os participantes entrarem na máquina de ressonância magnética funcional. Também foram coletadas amostras de saliva imediatamente trinta minutos após os participantes terem saído da máquina de ressonância. Algumas características dos indivíduos que participaram da avaliação em 2013 e dos que não participaram da avaliação, em 2013, estão comparadas na tabela 3. Não foram encontradas diferenças significativas, sugerindo que os indivíduos que participaram, em 2013, têm características semelhantes às daqueles que não participaram, sendo representativos os da amostra de 2008.

Tabela 3 - Características dos indivíduos que participaram e não participaram da avaliação em 2013.

	Não participaram		Participaram		Valor <i>p</i>
	(n=167)		(n=75)		
Sexo masculino ^a	48 (28,7%)	n=167	29 (38,7%)	n= 75	0,137
Cor da pele branca ^a	111 (69,4%)	n= 160	49 (66,2%)	n= 74	0,652
Escolaridade materna (≤ 8 anos) ^a	35 (39,8%)	n= 88	14 (30,4%)	n= 46	0,346
Escore ABEP ^b	15,87±0,37	n= 153	16,91±0,66	n= 65	0,146
Peso ao nascer ^b	3140,27±50,74	n= 134	3120,71±68,91	n= 70	0,821
IMC ^b	21,11±0,35	n= 156	21,03±0,45	n= 75	0,884

^aQui-quadrado. Dados expressos em frequências absolutas (n) e relativas (%).

^bTeste T de *Student*. Dados expressos em média±EP.

Fonte Dalle Molle, 2014

A tabela 4 mostra as características dos indivíduos que participaram da coleta em 2013, conforme o cuidado materno. A amostra não difere quanto ao sexo, à idade, à cor da pele, à escolaridade materna, à prevalência de ansiedade, ao nível socioeconômico e ao IMC. Conforme esperado, o grupo de baixo cuidado materno apresenta maior escore de ansiedade em relação ao de alto cuidado materno ($p < 0,038$).

Tabela 4 - Características dos indivíduos que participaram da coleta em 2013.

Características da amostra	Alto cuidado materno (n=21)	Baixo cuidado materno (n=11)	Valor p
Idade (anos) ^b	17.03 ± 0.50	18.42 ± 0.66	0.106
Sexo masculino ^a	10 (47.6%)	3 (27.3%)	0.405
Cor da pele branca ^a	13 (65%)	7 (63.6%)	1.000
Escolaridade materna (< 8 anos) ^a	6 (42.9%)	2 (33.8%)	1.000
Escore ABEP ^b	16.36 ± 1.19	19.20 ± 1.8	0.219
Peso ao nascer ^b	1.06 ± 0.03	0.98 ± 0.05	0.161
Escore Z do IMC ^b	0.15 ± 0.23	0.53 ± 0.39	0.374
Escore de ansiedade (SCARED- C) ^b	18.09 ± 2.69	27.82 ± 3.43	0.038*

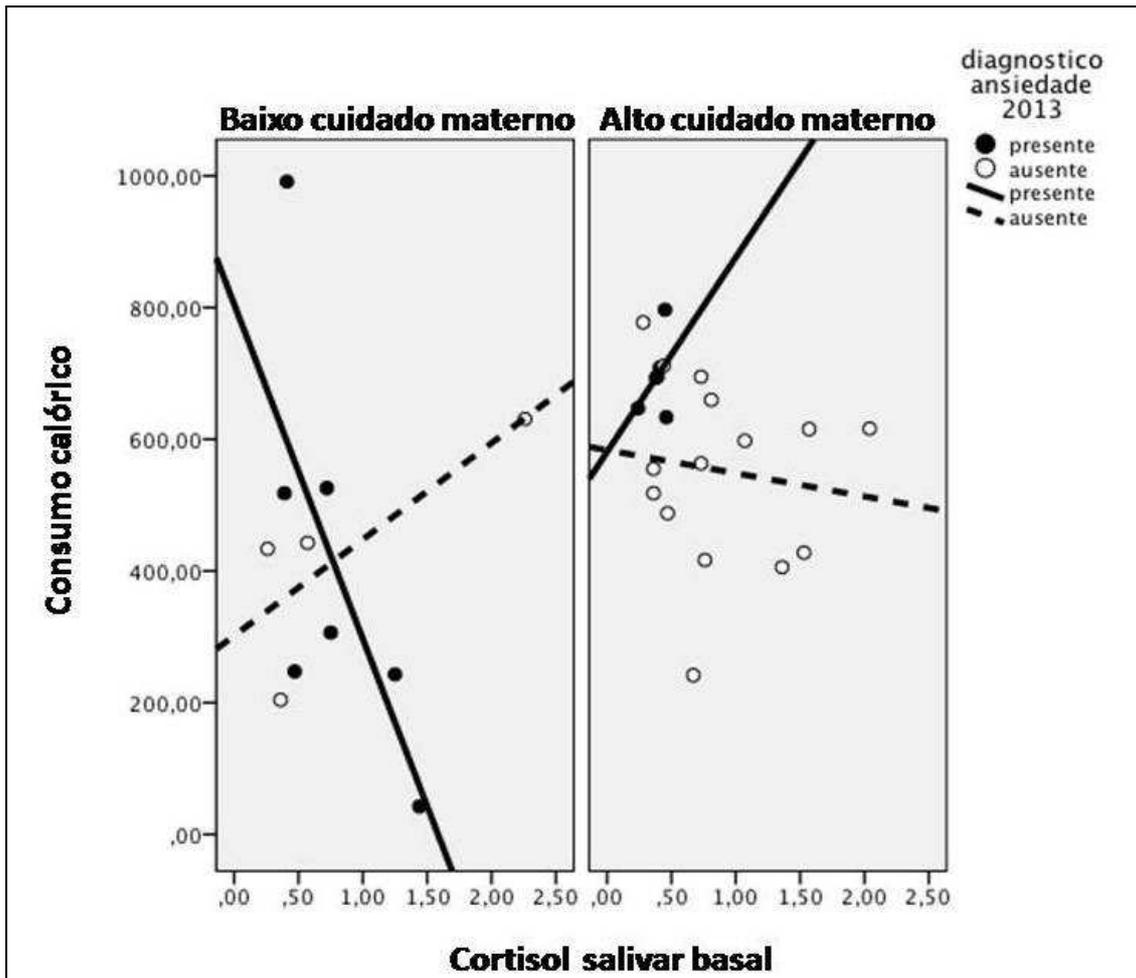
^a Qui-quadrado. Dados expressos em frequências absolutas (n) e relativas (%). ^b Teste T de Student. Dados expressos em média ±EP. *p<0,05. Classificação socioeconômica baseada no ABEP (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa). Razão de crescimento fetal = peso observado de nascimento dividido pela média de peso para idade gestacional de acordo com uma curva de referência sexo-específica. SCARED- C: *Screen for Children and Adolescent Emotional Related Disorders-Child version*.

7.2.1 Qualidade do cuidado materno recebido, interação com cortisol, ansiedade e consumo calórico num ambiente novo

O modelo de regressão linear (GLM) foi feito para avaliar a possível interação entre cuidado materno, diagnóstico de ansiedade e níveis basais de cortisol afetando o consumo calórico em um ambiente novo. Existe uma interação significativamente entre cortisol salivar, ansiedade e a percepção de cuidado materno recebido [Wald=15.635; df=3; e p=0.001], com efeito principal no diagnóstico de ansiedade [Wald=8.022; df=1; e p=0.005] e cortisol salivar [Wald=4.141; df=1; e p=0.042], figura 25. Nessa interação, seguindo o modelo proposto por Holmbeck (2002), é visto que nos jovens que relatam alto cuidado materno não existe uma relação entre os níveis de cortisol e o consumo de energia no ambiente novo, independente da presença [p = 0,264] ou da ausência [p =0,590] dos sintomas de ansiedade. Existe uma dupla resposta naqueles que relataram baixo cuidado materno: nos adolescentes ansiosos, o cortisol foi negativamente correlacionado com a ingestão de energia em um novo ambiente [B = -

385,65; $p = 0,001$] e naqueles sem ansiedade, há uma correlação positiva entre o cortisol e a ingestão de energia [$B = 215,85$; $p = 0,014$].

Figura 25 - Relação entre qualidade do cuidado materno, cortisol, ansiedade e consumo calórico num ambiente novo.

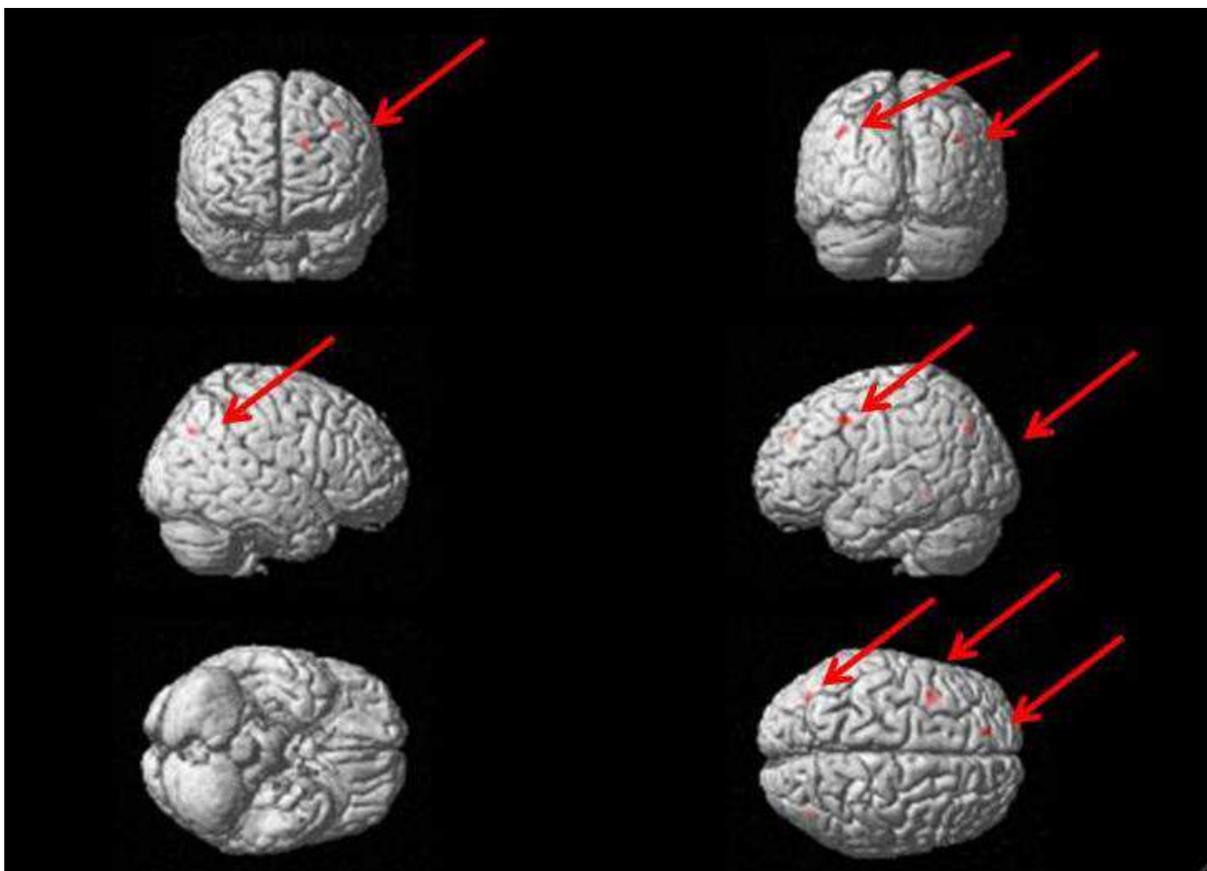


7.2.2 Neuroimagem funcional

Os resultados de neuroimagem demonstraram que, quando expostos a alimento palatável versus itens neutros, os jovens que reportaram alto cuidado materno apresentam diminuição da ativação do giro frontal superior ($X=-16$, $Y=46$, $Z=34$; FWE valor do p corrigido $p = 0.010$) e no giro frontal médio ($X=-28$, $Y=20$, $Z=46$, FWE valor do p corrigido

corrected $p = 0.040$) quando os escores de ansiedade são usados como fator preditivo positivo. Por outro lado, os adolescentes com baixos escores de cuidado materno ativaram somente a área visual (Figura, 26, tabela 5). Além disso, independente dos escores de ansiedade, os adolescentes que reportaram alto cuidado materno tiveram diminuição da ativação do precúneo $X=40, Y=-72, Z=36$, FWE valor do p corrigido <0.05) (Figura 26).

Figura 26 – A figura demonstra menor ativação das áreas cerebrais: giro frontal superior e médio (conforme aumenta a ansiedade) e precúneo (independente da ansiedade) nos indivíduos que percebem ter recebido alto cuidado materno.



Teste na fMRI durante a visualização de alimentos palatáveis>itens, utilizando regressão múltipla (FWE corrigido para comparações múltiplas, $p<0,05$). As setas sinalizam menor ativação no precúneo, giro frontal superior e médio. A primeira figura à direita indica também a ativação do córtex visual.

Tabela 5 – Ativação cerebral encontrada no contraste alimentos palatáveis>itens neutros, utilizando regressão múltipla (FWE corrigido para comparações múltiplas, $p<0,05$).

Contraste de matrizes	Preditores	Desfecho	Tailarach (mm)			Áreas	P (FWE corrected)	
			X	Y	Z			
Alimentos palatáveis vs. itens neutros	Alto cuidado materno ↓Ansiedade	Maior ativação	18	-96	14	Lobo occipital direito, giro occipital médio (subst branca r1)	0,016	
	Alto cuidado materno ↓Ansiedade	Menor ativação	-14	46	32	Lobo frontal esquerdo, giro frontal superior (subst. branca r2)	0,021	
			40	-72	36	Lobo parietal direito, precúneo (subst. branca r2)	0,035	
			-52	-44	-6	Lobo temporal esquerdo, área de Brodmann 37 (subst. branca r3)	0,047	
			-42	-72	38	Lobo parietal esquerdo, precúneo, área de Brodmann 19	0,010	
				-38	14	44	Lobo frontal esquerdo, giro frontal médio (subst. branca r4)	0,030
	Alto cuidado materno ↑Ansiedade	Maior ativação	18	-96	14	Lobo occipital direito, giro occipital médio (subst. branca)	0,018	
	Alto cuidado materno ↑Ansiedade	Menor ativação	-42	-72	38	Lobo parietal esquerdo, precúneo, área de Brodmann 19	0,005	
			-16	46	34	Lobo frontal esquerdo, giro frontal superior (subst. branca r1)	0,010	
			-38	14	44	Lobo frontal esquerdo, giro frontal médio (subst. branca r4)	0,012	
			-28	20	46	Lobo frontal esquerdo, giro frontal médio (subst. branca r1)	0,040	
			-52	-42	-6	Lobo temporal esquerdo, área de Brodman 47 (subst. branca r4)	0,030	
			40	-72	38	Lobo parietal esquerdo, precúneo, área de Brodmann 19	0,021	
			-12	26	48	Lobo frontal esquerdo, giro frontal superior (subst. branca r4)	0,042	
Baixo cuidado materno ↓Ansiedade	Maior ativação	18	-96	14	Lobo occipital direito, giro occipital médio (subst. branca)	0,012		
Baixo cuidado materno ↓Ansiedade	Menor ativação	-6	-98	10	Lobo occipital esquerdo, cúneo, área de Brodmann 18	0,011		
		-	-	-	-	-		
Baixo cuidado materno ↑Ansiedade	Maior ativação	18	-96	14	Lobo occipital direito, giro occipital médio (subst branca r1)	0,006		
		-6	-98	10	Lobo occipital esquerdo, cúneo, área de Brodmann 18	0,008		
Baixo cuidado materno ↑Ansiedade	Menor ativação	-	-	-	-			

A ativação no lobo occipital não será discutida neste trabalho.

8 DISCUSSÃO

Neste trabalho translacional, foi possível verificar achados semelhantes tanto no estudo em humanos como no experimental. Ambos demonstraram que variações do comportamento maternal são mediadoras da relação entre ansiedade/reactividade ao estresse e a resposta neurocomportamental ao alimento palatável na vida adulta.

No estudo experimental, os principais achados em relação ao grupo intervenção foram: (1) alteração do comportamento maternal, (2) maior ganho de peso ao longo das cinco semanas com as dietas e (3) menores níveis de corticosterona em resposta ao estresse no grupo intervenção. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (4) no ganho de peso corporal antes das dietas; (5) no consumo de dieta palatável após o uso de diazepam entre os grupos; (6) no comportamento do tipo ansioso no teste supressão alimentar pela novidade (NSFT); (7) e no acúmulo de gordura abdominal.

Com relação aos resultados do cuidado materno, verificou-se que as genitoras do grupo intervenção apresentaram uma menor média de LG e ficaram maior tempo em contato com a prole, porém passaram menos tempo amamentando se comparadas às do grupo controle. Além disso, permaneceram maior tempo em posturas de amamentação menos arqueadas, porém não apresentaram diferenças nas posições mais arqueadas (3 e 4). Esse protocolo reproduziu achados anteriores que observam uma menor variabilidade do comportamento maternal das genitoras do grupo intervenção, resultando numa interação fragmentada entre mãe-filhote (MACHADO *et al.*, 2013; DALLE MOLLE *et al.*, 2012; IVY *et al.*, 2008). Adicionalmente, foi visto que o grupo intervenção apresentou o comportamento de deixar os filhotes agrupados e esse comportamento curioso está relacionado com a motivação materna. Porém, o comportamento de amamentação seria uma resposta reflexa ativada pelos filhotes, que se movem sobre a mãe (STERN,1996). O comportamento maternal não é um processo unitário, mas sim uma categoria complexa composta de

componentes comportamentais sequenciais que têm os seus próprios determinantes sensoriais e neurais. Vários locais do cérebro são conhecidos por mediar o comportamento de LG (*licking and grooming*). Interessantemente, a inibição da atividade dopaminérgica no núcleo accumbens de genitoras reduz esse comportamento de lambidas (LG), entretanto aumenta o comportamento de amamentação (STERN e LONSTEIN, 2001). Os estímulos sensoriais dos filhotes (visão, som, odor) contribuem para o contato com a mãe, enquanto os estímulos táteis em regiões como o focinho e o ventre da mãe provocam reflexos comportamentais essenciais envolvendo o LG e a postura arqueada de amamentação. A lesão de regiões como mesencéfalo central, área pré-óptica medial, sistema límbico e o córtex somatossensorial podem comprometer o cuidado materno (STERN, 1997).

O comportamento de LG (*licking and grooming*) exibido pelas genitoras tem um pico nos primeiros dias após o nascimento e declina gradualmente. Desse modo, ao longo da primeira semana, é possível classificá-las em muito cuidadoras (alto escore de LG) ou pouco cuidadoras (baixo escore de LG) (CHAMPAGNE *et al.*, 2003). É demonstrado que a intensidade de cuidado recebido, no período neonatal, modula a secreção de corticosterona em resposta ao estresse na vida adulta dos filhotes. Filhotes de mães altamente cuidadoras apresentam menor liberação de corticosterona, quando submetidos a estresse por contenção de movimentos (LIU *et al.*, 1997). O mecanismo que explica esse achado se refere à maior expressão dos níveis de receptores GR de glicocorticóides no hipocampo (com consequente maior eficácia dos mecanismos de retroalimentação negativa), resultado de menor metilação do DNA na região promotora da transcrição do gene do GR nos filhos das mães altamente cuidadoras (WEAVER *et al.*, 2007). No modelo de trauma neonatal, as genitoras do grupo intervenção apresentam menor comportamento de lamber os filhotes (LG) e estes, na vida adulta, apresentam maiores níveis de corticosterona quando estimulados numa situação estressante (MACHADO *et al.*, 2013). É possível que esses animais tenham menor expressão

de receptores de glicocorticóides, portanto, prejudicando a ação de retroalimentação negativa do eixo HPA, o que ainda não foi avaliado neste modelo.

O comportamento do tipo ansioso é visto nas genitoras do grupo intervenção, no modelo neonatal de restrição de maravalha, as quais apresentam maiores níveis de corticosterona e de tamanho das adrenais. No entanto, as mesmas apresentam menores níveis de expressão de CRH (RNA mensageiro-mRNA). Contudo, o comportamento de ansiedade nas genitoras (IVY *et al.*, 2008) é reproduzido pela prole na vida adulta em ambos os sexos (MACHADO *et al.*, 2013; DALLE MOLLE *et al.*, 2012) sendo que, particularmente, as fêmeas exibem preferência pelo alimento do tipo “*comfort food*” ao longo da vida (MACHADO *et al.*, 2013).

Já foi descrito que as fêmeas do grupo intervenção preferem o alimento do tipo “*comfort food*” tanto numa situação de novidade assim como quando a oferta é crônica. O mesmo já não ocorre no grupo controle (que não vivenciou o trauma precoce). Esse grupo apresenta preferência pelo alimento palatável num primeiro momento pelo efeito da novidade, porém, quando é exposto cronicamente, diminui a preferência alimentar. Esse consumo foi detalhado rigorosamente através do uso do BioDaq (*Research Diets*®) que é um sistema computadorizado de monitoramento do consumo alimentar em episódios (MACHADO *et al.*, 2013). Por esse motivo, no presente trabalho, não foi avaliado o consumo alimentar dos animais.

Interessantemente, no estudo atual, após o uso crônico do alimento do tipo “*comfort food*”, não houve diferença no comportamento do tipo ansioso entre os grupos (controle e intervenção). Em outras palavras, o comportamento do tipo ansioso demonstrado por Machado e colaboradores em 2013, antes do uso de dieta palatável, não é mais visto após o uso crônico deste tipo de alimento. Esse resultado vai ao encontro da teoria proposta por Dallman e colaboradores em 2003, na qual o estresse crônico na vida adulta induz ao consumo de “*comfort foods*” (DALLMAN *et al.*, 2003), e estes alimentos, em longo prazo,

teriam a habilidade de reduzir os sintomas de estresse (ex.: ansiedade) assim como a resposta do eixo HPA ao estresse agudo (níveis de corticosterona), exatamente como também demonstramos aqui. Outros modelos experimentais, utilizando como trauma neonatal a separação materna, demonstram achados semelhantes. Através do consumo da dieta “*comfort-food*”, ocorre diminuição da resposta ao estresse, ou seja, a redução dos níveis de corticosterona assim como do comportamento ansioso. Interessantemente, neste estudo, também foi visto aumento do peso corporal, gordura, níveis de insulina e de leptina (MANIAM e MORRIS, 2010a). Porém, estudo similar não encontrou diferença nos níveis de corticosterona nesse modelo de separação materna (PATERNAIN *et al.*, 2012), apesar de ter encontrado aumento do peso corporal e dos níveis séricos de leptina. Contudo, a exposição à atividade física voluntária associada ou não com a dieta “*comfort-food*” é capaz de produzir efeitos benéficos comportamentais e metabólicos nesses roedores (aumento dos receptores de glicocorticóides no hipocampo) (MANIAM e MORRIS, 2010b). Futuramente, no presente modelo de trauma neonatal, seria interessante expor esses animais à dieta “*comfort-food*” e ao exercício, a fim de verificar os efeitos comportamentais e neuroendócrinos.

Maiores níveis de corticosterona basal e das adrenais são vistos desde muito cedo na prole deste modelo de trauma precoce (GILLES *et al.*, 1996; AVISHAI-ELINER *et al.*, 2001; (RAINEKI *et al.*, 2010; RICE *et al.*, 2008), de tal forma que a alteração do funcionamento do eixo HPA persiste na vida adulta, culminando com maiores níveis de corticosterona em resposta ao estresse nas fêmeas do grupo intervenção (MACHADO *et al.*, 2013). Porém, no estudo atual, após o uso crônico de alimento confortante, o grupo intervenção apresentou menores níveis de corticosterona ao ser submetido ao mesmo teste. A diferença notável entre os grupos é vista logo após os animais saírem do aparato que restringia os movimentos, deixando-os imóveis, onde o grupo intervenção apresentou menor nível de corticosterona comparado ao grupo controle. Interessantemente, o mecanismo proposto através da teoria de Dallman é que o uso de “*comfort foods*” diminui a atividade do eixo hipotálamo hipófise

adrenal (HPA), atenuando a resposta ao estresse (DALLMAN *et al.*, 2003). Desse modo, parece que não somente o estresse crônico vivenciado na vida adulta, mas também o trauma vivenciado na vida precoce tem a capacidade de levar a maior uso de “*comfort food*” (MACHADO *et al.*, 2013) e este uso reduz os sintomas de ansiedade e a resposta ao estresse nestes indivíduos (trabalho atual). Mediado por alterações neuroendócrinas, o consumo do alimento tipo “*comfort food*” pode ser proposto como forma de “automedicação” na vida adulta e, a longo prazo, traz como desfecho o acúmulo de gordura abdominal e a obesidade. Embora no presente estudo não tenha sido visto maior acúmulo de gordura abdominal no grupo intervenção, outros autores encontram esse desfecho relacionados com estresse crônico na vida adulta em humanos e roedores (TOMIYAMA *et al.*, 2011; FARAG *et al.*, 2008; DALLMAN *et al.*, 2004; DALLMAN *et al.*, 2003; DALLMAN *et al.*, 2005). No entanto, já vimos que o grupo intervenção teve maior média de ganho de peso corporal comparado ao grupo controle, sendo possível que fosse necessário um tempo maior de exposição à dieta, para desencadear uma diferença entre os grupos quanto à gordura abdominal. É importante ressaltar que os animais iniciaram a exposição à dieta na vida adulta, aos sessenta dias de vida, sendo considerados adultos jovens (NEVES *et al.*, 2013). Contudo, os animais permaneceram somente cinco semanas com a dieta. Talvez os resultados mais robustos poderiam ser vistos, assim como nos humanos, a partir da meia idade, momento em que há maior prevalência de doenças crônicas (MILLAR *et al.*, 2015; PHILLIPS *et al.*, 2013; CONNOR *et al.*, 2013) e usando a dieta palatável por um período mais prolongado. Apesar disso, se olharmos as médias, o grupo intervenção já apresenta maior acúmulo de gordura abdominal (diferença que não alcança a significância estatística). Embora os resultados metabólicos sejam sutis, é importante ressaltar que todas as alterações observadas na vida adulta se relacionam a um modelo de trauma neonatal com duração de apenas 7 dias; ou seja, o modelo foi capaz de induzir a alterações importantes a longo prazo, podendo,

provavelmente, trazer desfechos não favoráveis ao longo da vida após a soma de outros insultos como exposição crônica à dieta rica em gordura, envelhecimento, etc.

Com relação ao teste farmacológico, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no consumo de dieta palatável ao longo das quatro horas. Apesar disso, o grupo intervenção injetado com diazepam apresentou menor média de consumo de ração palatável comparado ao grupo controle, no período de uma hora de teste, porém essa diferença não é estatisticamente significativa. O diazepam é um fármaco benzodiazepínico ansiolítico tranquilizante que não produz estado de sedação, porém acalma o animal (ANDERSEN *et al.*, 2004) levando à inibição dos sintomas de ansiedade, sendo capaz de reverter os sintomas do estresse, assim como induzir à analgesia discreta (WILLER e ERNST, 1986). Seu uso agudo é capaz de diminuir o consumo de alimento palatável induzido por estresse crônico na vida adulta (ELY *et al.*, 1997), mas não aquele induzido por manipulação neonatal (SILVEIRA *et al.*, 2005). É possível que o uso crônico da dieta palatável tenha sido suficiente para reverter o comportamento de ansiedade no grupo intervenção e, portanto, não se vê efeito ansiolítico do diazepam. O uso do alimento palatável em roedores fêmeas cronicamente estressadas na vida adulta é capaz de prevenir o comportamento do tipo ansioso (KROLOW *et al.*, 2010).

Com relação ao peso dos animais, ao longo do tempo antes do início das dietas, vemos que, apesar de os animais ganharem peso ao longo das semanas, esse ganho é igual entre os grupos, conforme demonstrado no estudo de DALLE MOLLE e colaboradores em 2012. Porém, outros estudos usando esse mesmo modelo demonstram que o grupo intervenção apresenta menor peso corporal (AVISHAI-ELINER *et al.*, 2001; MACHADO *et al.*, 2013).

Em relação ao estudo clínico, vimos que houve interação entre o cuidado materno, a ansiedade e o cortisol no consumo calórico em um ambiente novo. Nos indivíduos que tiveram a percepção de ter recebido baixo cuidado materno, o consumo calórico variou conforme o cortisol. Esse resultado vai ao encontro de um estudo do nosso grupo de pesquisa

realizado em roedores. Fêmeas que sofreram trauma precoce (redução de maravalha) apresentam menor consumo calórico num ambiente novo (teste NSFT), mesmo estando em jejum, e maiores níveis hormonais de cortisol. Ou seja, o trauma neonatal leva à ansiedade que medeia o comportamento alimentar num novo ambiente e isso é visto tanto em roedores (MACHADO *et al.*, 2013) como em humanos, conforme demonstrado no presente estudo.

O fato de ter recebido um cuidado de baixa qualidade da mãe é algo traumático e implica em alterações neuroendócrinas (aumento dos níveis de cortisol) e neurofuncionais (aumento da atividade dopaminérgica no núcleo acumbens) em resposta a um evento estressor (PRUESSNER *et al.*, 2004). Não somente o baixo cuidado materno, mas o paterno está também correlacionado com altos níveis de cortisol, baixa autoestima, diminuição de volume hipocampal (ENGERT *et al.*, 2010(a)). Porém, é visto que indivíduos que receberam baixo e alto cuidado materno apresentam resposta similar de cortisol a um teste de estressor psicológico (ENGERT *et al.*, 2010(b)).

É demonstrada maior ativação do núcleo accumbens/striatum ventral, ínsula, córtex medial pré-frontal, amígdala, hipocampo em resposta à visualização de imagens de alimentos com alto valor calórico versus os de baixo valor calórico (BEAVER *et al.*, 2006; STOECKEL *et al.*, 2008) sugerindo que essas regiões estão envolvidas na maior motivação para alimentos calóricos (STICE *et al.*, 2009). Interessantemente, adultos saudáveis ao visualizarem imagens de alimentos saborosas/não saborosos apresentam alterações de padrão de conectividade no estriado ventral, a amígdala, o cíngulo anterior e o córtex pré-motor, apresentando forte correlação com sensibilidade externa à alimentação (PASSAMONTI *et al.*, 2009).

Indivíduos obesos, participantes de um programa para perda de peso, que apresentam maior ativação em regiões cerebrais ligadas à motivação e atenção em resposta a imagens de alimentos calóricos/não calóricos (ínsula, área tegmental ventral, putâmen, giro fusiforme), obtiveram menor sucesso na perda de peso ao longo de 9 semanas (MURDAUGH *et al.*, 2012). Menor ativação das regiões frontais inibitórias (incluindo o giro frontal superior) é

vista em obesos mórbidos, ao visualizarem alimentos não saudáveis, comparados a indivíduos eutróficos, podendo ser um mecanismo interessante que explique o comer em excesso na obesidade (NUMMENMAA *et al.*, 2012). Esses indivíduos, quando apresentam o comportamento de hiperfagia noturna (consumo \geq a 25% do total de calorias diárias após refeição noturna), têm alteração na ativação no giro frontal superior ao visualizarem alimentos palatáveis (LUNDGREN *et al.*, 2015). Obesos adolescentes, com sucesso na perda de peso corporal, apresentam maior ativação no córtex pré-frontal dorso lateral quando comparados com pessoas eutróficas e obesos ao visualizarem imagens de alimentos (JENSEN e , KIRWAN, 2015). Todavia, no estado de repouso, ocorre uma diminuição da atividade entre o córtex órbito-frontal e pré-frontal nos obesos (ZHANG *et al.*, 2015).

Estudo, em nosso grupo de pesquisa utilizando a fMRI, demonstrou que indivíduos nascidos com restrição de crescimento intrauterino (o que é considerado evento traumático) apresentam alteração do padrão de conectividade em repouso, em regiões relacionadas à recompensa como o córtex órbito-frontal direito, estriado ventral/dorsal e a amígdala, quando comparados a indivíduos não restritos (DALLE MOLLE, 2014). Esses jovens, ao visualizarem imagens de alimentos palatáveis, tiveram ativação do giro frontal superior direito, área que está relacionada com controle de impulso. Isso demonstra que a ativação desta região talvez esteja funcionando de maneira alterada nesses indivíduos, os quais talvez façam maior esforço para controlar o impulso de comer alimentos (REIS, 2015). Essa mesma área cerebral foi menos ativada no presente estudo nos jovens que receberam alto cuidado materno. Ao visualizarem imagens de alimentos palatáveis, conforme aumenta a ansiedade nesses indivíduos, ocorre uma diminuição da ativação no giro frontal. Em outras palavras, conforme aumenta a ansiedade, ocorre uma diminuição da ativação da área cerebral relacionada com impulsividade (giro frontal), deixando-os menos inibidos. Essa resposta seria considerada uma resposta “padrão/normal”, pois à medida que aumenta a ansiedade, aumenta, conseqüentemente, a vontade de ingerir alimentos palatáveis (DALLMAN *et al.*, 2003). Em

contrapartida, isso não ocorreu com indivíduos que tiveram a percepção de ter recebido baixo cuidado materno.

O giro frontal é uma região que pertence ao córtex pré-frontal e está relacionada com controle cognitivo relacionado ao circuito neural (METCALFE E MISCHEL, 1999; CASEY *et al.*, 2011) envolvido na tomada de decisão, por exemplo, “ir” ou “não ir” (CASEY *et al.*, 2002; ARON *et al.*, 2004) e também na memória (JONIDES e NEE, 2006). O precúneo é uma região cerebral, localizada na porção dorso medial do córtex, que exibe altos níveis de funções cognitivas, memória episódica e aspectos relacionados à consciência e auto-representações mentais no repouso. Sua atividade diminui quando há engajamento em tarefas objetivas, não relacionadas ao “self” (VOGT e LAUREYS, 2005; CAVANNA, 2007; CAVANNA e TRIMBLE, 2006). O mesmo apresenta três padrões distintos de conectividade funcional: 1) O precúneo anterior que está ligado ao córtex parietal superior, lóbulo paracentral e córtex motor, sugerindo uma região sensoriomotor, 2) O precúneo central, ligado ao dorsolateral pré-frontal, dorsomedial, e lateral multimodal córtex parietal inferior, sugerindo uma região cognitiva / associativa e o 3) O precúneo posterior apresenta conectividade funcional com regiões corticais visuais adjacentes (MARGULIES *et al.*, 2009).

Estudos em pessoas obesas demonstram maior atividade no precúneo no estado de fome, mas não no estado de saciedade. Isso sugere que o precúneo está relacionado com o estado de fome subjetiva (Zhang *et al.*, 2015). Esse achado foi curiosamente confirmado também em indivíduos eutróficos, que apresentaram ativação do precúneo no estado de fome em comparação ao estado de saciedade (TATARANNI *et al.*, 1999). Aumento da ativação no precúneo bilateral e no giro frontal medial direito e esquerdo é demonstrado em mães ao visualizarem imagens de seus filhos (WAN *et al.*, 2014), assim como ao ouvir o choro dos mesmos (mães que amamentaram). A ativação dessas regiões são interpretadas como sendo importante para a relação entre mãe-bebê e empatia durante o período pós parto (KIM *et al.*, 2011).

Mulheres com anorexia nervosa apresentam redução da ativação do precúneo numa tarefa de estímulo condicionado onde as mesmas aprendiam a associar imagens abstratas com estímulo de sacarose ou solução controle durante a fMRI (MCFADDEN *et al.*, 2014). Porém, durante o estado de repouso, essas pacientes apresentam um aumento da atividade cerebral nessa região e o giro frontal (COWDREY *et al.*, 2014). Veteranos de guerra que apresentam o transtorno de desordem de estresse pós traumático apresentam correlação negativa entre as regiões do precúneo (zona envolvida com “*default mode network*”) e amígdala (região cerebral envolvida com emoções) na atividade espontânea dessas regiões cerebrais. Além disso, nestes indivíduos, foi vista uma relação quadrática entre o abuso emocional e a atividade espontânea da amígdala e do precúneo, inferindo que a relação entre a ativação dessas duas regiões no trauma precoce não segue uma linearidade, sugerindo que níveis apropriados de adversidade podem estimular a resiliência (YAN *et al.*, 2014). A literatura demonstra que indivíduos que sofreram trauma na vida precoce apresentam ativação no giro frontal medial esquerdo e uma negativa conectividade com o precúneo, apresentando uma dissociação entre a função executiva e a rede envolvida com “*default mode network*” (PHILIP *et al.*, 2014). Outros estudos, seguindo a mesma linha, também demonstram a ativação do giro frontal medial em pessoas diagnosticadas com transtornos de personalidade *borderline* que passaram pela experiência de trauma (abuso físico) (NICO *et al.*, 2015) assim como em meninas que sofreram violência na infância (experiência de assalto) e diagnosticadas com estresse pós traumático na adolescência (CISLER *et al.*, 2013); em ambas situações, a ativação se deu em resposta à visualização de imagens de faces de raiva em comparação a imagens neutras. Porém, no presente estudo, ao utilizar imagens de alimentos palatáveis versus alimentos neutros, viu-se ativação do giro frontal medial que variou conforme a ansiedade nos indivíduos que receberam alto cuidado materno. Curiosamente, nos que receberam baixo cuidado materno, não vimos ativação nessa região. Talvez, nesses indivíduos de baixo cuidado materno, o sistema esteja tão alterado que essa região específica relacionada

à impulsividade não responde mais ao estímulo específico de visualização de alimentos. De forma similar, um estudo também em adolescentes expostos a maus tratos, ao visualizarem seus alimentos preferidos, não apresentam diferenças neurofuncionais na fMRI, porém tiveram ativação do córtex pré-frontal e ínsula em resposta a pistas de estresse. Ativação de estruturas subcorticais estava inversamente correlacionada com ansiedade no grupo com alto escore de trauma, mas não nos adolescentes pertencentes ao grupo de baixo trauma (ELSEY *et al.*, 2015).

Sugere-se que a relação entre trauma e alteração neurofuncional de regiões córtico-límbicas possa explicar, em parte, a associação entre trauma na infância e maior vulnerabilidade a distúrbios emocionais e comportamentos de risco. Logo, esse tema necessita de mais estudos, pois pouco se sabe sobre os mecanismos entre trauma na infância e obesidade no futuro (ELSEY *et al.*, 2015). Um fato importante a se considerar desse estudo é a seleção da amostra. A mesma é proveniente de crianças expostas à cocaína no período intraútero. Apesar de ter sido utilizado o instrumento CTQ para avaliar o trauma na infância, que é um bom instrumento para avaliar trauma, o fato de os “controles” também terem sido expostos a essa adversidade intraútero nos permite inferir que isso possa ter trazido implicações nos resultados encontrados.

Interessantemente, foi demonstrado que pensar sobre os custos de ingerir alimentos palatáveis e os benefícios de não comê-los, assim como a tentativa de suprimir a compulsão alimentar aumenta a ativação de regiões inibitórias como o giro frontal superior, reduz a ativação em regiões relacionadas à atenção como o precúneo (YOKUM e STICE, 2013). Logo, é possível que a menor ativação do precúneo vista no grupo de alto cuidado materno se relacione com melhor engajamento desses indivíduos na tarefa durante o imageamento funcional.

O presente trabalho possui pontos fortes, como o uso de pesquisa translacional que permitiu que as hipóteses fossem inter-relacionadas, na tentativa de maior abrangência no

entendimento do tema proposto. Além disso, utilizou de neuroimagem funcional fMRI que é um método específico e de alta tecnologia, para estudar ativação cerebral. Porém o estudo apresenta também algumas limitações como: o tamanho da amostra estudada, perdas de participação na fMRI por gravidez, aparelho odontológico, avaliação transversal e o método utilizado para avaliação de cortisol salivar basal.

Outros pontos que se destacam neste estudo experimental foi o de terem sido utilizadas fêmeas e ter sido feita a verificação do ciclo estral das mesmas, antes da decapitação.

9 CONCLUSÃO

O presente trabalho foi eficaz em reproduzir modelo neonatal de trauma precoce (redução do material disponível para a confecção do ninho do dia 2 ao dia 9 de vida dos filhotes), alterando o cuidado materno das genitoras. De fato, no grupo intervenção, a ansiedade vista na vida adulta por Machado e colaboradores (2013), não foi mais observada após os animais serem expostos por 5 semanas à dieta “*comfort-food*”. Além disso, houve diminuição dos níveis de corticosterona em resposta a um estresse agudo no grupo intervenção após o uso crônico desse alimento confortante.

Neste estudo em seres humanos, nos indivíduos que perceberam ter recebido menor cuidado materno na infância, o consumo calórico varia em função do cortisol e da ansiedade, sem efeito nos outros grupos. Em outras palavras, nos ansiosos que perceberam ter recebido baixo cuidado materno, quanto maior os níveis de cortisol salivar basal, menor é o consumo calórico em um novo ambiente, e a relação é oposta nos não ansiosos. Os dados de neuroimagem funcional sugerem que nos indivíduos que perceberam ter recebido alto cuidado materno na infância, conforme aumenta a ansiedade, ocorre uma diminuição da ativação da área cerebral relacionada com impulsividade (giro frontal médio e superior), deixando-os menos inibidos. Há também menor ativação no precúneo nestes indivíduos, independente dos níveis de ansiedade, o que pode significar melhor engajamento na tarefa.

O presente estudo reproduz na pesquisa com seres humanos os achados na pesquisa experimental em roedores, demonstrando que as variações do cuidado materno podem moderar a resposta do eixo HPA e os efeitos da ansiedade no comportamento alimentar de adolescentes.

10 REFERÊNCIAS

1. ADAM, T. C.; EPEL, E. S. Stress, eating and the reward system. **Physiol Behav**, v. 91, n. 4, p. 449-58, Jul 24 2007. ISSN 0031-9384 (Print)0031-9384. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.04.011> >.
2. AMORIM, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 22, n. 3, p. 106-115, 2000. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151644462000000300003&lng=en&nrm=iso >.
3. ANDERSEN, M. L. et al. **Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais de Experimentação**. Universidade Federal de São Paulo – São Paulo: 2004.
4. ARON, A. R.; ROBBINS, T. W.; POLDRACK, R. A. Inhibition and the right inferior frontal cortex. **Trends Cogn Sci**, v. 8, n. 4, p. 170-7, Apr 2004. ISSN 1364-6613 (Print)1364-6613. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2004.02.010> >.
5. ASHBURNER, J.; FRISTON, K. Multimodal image coregistration and partitioning--a unified framework. **Neuroimage**, v. 6, n. 3, p. 209-17, Oct 1997. ISSN 1053-8119. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9344825> >.
6. ASHBURNER, J.; FRISTON, K. J. Voxel-based morphometry--the methods. **Neuroimage**, v. 11, n. 6 Pt 1, p. 805-21, Jun 2000. ISSN 1053-8119. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10860804> >.
7. ASHBURNER, J.; FRISTON, K. J. Unified segmentation. **Neuroimage**, v. 26, n. 3, p. 839-51, Jul 2005. ISSN 1053-8119. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15955494> >.
8. ASHBURNER, J. et al. SPM12 Statistical Parametric Mapping . 2014. Wellcome Trust Centre for NeuroImaging. 2014. Disponível em:<<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>>.

9. ATTWELL, D. et al. Glial and neuronal control of brain blood flow. **Nature**, v. 468, n. 7321, p. 232-43, Nov 11 2010. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nature09613> >.
10. AVAGIANOU, P. A.; ZAFIROPOULOU, M. Parental bonding and depression: personality as a mediating factor. **Int J Adolesc Med Health**, v. 20, n. 3, p. 261-9, Jul-Sep 2008. ISSN 0334-0139 (Print)0334-0139. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
11. AVISHAI-ELINER, S. et al. Altered regulation of gene and protein expression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis components in an immature rat model of chronic stress. **J Neuroendocrinol**, England, v. 13, n. 9, p. 799-807, 2001. ISSN 0953-8194 (Print)0953-8194 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
12. BARAM, T. Z. et al. Fragmentation and unpredictability of early-life experience in mental disorders. **Am J Psychiatry**, v. 169, n. 9, p. 907-15, Sep 2012. ISSN 0002-953x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.11091347> >.
13. BARBIERI, M. A. et al. Health in early adulthood: the contribution of the 1978/79 Ribeirao Preto birth cohort. **Braz J Med Biol Res**, v. 39, n. 8, p. 1041-55, Aug 2006. ISSN 0100-879X (Print)0100-879x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
14. BEAVER, J. D. et al. Individual differences in reward drive predict neural responses to images of food. **J Neurosci**, v. 26, n. 19, p. 5160-6, May 10 2006. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.0350-06.2006> >.
15. Belzung, C. et al. Behavioral and neurochemical changes following predatory stress in mice. **Neuropharmacology**, England, v. 41, n. 3, p. 400-8, 2001. ISSN 0028-3908 (Print)0028-3908 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
16. BLANCHARD, R. J. et al. Defensive behaviors in wild and laboratory (Swiss) mice: the mouse defense test battery. **Physiol Behav**, United States, v. 65, n. 2, p. 201-9, 1998. ISSN 0031-9384 (Print)0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

17. BRUNSON, K. L. et al. Mechanisms of late-onset cognitive decline after early-life stress. **J Neurosci**, United States, v. 25, n. 41, p. 9328-38, 2005. ISSN 1529-2401 (Electronic)0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
18. CANETTI, L. et al. Parental bonding and mental health in adolescence. **Adolescence**, v. 32, n. 126, p. 381-94, Summer 1997. ISSN 0001-8449 (Print)0001-8449. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
19. CASEY, B. J. et al. Behavioral and neural correlates of delay of gratification 40 years later. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 36, p. 14998-5003, Sep 6 2011. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1108561108> >.
20. CASEY, B. J.; TOTTENHAM, N.; FOSSELLA, J. Clinical, imaging, lesion, and genetic approaches toward a model of cognitive control. **Dev Psychobiol**, v. 40, n. 3, p. 237-54, Apr 2002. ISSN 0012-1630 (Print)0012-1630. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
21. CATTANEO, A. et al. Inflammation and neuronal plasticity: a link between childhood trauma and depression pathogenesis. **Front Cell Neurosci**, v. 9, p. 40, 2015. ISSN 1662-5102 (Electronic)1662-5102 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2015.00040> >.
22. CAVANNA, A. E. The precuneus and consciousness. **CNS Spectr**, v. 12, n. 7, p. 545-52, Jul 2007. ISSN 1092-8529 (Print)1092-8529. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
23. CAVANNA, A. E.; Trimble, M. R. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. **Brain**, v. 129, n. Pt 3, p. 564-83, Mar 2006. ISSN 0006-8950. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/brain/aw1004> >.
24. CHAMPAGNE, F. A. et al. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. **Physiol Behav**, United States, v. 79, n. 3, p. 359-71, 2003. ISSN 0031-9384 (Print)0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
25. CISLER, J. M. et al. Neural processing correlates of assaultive violence exposure and PTSD symptoms during implicit threat processing: a network-level analysis among adolescent

girls. **Psychiatry Res**, v. 214, n. 3, p. 238-46, Dec 30 2013. ISSN 0165-1781. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychresns.2013.06.003> >.

26. COWDREY, F. A. et al. Increased resting state functional connectivity in the default mode network in recovered anorexia nervosa. **Hum Brain Mapp**, v. 35, n. 2, p. 483-91, Feb 2014. ISSN 1065-9471. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/hbm.22202> >.

27. COLMAN, J. B. et al. Variations in the neonatal environment modulate adult behavioral and brain responses to palatable food withdrawal in adult female rats. **Int J Dev Neurosci**, v. 40, p. 70-5, Feb 2015. ISSN 0736-5748. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.11.003> >.

28. COX, B. J.; ENNS, M. W.; CLARA, I. P. The Parental Bonding Instrument: confirmatory evidence for a three-factor model in a psychiatric clinical sample and in the National Comorbidity Survey. **Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol**, v. 35, n. 8, p. 353-7, Aug 2000. ISSN 0933-7954 (Print)0933-7954. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

29. DA SILVA BENETTI, C. et al. Neonatal environmental intervention alters the vulnerability to the metabolic effects of chronic palatable diet exposure in adulthood. **Nutr Neurosci**, v. 17, n. 3, p. 127-37, Apr 2014. ISSN 1028-415x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1179/1476830513y.0000000077> >.

30. DALLE MOLLE, R. et al. Associations between parenting behavior and anxiety in a rodent model and a clinical sample: relationship to peripheral BDNF levels. **Transl Psychiatry**, United States, v. 2, p. e195, 2012. ISSN 2158-3188 (Electronic)2158-3188 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2012.126> >.

31. DALLMAN, M. F. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. **Trends Endocrinol Metab**, United States, v. 21, n. 3, p. 159-65, 2010. ISSN 1879-3061 (Electronic)1043-2760 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

32. DALLMAN, M. F. et al. Chronic stress-induced effects of corticosterone on brain: direct and indirect. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1018, p. 141-50, Jun 2004. ISSN 0077-8923 (Print)0077-8923. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1296.017> >.

33. DALLMAN, M. F. et al. Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food". **Proc Natl Acad Sci U S A**, United States, v. 100, n. 20, p. 11696-701, 2003. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
34. DALLMAN, M. F.; Pecoraro, N. C.; Fleur, S. E. I. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. **Brain Behav Immun**. v. 19, n. 4, p. 275–280, July 2005 2005. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2004.11.004> >.
35. DELLA JUSTINA, H. M. **Variabilidade da Atividade Cerebral em Resposta a Estímulos Vestibular e Oculomotor Avaliada por fMRI**. (Dissertação - Mestrado). Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.: 2005.
36. DULAWA, S. C.; HEN, R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. **Neurosci Biobehav Rev**, United States, v. 29, n. 4-5, p. 771-83, 2005. ISSN 0149-7634 (Print)0149-7634 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.017> >.
37. DELUCHI, M. **Viés atencional para pistas associadas a alimentos em adultos obesos com e sem o Transtorno da Compulsão Alimentar Periódica**. (Dissertação - Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Psicologia, UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.: 2014.
38. DESANTIS, S. M. et al. Gender differences in the effect of early life trauma on hypothalamic-pituitary-adrenal axis functioning. **Depress Anxiety**, v. 28, n. 5, p. 383-92, May 2011. ISSN 1520-6394 (Electronic)1091-4269 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21328636> >.
39. ELSEY, J. et al. Childhood trauma and neural responses to personalized stress, favorite-food and neutral-relaxing cues in adolescents. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 7, p. 1580-9, Jun 2015. ISSN 0893-133x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2015.6> >.

40. ELY, D. R. et al. Effect of restraint stress on feeding behavior of rats. **Physiol Behav**, United States, v. 61, n. 3, p. 395-8, 1997. ISSN 0031-9384 (Print)0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
41. ENGERT, V. et al. Investigating the association between early life parental care and stress responsivity in adulthood. **Dev Neuropsychol**, v. 35, n. 5, p. 570-81, 2010(a). ISSN 1532-6942. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1080/87565641.2010.494752> >.
42. ENGERT, V. et al. Perceived early-life maternal care and the cortisol response to repeated psychosocial stress. **J Psychiatry Neurosci**, Canada, v. 35, n. 6, p. 370-7, 2010(b). ISSN 1488-2434 (Electronic)1180-4882 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
43. EPEL, E. et al. Are stress eaters at risk for the metabolic syndrome? **Ann N Y Acad Sci**, v. 1032, p. 208-10, Dec 2004. ISSN 0077-8923 (Print)0077-8923. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1314.022> >.
44. EPEL, E. et al. Stress may add bite to appetite in women: a laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. **Psychoneuroendocrinology**, England, v. 26, n. 1, p. 37-49, 2001. ISSN 0306-4530 (Print)0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
45. ESCOBAR, R. S. et al. Better quality of mother-child interaction at 4 years of age decreases emotional overeating in IUGR girls. **Appetite**, v. 81, p. 337-42, Oct 2014. ISSN 1095-8304 (Electronic)0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2014.06.107> >.
46. FAN, Y. et al. Early life stress modulates amygdala-prefrontal functional connectivity: implications for oxytocin effects. **Hum Brain Mapp**, v. 35, n. 10, p. 5328-39, Oct 2014. ISSN 1065-9471. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/hbm.22553> >.
47. FARAG, N. H. et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: relative contributions of perceived stress and obesity in women. **J Womens Health (Larchmt)**, v. 17, n. 10, p. 1647-55, Dec 2008. ISSN 1540-9996. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1089/jwh.2008.0866> >.

48. FONSECA, N. K. O. **Interação entre a responsividade ao estresse e a sensibilidade à insulina na resposta à saciedade e ao comportamento alimentar.** (Trabalho de Conclusão de Curso). Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição, UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.: 2014. Disponível em:< <http://hdl.handle.net/10183/108993>>.
49. FRIES, A. B.; Shirtcliff, E. A.; Pollak, S. D. Neuroendocrine dysregulation following early social deprivation in children. **Dev Psychobiol**, v. 50, n. 6, p. 588-99, Sep 2008. ISSN 1098-2302 (Electronic)0012-1630 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/dev.20319> >.
50. FRISTON, K. J.; et al. Movement-related effects in fMRI time-series. **Magn Reson Med.**, v. 35, 1996.
51. GANELLA, D. E. et al. Early life stress alters pituitary growth during adolescence-a longitudinal study. **Psychoneuroendocrinology**, v. 53, p. 185-94, Mar 2015. ISSN 0306-4530. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.01.005> >.
52. GILLES, E. E.; Schultz, L.; Baram, T. Z. Abnormal corticosterone regulation in an immature rat model of continuous chronic stress. **Pediatr Neurol**, v. 15, n. 2, p. 114-9, Sep 1996. ISSN 0887-8994 (Print)0887-8994. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
53. GRAHAM, A. M. et al. The potential of infant fMRI research and the study of early life stress as a promising exemplar. **Dev Cogn Neurosci**, v. 12, p. 12-39, Apr 2015. ISSN 1878-9293. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.dcn.2014.09.005> >.
54. GROSS, C. et al. Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. **Nature**, England, v. 416, n. 6879, p. 396-400, 2002. ISSN 0028-0836 (Print)0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
55. GUNNAR, M. R. et al. Moderate versus severe early life stress: associations with stress reactivity and regulation in 10-12-year-old children. **Psychoneuroendocrinology**,

England, v. 34, n. 1, p. 62-75, 2009. ISSN 0306-4530 (Print)0306-4530 (Linking).

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psycneuen.2008.08.013> >.

56. GUNNAR, M. R. et al. Salivary cortisol levels in children adopted from romanian orphanages. **Dev Psychopathol**, v. 13, n. 3, p. 611-28, Summer 2001. ISSN 0954-5794 (Print)0954-5794 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

57. HALASZ, I. et al. Sexually dimorphic effects of maternal adrenalectomy on hypothalamic corticotrophin-releasing factor, glucocorticoid receptor and anterior pituitary POMC mRNA levels in rat neonates. v. 100, n. 2, p. 198-204, 18 June 1997 1997. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-3806\(97\)00033-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-3806(97)00033-3) >.

58. HAUCK, S. et al. Cross-cultural adaptation of Parental Bonding Instrument (PBI) to Brazilian Portuguese. **Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul**, v. 28, n. 2, p. 162-168, 08/2006 2006. ISSN0101-8108. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S010181082006000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >.

59. HEIM, C. et al. Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood. **JAMA**, United States, v. 284, n. 5, p. 592-7, 2000. ISSN 0098-7484 (Print)0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

60. HENSON, R. N. A. et al. **The slice-timing problem in event-related fMRI**. *NeuroImage*: 1999. 125.

61. HERMAN, J. P.; Cullinan, W. E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. **Trends Neurosci**, England, v. 20, n. 2, p. 78-84, 1997. ISSN 0166-2236 (Print)0166-2236 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

62. HERMAN, J. P. et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. **Front Neuroendocrinol**, United States, v. 24, n. 3, p. 151-80, 2003. ISSN 0091-3022 (Print)0091-3022 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

63. HOLMBECK, G. N. Post-hoc probing of significant moderational and mediational effects in studies of pediatric populations. **J Pediatr Psychol**, v. 27, n. 1, p. 87-96, Jan-Feb 2002. ISSN 0146-8693 (Print)0146-8693. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
64. ISOLAN, L. et al. Psychometric properties of the Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED) in Brazilian children and adolescents. **J Anxiety Disord**, v. 25, n. 5, p. 741-8, Jun 2011. ISSN 0887-6185. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.janxdis.2011.03.015> >.
65. IVY, A. S. et al. Dysfunctional nurturing behavior in rat dams with limited access to nesting material: a clinically relevant model for early-life stress. **Neuroscience**, United States, v. 154, n. 3, p. 1132-42, 2008. ISSN 0306-4522 (Print)0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
66. JAASKELAINEN, A. et al. Stress-related eating, obesity and associated behavioural traits in adolescents: a prospective population-based cohort study. **BMC Public Health**, v. 14, p. 321, 2014. ISSN 1471-2458. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-14-321> >.
67. JAHNG, J. W. An animal model of eating disorders associated with stressful experience in early life. **Horm Behav**, United States, v. 59, n. 2, p. 213-20, 2011. ISSN 1095-6867 (Electronic)0018-506X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
68. JENSEN, C. D.; Kirwan, C. B. Functional brain response to food images in successful adolescent weight losers compared with normal-weight and overweight controls. **Obesity (Silver Spring)**, v. 23, n. 3, p. 630-6, Mar 2015. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/oby.21004> >.
69. JONIDES, J.; Nee, D. E. Brain mechanisms of proactive interference in working memory. **Neuroscience**, v. 139, n. 1, p. 181-93, Apr 28 2006. ISSN 0306-4522 (Print)0306-4522. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.06.042> >.
70. KASSI, E. et al. **Stress, Endocrine Physiology and Pathophysiology**. De Groot LJ, B.-P. P., Chrousos G, et al., editors.: Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA):

MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278995/>
[Updated 2012 Jun 1].

71. KAUFMAN, J. et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, v. 36, n. 7, p. 980-8, Jul 1997. ISSN 0890-8567 (Print)0890-8567. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1097/00004583-199707000-00021> >.
72. KENDLER, K. S. Parenting: a genetic-epidemiologic perspective. **Am J Psychiatry**, v. 153, n. 1, p. 11-20, Jan 1996. ISSN 0002-953X (Print)0002-953x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
73. KESSLER, R. C. et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). **Jama**, v. 289, n. 23, p. 3095-105, Jun 18 2003. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/jama.289.23.3095> >.
74. KEYES, K. M. et al. Exposure to the Lebanon War of 2006 and effects on alcohol use disorders: the moderating role of childhood maltreatment. **Drug Alcohol Depend**, v. 134, p. 296-303, Jan 1 2014. ISSN 0376-8716. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2013.10.014> >.
75. KIM, P. et al. Childhood social inequalities influences neural processes in young adult caregiving. **Dev Psychobiol**, May 15 2015. ISSN 0012-1630. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/dev.21325> >.
76. KIM, P. et al. Breastfeeding, brain activation to own infant cry, and maternal sensitivity. **J Child Psychol Psychiatry**, v. 52, n. 8, p. 907-15, Aug 2011. ISSN 0021-9630. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7610.2011.02406.x> >.
77. KROLOW, R. et al. Consumption of a palatable diet by chronically stressed rats prevents effects on anxiety-like behavior but increases oxidative stress in a sex-specific manner. **Appetite**, England, v. 55, n. 1, p. 108-16, 2010. ISSN 1095-8304 (Electronic)0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

78. KUO, J. R. et al. Childhood trauma and current psychological functioning in adults with social anxiety disorder. **J Anxiety Disord**, Netherlands, v. 25, n. 4, p. 467-73, 2011. ISSN 1873-7897 (Electronic)0887-6185 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
79. LANG, J. P.; BRADLEY, M. M.; CUTHBERT, B. N. **International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8**. University of Florida, Gainesville, FL.: 2008.
80. Lei no 11.794 de 8 de outubro de 2008., Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/111794.htm >.
81. LEVINE, S. et al. Physiological and behavioral effects of infant stimulation. **Physiol Behav**, v. 2, n. 1, p. 55-59, January 1967 1967. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384\(67\)90011-X](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384(67)90011-X) >.
82. LIU, D. et al. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **Science**, v. 277, n. 5332, p. 1659-62, Sep 12 1997. ISSN 0036-8075 (Print)0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9287218> >.
83. LONSTEIN, J. S. et al. Forebrain expression of c-fos due to active maternal behaviour in lactating rats. **Neuroscience**, United States, v. 82, n. 1, p. 267-81, 1998. ISSN 0306-4522 (Print)0306-4522 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
84. LUNDGREN, J. D. et al. Evening hyperphagia and food motivation: a preliminary study of neural mechanisms. **Eat Behav**, v. 14, n. 4, p. 447-50, Dec 2013. ISSN 1471-0153. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.eatbeh.2013.08.006> >.
85. MACHADO, T. D. **Investigação das alterações do consumo de alimento palatável induzidas por trauma precoce em ratas fêmeas**. (Dissertação - Mestrado). Faculdade de Medicina, Programa de Pós Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.: 2012. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10183/56685> >.

86. MACHADO, T. D. et al. Early life stress is associated with anxiety, increased stress responsivity and preference for "comfort foods" in adult female rats. **Stress**, Jun 20 2013. ISSN 1025-3890. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3109/10253890.2013.816841> >.
87. MACMILLAN, H. L. et al. Childhood abuse and lifetime psychopathology in a community sample. **Am J Psychiatry**, v. 158, n. 11, p. 1878-83, Nov 2001. ISSN 0002-953X (Print)0002-953X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11691695> >.
88. MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Palatable cafeteria diet ameliorates anxiety and depression-like symptoms following an adverse early environment. **Psychoneuroendocrinology**, England, v. 35, n. 5, p. 717-28, 2010a. ISSN 1873-3360 (Electronic)0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
89. MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Voluntary exercise and palatable high-fat diet both improve behavioural profile and stress responses in male rats exposed to early life stress: role of hippocampus. **Psychoneuroendocrinology**, v. 35, n. 10, p. 1553-64, Nov 2010b. ISSN 0306-4530. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.05.012> >.
90. MARGULIES, D. S. et al. Precuneus shares intrinsic functional architecture in humans and monkeys. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 47, p. 20069-74, Nov 24 2009. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0905314106> >.
91. MAZZOLA, A. A. Ressonância magnética: princípios e formação da imagem e aplicações em imagem funcional. **Revista Brasileira de Física Médica.**, v. 3, n. 1, p. 117-29, 2009.
92. MCCLELLAND, S. et al. Emerging roles of epigenetic mechanisms in the enduring effects of early-life stress and experience on learning and memory. **Neurobiol Learn Mem**, United States, v. 96, n. 1, p. 79-88, 2011. ISSN 1095-9564 (Electronic)1074-7427 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
93. MCEWEN, B. S. Stress and Neuronal Plasticity. In: Fink, G. (Ed.). **Stress Science Neuroendocrinology**: Elsevier, 2009. cap. VII, p.455-458. ISBN 9780123750662.

94. MCFADDEN, K. L. et al. Reduced salience and default mode network activity in women with anorexia nervosa. **J Psychiatry Neurosci**, v. 39, n. 3, p. 178-88, May 2014. ISSN 1180-4882. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
95. MCLAUGHLIN, K. A. et al. Causal effects of the early caregiving environment on development of stress response systems in children. **Proc Natl Acad Sci U S A**, United States, v. 112, n. 18, p. 5637-42, 2015. ISSN 1091-6490 (Electronic)0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1423363112> >.
96. MELLO, M. F. et al. Childhood maltreatment and adult psychopathology: pathways to hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 31 Suppl 2, p. S41-8, Oct 2009. ISSN 1516-4446 (Print)1516-4446 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19967199> >.
97. MERALI, Z.; LEVAC, C.; ANISMAN, H. Validation of a simple, ethologically relevant paradigm for assessing anxiety in mice. **Biol Psychiatry**, United States, v. 54, n. 5, p. 552-65, 2003. ISSN 0006-3223 (Print)0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
98. METCALFE, J.; MISCHEL, W. A hot/cool-system analysis of delay of gratification: dynamics of willpower. **Psychol Rev**, v. 106, n. 1, p. 3-19, Jan 1999. ISSN 0033-295X (Print)0033-295x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
99. MILLAR, S. R. et al. Optimal central obesity measurement site for assessing cardiometabolic and type 2 diabetes risk in middle-aged adults. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0129088, 2015. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0129088> >.
100. MIKL, M. et al. Effects of spatial smoothing on fMRI group inferences. **Magn Reson Imaging**, v. 26, n. 4, p. 490-503, May 2008. ISSN 0730-725X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18060720> >.
101. MIKOLAJCZYK, R. T.; EI ANSARI, W.; MAXWELL, A. E. Food consumption frequency and perceived stress and depressive symptoms among students in three European countries. **Nutr J**, England, v. 8, p. 31, 2009. ISSN 1475-2891 (Electronic)1475-2891 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

102. MORRIS, M. J. et al. Why is obesity such a problem in the 21st century? The intersection of palatable food, cues and reward pathways, stress, and cognition. **Neurosci Biobehav Rev**, Dec 10 2014. ISSN 0149-7634. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.002> >.
103. MUHAMMAD, N. A. et al. Validation of the Malay Version of the Parental Bonding Instrument among Malaysian Youths Using Exploratory Factor Analysis. **Malays J Med Sci**, v. 21, n. 5, p. 51-9, Sep-Oct 2014. ISSN 1394-195X (Print)1394-195x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
104. MURDAUGH, D. L. et al. fMRI reactivity to high-calorie food pictures predicts short- and long-term outcome in a weight-loss program. **Neuroimage**, v. 59, n. 3, p. 2709-21, Feb 1 2012. ISSN 1053-8119. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
105. NEUWALD, M. F. et al. Transgenerational effects of maternal care interact with fetal growth and influence attention skills at 18 months of age. **Early Hum Dev**, v. 90, n. 5, p. 241-6, May 2014. ISSN 0378-3782. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2014.01.015> >.
106. NEVES, S. M. P.; et al. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo : FCF-IQ/USP: 2013. Disponível em: <<http://www.fo.usp.br/wp-content/uploads/Manual-Cuidados-com-Animais.pdf> >
107. NICOL, K. et al. Childhood trauma, midbrain activation and psychotic symptoms in borderline personality disorder. **Transl Psychiatry**, v. 5, p. e559, 2015. ISSN 2158-3188. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2015.53> >.
108. NOLTE, T. et al. Interpersonal stress regulation and the development of anxiety disorders: an attachment-based developmental framework. **Front Behav Neurosci**, v. 5, p. 55, 2011. ISSN 1662-5153 (Electronic)1662-5153 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21960962> >.

109. NUMMENMAA, L. et al. Dorsal striatum and its limbic connectivity mediate abnormal anticipatory reward processing in obesity. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31089, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0031089> >.
110. O CONNOR, J. M. et al. The prevalence and determinants of undiagnosed and diagnosed type 2 diabetes in middle-aged irish adults. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e80504, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0080504> >.
111. O'DOHERTY, J. P. et al. Neural responses during anticipation of a primary taste reward. **Neuron**, v. 33, n. 5, p. 815-26, Feb 28 2002. ISSN 0896-6273 (Print)0896-6273. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
112. ORTOLANI, D. et al. Stress-induced endocrine response and anxiety: the effects of comfort food in rats. **Stress**, v. 17, n. 3, p. 211-8, May 2014. ISSN 1025-3890. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3109/10253890.2014.898059> >.
113. PAGE, K. A. et al. Circulating glucose levels modulate neural control of desire for high-calorie foods in humans. **J Clin Invest**, v. 121, n. 10, p. 4161-9, Oct 2011. ISSN 1558-8238. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21926468> >.
114. PARKER, G. Reported parental characteristics in relation to trait depression and anxiety levels in a non-clinical group. **Aust N Z J Psychiatry**, v. 13, n. 3, p. 260-4, Sep 1979. ISSN 0004-8674 (Print)0004-8674 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/293182> >.
115. PARKER, G. et al. An exploration of links between early parenting experiences and personality disorder type and disordered personality functioning. **J Pers Disord**, v. 13, n. 4, p. 361-74, Winter 1999. ISSN 0885-579X (Print)0885-579X (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
116. PASSAMONTI, L. et al. Personality predicts the brain's response to viewing appetizing foods: the neural basis of a risk factor for overeating. **J Neurosci**, v. 29, n. 1, p. 43-51, Jan 7 2009. ISSN 0270-6474. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.4966-08.2009> >.

117. Paternain, L. et al. Postnatal maternal separation modifies the response to an obesogenic diet in adulthood in rats. **Dis Model Mech**, v. 5, n. 5, p. 691-7, Sep 2012. ISSN 1754-8403. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1242/dmm.009043> >.
118. PECORARO, N. et al. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. **Endocrinology**, United States, v. 145, n. 8, p. 3754-62, 2004. ISSN 0013-7227 (Print)0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
119. PHILIP, N. S. et al. Early life stress impacts dorsolateral prefrontal cortex functional connectivity in healthy adults: informing future studies of antidepressant treatments. **J Psychiatr Res**, v. 52, p. 63-9, May 2014. ISSN 0022-3956. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.01.014> >.
120. PHILLIPS, C. M. et al. Comparison of diabetes risk score estimates and cardiometabolic risk profiles in a middle-aged Irish population. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e78950, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078950> >.
121. PIJLMAN, F. T.; WOLTERINK, G.; VAN REE, J. M. Physical and emotional stress have differential effects on preference for saccharine and open field behaviour in rats. **Behav Brain Res**, v. 139, n. 1-2, p. 131-8, Feb 17 2003. ISSN 0166-4328 (Print)0166-4328. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
122. PINHEIRO, A. B. V.; et., a. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. Rio de Janeiro: Atheneu: 2005.
123. PRUESSNER, J. C. et al. Dopamine release in response to a psychological stress in humans and its relationship to early life maternal care: a positron emission tomography study using [11C] raclopride. **J Neurosci**, United States, v. 24, n. 11, p. 2825-31, 2004. ISSN 1529-2401 (Electronic)0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.3422-03.2004> >.
124. PRYCE, C. R.; BETTSCHEN, D.; FELDON, J. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. **Dev Psychobiol**, United States, v.

38, n. 4, p. 239-51, 2001. ISSN 0012-1630 (Print)0012-1630 (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

125. QIU, A. et al. Prenatal maternal depression alters amygdala functional connectivity in 6-month-old infants. **Transl Psychiatry**, v. 5, p. e508, 2015. ISSN 2158-3188. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2015.3> >.

126. RAINEKI, C.; MORICEAU, S.; SULLIVAN, R. M. Developing a neurobehavioral animal model of infant attachment to an abusive caregiver. **Biol Psychiatry**, v. 67, n. 12, p. 1137-45, Jun 15 2010. ISSN 0006-3223. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.12.019> >.

127. REIS, R. S. **Efeito do consumo habitual de n-3 pufas sobre o comportamento alimentar e aspectos de sua regulação central em indivíduos com restrição de crescimento intrauterino.** (Tese - Doutorado). Faculdade de Medicina, Programa de Pós Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.: 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/116785>>.

128. RICE, C. J. et al. A novel mouse model for acute and long-lasting consequences of early life stress. **Endocrinology**, United States, v. 149, n. 10, p. 4892-900, 2008. ISSN 0013-7227 (Print)0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

129. RODRIGUES, D. M. **Efeito do polimorfismo A3669G do gene do receptor de glicocorticoide sobre o controle metabólico, comportamento alimentar e neuroimagem funcional em uma amostra de adolescentes.** (Dissertação - Mestrado). Instituto de Ciências Básicas de Saúde. Programa de Pós Graduação em Neurociências, UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.: 2015.

130. SALUM, G. A. et al. The multidimensional evaluation and treatment of anxiety in children and adolescents: rationale, design, methods and preliminary findings. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 33, n. 2, p. 181-95, Jun 2011. ISSN 1516-4446. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

131. SAMUELS, B. A.; Hen, R. Novelty-Suppressed Feeding in the Mouse. In: Gould, T. D. (Ed.). **Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests**, 2011. p.107-121.
132. SEGANFREDO, A. C. et al. Gender differences in the associations between childhood trauma and parental bonding in panic disorder. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 31, n. 4, p. 314-21, Dec 2009. ISSN 1516-4446. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
133. SEVERINO, G. S. et al. Effects of neonatal handling on the behavior and prolactin stress response in male and female rats at various ages and estrous cycle phases of females. **Physiol Behav**, United States, v. 81, n. 3, p. 489-98, 2004. ISSN 0031-9384 (Print)0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
134. SHIKANAI, H.; KIMURA, S.; TOGASHI, H. Early life stress affects the serotonergic system underlying emotional regulation. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 36, n. 9, p. 1392–5, 2013.
135. SILVEIRA, P. P. et al. The effect of neonatal handling on adult feeding behavior is not an anxiety-like behavior. **Int J Dev Neurosci**, England, v. 23, n. 1, p. 93-9, 2005. ISSN 0736-5748 (Print)0736-5748 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.
136. SLADKY, R. et al. Slice-timing effects and their correction in functional MRI. **Neuroimage**, v. 58, n. 2-2, p. 588-94, 2011. ISSN 1053-8119 (Print)1095-9572 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.078> >.
137. SPITZER, R. L. et al. A brief measure for assessing generalized anxiety disorder: the GAD-7. **Arch Intern Med**, v. 166, n. 10, p. 1092-7, May 22 2006. ISSN 0003-9926 (Print)0003-9926 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16717171> >
138. STEIMER, T. The biology of fear- and anxiety-related behaviors. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 4, n. 3, p. 231-49, Sep 2002. ISSN 1294-8322 (Print)1294-8322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22033741> >.
139. STERN, J. M. Somatosensation and Maternal Care in Norway Rats. v. 25, p. 243–294, 1996. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-3454\(08\)60335-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-3454(08)60335-6) >.

140. STERN, J. M. Offspring-induced nurturance: animal-human parallels. **Dev Psychobiol**, v. 31, n. 1, p. 19-37, Jul 1997. ISSN 0012-1630 (Print)0012-1630. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
141. STERN, J. M.; LONSTEIN, J. S. Neural mediation of nursing and related maternal behaviors. **Prog Brain Res**, v. 133, p. 263-78, 2001. ISSN 0079-6123 (Print)0079-6123. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
142. STICE, E. et al. Relation of obesity to consummatory and anticipatory food reward. **Physiol Behav**, v. 97, n. 5, p. 551-60, Jul 14 2009. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.03.020> >.
143. STOECKEL, L. E. et al. Widespread reward-system activation in obese women in response to pictures of high-calorie foods. **Neuroimage**, v. 41, n. 2, p. 636-47, Jun 2008. ISSN 1053-8119 (Print)1053-8119. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.02.031> >.
144. SOLOMON, M. B.; HERMAN, J. P. Sex differences in psychopathology: of gonads, adrenals and mental illness. **Physiol Behav**, v. 97, n. 2, p. 250-8, May 25 2009. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.033> >.
145. SUZUKI, H. et al. Early life stress and trauma and enhanced limbic activation to emotionally valenced faces in depressed and healthy children. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, v. 53, n. 7, p. 800-13.e10, Jul 2014. ISSN 0890-8567. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaac.2014.04.013> >.
146. TANNENBAUM, B. et al. Dynamic variations in plasma corticosteroid-binding globulin and basal HPA activity following acute stress in adult rats. **J Neuroendocrinol**, v. 9, n. 3, p. 163-8, Mar 1997. ISSN 0953-8194 (Print)0953-8194 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9089466> >.
147. TATARANNI, P. A. et al. Neuroanatomical correlates of hunger and satiation in humans using positron emission tomography. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 8, p. 4569-74, Apr 13 1999. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
148. TER HORST, J. P. et al. Relevance of stress and female sex hormones for emotion and cognition. **Cell Mol Neurobiol**, v. 32, n. 5, p. 725-35, Jul 2012. ISSN 1573-6830

(Electronic)0272-4340 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22113371> >.

149. TOMIYAMA, A. J.; DALLMAN, M. F.; EPEL, E. S. Comfort food is comforting to those most stressed: evidence of the chronic stress response network in high stress women. **Psychoneuroendocrinology**, England, v. 36, n. 10, p. 1513-9, 2011. ISSN 1873-3360 (Electronic)0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

150. TRICKETT, P. K. et al. Attenuation of cortisol across development for victims of sexual abuse. **Dev Psychopathol**, United States, v. 22, n. 1, p. 165-75, 2010. ISSN 1469-2198 (Electronic)0954-5794 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >.

151. TRYON, M. S.; DECANT, R.; LAUGERO, K. D. Having your cake and eating it too: a habit of comfort food may link chronic social stress exposure and acute stress-induced cortisol hyporesponsiveness. **Physiol Behav**, v. 114-115, p. 32-7, Apr 10 2013. ISSN 0031-9384. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.02.018> >.

152. UGURBIL, K. et al. Magnetic resonance studies of brain function and neurochemistry. **Annu Rev Biomed Eng**, v. 2, p. 633-60, 2000. ISSN 1523-9829 (Print)1523-9829. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bioeng.2.1.633> >.

153. USDA. **USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 26**. Nutrient Data Laboratory Home Page, Disponível em: < <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl> 2013 >.

154. VOGT, B. A.; LAUREYS, S. Posterior cingulate, precuneal and retrosplenial cortices: cytology and components of the neural network correlates of consciousness. **Prog Brain Res**, v. 150, p. 205-17, 2005. ISSN 0079-6123 (Print)0079-6123. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6123\(05\)50015-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6123(05)50015-3) >.

155. Wan, M. W. et al. The neural basis of maternal bonding. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e88436, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0088436> >.

156. WANG, G. J. et al. Imaging of brain dopamine pathways: implications for understanding obesity. **J Addict Med**, v. 3, n.1, p. 8-18, Mar 2009. ISSN 1932-0620

(Print)1932-0620 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21603099>>.

157. WEAVER, I. C. et al. The transcription factor nerve growth factor-inducible protein a mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes. **J Neurosci**, v. 27, n. 7, p. 1756-68, Feb 14 2007. ISSN 0270-6474. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.4164-06.2007>>.

158. WILLER, J. C.; ERNST, M. Somatovegetative changes in stress-induced analgesia in man: an electrophysiological and pharmacological study. **Ann N Y Acad Sci**, v. 467, p. 256-72, 1986. ISSN 0077-8923 (Print)0077-8923. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/>>.

159. WRIGHT, I. C. et al. A voxel-based method for the statistical analysis of gray and white matter density applied to schizophrenia. **Neuroimage**, v. 2, n. 4, p. 244-52, Dec 1995. ISSN 1053-8119. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9343609>>.

160. YAN, X. et al. Precuneal and amygdala spontaneous activity and functional connectivity in war-zone-related PTSD. **Psychiatry Res**, Dec 13 2014. ISSN 0165-1781. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1016/j.psychresns.2014.12.001>>.

161. YOKUM, S.; STICE, E. Cognitive regulation of food craving: effects of three cognitive reappraisal strategies on neural response to palatable foods. **Int J Obes (Lond)**, v. 37, n. 12, p. 1565-70, Dec 2013. ISSN 0307-0565. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2013.39>>.

162. ZHANG, B. et al. Altered baseline brain activities before food intake in obese men: a resting state fMRI study. **Neurosci Lett**, v. 584, p. 156-61, Jan 1 2015. ISSN 0304-3940. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.020>>.

163. ZHANG, B. et al. Altered baseline brain activity differentiates regional mechanisms subserving biological and psychological alterations in obese men. **Sci Rep**, v. 5, p. 11563, 2015. ISSN 2045-2322. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1038/srep11563>>.

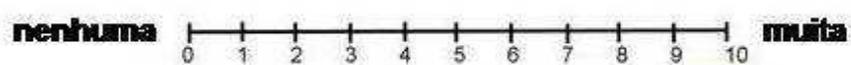
164. ZHANG, J. et al. Neuronal nitric oxide synthase alteration accounts for the role of 5-HT1A receptor in modulating anxiety-related behaviors. **J Neurosci**, United States, v. 30, n. 7, p. 2433-41, 2010. ISSN 1529-2401 (Electronic)0270-6474 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>.

11 ANEXOS

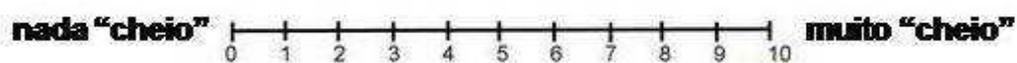
ANEXO A – ESCALA DE FOME/SACIEDADE

Escala de fome e saciedade

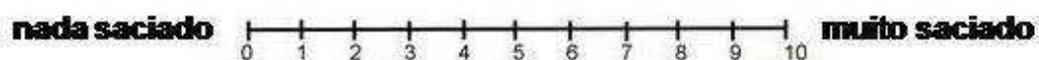
1. Quanta fome você está sentindo?



2. Quanto "cheio" você está se sentindo?



3. Quanto saciado você está se sentindo?



4. Quanto desejo por comida você está sentindo?



ANEXO B – PARENTAL BOLDING INSTRUMENT

PBI MÃE
PARENTAL BONDING INSTRUMENT (QUALQUER SEMANA)

INSTRUÇÕES: Este questionário lista várias atitudes e comportamentos dos seus pais. Você deverá colocar uma marca no parêntese mais apropriado de cada questão, pensando, primeiro, na forma que você lembra seu mãe, até a idade de 16 anos

	Muito Parecido	Moderadamente Parecido	Moderadamente Diferente	Muito Diferente
1. Falava comigo com uma voz meiga e amigável	()	()	()	()
2. Não me ajudava tanto quanto eu necessitava	()	()	()	()
3. Deixava-me fazer as coisas que eu gostava de fazer	()	()	()	()
4. Parecia emocionalmente frio comigo	()	()	()	()
5. Parecia compreender meus problemas e preocupações	()	()	()	()
6. Era carinhoso comigo	()	()	()	()
7. Gostava que eu tomasse minhas próprias decisões	()	()	()	()
8. Não queria que eu crescesse	()	()	()	()
9. Tentava controlar todas as coisas que eu fazia	()	()	()	()
10. Invadia minha privacidade	()	()	()	()
11. Gostava de conversar sobre as coisas comigo	()	()	()	()
12. Frequentemente sorria pra mim	()	()	()	()
13. Tendia a me tratar como bebê	()	()	()	()
14. Parecia não entender o que eu necessitava ou queria	()	()	()	()
15. Deixava que eu decidisse as coisas por mim mesmo	()	()	()	()
16. Fazia com que eu me sentisse que não era querido(a)	()	()	()	()
17. Podia me fazer sentir melhor quando eu estava chateado(a)	()	()	()	()
18. Não conversava muito comigo	()	()	()	()
19. Tentava me fazer dependente dele	()	()	()	()
20. Ele sentia que eu não poderia cuidar de mim mesmo, a menos que ele estivesse por perto	()	()	()	()
21. Dava-me tanta liberdade quanto eu queria	()	()	()	()
22. Deixava-me sair tão frequentemente quanto eu queria	()	()	()	()
23. Era superprotetor comigo	()	()	()	()
24. Não me elogiava	()	()	()	()
25. Deixava-me vestir de qualquer jeito que eu desejasse	()	()	()	()