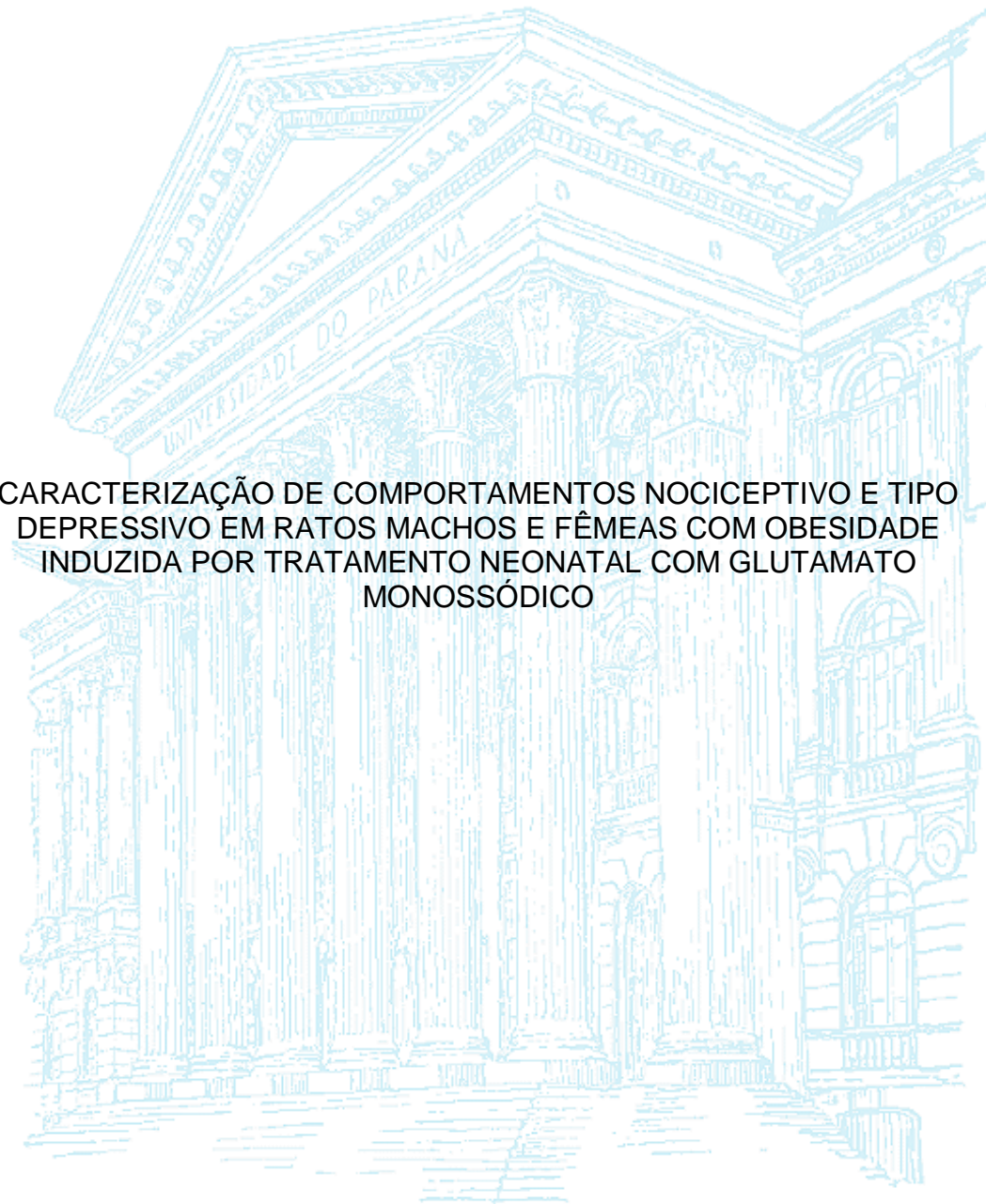


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELIANA REZENDE ADAMI

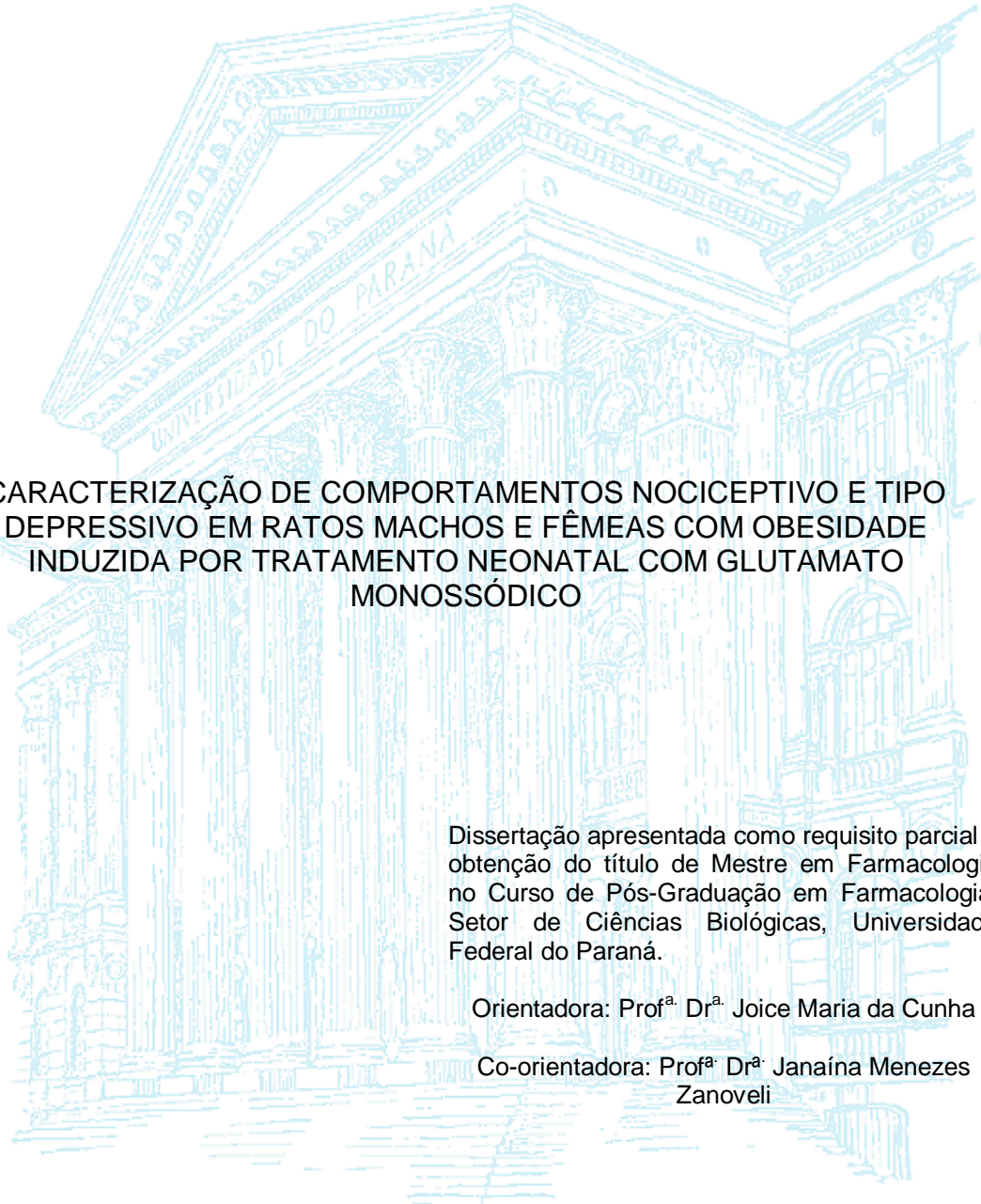


CARACTERIZAÇÃO DE COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVO E TIPO
DEPRESSIVO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS COM OBESIDADE
INDUZIDA POR TRATAMENTO NEONATAL COM GLUTAMATO
MONOSSÓDICO

CURITIBA
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELIANA REZENDE ADAMI



CARACTERIZAÇÃO DE COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVO E TIPO
DEPRESSIVO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS COM OBESIDADE
INDUZIDA POR TRATAMENTO NEONATAL COM GLUTAMATO
MONOSSÓDICO

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Farmacologia
no Curso de Pós-Graduação em Farmacologia,
Setor de Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Joice Maria da Cunha

Co-orientadora: Prof^a Dr^a. Janaína Menezes
Zanoveli

CURITIBA
2015



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Programa de Pós Graduação em FARMACOLOGIA
Código CAPES: 40001016038P0

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM FARMACOLOGIA

No dia 08 de Julho de 2015 às 09:00, na sala 107, Centro Politécnico, do Setor de da Universidade Federal do Paraná, foram instalados os trabalhos de arguição da mestranda **ELIANA REZENDE ADAMI** para a Defesa Pública de sua Dissertação intitulada: "**CARACTERIZAÇÃO DE COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVO E TIPO DEPRESSIVO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS COM OBESIDADE INDUZIDA POR TRATAMENTO NEONATAL COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO.**". A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Professores Doutores: ALEXANDRA ACCO, JOICE MARIA DA CUNHA, CARLA CORRADI PERINI. Dando início à sessão, a presidência passou a palavra a aluna, para que a mesma expusesse seu trabalho aos presentes. Em seguida, a presidência passou a palavra a cada um dos Examinadores, para suas respectivas arguições. A aluna respondeu a cada um dos arguidores. A presidência retomou a palavra para suas considerações finais e, depois, solicitou que os presentes e a mestranda deixassem a sala. A Banca Examinadora, então, reuniu-se sigilosamente e, após a discussão de suas avaliações, decidiu-se pela **APROVAÇÃO**..... da aluna. A mestranda foi convidada a ingressar novamente na sala, bem como os demais assistentes, após o que a presidência fez a leitura do Parecer da Banca Examinadora, outorgando-lhe o Grau de **Mestre em FARMACOLOGIA**. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, SECRETARIA, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora.

Curitiba, 08 de Julho de 2015.

PATRÍCIA POTT

Secretaria do Programa de Pós Graduação em FARMACOLOGIA

Prof JOICE MARIA DA CUNHA
(Presidente da Banca Examinadora)

Prof ALEXANDRA ACCO

Prof CARLA CORRADI PERINI

Programa de Pós Graduação em FARMACOLOGIA | UFPR
Centro Politécnico
Curitiba - Paraná - Brasil"

CEP 81531990 - Tel: (0xx41)3361-1693 - Fax: (0xx41) 3266-2042 - E-mail: pgfarmacologia@ufpr.br

DEFESA Nº 110



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Programa de Pós Graduação em FARMACOLOGIA
Código CAPES: 40001016038P0

PARECER DA BANCA EXAMINADORA

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ELIANA REZENDE ADAMI**, intitulada: "**CARACTERIZAÇÃO DE COMPORTAMENTOS NOCICEPTIVO E TIPO DEPRESSIVO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS COM OBESIDADE INDUZIDA POR TRATAMENTO NEONATAL COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO**", após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO**, completando-se assim todos os requisitos previstos nas normas desta Instituição para a obtenção do Grau de **Mestre em FARMACOLOGIA**.

Curitiba, 08 de Julho de 2015.


Prof ALEXANDRA ACCO


Prof JOICE MARIA DA CUNHA


Prof CARLA CORRADI PERINI

NOTA EXPLICATIVA

Esta dissertação é apresentada em formato alternativo – artigo para publicação – de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Paraná, constando de uma revisão de literatura, objetivos do trabalho, além da conclusão. O artigo foi formatado de acordo com as normas propostas por periódicos internacionais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, possibilitando vivenciar este momento especial;

Ao grande Amor da Minha Vida, meu esposo Ronaldo Lobo, companheiro incansável de todas as horas, que esteve ao meu lado sempre sacrificando finais de semana, férias, para que pudesse estar me ajudando em tudo, me auxiliando sempre, me dando força, coragem, incentivo e muito Amor, contribuindo decisivamente para a conclusão deste trabalho;

À minha querida e amada família, meus pais e meus irmãos por sempre torcerem por mim, mesmo estando longe;

Aos meus queridos e amados sobrinhos que sempre me deram forças com seus sorrisos e carinho;

À querida orientadora professora Dra. Joice Maria Cunha, pela confiança, incentivo, aumento da massa crítica, disponibilidade, pela oportunidade na execução deste trabalho e valiosa orientação. À qual tenho muita admiração, respeito e carinho;

À professora Dra. Janaína Zanoveli pela co-orientação, a qual foi de fundamental importância para conclusão do mesmo;

Ao Programa de Pós Graduação em Farmacologia e a todos os professores pelo aprendizado;

Ao Biotério da UFPR pela competência e auxílio;

Aos membros da banca examinadora, por participarem e contribuírem para a melhoria deste trabalho;

Aos amigos e colegas do Laboratório pela amizade e companheirismo;

Aos meus amigos que sempre estiveram do meu lado, torcendo pelo meu sucesso e vitória;

À CAPES pelo suporte financeiro;

A todos que participaram direta ou indiretamente na execução deste trabalho;

Meu agradecimento especial aos ratos que participaram da pesquisa tornando possível a realização desse trabalho e me ensinando a desenvolver um segundo olhar sobre a vida, com maior respeito e dignidade pelos animais.

“Ser pesquisador
É ser responsável,
É sentir que colabora
Na construção do mundo,
Buscando a verdade”.

Eliana Adami & Ronaldo Lobo, 2015

RESUMO

A obesidade é uma doença multifatorial e complexa caracterizada por desequilíbrios metabólicos, bioquímicos e acúmulo excessivo de gordura corporal no indivíduo. Entre as comorbidades mais debilitantes da obesidade estão a dor e a depressão. Evidências clínicas sugerem que quanto maior o índice de massa corporal, mais elevado o risco de depressão e maior a taxa de dor auto-relatada. Embora a obesidade seja mais prevalente em homens, dor crônica e depressão são mais relatadas por mulheres obesas, caracterizando diferenças em relação ao gênero. Em vista destes fatos, o presente estudo teve como objetivo caracterizar os comportamentos nociceptivo e do tipo depressivo em ratos de ambos os sexos com obesidade induzida pela administração neonatal de glutamato monossódico (MSG). Além das análises comportamentais, parâmetros bioquímicos e biofísicos também foram avaliados. Nossos dados demonstraram que os animais tratados com MSG apresentaram menor taxa de ganho de massa, redução no comprimento nasoanal, aumento significativo na gordura visceral, maior índice de Lee e maior circunferência abdominal. O grupo de ratos MSG apresentou maior circunferência abdominal em comparação às ratas MSG nos tempos avaliados, enquanto ratas MSG mostraram um aumento do índice de Lee em 120 dias em relação aos ratos MSG. Além disso, o tratamento com MSG induziu aumento dos níveis de triglicérides, colesterol total e de colesterol VLDL. No entanto, não houve diferenças significativas quanto aos níveis de colesterol HDL e de glicemia nos grupos tratados com MSG. Quanto às diferenças de gênero, as fêmeas MSG apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de colesterol total quando comparadas aos machos MSG. No teste da natação forçada, tanto ratos quanto ratas MSG apresentaram aumento do tempo de imobilidade e uma diminuição da latência para o primeiro episódio de imobilidade a partir dos 90 dias após MSG. No entanto, o tempo de imobilidade dos ratos MSG já foi observado significativamente diferente dos controles no tempo de 60 dias. A hiperalgesia mecânica foi observada em ratos e ratas a partir dos 60 dias após MSG, persistindo em outros tempos avaliados (90 e 120 dias). Finalmente, o tratamento com MSG não induziu nenhuma mudança nos parâmetros locomotores no teste do campo aberto. Em conclusão, nossos dados evidenciam que o tratamento com MSG induz hiperalgesia mecânica e comportamentos tipo-depressivo em ratos de ambos os sexos, os quais desenvolvem características bioquímicas e biofísicas típicas de obesidade. A caracterização do modelo permitirá futuros estudos que visem o maior entendimento dos mecanismos envolvidos na inter-relação entre obesidade, depressão e dor.

Palavras Chave: Glutamato monossódico. Obesidade. Dor. Depressão.

ABSTRACT

Obesity consists in a multifactorial and complex disease featured by unbalanced between metabolic and biochemical pathways and excessive accumulation of body fat in the individual. Obesity is often accompanied by debilitating comorbidities such as pain and depression. Clinical evidence suggests that the higher the body mass index, the greater risk of depression and the greater rate of self-reported pain. While obesity is more prevalent in men, chronic pain and depression are more reported by obese women, characterizing differences relative to the gender. In view of these facts, this study aimed to characterize the nociceptive and depressive-like responses in both male and female rats with obesity induced by neonatal administration of monosodium glutamate (MSG). Litters of Wistar rats (male and female) were subcutaneously treated with saline (SAL; control groups) or MSG (4 mg/g) between the first and fifth day of extra-uterine life. Behavioral (mechanical hyperalgesia using the Randall Selitto test; depressive-like behaviors during the forced swimming test or locomotor activity in the open field test), biochemical (lipid profile and blood glucose) and biophysical (body mass, nasoanal length, abdominal circumference and visceral fat) parameters were evaluated at different time points after these treatments. Our data showed that the MSG rats had a lower rate of weight gain, reduced nasoanal length, and increased Lee Index, abdominal circumference and visceral fat when compared with SAL group. The male MSG group presented higher abdominal circumference than female MSG rats in all time points, while female MSG rats showed higher Lee Index than male MSG rats at 120th day. Besides, the MSG treatment induced a significant change in the lipid profile, i.e. higher levels of triglycerides, total cholesterol and VLDL cholesterol, but no changes in HDL cholesterol neither in blood glucose. Regarding gender differences, the female MSG group had higher total cholesterol levels than male MSG rats. MSG rats of both genders manifested increased immobility time and reduction of the first immobility episode latency in the forced swimming test and a reduction of mechanical threshold in the Randall Selitto test. When evaluated in the open field test, the neonatal treatment with MSG in rats of both sexes did not cause a significant change in the number of crossing. In conclusion, our data evidenced that both mechanical hyperalgesia and depressive-like are similarly observed in male and female rats treated with MSG, while some biophysical parameters differ between genders. These findings may be relevant to future studies that target a better characterization of the mechanisms behind the interrelations among obesity, depression and pain

Key words: monosodium glutamate, obesity, pain and depression.

LISTA DE FIGURAS - INTRODUÇÃO

Tabela 1 - Relação entre o índice de massa corpórea (IMC; Kg/m²) e a classificação internacional de peso em adultos, adaptada: World Health Organization, 1995, WHO, 2000 and WHO, 2004..

Figura 1 - Como a obesidade afeta o organismo (adaptada da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2015).

Figura 2 – Escada Analgésica da OMS.

Figura 3 - Relação bidirecional entre obesidade, depressão e dor (Adami, 2015).

LISTA DE FIGURAS - ARTIGO CIENTÍFICO

Figure 1 - Time line of the experimental procedures.

Figure 2 - Evaluation of body mass, nasoanal length, LEE Index, abdominal circumference and visceral fat in monosodium glutamate (MSG)-treated rats.

Figure 3 - Exacerbated depressive-like behaviors in monosodium glutamate (MSG)-treated rats.

Figure 4 - Mechanical hyperalgesia in monosodium glutamate (MSG)-treated rats.

Table 1 - Serum lipid profile and blood glucose levels in monosodium glutamate (MSG)-treated rats.

Table 2 - Locomotor activity in monosodium glutamate (MSG)-treated rats.

LISTA DE ABREVIATURAS

μOP3 - Receptores Opioides mu
5-HT - Serotonina
ACTH - Hormônio Adrenocorticotrófico
AINEs - Anti-inflamatórios Não Esteróides
COX - 3 - Enzima Ciclooxigenase 3
COX- 1 - Enzima Ciclooxigenase 1
COX- 2 - Enzima Ciclooxigenase 2
CSS - Corticosteróides Circulantes
FDA - Food and Drug Administration
GH – Hormônio do Crescimento
GLUT-4 – Transportador de Glicose tipo 4
HDL – Colesterol HDL
HPA- Hipotálamo-hipófise Adrenal
IASP – Associação Internacional para Estudo da Dor
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC – Índice de Massa Corporal
MDD - Transtorno Depressivo Maior
MSG – Glutamato Monossódico
NMDA - Receptores Glutamatérgicos
OMS – Organização Mundial da Saúde
POF - Pesquisa de Orçamento Familiar
TNFα – Fator de Necrose Tumoral
VLDL- Colesterol VLDL
WHO - World Health Organization
κOP2 -Receptores Opioides kappa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Obesidade.....	13
1.1.2 Tratamento Farmacológico da Obesidade.....	15
1.1.3 Doenças associadas e Comorbidades.....	15
1.2 Depressão.....	16
1.2.1 Tratamento Farmacológico da Depressão.....	17
1.2.2 Depressão e Obesidade.....	18
1.3 Dor	18
1.3.1 Tratamento Farmacológico da Dor.....	20
1.3.2 Obesidade e dor.....	21
1.4 Inter-relações entre Dor, Depressão e Obesidade.....	22
1.5 Modelos de Indução da Obesidade.....	23
2.Objetivos	25
2.1 Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivo Específico.....	25
3 Artigo Científico.....	26
3.1 INTRODUCTION.....	26
3.2 MATERIAL AND METHODS.....	28
3.2.1 Animals.....	28
3.2.2 Induction of obesity.....	28
3.2.3 Serum lipid profile and blood glucose.....	28
3.2.4 Biofysical Analysis.....	29
3.2.5 Randall Selitto test.....	29
3.2.7 Open Field test.....	29
3.2.8 Forced Swimming Test (FST).....	30
3.2.9 Experimental procedures.....	30
3.3 Statistical Analysis.....	30
4 Results.....	31
4.1 Biophysical parameters.....	31
4.2 Biochemical profile.....	31
4.3 Behavioral Analysis.....	32
4.3.1 Forced Swimming Test.....	32
4.3.2 Randall Sellitto.....	32

4.3.3 Open Field.....	33
5 Discussion	33
Acknowledgements.....	36
REFERENCES.....	37
FIGURE CAPTIONS.....	45
FIGURE 1.....	46
FIGURE 2.....	47
FIGURE 3.....	48
FIGURE 4.....	49
TABELA 1.....	50
TABELA 2.....	51
HIGHLIGHTS.....	52
CONCLUSIONS.....	53
REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica que repercute sobre a qualidade e expectativa de vida, sendo responsável por elevado ônus social e econômico devido às patologias associadas, como diabetes, doenças cardiovasculares, hipertensão, distúrbios reprodutivos em mulheres, alguns tipos de câncer e problemas respiratórios. Trata-se de um distúrbio que, além dos problemas de natureza estética e psicológica, constitui um importante risco para a saúde, e quando não corrigido, danifica o coração, as artérias (sobretudo as coronárias), o fígado, as articulações e o sistema endócrino. A obesidade pode ser causa de dor e sofrimento, provoca depressão e comportamento de esquivas social, prejudicando a qualidade de vida das pessoas.

A obesidade constitui um problema sério de saúde pública, sua prevalência cresceu de forma acentuada nas últimas décadas, alguns especialistas a caracterizam de forma epidêmica, o que a torna um assunto universalmente relevante.

A escolha desse tema se deu devido a preocupação com o aumento dos índices de sobrepeso e obesidade, no mundo e no Brasil, obesidade essa que provém de uma alimentação inadequada, rica em glutamato monossódico, e a falta de atividade física, motivos nos quais levam a questionar sobre a qualidade de vida destes indivíduos.

1.1 OBESIDADE

A obesidade é uma doença multifatorial complexa caracterizada por desequilíbrios bioquímicos e metabólicos, devido ao excesso de tecido adiposo com consequente ganho de peso (WHO, 2014). É uma epidemia global crescente, e um dos principais contribuintes para a carga de doenças, além de estar associada a diversas comorbidades (KAKKAR & DAHIYA, 2015).

Para diagnóstico da obesidade em adultos o parâmetro internacional utilizado é o IMC (Índice de Massa Corporal), calculado dividindo-se o peso do paciente (em quilogramas) pelo quadrado da altura (em metros). A classificação internacional entre o índice de massa corpórea são classificadas de acordo com o IMC correspondente (OMS, 2014, WHO, 2004), conforme tabela 1.

Tabela 1. Relação entre o índice de massa corpórea (IMC; Kg/m²) e a classificação internacional do IMC em adultos, adaptada World Health Organization, 1995, WHO, 2000 and WHO, 2004.

CLASSIFICAÇÃO	IMC (Kg/m²)
Abaixo do peso	Abaixo de 18,50
Peso normal	18,5- 24,9
Sobrepeso	≥25
Obeso	≥30 – 39,9
Obeso mórbido	≥40

Adaptada: World Health Organization, 1995, WHO, 2000 and WHO, 2004.

Está previsto para 2050 que cerca de 60% dos homens, 50% das mulheres e 25% das crianças com menos de 16 anos de idade sejam obesos (FORESIGHT et al., 2014; KAKKAR & DAHIYA, 2015).

Em dados recentes de prevalência estima-se que mais de um terço dos adultos e 17% dos jovens (com idade entre 2-19 anos) nos Estados Unidos sejam obesos (OGDEN et al., 2014). No Reino Unido, entre 1993 e 2011, a proporção de indivíduos com sobrepeso, incluindo obesos, aumentou de 58% para 65% nos homens e de 49% para 58% em mulheres. (CHOICES, 2014; KAKKAR & DAHIYA, 2015). Já em países em desenvolvimento o número de adultos com sobrepeso e obesidade mais do que triplicou entre 1980 e 2008, atingindo mais de 900 milhões de pessoas (OVERWEIGHT, 2014).

No Brasil, a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF, 2014) recentemente divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2014) mostrou que o índice de sobrepeso atinge mais de 30% das crianças entre 5 e 9 anos de idade, cerca de 20% da população entre 10 e 19 anos e aproximadamente metade dos homens e mulheres acima de 20 anos. Interessante notar que entre os 20% mais ricos, o excesso de peso chega a 61,8% na população com mais de 20 anos, além de ser o grupo com maior percentual de obesos: 16,9%. São números que dão ao fenômeno contornos de epidemia. Mantido o ritmo atual de crescimento do número de pessoas acima do peso no Brasil, em dez anos elas serão 30% da população, padrão idêntico ao encontrado nos Estados Unidos, onde a obesidade já se constitui em sério problema de saúde pública (KAKKAR & DAHIYA, 2015).

1.1.2 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA OBESIDADE

A obesidade, como doença poligênica e multifatorial, não possui tratamento único. Dieta, atividade física, tratamento medicamentoso, cirúrgico e psicológico compõem, dentre outros, os procedimentos requeridos para redução do peso (ALSALEH et al., 2012).

A farmacoterapia para a obesidade é indicada quando: o IMC encontra-se superior a 30 kg/m², ou maior que 25 kg/m² e associado a doenças relacionadas ao excesso de peso, ou situações nas quais o tratamento com dieta, atividade física e modificações comportamentais não foi bem-sucedido (WHO, 2014). Nestes casos, o tratamento farmacológico inclui agentes envolvidos no mecanismo de controle da ingestão (inibidores de apetite), agentes relacionados ao desvio do metabolismo normal de nutrientes, ou reguladores do dispêndio de energia (MANCINI et al., 2006). O tratamento da obesidade por meio de dietoterapia também se faz possível, uma vez que a natureza dos nutrientes influencia e pode contribuir para as comorbidades da obesidade (FERREIRA et al., 2010).

Segundo Kakkar & Dahiya, 2015, entre os fármacos antiobesidade atualmente aprovados está o orlistat (inibidor seletivo das lipases gastrointestinais), aprovado em 1999, e depois de uma década duas novas terapias foram aprovadas, o lorcaserina e associação de fentermina/topiramato (anticonvulsivante). Em 2014, o FDA aprovou a combinação de bupropiona (antidepressivo atípico)/naltrexona (antagonista opioide) como opção para o tratamento da obesidade (KAKKAR & DAHIYA, 2015).

Outro agente antiobesidade utilizado é a sibutramina, disponível na prática clínica há cerca de uma década (COUTINHO et al., 2009). A sibutramina bloqueia a recaptação de noradrenalina e serotonina, reduzindo a ingestão de alimentos e também estimulando a termogênese no tecido adiposo marrom em animais (STOCK, 1999).

1.1.3 DOENÇAS ASSOCIADAS E COMORBIDADES

O acúmulo de tecido adiposo, principalmente visceral pode estar relacionado ao aumento do surgimento de outras doenças como hipertensão arterial, dislipidemias, aterosclerose, problemas do sistema respiratório, alguns tipos de câncer (mama, útero, próstata, esôfago, estômago e intestino), associada ao sistema osteoarticular (osteoartrose e deformidades ósseas), sistema endócrino (resistência a insulina, diabetes

tipo 2, gota, diminuição da fertilidade em homens e mulheres) e sistema digestivo (refluxo, gastro-esôfago e hérnia) (ARRANZ et al., 2014). outras doenças cardiovasculares e doenças metabólicas como diabetes *mellitus* (HERMSDORFF, 2004, FANTUZZI et al., 2007 e BAYS et al., 2008), vide Fig. 1.

Além disso, e de especial importância para este estudo, a obesidade está relacionada a diferentes comorbidades como depressão (MANSUR et al., 2015) e dor crônica (ZDZIARSKI et al., 2015).



Figura 1. Como a obesidade afeta o organismo (adaptada da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2015).

1.2. DEPRESSÃO

A depressão é uma doença grave, caracterizada por alteração no humor, anedonia (perda do interesse em atividades prazerosas), tristeza, sensação de desespero e dificuldade em expressar sentimentos, assim como distúrbios do sono (hiposonia ou hipersonia). Outros sintomas incluem a transtornos alimentares, distúrbios digestivos, perda de desejo sexual (libido), fadiga e perda de energia, e está associada a consequências graves, incluindo o suicídio e o aumento do risco de eventos cardiovasculares (ZARATE et al., 2013). A depressão pode impactar de forma negativa a vida das pessoas provocando incapacidades apresentando como consequência ausência

no dia de trabalho, podendo ser analisada sobre a perspectiva de saúde pública (EVERSON et al., 2002; ATLANTIS e SULLIVAN, 2012; KEMP et al, 2014).

Existem diferentes teorias acerca da instalação do quadro depressivo, sendo anormalidades no funcionamento de estruturas do sistema límbico, acompanhadas de redução na sinalização e esgotamento de monoaminas, principalmente de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), uma das mais aceitas (MEYER et al., 2006). Por outro lado, a depressão também pode estar associada com a desregulação do eixo HPA, que se manifesta pela elevação de glicocorticoides na circulação (GE et al, 2013;. GOLD e CHROUSOS, 1999; KOSTOWSKI, 1985). A hiperatividade do eixo HPA na depressão está relacionada com a deficiência no mecanismo de *feedback* inibitório pelos hormônios endógenos corticosterona e adrenocorticotrófico (ACTH), que são os hormônios mais comumente alterados em pacientes depressivos e modelos de depressão em animais (ODIO e BRODISH, 1990).

1.2.1 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA DEPRESSÃO

O tratamento da depressão deve ser realizado de uma forma globalizada, considerando os aspectos biológicos, psicológicos e sociais do paciente. A conduta de escolha de tratamento deve ser personalizada e individualizada, sendo a intensidade e frequência dos episódios depressivos fatores essenciais para orientar a prescrição profilática de antidepressivos (SOUZA, 1999).

Os antidepressivos produzem, em média, melhora de 60% a 70% dos sintomas depressivos no prazo de um mês (QUITRKIN et al., 1984, KATZ et al., 1987). A classificação mais usada dos antidepressivos tem sido baseada no neurotransmissor/receptor envolvido em seu mecanismo de ação, sendo as principais classes disponíveis os tricíclicos (amitriptilina, clomipramina, imipramina, maprotilina, nortriptilina), inibidores seletivos de recaptção de serotonina - ISRS (citalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina), inibidores da MAO (moclobemida, tranilcipromina), inibidores não seletivos da serotonina (venlafaxina) e antagonista dos receptores pré-sinápticos α 2-adrenérgicos e bloqueio de receptores polissinápticos de serotonina (mirtazapina).

1.2.3 DEPRESSÃO E OBESIDADE

A inter-relação entre o desenvolvimento de transtornos de humor e obesidade tem sido amplamente observada, sendo descrito que indivíduos que apresentam transtorno depressivo maior (MDD) têm risco aproximadamente 50% maior de desenvolver obesidade, se comparados com a população em geral (BLAINE, 2008; LUPPINO et al, 2010; TOUPS et al, 2013). Por outro lado, o excesso de peso e obesidade tem sido relacionado com maior chance de aparecimento de sintomas depressivos significativos (MATHER et al, 2009; VOGELZANGS et al, 2012; VANNUCCHI et al, 2014; MANSUR et al., 2015).

Estudos epidemiológicos longitudinais e clínicos têm relatado que estas doenças se influenciam mutuamente em apresentação, trajetória e evolução. Portanto, uma relação bidirecional convergente seria uma descrição mais precisa. Com base nesses achados, alguns autores propuseram que esta ocorrência constitui um subtipo distinto da doença, a “*metabolic-mood syndrome*” (MCINTYRE et al, 2007; VOGELZANGS et al, 2011; LEVITAN et al., 2012, MANSUR et al., 2015). Outros estudos relatam que os pacientes obesos apresentam maior desenvolvimento da síndrome metabólica (SILAROVA et al., 2015).

Considerando o alto impacto dos transtornos de humor e de obesidade em incapacidade e morbidade, a ocorrência dessas condições torna-se relevante a partir de uma perspectiva de saúde pública (EVERSON et al., 2002; ATLANTIS e SULLIVAN, 2012; KEMP et al, 2014).

1.3 DOR

A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) define o conceito de dor como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, descrita em termos que sugerem tal dano” (LOESER & TREEDE, 2008). A dor tem propósito inicialmente homeostático, adaptativo (LE BARS et al., 2001, VERRI et al., 2006), sendo essencial para a sobrevivência dos indivíduos, por impedir que estímulos nocivos atinjam órgãos e tecidos (LOESER & TREEDE, 2008, JULIUS & BASBAUM, 2001).

Neste sentido, a nocicepção, ou componente sensorial da sensação dolorosa, é compreendida como “processo neural de codificação e processamento de um estímulo nocivo” (IASP, 2008). A dor aguda, ou nociceptiva, é originada através da ativação dos nociceptores, neurônios especializados para a detecção de tais estímulos nocivos, os quais estão localizados especialmente na pele, mas também em outros locais como vísceras, músculos, ossos, entre outros (MILLAN, 1999, LOESER & TREEDE, 2008, SCHOLZ & WOOLF, 2002).

Uma vez que a função fisiológica da dor decorre da percepção de estímulos potencialmente lesivos, sua conclusão está atrelada à remissão da lesão, sendo esta a situação comum. No entanto, há casos em que mesmo após o término do estímulo, a dor persiste (SCHOLZ & WOOLF, 2002). Na dor crônica não há uma relação direta entre dor e estímulo, não havendo necessariamente lesão tecidual. Esta alteração na via normal de transdução da sensação dolorosa é resultado de adaptações no organismo, que ocorrem tanto a nível medular quanto encefálico (JULIUS & BASBAUM, 2001), assim como fatores psicológicos e sociais (KENDALL, 1999).

De outro modo, a dor crônica pode também ser resultante de uma ou mais doenças crônicas subjacentes, em que há persistência do processo nociceptivo, o qual pode ser acompanhado por desregulação neuroendócrina, fadiga, disforia e até mesmo do desempenho mental (CHAPMAN, 1999).

São características da dor crônica a alodinia e a hiperalgesia (MARVIZON et al., 2015). A alodinia é caracterizada pela percepção dolorosa de estímulos normalmente considerados inócuos, ou não nocivos (IASP, 2008). Já a hiperalgesia caracteriza-se pelo aumento da sensibilidade a estímulos anteriormente considerados dolorosos (LOESER & TREEDE, 2008). Em ambos os processos, os nociceptores tem sua responsividade aumentada devido à sensibilização periférica, de forma que podem deflagrar facilmente um potencial de ação ao permitir a entrada de íons sódio, provocando a diminuição do limiar nociceptivo, causando um aumento da intensidade de resposta à dor (MILLAN, 1999; LOESER & TREEDE, 2008; SCHOLZ & WOOLF, 2002).

Por isso, a dor crônica, muito mais do que a dor aguda, continua sendo um grande desafio clínico, pois frequentemente os tratamentos são inefetivos ou limitados por efeitos colaterais indesejáveis (LEVINSON et al., 2012).

1.3.1 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA DOR

A OMS propõe o tratamento da dor baseado em uma escada de três degraus de acordo com a intensidade de dor que o paciente apresenta. O primeiro degrau recomenda o uso de medicamentos analgésicos simples e antiinflamatórios para dores fracas. O segundo degrau sugere opioides fracos, que podem ser associados aos analgésicos simples ou antiinflamatórios do primeiro degrau, para dores moderadas e finalmente, o terceiro degrau consta de opioides fortes, associados ou não aos analgésicos simples ou antiinflamatórios, para dores fortes. Os adjuvantes podem ser usados nos três degraus da escada. A escada de três degraus indica classes de medicamentos e não fármacos específicos, proporcionando ao médico flexibilidade e possibilidade de adaptação de acordo com as particularidades de seu paciente, vide figura 2.

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) continuam sendo a principal ferramenta no tratamento da dor crônica. Acredita-se que os efeitos analgésicos destes fármacos deve-se à sua habilidade em inibir a atividade da ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase e prevenindo a síntese das prostaglandinas e a sensibilização de nociceptores periféricos. Existem dois tipos principais de COX: a COX-1 e COX-2, presentes na maioria dos tecidos. Existem também relatos da existência de um terceiro tipo de COX (COX-3), presente principalmente no córtex cerebral, que é inibida seletivamente por drogas analgésicas e antipiréticas, como a dipirona e o acetaminofeno. A ação dos AINE é dose /resposta limitada (efeito teto), ou seja, a sua administração em doses superiores às recomendadas não proporciona analgesia suplementar, aumentando a incidência de efeitos colaterais (LAMONT e TRANQUILLI, 2000; OLIVEIRA FILHO, 2006). Já os glicocorticoides inibem as ciclooxigenases e as colagenases provocando aumento da síntese do mediador anexina-1 com propriedades imunossupressoras devido sua ação nas enzimas fosfolipases A2 (essas enzimas atuam sobre o fosfolípido) produzindo ácido araquidônico e conseqüentemente produzem diminuição de seus metabólitos (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos), diminuem a expressão de interleucinas e TNF α e parecem estar envolvidos na diminuição da resposta dolorosa em processos autoimunes (LAMONT e TRANQUILLI, 2000).

Os opioides são um grupo de fármacos naturais ou sintéticos amplamente utilizados no manejo de dor pós-operatória e em processos oncológicos. Receptores opioides específicos estão localizados na periferia, medula espinhal e estruturas supra-

espinhais, sendo os receptores μ (OP3) e κ (OP2) os de maior importância clínica reforçando a ação fisiológica das endorfinas e das vias inibitórias noradrenérgicas e serotoninérgicas. A eficácia analgésica dos opioides pode variar segundo a característica, duração e intensidade do estímulo; dosagem e espécie. Os opioides bloqueiam a transmissão periférica e central da via nociceptiva aferente e por isso, tornam-se bastante eficientes no tratamento da dor inflamatória aguda. No entanto, eles não são igualmente eficazes para todo tipo de dor como, por exemplo, a dor neuropática que possui uma resposta pobre ou de curta duração aos opioides (RIBEIRO et al., 2002, BASSANEZI e OLIVEIRA FILHO, 2006).

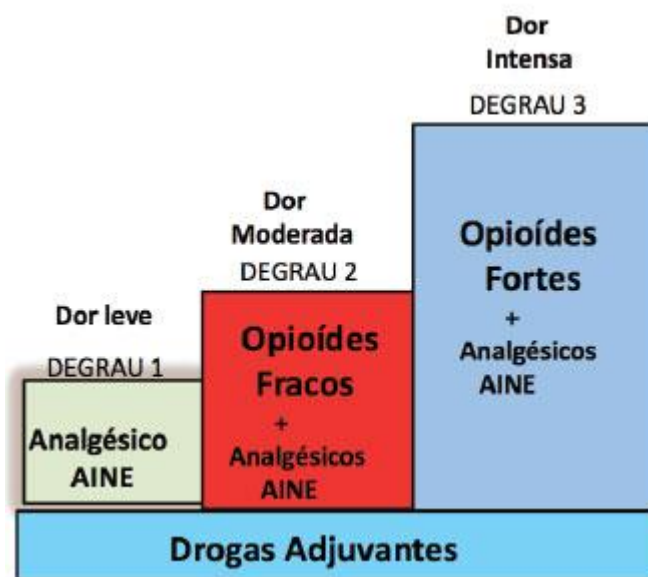


Figura 2 – Escada Analgésica da OMS.

1.3.2 OBESIDADE E DOR

A obesidade está associada com o aumento da dor (STONE e BRODERICK, 2012). A coocorrência entre dor e obesidade tem um impacto negativo sobre a qualidade de vida, diminui a resposta ao tratamento, aumenta a dependência funcional, provocando maior utilização dos serviços de saúde gerando maior ônus para o sistema (HEO et al., 2003, JANKE et al., 2007, GLYNN et al., 2011, SMITH et al., 2014). Pacientes obesos relatam experiência de dor diária em proporção mais elevada do que os pacientes de peso normal (STONE e BRODERICK, 2012). Em uma pesquisa realizada em um milhão

de americanos as taxas de dor foram de 68% a 254% maiores em indivíduos obesos em comparação aos não obesos (STONE e BRODERICK, 2012). Segundo alguns autores a relação entre a dor e a obesidade pode ser considerada como bi-direcional (JANKE e KOZAK, 2012).

Entre os vários mecanismos potenciais que podem mediar as relações entre dor crônica e obesidade (BUTTERWORTH et al., 2013) estão: carregamento mecânico (MESSIER et al., 2005), inflamação (KAUR, 2014) e status psicológico (HITT et al., 2007, MARCUS, 2004). Além disso, a obesidade está associada a diversas alterações psicológicas negativas que incluem dor e medo do movimento devido à dor. Recentemente, tem sido sugerido que existe uma inter-relação entre a carga mecânica, dor crônica, inflamação e status psicológico (VINCENT et al., 2013, SEAMAN, 2013).

1.4 INTER-RELAÇÕES ENTRE DOR E DEPRESSÃO

É possível afirmar que depressão e dor crônica se correlacionam, uma vez que a taxa de depressão é maior em pacientes que sofrem de dor crônica, em relação a população em geral (ATLANTIS & SULLIVANI., 1992), assim como a depressão aumenta significativamente o risco de desenvolvimento deste tipo de dor (VON KORFF; SIMON 1996). Assim, de importância para este estudo, esta proposição de uma possível correlação entre dor e depressão estabelece uma tríade entre obesidade, dor e depressão (figura 2), na qual os três fatores influenciam-se entre si quanto à intensidade, prevalência, gravidade e morbidade.

Portanto, parece plausível sugerir que a obesidade, a dor e a depressão possam compartilhar mecanismos patofisiológicos similares, cujo entendimento pode promover a melhora do tratamento destas patologias. Neste sentido, alguns modelos animais preditivos de obesidade vem sendo propostos, os quais serão abordados a seguir.

Obesidade X Depressão X Dor

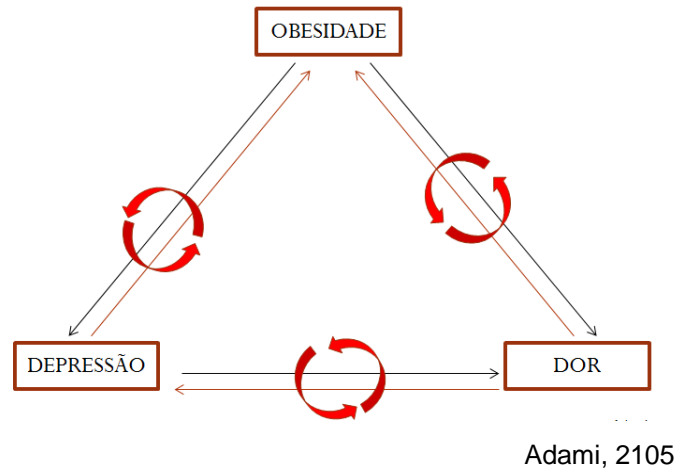


Figura 3 - Relação bidirecional entre obesidade, depressão e dor (Adami, 2015).

1.5 MODELOS DE INDUÇÃO DE OBESIDADE

A maioria dos casos de obesidade é causada pela combinação de estilo de vida sedentário, variabilidade biológica adicionada às influências sociais e ambientais (KRAUSS et al., 1998) e hábitos alimentares ruins. A pesquisa de orçamento familiar utilizando dados do IBGE de 2008/2009 mostrou que as famílias estão gradualmente substituindo a alimentação tradicional por bebidas e alimentos industrializados, em geral mais calóricos e, em muitos casos, menos nutritivos (IBGE, 2014), muitas vezes ricos em MSG (INSAWANG et al., 2012). O MSG é um aminoácido não essencial derivado do ácido glutâmico (EGBUONU, 2012) responsável por realçar o sabor dos alimentos utilizado pela indústria alimentícia.

Diante dessa preocupação, pesquisadores tem desenvolvido modelos experimentais de obesidade para melhor compreender esta patologia (KANASAKI et al., 2011). Entre os modelos de obesidade, um preditivo e de baixo custo, é o da indução de obesidade pela administração neonatal de MSG, que como mencionado acima é largamente utilizado como um aditivo alimentar. No entanto, a segurança no uso de MSG tem gerado preocupação. Pesquisas recentes têm demonstrado que a exposição ao MSG provoca mudanças nos produtos metabólicos, o que pode resultar em graves distúrbios

em animais e seres humanos (DINIZ et al.; 2005;. INSAWANG et al, 2012.; ROTIMI et al., 2012).

Em modelos animais o tratamento neonatal de injeções subcutâneas de MSG, induz obesidade neuroendócrina através da lesão hipotalâmica (NAKAYAMA et al., 2003; XU et al., 2007; QUINES et al.; 2014), resultando em acúmulo de tecido adiposo, intolerância à glicose, hiperinsulinemia e resistência à insulina (BALBO et al., 2007). Tem sido relatado que a obesidade não é acompanhada por hiperfagia (MARTINS et al., 2004). Além disso, no hipocampo provoca degeneração das células piramidais CA1, o que foi associado com a dificuldade de aprendizagem (ISHIKAWA et al., 1997).

Os animais MSG, são normofágicos, apresentam menor produção de GH (hormônio do crescimento), hipercorticosteronemia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia, resistência à insulina, menor atividade da proteína translocadora de glicose GLUT-4, menor atividade do tecido adiposo marrom e maior deposição de gordura visceral (HIRATA et al, 1997).

Diante do exposto, o estudo buscou caracterizar alterações comportamentais relacionadas à dor e depressão.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar alterações comportamentais relacionados à dor e depressão em modelo de obesidade induzido por glutamato monossódico.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Padronizar o modelo de obesidade induzido por MSG através da avaliação de características:

- ✓ Biofísicas (medidas de evolução da massa corpórea, circunferência abdominal, distância nasoanal, cálculo do índice de Lee e gordura visceral);
- ✓ Bioquímicas (medidas de glicose, colesterol total, frações e triglicerídeos séricos);

2) Avaliar se as alterações induzidas pelo tratamento com MSG alteram o comportamento relacionado à dor e depressão;

3) Avaliar a influência do gênero nestes parâmetros (bioquímicos, biofísicos e comportamentais).

3. ARTIGO CIENTÍFICO

Characterization of nociceptive and depressive-like behaviors in male and female rats with obesity induced by neonatal monosodium glutamate treatment

Eliana Rezende Adami^a, Anne Karoline Schreiber^a, Daiany Darlly Bello Redivo^a, Franciele Franco Scarante^a, Janaína Menezes Zanoveli^a, Joice Maria Cunha^{a*}.

3.1. Introduction

Obesity, a multifactorial and complex disease featured by unbalanced between biochemical and metabolic pathways, is defined by the World Health Organization as a body mass index (BMI) higher than 30 kg/m² [1]. The prevalence of obesity has been increasing in epidemic proportions, leading the prediction that, in 2050, 60% of adult men, 50% of adult women and 25% of children less than 16 years of age will be obese [2,3]. Maintaining the current rate of growth, the ratio of obesity in ten years tends to reach 30% of the Brazilian population, a pattern similar to that found in the USA, where obesity has already constituted a serious public health problem. To make it worse, obesity is also considered a major risk factor for several debilitating conditions, such as hypertension, stroke, heart disease, dyslipidemia, respiratory disorders, certain neoplasias and type 2 diabetes (DM2) [3,4].

The obesity has been also linked to different and more complicated clinical presentation of co-morbidities such as depression [5] and pain [6]. For instance, individuals with major depressive disorder (MDD) have an approximately 50% higher risk of developing obesity when compared to the general population [5,7,8,9] and a higher prevalence of metabolic syndrome [10]. Likewise, the obesity has been reported to increase the risk of depressive symptoms [5,8,11,12,13] Considering the high impact of obesity and depression in disability and morbidity, the co-occurrence of these conditions is incredibly relevant from a public health perspective. Preliminary evidence indicates that a cumulative effect on the associated burden of illness may occur [14,15,16]. Moreover, it has been shown that the association of obesity and depression is not a simple

comorbidity. Epidemiological, longitudinal and clinical studies have reported that these illnesses mutually influence each other presentation, trajectory and outcome. Therefore, a bidirectional, and convergent relationship would be a more accurate description. Based on these findings, some authors have proposed that this co-occurrence constitutes a distinct illness subtype, a “metabolic mood-syndrome” [5,12,17,18].

Concerning to pain symptoms, it has been demonstrated that chronic pain and obesity are also highly prevalent, being frequent comorbid conditions [19]. In fact, the co-occurrence of pain and obesity may have a negative impact on disability, quality of life, responsiveness to treatment, functional dependence, health care utilization and cost [20,21,22,23]. It seems that similar to the depression, the relationship between pain and obesity is also bi-directional [24]. Indeed, self-reported pain symptoms increase with progressively higher BMI values [25].

Currently, the development of obesity has been increasingly associated with the incorrect food intake habits and reduced physical activity. Epidemiological data indicate that families are gradually replacing the traditional healthy foods for more caloric and less nutritious drinks and processed aliments rich in monosodium glutamate (MSG) [26].

Based on the above, the primary aim of this study was to characterize the nociceptive response and depressive-like behaviors in an animal model of obesity induced by neonatal treatment with MSG. For comparative purposes, rats of both genders were tested and to better understand the interrelations among obesity, depression and pain, these behavioral analyses were evaluated in the same experimental groups. In addition, biophysical and biochemical parameters of obesity in rats were also evaluated or calculated.

It is important to highlight that it has been described in the literature that this model, the MSG-induced obesity mimics, at least in part, the clinical condition of obesity [27], inducing a significant increase of corticosterone production [28], glucose intolerance, insulin resistance, hyperinsulinemia, increased deposition of visceral fat [29,30], and also behavioral alterations such as depression [28] and pain [31]. However, to our knowledge, there is no study that evaluates these changes for a period greater than 60 days of concomitantly in the experimental groups, comparing the responses between males and females, which we believed is the differential of our study.

3.2. Materials and Methods

3.2.1. Animals

Litters of Wistar rats (male and female) produced at the Federal University of Paraná breeding colony were divided into two experimental groups (saline or MSG-treated) of 8 to 11 pups each group. During the first 21 days of life, the rats were breastfed and, after weaning, they were kept in plastic cages (41 x 32 x 16.5 cm) with maximally 5 animals per cage and under controlled conditions of temperature ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) and light/dark cycle of 12h with free access to food and water. All experiments were approved by the Ethics Committee on Animal Use of Biological Sciences Division of the Federal University of Paraná (CEUA / BIO - UFPR; approval ID: #779) and conducted in accordance with the current guidelines for the care of laboratory animals and ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals [32].

3.2.2. Induction of obesity

Obesity was induced in both male and female Wistar rats by daily subcutaneous administration of monosodium glutamate (MSG; 4 mg/g; s.c, Santa Cruz Biotechnology Inc.) between the first and fifth day of extra-uterine life. Control rats received a subcutaneous injection of an equivalent volume of saline during the same period. Obesity condition was characterized by the increase of Lee Index [33], increase deposition of visceral fat [34] and increase of total cholesterol, VLDL cholesterol and triglycerides [35]. Decrease of nasoanal distance [36,37,38] and the increase of abdominal circumference were also evaluated as additional obesity parameters in rats [33]. The doses and treatment schedules were based on preliminary tests in our laboratory and on previous studies [39,40,41].

3.2.3. Serum lipid profile and blood glucose

At different time points after saline or MSG treatment (please see Figure 1), the blood samples were collected for the following laboratory tests: fasting blood glucose, total cholesterol, VLDL cholesterol, HDL cholesterol and triglyceride. The fasting blood glucose

was measured by a strip operated reflectance meter (Accu-Chek Advantage®) in a blood sample obtained by tail prick. Triglyceride, total cholesterol and fractions were determined accordingly to the manufacturer's instructions (In vitro Kovalente, São Gonçalo, RJ, Brazil) through an automated methodology for the BS-200 Mindray device. The time points of 90th and 120th days were adopted for blood collection and measurement of serum lipid profile according to previous studies [34,35].

3.2.4 Biophysical analysis

At different time points (as indicated in the figure 1), the four experimental groups (male treated with saline – M SAL, male treated with MSG – M MSG, female treated with saline – F SAL and female treated with MSG – F MSG) were submitted to body measurements that include: nasoanal (nose to base of tail) length [36], abdominal circumference [33] and the body mass. Then, the Lee Index was calculated using the following formula: $[(\text{body weight})^{1/3}/(\text{nasoanal length})](1000)$, according Bernardis and Patterson [42]. At the end of the experiments, the fat visceral was properly removed and weighed after the euthanasia by decapitation of animals.

3.2.5. Randall-Selitto test

Mechanical hyperalgesia was evaluated using the Randall-Selitto device (Ugo-Basile, Verase, Italy). Briefly, progressively increasing pressure was applied to the dorsal portion of the one of the rats' hind paws. The mechanical nociceptive threshold was defined as the force in grams at which point the rat withdrew its paw. The nociceptive threshold was measured in triplicate and the mean was used for statistical purposes. The maximum force applied was set at 250 g to prevent tissue injury [43].

3.2.6. Open-field test

The open-field test was conducted according to Candland et al., [44]. Briefly, animals were placed in the center of a rectangular arena (40 cm × 50 cm × 63 cm) with a floor divided into 6 rectangular units. The exploratory activity was measured quantifying the squares crossed with all four paws during five minutes.

3.2.7. Forced swimming test

The forced swimming test (FST) was performed as previously described by Porsolt et al., [45], with minor modifications. The test was conducted in two sessions. First, in the pre-test session, the rats were placed individually to swim during 15 minutes in a tank (30 cm × 40 cm height) containing 25 cm of water at $24 \pm 1^\circ\text{C}$. After twenty-four hours, the animals were then submitted to the 5 minute test session of forced swim. This second session was recorded for the quantification of the total time of immobility (except the small movement necessary to float) and the latency for the presentation of the first immobility episode. After each session (pre-test and test session), the animals were removed and allowed to dry in a separate cage before being returned to their home cages.

3.2.8. Experimental procedures

The behavioral (Randall-Selitto, forced swimming and open field tests), biophysical (body mass, nasoanal length, abdominal circumference, LEE index and visceral fat), lipid profile and blood glucose measurements were performed according to the time points shown in the figure 1. It is important to point out that the lipid profile and visceral fat were assessed only at 120 days in saline control animals, since the evaluation of these parameters was possible only through euthanasia of animals. Following the ethical principle of reduction, the values obtained in samples from animals treated with MSG were then compared to these values for statistical purposes.

3.2.9. Statistical Analysis

All data are presented as mean \pm standard error of mean (SEM) for groups with 8 to 12 animals. One or two-way analysis of variance (ANOVA) with or without repeated measures was performed when appropriated. Newman-Keuls or Bonferroni *post-hoc* test was performed when ANOVA pointed significant difference between the factors (treatment - MSG or vehicle; and gender- male and female). The level of significance was set as $p < 0.05$. The tests were carried out using the STATISTICA program (version 5.1, Stat Soft, Inc., Tulsa, OK, USA) or GraphPad Prism program (version 5, San Diego, CA, USA).

4. Results

4.1. Biophysical parameters

As shown in figure 2 (panel A), two-way ANOVA with repeated measures showed an interaction between gender and treatment factors on body mass parameter [$F(6,168)=8.78$; $p<0.05$]. Newman-Keuls *post hoc* test showed that the group treated with MSG showed a significantly lower body weight when compared to the control group treated with saline at 60th, 90th and 120th day ($p<0.05$).

Regarding to the nasoanal length (figure 2, panel B), two-way ANOVA with repeated measures showed an interaction effect between gender and treatment factors [$F(3,84) = 34.84$; $p<0.05$]. Newman-Keuls *post hoc* test showed that MSG animals had a significant decrease of the nasoanal length when compared to control group at 60th, 90th and 120th days ($p<0.05$).

The body mass and nasoanal length were then used to calculate the Lee index. One-way ANOVA showed that MSG rats had a significant increase in Lee Index when compared to the control groups at 60th, 90th and 120th days (figure 2, panel C, $p<0.05$). Only for the 120th days, Newman-Keuls *post hoc* test showed that F MSG animals had a greater Lee Index than M MSG ($p<0.05$).

One-way ANOVA showed that MSG rats had a significant increase of abdominal circumference when compared to the control groups at 60th, 90th and 120th days ($p<0.05$). Newman-Keuls *post hoc* test showed that M MSG animals had a higher abdominal circumference than F MSG in all evaluated time points (figure 2, panel D).

Finally, one way ANOVA showed that rats treated with MSG had a significant increase in visceral fat when compared to the control group at 90th and 120th days (figure 2, panel E, $p<0.05$).

4.2. Biochemical profile

As shown in Table 1, two-way ANOVA demonstrated significant difference for the factor experimental group in the following parameters: total cholesterol [$F(2,44) = 22.09$; $p<0.05$], VLDL cholesterol [$F(2,48) = 32.99$; $p<0.05$] and triglyceride levels [$F(2,48) = 61.26$; $p<0.05$]. Only for the total cholesterol, two-way ANOVA showed a significant effect on the factor gender [$F(1, 44) = 25.19$; $p<0.05$] but not the interaction between the experimental group and gender. The MSG treated rats did not exhibit a significant

difference, neither in the HDL cholesterol nor in the blood glucose levels at the time points of 90th or 120th days when compared to saline-treated animals.

4.3 Behavioral Analysis

4.3.1 Forced Swimming Test

As shown in figure 3 (panel A, B e C), two-way ANOVA indicated a significant effect of the treatment on the immobility time of animals in the time points evaluated in the FST (day 60 [F(1,20) = 11.29; p<0.05]; [day 90 [F(1,19) = 6.55; p<0.05] and day 120 [F(1,19) = 28.24; p<0.05]). Independent of the gender, the treatment with MSG in rats induced an augmentation of the immobility time (p<0.05), except for the female MSG group on the 60th day. Regarding on the latency for the first immobility episode (figure 3; panels D, E and F), two-way ANOVA showed only a significant effect of treatment on the 90th ([F(1,17) = 13.84; p<0.05]) and 120th days ([F(1,20) = 30.09; p<0.05]), but not on day 60 ([F(1,20) = 37.74; p>0.05]). Newman–Keuls *post hoc* test showed that MSG animals exhibited a decrease in the latency for a first immobility episode in comparison to the control animals on the 90th and the 120th day (p<0.05).

Although both the immobility time and the latency to the first immobility have been assessed at the time point of 30 days, no statistical difference between the control and MSG-treated animals (both genders) was observed in these parameters in this time point (data not shown).

4.3.2 Randall Selitto

Two-way ANOVA showed a significant interaction between gender and treatment factors only on day 120: [F(1,20) = 19.88; p<0.05]. Newman–Keuls *post hoc* showed that, regardless of gender, MSG rats exhibited a significant decrease in the mechanical threshold at 60th day [F(1,20) = 11.10; p<0.05], 90th day [F(1,20) = 5.64; p<0.05] and 120th day [F(1,20) = 110.19; p<0.05]), as can be seen in the figure 4 (panels A, B and C). A lower mechanical threshold was further observed in F SAL animals when compared with M SAL at 90th and 120th days.

At time point of 30 days after MSG or saline treatment, no statistical difference between the SAL and MSG animals (both genders) was observed for the mechanical threshold (data not shown).

4.3.3. Open Field

The statistical analysis of the number of crossings in the open field test revealed no significant difference between saline- and MSG-treated animals (both genders) in this parameter at the time points of the 30th (data not shown), 60th, 90th and 120th day (see Table 2).

5. Discussion

Corroborating previous data [35], our results showed that the neonatal treatment with monosodium glutamate (MSG) induced obesity accompanied by an increase in serum total cholesterol, VLDL cholesterol and triglycerides, with no changes in blood glucose. Interestingly, for the first time in the literature, it was demonstrated in the same animal that MSG treatment induced depressive-like and also nociceptive behaviors perceptible after 60 days, persisting up to the latter time point of this study (120 days).

MSG is derived of the nonessential amino acid glutamic and has the property of flavor reinforcement, which explains its widespread use as a food additive. Since the first description that treatment with MSG induces obesity [46], this model has been widely used with the purpose of deepening the knowledge of metabolic and neuroendocrine alterations related to obesity [47]. However, little is known about the behavioral changes caused by MSG neonatal treatment [28, 31], which was the central aim of this study.

It has already been described that the MSG treatment produces neuroendocrine changes due to hypothalamic injury [28], leading to the increase of adipose tissue, glucose intolerance, insulin resistance and hyperinsulinemia, also triggering the development of a metabolic disease. These consequences have led to the questioning of the safety of this salt for animal or even human use [26,48]. The MSG-obese animals are characterized by a decrease of body mass [38] and an decrease of nasoanal distance [38], and increase visceral fat [34] and Lee Index [33]. As shown in the figure 2, the MSG-treated animals of our study fulfill these obesity characteristics. More specifically, our results show that the MSG-treated rats (both male and female) had a significant decrease in body mass when

compared to the corresponding saline-treated rats. This retarded lean body mass growth observed in MSG treated rats was corroborated by previous studies [37,38] and has been associated with the impaired secretion of adenohipophysial growth hormone (GH) [36] due to neurotoxic cell destruction of the arcuate nucleus [49]. In addition, the smaller size of MSG animals might result in a decrease in the nasoanal distance, as demonstrated in the figure 2 and observed by previous studies [37,38]. Despite of that, it is possible that a reduction of body mass may result from a replacement of muscle by fat tissue in the obese animals.

The increase of total visceral fat has also been described previously [34]. The increase of the visceral fat content seen in MSG animals is consistent with recent data from the literature and can be attributed to corticosterone release and HPA axis dysregulation [28]. It was previously described that this enhanced release of glucocorticoids by HPA axis dysfunction [50] modifying metabolic responses [51], leading to fat deposition [35], impairing insulin sensitivity in adipocytes [52] and promoting the free fatty acid release from mature adipocytes [53].

Besides biophysical alterations, the rats treated with MSG in the neonatal period also developed changes in lipid profile, markedly by an increase in the total cholesterol, VLDL cholesterol and triglyceride, as previously described in the literature [35]. Conversely, when compared with the control group, neither the serum HDL cholesterol nor the blood glucose levels were significantly different in MSG-treated rats in our study. Regarding to the total cholesterol, it was also observed that the levels in female rats treated with MSG are higher than those observed in males.

In terms of behavioral changes observable in MSG-treated rats, originally it was investigated the immobility time and the latency for the first immobility during the forced swimming test (FST) as a depressive-like behaviors. The importance of studying the association between depression and obesity is reinforced by the findings that high BMI may be a predictor of poor response to the therapy with antidepressants, associating the obesity as a negative impact over treatment outcomes in mood disorders in general[5,54]. In the present study, it was observed that the MSG-treated rats exhibited an increase of the immobility time and a reduction in latency for the first episode of immobility when compared to the control group (figure 3, panels A, B, C, D, E and F), characterizing a more robust depressive-like behavior. Interestingly, a significant increase in the immobility time

was observed earlier in male MSG-treated rats (at 60th day; figure 3, panel A) while this parameter was noticeably different in MSG female rats only after 90 days (figure 3, panel B). Accordingly to previous studies, the depressive-like behaviors in MSG rats may be due to an increase in the function of the serotonergic reuptake system in the cerebral cortex or to a dysregulation of the HPA axis [28]. As described above, this HPA axis alteration induces higher levels of glucocorticoids [50], leading to fat deposition [35], more specifically visceral fat [34]. Interestingly, it is plausible to hypothesize that these raised levels of glucocorticoids may be a possible link between obesity and mood disorders, since this phenomenon has been associated with both lipolysis and mood disorders [28].

Regarding to nociceptive response, our results show that MSG-treated animals showed a significant decrease in mechanical threshold, suggesting a mechanical hyperalgesia. This result corroborates previous studies showing that MSG- treated animals exhibited mechanical allodynia (i.e. an increase of frequency of response to Von Frey hairs) and a reduction of paw withdrawal latency in hot plate test [13]. Curiously, a significant reduction of tail withdrawal latency was not observed in MSG-treated rats [31]. Conversely, previous study conducted by Badillo-Martinez et al., (1984) observed the hotplate latencies of MSG-treated rats were significantly longer when compared to control group [55]. These seemingly controversial data can be explained due to variability in the nociceptive tests applied, time points after MSG treatment, at which the tests were conducted and in experimental protocols regarding to MSG treatment. Thus, it seems to be a consensus that regarding to pain threshold, the MSG treatment may produce different effects, including onset changes appear to vary according to the nature of the nociceptive stimuli.

In an attempt to explore the possible nociceptive mechanisms associated with MSG treatment, studies suggest that the exposure to high concentrations of MSG early in life leads to excessive activation of N-Methyl-D-aspartate glutamate receptors [56], which induces cell death or cytoarchitectural changes in the hippocampal CA1 surviving neurons [57]. Since it has been described that the postnatal MSG treatment produces central nervous neurotoxic cell destruction, mainly in the arcuate nucleus and the CA1 field of hippocampus [57], it is plausible to hypothesize that an increase of glutamatergic neurotransmission within the hippocampus may be related to this late nociceptive responses in MSG-treated rats. Corroborating this hypothesis, Al Amin et al., [58] demonstrated that neonatal hippocampal lesion in rats increased the nociceptive

sensitivity in adulthood [58]. Furthermore, it has been demonstrated that glutamate activates the hippocampal pERK1/2 molecules in supraspinal nociceptive processing [59] and that hippocampal injection of MK-801, an uncompetitive antagonist of the N-Methyl-D-aspartate receptor, produces analgesia [60]. Additionally, the involvement of hippocampus in pain processing has been reported in a vast number of experimental and clinical studies [31], expanding the idea that this brain region may be associated not only to learning, memory, energy-intake regulation and reward but also in pain related mechanisms [31].

Finally, when evaluated the general locomotor activity in the open field test, the MSG-treated rats did not exhibit a significant difference in the number of crossing, suggesting that both depressive-like and nociceptive behaviors are both related to the condition of these animals, and not due to an impairment of locomotor performance.

Taken together, the results of the present study demonstrated that the neonatal administration of MSG induced obesity, characterized by a set of observations, in particular an increase of visceral fat, decrease of nasoanal distance, increase of Lee Index, increased abdominal circumference and changes in lipid profile. Similarly, the MSG group exhibited exacerbated depressive-like behaviors and mechanical hyperalgesia that persist up to 120 days after the treatment. In contrast to our initial hypothesis that there might be significant differences in behavioral terms when considering the gender of the animals, our study showed that the sex of the animals did not significantly influence the development of mechanical hyperalgesia neither the depressive-like behaviors. However, the gender of the animals has become an important factor in some characteristics of obesity as Lee Index and abdominal circumference. Finally, this study presented the basis for better understanding of the MSG model of obesity, which may in future studies provide insights for preventive and therapeutic strategies for the improvement of the quality of life of obese patients.

Acknowledgements

This study was supported by CNPq/Procad #552370/2011-8. Eliana R. Adami, and Daiany D. B. Redivo are recipients of CNPq scholarship while Anne K. Schreiber is the recipient of CAPES/REUNI scholarship. We gratefully acknowledge to M.Sc. Olair Carlos Beltrame for technical assistance during the biochemical measures.

References

- [1] WHO - World Health Organization. Obesity and overweight. Facts about overweight and obesity. Fact sheet No. 311. June 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>
- [2] Butland B, Jebb S, Kopelman P, McPherson K, Thomas S, Mardell J, Parry V. Foresight. Tackling obesity: future choices—project report. The Stationery Office. 2007.
- [3] Kakkar AK, Dahiya N. Drug treatment of obesity: Current status and future prospects. *Eur J Intern Med* 2015;26(2):89-94.
- [4] Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham C L. et al. The incidence of comorbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009; 25:9-88.
- [5] Mansur RB, Brietzke E, & McIntyre RS. Is there a “metabolic-mood syndrome”? A review of the relationship between obesity and mood disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 2015;52:89-104.
- [6] Zdziarski LA, Wasser JG, & Vincent HK. Chronic pain management in the obese patient: a focused review of key challenges and potential exercise solutions. *J Pain Res* 2015;8:63-77.
- [7] Blaine B. Does depression cause obesity? A meta-analysis of longitudinal studies of depression and weight control. *J Health Psychol* 2008;13(8):1190-7.
- [8] Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry* 2010;67(3):220-9.

- [9] Toups MS, Myers AK, Wisniewski SR, Kurian B, Morris DW, Rush AJ, Fava M, Trivedi MH. Relationship between obesity and depression: characteristics and treatment outcomes with antidepressant medication. *Psychosom Med* 2013;75(9):863-72.
- [10] Silarova B, Giltay EJ, Van Reedt Dortland A, Van Rossum EF, Hoencamp E, Penninx BW, et al. Metabolic syndrome in patients with bipolar disorder: Comparison with major depressive disorder and non-psychiatric controls. *J Psychosom Res* 2015;78(4):391-8.
- [11] Mather AA, Cox BJ, Enns MW, Sareen J. Associations of obesity with psychiatric disorders and suicidal behaviors in a nationally representative sample. *J Psychosom Res* 2009;66(4):277-85.
- [12] Vogelzangs N, Duivis HE, Beekman AT, Klufft C, Neuteboom J, Hoogendijk W, et al. Association of depressive disorders, depression characteristics and antidepressant medication with inflammation. *Transl Psychiatry* 2012;21;2:e79
- [13] Vannucchi G, Toni C, Maremmani I, Perugi G. Does obesity predict bipolarity in major depressive patients? *J Affect Disord* 2014;155:118-22.
- [14] Everson SA, Maty SC, Lynch JW, Kaplan GA. Epidemiologic evidence for the relation between socioeconomic status and depression, obesity, and diabetes. *J Psychosom Res* 2002;53(4):891-5.
- [15] Atlantis E, Sullivan T. Changes in cardiovascular disease burden associated with psychopathology in Australian adults 2004–2008. *Gen Hosp Psychiatry* 2012;34(4):345-51.
- [16] Kemp DE, Sylvia LG, Calabrese JR, Nierenberg AA, Thase ME, Reilly-Harrington NA, et al. General medical burden in bipolar disorder: findings from the LiTMUS comparative effectiveness trial. *Acta Psychiatr Scand* 2014;129(1):24-34.

- [17] McIntyre RS, Danilewitz M, Liauw SS, Kemp DE, Nguyen HT, Kahn LS. et al. Bipolar disorder and metabolic syndrome: an international perspective. *J Affect Disord.* 2010;126(3):366-87.
- [18] Levitan RD, Davis C, Kaplan AS, Arenovich T, Phillips DI, Ravindran AV. Obesity comorbidity in unipolar major depressive disorder: refining the core phenotype. *J Clin Psychiatry* 2012;73(8):1119-24.
- [19] Stone AA, Broderick JE. Obesity and pain are associated in the United States. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20(7):1491-5.
- [20] Heo M, Allison DB, Faith MS, Zhu S, Fontaine KR. Obesity and quality of life: mediating effects of pain and comorbidities. *Obes Res* 2003;11(2):209-16.
- [21] Janke EA, Collins A, Kozak AT. Overview of the relationship between pain and obesity: What do we know? Where do we go next? *J Rehabil Res Dev* 2007;44(2):245-62.
- [22] Glynn LG, Valderas JM, Healy P, Burke E, Newell J, Gillespie P, et al. The prevalence of multimorbidity in primary care and its effect on health care utilization and cost. *Fam Pract* 2011;28(5):516-23.
- [23] Smith SM, Sumar B, Dixon KA. Musculoskeletal pain in overweight and obese children. *Int J Obes (Lond)* 2014;38(1):11-5.
- [24] Amy Janke E, Kozak AT. "The more pain I have, the more I want to eat": obesity in the context of chronic pain. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20(10):2027-34.
- [25] Andersen RE, Crespo CJ, Bartlett SJ, Bathon JM, Fontaine KR. Relationship between body weight gain and significant knee, hip, and back pain in older Americans. *Obes Res* 2003;11(10):1159-62.

- [26] Insawang T, Selmi C, Cha'on U, Pethlert S, Yongvanit P, Areejitranusorn P, et al. Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutr Metab (Lond)* 2012;9(1):50.
- [27] da Cunha NV, Pinge-Filho P, Panis C, Silva BR, Pernomian L, Grando MD, Cecchini R, Bendhack LM, Martins-Pinge MC. Decreased endothelial nitric oxide, systemic oxidative stress, and increased sympathetic modulation contribute to hypertension in obese rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;306(10):H1472-80.
- [28] Quines CB, Rosa SG, Da Rocha JT, Gai BM, Bortolatto CF, Duarte MM, et al. Monosodium glutamate, a food additive, induces depressive-like and anxiogenic-like behaviors in young rats. *Life Sci* 2014;107(1-2):27-31.
- [29] Balbo SL, Grassioli S, Ribeiro RA, Bonfleur ML, Gravena C, Brito Mdo N, et al. Fat storage is partially dependent on vagal activity and insulin secretion of hypothalamic obese rat. *Endocrine* 2007;31(2):142–8.
- [30] Macho L, Fickova M, Jezova R, Zorad S. Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. *Physiol Res* 2000;49:S79–85.
- [31] Rosa SG, Quines CB, da Rocha JT, Bortolatto CF, Duarte T, Nogueira CW. Antinociceptive action of diphenyl diselenide in the nociception induced by neonatal administration of monosodium glutamate in rats. *Eur J Pharmacol* 2015;758:64-71.
- [32] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16(2):109-10.
- [33] Andreazzi AE, Grassioli S, Marangon PB, Martins AG, de Oliveira JC, Torrezan R, et al. Impaired sympathoadrenal axis function contributes to enhanced insulin secretion in prediabetic obese rats. *Exp Diabetes Res* 2011;2011:947917.

- [34] Ribeiro RA, Balbo SL, Roma LP, Camargo RL, Barella LF, Vanzela EC, et al. Impaired muscarinic type 3(M3) receptor/PKC and PKA pathways in islets from MSG-obese rats. *Mol Biol Rep* 2013;40(7):4521-8.
- [35] França LM, Freitas LN, Chagas VT, Coêlho CF, Barroso WA, Costa GC, et al. Mechanisms underlying hypertriglyceridemia in rats with monosodium L-glutamate-induced obesity: evidence of XBP-1/PDI/MTP axis activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;443(2):725-30.
- [36] Hirata AE, Andrade IS, Vaskevicius P, Dolnikoff MS. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:671-4.
- [37] Morrison JF, Shehab S, Sheen R, Dhanasekaran S, Shaffiullah M, Mensah-Brown E. Sensory and autonomic nerve changes in the monosodium glutamate-treated rat: a model of type II diabetes. *Exp Physiol* 2008;93(2):213-22.
- [38] Coradinia JG, Kakihata CM, Kunz RI, Errero TK, Bonfleur ML, Bertolini GR. Evaluation of grip strength in normal and obese Wistar rats submitted to swimming with overload after median nerve compression. *Rev Bras Reumatol* 2015;55(1):43-7.
- [39] Rodriguez-Sierra JF, Sridaran R, Blake CA. Monosodium glutamate disruption of behavioral and endocrine function in the female rat. *Neuroendocrinology* 1980;31(3):228-35.
- [40] Fonseca EA, de Oliveira MA, Lobato Nde S, Akamine EH, Colquhoun A, de Carvalho MH, et al. Metformin reduces the stimulatory effect of obesity on in vivo Walker-256 tumor development and increases the area of tumor necrosis. *Life Sci* 2011;88(19-20):846-52.
- [41] Lobato NS, Filgueira FP, Akamine EH, Davel AP, Rossoni LV, Tostes RC, et al. Obesity induced by neonatal treatment with monosodium glutamate impairs microvascular

reactivity in adult rats: role of NO and prostanoids. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011;21(10):808-16.

[42] Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol* 1968;40(4):527-8.

[43] Bordet T, Buisson B, Michaud M, Abitbol JL, Marchand F, Grist J, et al. Specific antinociceptive activity of cholest-4-en-3-one, oxime (TRO19622) in experimental models of painful diabetic and chemotherapy-induced neuropathy. *J Pharmacol Exp Ther* 2008 ;326(2):623-32.

[44] Candland DK, Nagy ZM. The open field: some comparative data. *Ann N Y Acad Sci* 1969;159(3):831-51.

[45] Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978;47(4):379-91.

[46] Olney JW. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 1969;164:719-21.

[47] Tanaka K, Shimada M, Nakao K, Kusunoki T. Hypothalamic lesion induced by injection of monosodium glutamate in suckling period and subsequent development of obesity. *Exp Neurol* 1978;62(1),191-199.

[48] Rotimi OA, Olayiwola IO, Ademuyiwa O, Balogun EA. Effects of fibre-enriched diets on tissue lipid profiles of MSG obese rats. *Food Chem Toxicol* 2102;50(11),4062-4067.

[49] Krieger DT, Liotta AS, Nichol森 G, Kizer JS. Brain ACTH and endorphin reduced in rats with monosodium glutamate-induced arcuate nuclear lesions. *Nature* 1979;278(5704):562-3.

- [50] Ge JF, Qi CC, Zhou JN. Imbalance of leptin pathway and hypothalamus synaptic plasticity markers are associated with stress-induced depression in rats. *Behav Brain Res* 2013;249:38-43.
- [51] Zubiría MG, Vidal-Bravo J, Spinedi E, Giovambattista A. Relationship between impaired adipogenesis of retroperitoneal adipose tissue and hypertrophic obesity: role of endogenous glucocorticoid excess. *J Cell Mol Med* 2014;18(8):1549-61.
- [52] Sakoda H, Ogihara T, Anai M, Funaki M, Inukai K, Katagiri H, et al. Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction. *Diabetes* 2000;49(10):1700-8.
- [53] Slavin BG, Ong JM, Kern PA. Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase activity and mRNA levels in isolated rat adipocytes. *J Lipid Res* 1994;35(9):1535-41.
- [54] Uher R, Mors O, Hauser J, Rietschel M, Maier W, Kozel D, et al. Body weight as a predictor of antidepressant efficacy in the GENDEP project. *J Affect Disord* 2009;118(1-3):147-54
- [55] Badillo-Martinez D, Nicotera N, Bodnar RJ. Onset of pain threshold changes induced by neonatal monosodium glutamate. *Int J Neurosci* 1984; 24(3-4):275-9.
- [56] Hu L, Fernstrom JD, Goldsmith PC. Exogenous glutamate enhances glutamate receptor subunit expression during selective neuronal injury in the ventral arcuate nucleus of postnatal mice. *Neuroendocrinology* 1998;68(2):77-88.
- [57] Beas-Zárate C, Pérez-Vega M, González-Burgos I. Neonatal exposure to monosodium L-glutamate induces loss of neurons and cytoarchitectural alterations in hippocampal CA1 pyramidal neurons of adult rats. *Brain Res* 2002;952(2):275-81.

[58] Al Amin HA, Atweh SF, Jabbur SJ, Saadé NE. Effects of ventral hippocampal lesion on thermal and mechanical nociception in neonates and adult rats. *Eur J Neurosci* 2004;20(11):3027-34.

[59] Seo YJ, Kwon MS, Choi HW, Choi SM, Kim YW, Lee JK, et al. Differential expression of phosphorylated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II and phosphorylated extracellular signal-regulated protein in the mouse hippocampus induced by various nociceptive stimuli. *Neuroscience* 2008;156(3):436-49.

[60] McKenna JE, Melzack R. Analgesia produced by lidocaine microinjection into the dentate gyrus. *Pain* 1992;49(1):105-12.

Figure Captions

Figure 1. Time line of the experimental procedures. The obesity was induced by monosodium glutamate (MSG) treatment from the first to the fifth day after birth. Control groups treated with saline were conducted in parallel. BGlu: blood glucose; BM: body mass; BP: biochemical profile; PT-FST: pre-test in the forced swimming test; FST: forced swimming test; OF: open field test; RS: Randall-Selitto test.

Figure 2. Evaluation of body mass (panel A), nasoanal length (panel B), LEE Index (panel C), abdominal circumference (panel D) and visceral fat in monosodium glutamate (MSG)-treated rats. The body mass, nasoanal length, abdominal circumference and the total abdominal fat were evaluated in male (M) and female (F) rats at the different time points after treatment with saline (SAL) or monosodium glutamate (MSG). The Lee index was calculated as described in the material and methods section. Values represent mean \pm SEM (n=8-11). (*) indicates $p < 0.05$ when compared to the corresponding saline-treated group (M-SAL or F-SAL) and (#) indicates $p < 0.05$ when compared to values obtained at 90th day.

Figure 3. Exacerbated depressive-like behaviors in monosodium glutamate (MSG)-treated rats. The immobility time (panels A, B and C) and the latency for the first immobility (panels D, E and F) during the forced swimming test were evaluated in male (M) and female (F) rats at 60th (panels A and D), 90th (panels B and E) and 120th (panels C and F) after treatment with saline (SAL) or MSG. Values represent mean \pm SEM (n=8-11). (*) indicates $p < 0.05$ when compared to the corresponding saline-treated group (M-SAL or F-SAL).

Figure 4. Mechanical hyperalgesia in monosodium glutamate (MSG)-treated rats. The mechanical thresholds (in grams, g) were evaluated in male (M) and female (F) rats at 60th (panel A), 90th (panel B) and 120th (panel C) day after treatment with saline (SAL) or MSG. Values represent mean \pm SEM (n=8-11). (*) indicates $p < 0.05$ when compared to the corresponding saline-treated group (M-SAL or F-SAL). (#) indicates $p < 0.05$ when compared to M SAL group.

Figura 1

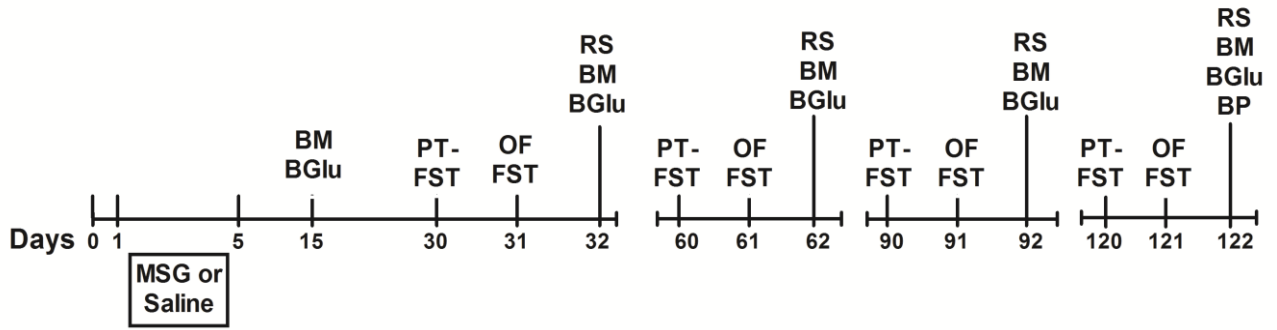


Figura 2

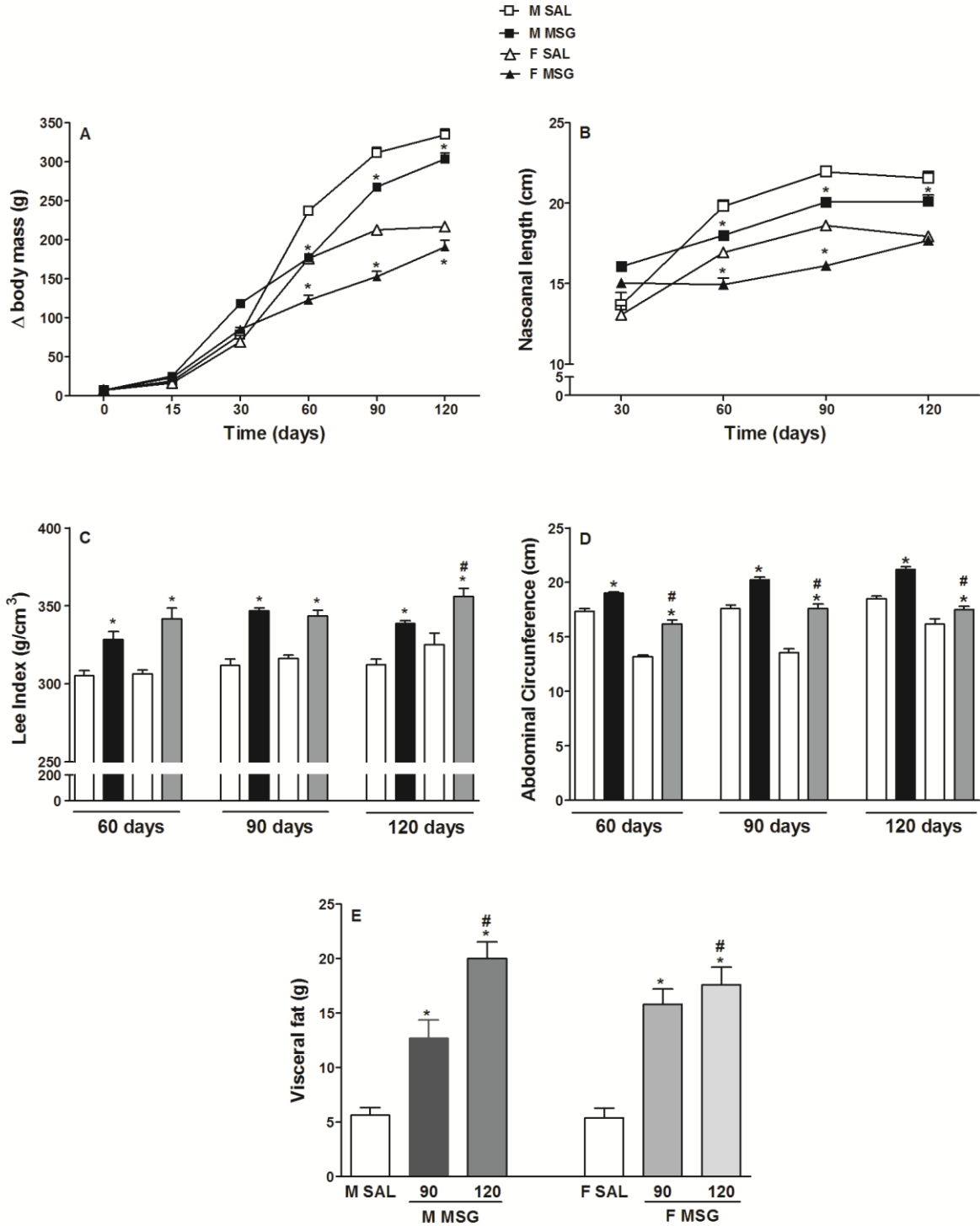


Figura 3

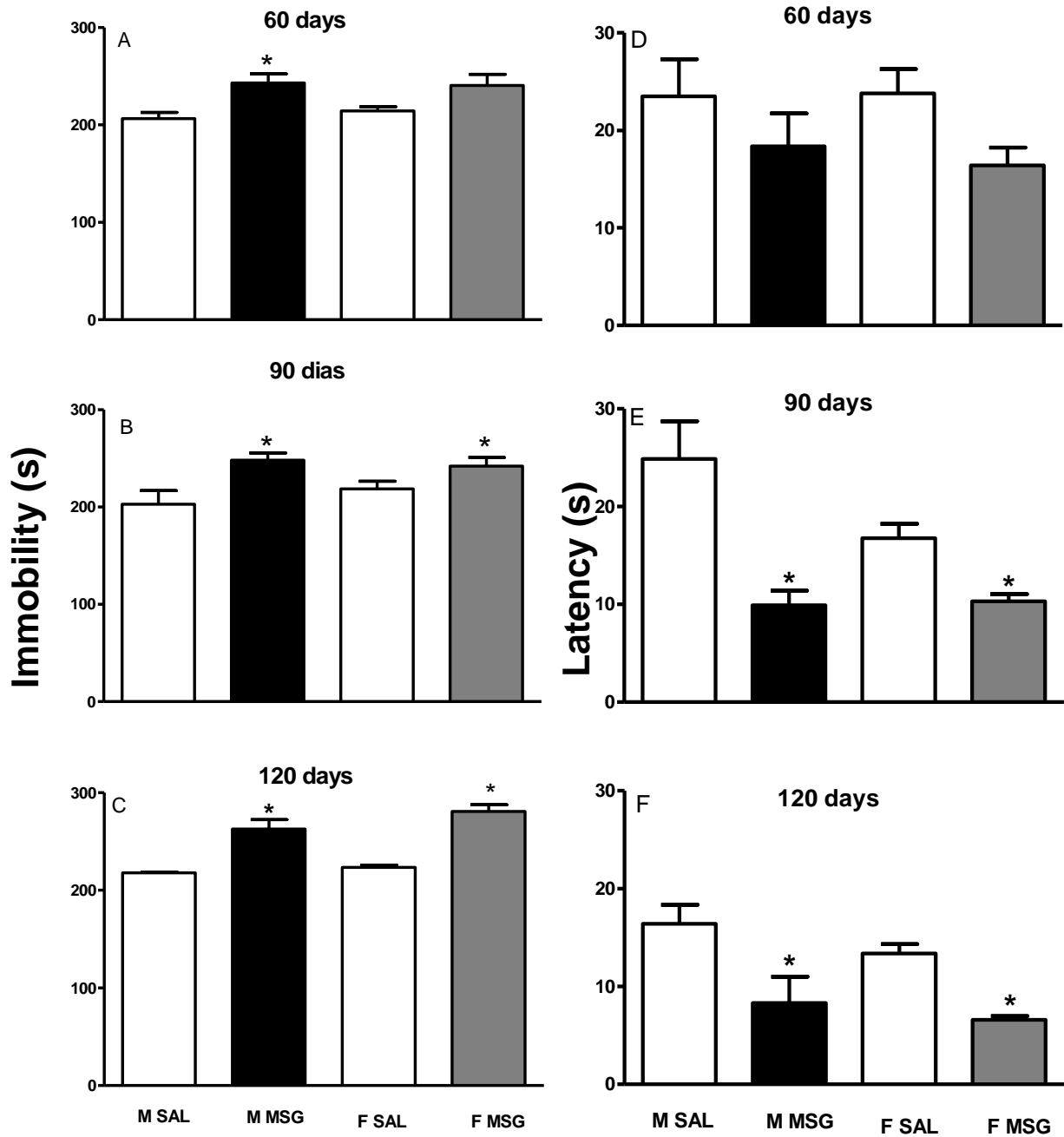


Figura 4

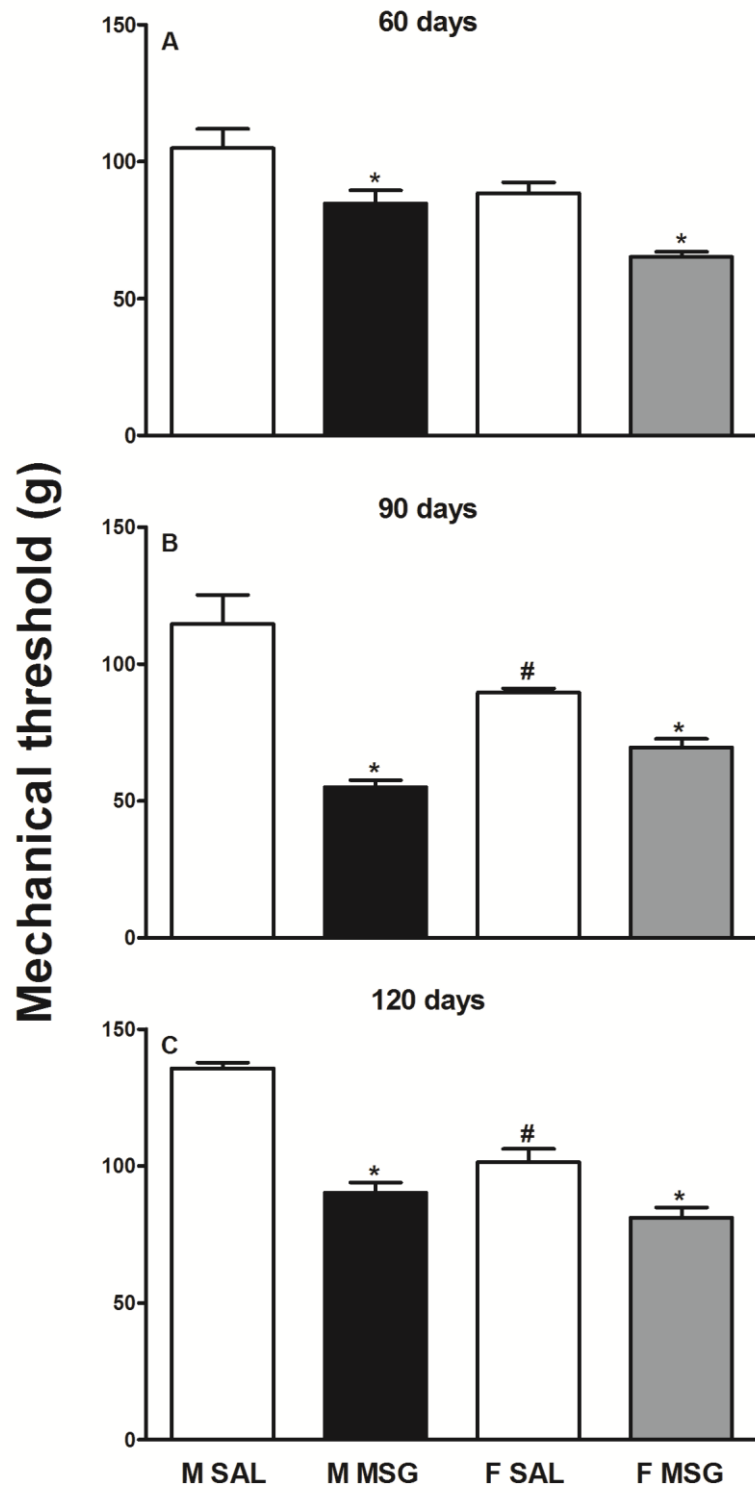


Tabela 1

Table 1. Serum lipid profile and blood glucose levels in monosodium glutamate (MSG)-treated rats. The serum lipid profile and the blood glucose were evaluated in male and female at 90th and 120th after treatment with saline or MSG. The values shown for the control group (saline) correspond to the time point of 120 days.

	Saline	MSG	
		90 days	120 days
Total Cholesterol (mg/DL)			
Male	51.2 ± 1.8	61.6 ± 0.9*	64.7 ± 2.1*
Female	56.7 ± 2.9	78.6 ± 3.1 [#]	77.7 ± 4.2 [#]
HDL Cholesterol (mg/DL)			
Male	25.7 ± 1.1	28.03 ± 0.7 ^{ns}	30.0 ± 1.1 ^{ns}
Female	34.7 ± 2.5	37.09 ± 1.1 ^{ns}	36.8 ± 1.9 ^{ns}
VLDL Cholesterol (mg/DL)			
Male	15.5 ± 0.8	28.7 ± 1.3*	38.6 ± 3.8*
Female	15.1 ± 1.9	33.9 ± 3.1*	38.2 ± 2.1*
Triglyceride (mg/DL)			
Male	72.8 ± 5.8	146.5 ± 6.8*	205.7 ± 16.5*
Female	67.7 ± 2.1	169.7 ± 15.4*	191.1 ± 10.6*
Blood glucose (mg/DL)			
Male	87.3 ± 1.4	82.4 ± 2.7 ^{ns}	104.1 ± 3.6 ^{ns}
Female	89.9 ± 2.6	93.6 ± 1.8 ^{ns}	101.9 ± 1.8 ^{ns}

Values are expressed as mean ± SEM (n=8-11). (*) indicates p<0.05 when compared to corresponding saline-treated group ([#]) indicates p<0.05 when compared to MSG-treated male group at the same time point. ns: no significant.

Tabela 2

Table 2. Locomotor activity in monosodium glutamate (MSG)-treated rats. The number of crossings in the open field test was evaluated in male and female rats at 60th, 90th and 120th day after treatment with saline or MSG.

Groups	Number of crossings		
	60 days	90 days	120 days
Male			
Saline	60.2 ± 12.1	48.8 ± 6.7	55.8 ± 9.5
MSG	70.4 ± 3.6 ^{ns}	41.5 ± 19.5 ^{ns}	40.6 ± 3.9 ^{ns}
Female			
Saline	71.8 ± 11.7	69.2 ± 12.8	72.0 ± 6.4
MSG	66.7 ± 3.0 ^{ns}	62.5 ± 8.6 ^{ns}	54.6 ± 2.4 ^{ns}

Values represent mean ± SEM (n=8-11). ns: no significant.

HIGHLIGHTS

- Neonatal treatment with MSG induced biophysical and biochemical changes typical of obesity
- Neonatal treatment with MSG induced mechanical hyperalgesia
- Neonatal treatment with MSG exerted depressive-like behaviors
- Rats gender does not influence the time course of pain and depression induced by MSG

4. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a administração neonatal de MSG foi capaz de induzir alterações biofísicas e bioquímicas relacionadas à obesidade bem como alterações comportamentais relacionadas ao desenvolvimento de hiperalgesia mecânica e de comportamento tipo-depressivo. A padronização de um modelo de obesidade capaz de ser preditivo quanto ao desenvolvimento de alterações comportamentais observadas clinicamente possibilitará, no futuro, a condução de investigações acerca dos possíveis mecanismos fisiopatológicos que podem estar associados a obesidade, depressão e dor. Mais estudos, no entanto, são necessários para o melhor entendimento dos mecanismos toxicológicos através dos quais o MSG induz alterações comportamentais em ratos.

REFERÊNCIAS

- Alaleh, A, Sanders, T. A; & O'Dell, S. D. (2012). Effect of interaction between PPARG, PPARA and ADIPOQ gene variants and dietary fatty acids on plasma lipid profile and adiponectin concentration in a large intervention study. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(01), 141-153.
- Andersen, R. E., Crespo, C. J., Barlett, S. J., Bathon, J. M., & Fontaine, K. R. (2003). Relationship between body weight gain and significant knee, hip, and back pain in older Americans. *Obesity research*, 11(10), 1159-1162.
- Atlants, E., & Sullivan, T. (2012). Changes in cardiovascular disease burden associated with psychopathology in Australian adults 2004–2008. *General hospital psychiatry*, 34(4), 345-351.
- Arranz, L-I, Rafecas, M, Alegre, C. (2014). Effects of obesity on function and quality of life in chronic pain conditions. *Curr Rheumatol Rep.*; 16(1):1–8.
- Balbo, S. L., Grassioli, S., Ribeiro, R. A., Bonfleur, M. L., Gravena, C., do Nascimento Brito, M., ... & Torrezan, R. (2007). Fat storage is partially dependent on vagal activity and insulin secretion of hypothalamic obese rat. *Endocrine*, 31(2), 142-148.
- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267-284.
- Bays, HE, Gonzalez-Campoy, JM, Bray, Y GA, Kitbachi, I AE, Bergman DA, Schorr, AB, Rodbard, HW, Henry, RR. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte visceral adiposity. *Expert Rev. Cardiovas. Ther.* 2008; 6(3): 343-368.
- Butterworth, PA, Urquhart, DM, Cicuttini, FM, et al. Fat mass is a predictor of incident foot pain. *Obesity*. 2013;21(9):E495–E499.

Chapman, C.R., Gravin, J. Suffering: the contributions of persistent pain. *Lancet*, n. 353, 2233-37, 1999.

Choices, NHS. Latest obesity stats for England are alarming – Health News – NHS, Choices. [cited 2014 Apr 15]. Available from: <http://www.nhs.uk/news/2013/02February/Pages/Latest-obesity-stats-for-England-are-alarming-reading.aspx>; 2013.

Coutinho, W. The first decade of sibutramine and orlistat: a reappraisal of their expanding roles in the treatment of obesity and associated conditions. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009;53:262-70.

Diniz, YS, Faine, LA, Galhardi, CM, Rodrigues, HG, Ebaid, GX, Burneiko, RC. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition* 2005;21:749–55.

Egbonu, A. C. C. (2012). Feed Efficiency, Lipid Metabolism and Antioxidant Capacity in Male Wistar Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(6), 301-305.

Fantuzzi, G, Mazzone, T. Adipose Tissue and Atherosclerosis: Exploring the Connection. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27;996-1003.

Ferreira, AV, Mario, EG, Porto, LC, Andrade, SP, Botion, LM. High-Carbohydrate Diet Selectively Induces Tumor Necrosis Factor-alpha Production in Mice Liver. *Inflammation*. 2010 May 6. [Epub ahead of print] 63. Todoric J, Löffler

Foressigtht. Tackling obesities: future choices—project report. The Stationery Office. [cited 2014 Apr 14]. <https://www.gov.uk/government/collections/tackling-obesitiesfuture-choices>.

Ge, J. F., Qi, C. C., & Zhou, J. N. (2013). Imbalance of leptin pathway and hypothalamus synaptic plasticity markers are associated with stress-induced depression in rats. *Behavioural brain research*, 249, 38-43.

- Glynn, L. G., Valderas, J. M., Healy, P., Burke, E., Newell, J., Gillespie, P., & Murphy, A. W. (2011). The prevalence of multimorbidity in primary care and its effect on health care utilization and cost. *Family practice*, 28(5), 516-523.
- Gold, P. W., & Chrousos, G. P. (1999). The endocrinology of melancholic and atypical depression: relation to neurocircuitry and somatic consequences. *Proceedings of the Association of American Physicians*, 111(1), 22-34.
- Heo, M., Allison, D. B., Faith, M. S., Zhu, S., & Fontaine, K. R. (2003). Obesity and quality of life: mediating effects of pain and comorbidities. *Obesity research*, 11(2), 209-216.
- Hirata, A. E., Anadrade, I. S., Vaskevivius, P., & Dolikoff, M. S. (1997). Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Brazilian journal of medical and biological research*, 30, 671-67.
- Hermesdorff, H.H.M, Monteiro, J.B.R. Gordura Visceral, Subcutânea ou Intramuscular: Onde Está o Problema? *Arq Bras Endocrinol Metab* 2004; 48(6):803-811.
- Hitt, H.C, Mcmillen, R.C, Thornton-Neaves, T, Koch, K, Cosby, A.G. Comorbidity of obesity and pain in a general population: results from the southern pain prevalence study. *J Pain*. 2007;8(5):430–436.
- IASP - Classification of chronic pain, IASP Task Force on Taxonomy. *Seattle, WA: International Association for the Study of Pain Press*. (Also available online at www.iasp-pain.org), 2008.
- IBGE - BRASIL, I. B. G. E. Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. *Censo Demográfico 2002*, 2003.
- IBGE - BRASIL, I. B. G. E. Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. *Censo Demográfico 2013*, 2014.

Insawang, T., Selmi, C., Cha'on, U., Pethlert, S., Yongvanit, P., Areejitranusorn, P., ... & Hammock, B. D. (2012). Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutr Metab (Lond)*, *9*(1), 50.

Janke, E. A., & Kozak, A. T. (2012). "The More Pain I Have, the More I Want to Eat": Obesity in the Context of Chronic Pain. *Obesity*, *20*(10), 2027.

Janke, E. A., & Kozak, A. T. (2007). Overview of the relationship between pain and obesity: What do we know? Where do we go next?. *Journal of rehabilitation research and development*, *44*(2), 245

Julius, D., Basbaum, A. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, v. 413, 203- 10,.

Kanasakil, K., & Koya, D. (2011). Biology of obesity: lessons from animal models of obesity. *BioMed Research International*, 2011.

Kakkar, A. K., & Dahiya, N. (2015). Drug treatment of obesity: Current status and future prospects. *European journal of internal medicine*, *26*(2), 89-94.

Katz, MM, Koslow, SH, Maas, JW , Frazer, A, B, Owden, CL, Casper, R, et al. The timing, specificity and clinical prediction of tricyclic drug effects in depression. *Psychol Med* 1987; *17*:297-309.

Kaur, J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract*. 2014;2014:943162.

Kemp, D. E., Sylvia, L. G., Calabrese, J. R., Nirenberg, A. A., Thase, M. E., Reilly-Harrington, N. A., ... & Iosifescu, D. V. (2014). General medical burden in bipolar disorder: findings from the LiTMUS comparative effectiveness trial. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *129*(1), 24-34.

Kendall, N.A., Psychological approaches to the prevention of chronic pain: the low back paradigm. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol*, n. 13, 545-54, 1999.

Krauss, R. M., Winston, M., Fletcher, B. J., & Grundy, S. M. (1998). Obesity impact on cardiovascular disease. *Circulation*, 98(14), 1472-1476.

Kostowski, W. (1984). Possible relationship of the locus coeruleus--hippocampal noradrenergic neurons to depression and mode of action of antidepressant drugs. *Polish journal of pharmacology and pharmacy*, 37(6), 727-743.

Lamont, L. A.; Tranquilli, W. J. *Physiology of Pain. The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Philadelphia:Saunders, v.30, n.4, p. 703-728, 2000.
LUNA, S. P. L. Dor, analgesia e bem estar animal. ANAIS - I Congresso Internacional de Conceitos em Bem-estar Animal, p. 16-18, 2006.

Lebars, D, Gozariu, M, Cadden, S. W. Animal models of nociception. *PharmacolReviews*2001, 53(4):597-652.

Levinson, S.R, Luo, S., Henry, M.A. The role of sodium channels in chronic pain. *Muscle Nerve*, N.46, 155-65, 2012.

Levitan, R. D., Davis, C., Kaplan, A. S., Arenovich, T., Philips, D. I., & Ravindran, A. V. (2012). Obesity comorbidity in unipolar major depressive disorder: refining the core phenotype. *The Journal of clinical psychiatry*, 73(8), 1119-1124.

Loeser, J.D., Treede, R.D. The Kyoto of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*, n. 137, 473-477, 2008.

Luppino, F. S., de Wit, L. M., Bouvy, P. F., Stijnen, T., Cuijpers, P., Pennix, B. W., & ZITMAN, F. G. (2010). Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Archives of general psychiatry*, 67(3), 220-229.

Mancini, C, Halpern, A. Pharmacological treatment of obesity. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50:377-89. 7.

Mansur, R. B., Britzke, E., & McIntyre, R. S. (2015). Is there a “metabolic-mood syndrome”? A review of the relationship between obesity and mood disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews. psychiatry*, 67(3), 220-229.

Marcus, Da. Obesity and the impact of chronic pain. *Clin J Pain*. 2004;20(3):186–191.

Martins, A. D., Moreira, A. C., Sa, R., Monteiro, M. P., Sousa, M., Carvalho, R. A., ... & Alves, M. G. (2015). Leptin modulates human Sertoli cells acetate production and glycolytic profile: A novel mechanism of obesity-induced male infertility?. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*.

Marvizon, J. C., Walwyn, W., Minasyan, A., Chen, W., & Taylor, B. K. (2015). Latent Sensitization: A Model for Stress-Sensitive Chronic Pain. *Current Protocols in Neuroscience*, 9-50.

Messier, SP, Gutekunst, DJ, Davis, C, Devitap. Weight loss reduces knee-joint loads in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2005;52(7):2026–2032.

Mather, A. A., Cox, B. J., Enns, M. W., & Sareen, J. (2009). Associations of obesity with psychiatric disorders and suicidal behaviors in a nationally representative sample. *Journal of psychosomatic research*, 66(4), 277-285.

Mcintyre, R. S., Danielewitz, M., Liauw, S. S., Kemp, D. E., Nguyen, H. T., Kahn, L. S., ... & Taylor, V. H. (2010). Bipolar disorder and metabolic syndrome: an international perspective. *Journal of affective disorders*, 126(3), 366-387.

Meyer, T. D., Hammelstein, P., Nilson, L. G., Skeppar, P., Adolfsson, R., & Angst, J. (2007). The Hypomania Checklist (HCL-32): its factorial structure and association to indices of impairment in German and Swedish nonclinical samples. *Comprehensive psychiatry*, 48(1), 79-87.

Millan, M.J. The induction of Pain: an Integrative Review. *Progress in Neurobiology*, 57, 1-164, 1999.

Nakayama, D., Magami, Y., Azuna, T., Inokuchi, H., Furukawa, M., Ohyashiki, J., ... & Hattori, T. (2003). Turnover of Acinar and Islet Cells in the Pancreas of Monosodium Glutamate-Treated Obese Mice. *Obesity research*, 11(1), 87-94.

Odio, M. R., & Brodish, A. (1990). Glucoregulatory responses of adult and aged rats after exposure to chronic stress. *Experimental gerontology*, 25(2), 159-172.

Ogden, CL, Carroll, I. MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011–2012. *JAMA* 2014;311(8):806–14.

Oliveira, J, De S, Bressan, J. Tecido adiposo como regulador da Inflamação e da Obesidade. *EFDeportes.com, Revista Digital*. Buenos Aires, Año 15, Nº 150, Noviembre de 2010. <http://www.efdeportes.com/>.

Overweight and obese adults reaching almost a billion in developing countries, as numbers continue to grow in richer nations. [cited 2014 Mar 27]. Available from: <http://www.odi.org.uk/news/703-overweight-obese-adults-reaching-almost-billiondeveloping-countries-as-numbers-continue-grow-richer-nations>.

Paley, C. A., & Jonson, M. I. (2015). Physical Activity to Reduce Systemic Inflammation Associated with Chronic Pain and Obesity: A Narrative Review. *The Clinical journal of pain*.

Quines, C. B., Rosa, S. G., Da Rocha, J. T., Gai, B. M., Bortolatto, C. F., Duarte, M. M. M., & Nogueira, C. W. (2014). Monosodium glutamate, a food additive, induces depressive-like and anxiogenic-like behaviors in young rats. *Life sciences*, 107(1), 27-31.

Quithin, FM, Rabkin, JG, Ross, D, Mcgrath, PJ. Chronological milestones to guide drug change. When should clinicians switch antidepressants? 1984; 41:238-45.

Ribeiro, Filho, F.F, Mariosa, L.S, Ferreira, S.R.G, Zanella, M.T. Gordura Visceral e Síndrome Metabólica: Mais Que Uma Simples Associação. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50(2): 230-238.

- Rotimi, O. A., Olaiwola. O., Ademuyiwa, O., & Balogun, E. A. (2012). Effects of fibre-enriched diets on tissue lipid profiles of MSG obese rats. *Food and Chemical Toxicology*, 50(11), 4062-4067.
- Scholz, J., Woolf, C.J. Can we conquer pain? *Nature*, v. 5, 1062-67, 2002.
- Seaman, D.R. Body mass index and musculoskeletal pain: is there a connection? *Chiropr Man Therap*. 2013;21:15.
- Simon, G. E., von Korff, M., Saunders, K., Miglioretti, D. L., Crane, P. K., van Belle, g., & Kessler, r. C. (2006). Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Archives of general psychiatry*, 63(7), 824-830.
- Stock, M.J. Sibutramine: a review of the pharmacology of a novel antiobesity agent. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:S25-9.
- Silarova, B, Giltray, E.J, Van Reedt, Dortland A, Van Rossum, E.F, Hoencamp, E, Pennix, B.W, Spijker, AT. (2015) Metabolic syndrome in patients with bipolar disorder: Comparison with major depressive disorder and non-psychiatric controls. *J Psychosom Res*. 10.1016.
- Smith, S. M., Sumar, B., & Dixon, K. A. (2014). Musculoskeletal pain in overweight and obese children. *International Journal of Obesity*, 38(1), 11-15.
- Stone, A.A. and Broderick, J.E. (2012): Obesity and pain are associated in the United States. *Obesity (Silver Spring Md)* 20, 1491–95.
- Toups, M.S., Myers, A.K., Wisniewski, S.R., et al. (2013). Relationship between obesity and depression: characteristics and treatment outcomes with antidepressant medication. *Psychosomal Med*. 75 (9), 863–872.
- Vannucchi, G., Toni, C., Marenmani, I., & Perugi, G. (2014). Does obesity predict bipolarity in major depressive patients?. *Journal of affective disorders*, 155, 118-122.

Verri, W.A., Cunha, T.M., Parada, C.A., Poole, S., Cunha, F.Q., Ferreira, S. H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? *Pharmacology & Therapeutics*, n.112, 116-38, 2006.

Verri, J.R., Waldiceu, A, Parada, C.A, Poole S, Cunha FQ, Ferreira S. H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? *Pharmacol Ther* 2006,112(1):116-138.

Vincent, H.K, Adams, M.C.B, Vincent, K.R, Hurley, R.W. Musculoskeletal pain, fear avoidance behaviors, and functional decline in obesity: potential interventions to manage pain and maintain function. *Reg Anesth Pain Med*. 2013;38(6):481–491.

Vincent, H.K, Raiser, S.N, Vincent, K.R. The aging musculoskeletal system and obesity-related considerations with exercise. *Ageing Res Rev*. 2012;11(3):361–373.

Vogelzangs, N., Duivis, H. E., Breeckman, A. T., Klufft, C., Neuteboom, J., Hoogendijk, W., ... & Pennix, B. W. (2012). Association of depressive disorders, depression characteristics and antidepressant medication with inflammation. *Translational psychiatry*, 2(2), e79.

Who - World Health Organization. Obesity and overweight. Facts about overweight and obesity [monograph on the Internet]. Fact sheet No. 311. Junho 2015. [cited abril de 2014]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>

Xu, L., Zhao, Y., Zhan, S. Q., Tang, X. D., Guo, Y., Wang, H. S., & Yang, C. (2007). Temporal and spatial expression of preprotachykinin A mRNA in the developing filial mice brain after maternal administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy. *Neuroscience*, 145(3), 974-980.

Zarate, C., Duman, R. S., Liu, G., Sartori, S., Quiroz, J., & Murck, H. (2013). New paradigms for treatment-resistant depression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1292(1), 21-31.

Zdziarski, L. A., Wasser, J. G., & Vincent, H. K. (2015). Chronic pain management in the obese patient: a focused review of key challenges and potential exercise solutions. *Journal of pain research*, 8, 63.