

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Carolina Amanda Marques Lucas

**O CONSUMO DE DIETA DE CAFETERIA E REFRIGERANTE ALTERA A ESTRUTURA
GUSTATÓRIA DE RATOS WISTAR**

Porto Alegre, 2017

Carolina Amanda Marques Lucas

**O CONSUMO DE DIETA DE CAFETERIA E REFRIGERANTE ALTERA A ESTRUTURA
GUSTATÓRIA DE RATOS WISTAR**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Profa Dra Martine Kienzle Hagen

Porto Alegre, 2017

Carolina Amanda Marques Lucas

**O CONSUMO DE DIETA DE CAFETERIA E REFRIGERANTE ALTERA A
ESTRUTURA GUSTATÓRIA DE RATOS WISTAR**

**Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado ao curso de Nutrição da Universidade
Federal do Rio grande do Sul, como requisito parcial para
a obtenção do título de Bacharel em Nutrição.**

Porto Alegre, 16 de dezembro de 2017.

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o trabalho de Conclusão de Curso, elaborado por Carolina Amanda Marques Lucas, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Martine Elisabeth Kienzle Hagen – orientadora- UFRGS

Profa. Dra Sabrina Alves Fernandes

Profa. Dra Manoela Martins

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu pai Ives Lucas, que sempre me incentivou a estudar e a crescer pessoalmente e profissionalmente através do conhecimento. À minha mãe Marilene Marques por mostrar a importância de se ter garra e força de vontade todos os dias para ir atrás dos meus sonhos, mesmo que muitas vezes pareça difícil continuar.

À minha orientadora Nutricionista Martine Elisabeth Kienzle Hagen, uma profissional maravilhosa que foi muito importante durante a minha trajetória da graduação, mostrando oportunidades e sempre disposta e paciente a me ajudar e passar seus conhecimentos, além de ser sempre uma pessoa muito amável e querida com todos.

Aos colaboradores do projeto, principalmente a Rutiane Ulmann Thoen, pois me ajudou muito em todas as etapas desse trabalho.

Por fim, agradeço a oportunidade que tive de estudar em uma Universidade Pública tão bem conceituada e que me proporcionou muitos momentos de alegria e conhecimento, lugar também onde conheci pessoas maravilhosas e tive a chance de realizar a experiência incrível de um intercâmbio acadêmico, que foi essencial para formar a pessoa que sou hoje.

RESUMO

Os alimentos industrializados estão presentes na alimentação diária da população mundial, sabe-se que em sua composição há aditivos químicos como conservantes e realçadores de sabor, o que os tornam hiperpalatáveis ao gosto humano, provocando um consumo excessivo. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito da ingestão de refrigerante calórico e não calórico sobre a estrutura gustatória de ratos Wistar submetidos à dieta de cafeteria. Foi utilizado o material biológico de línguas de ratos do estudo realizado por nosso grupo (Thoen et al., 2015). Os animais foram divididos em seis grupos: Controle (CON), Refrigerante Calórico (RC), Refrigerante Não Calórico (RNC), Dieta de Cafeteria (DC), Dieta de Cafeteria+Refrigerante Calórico (DC+RC) e Dieta de Cafeteria+Refrigerante Não Calórico (DC+RNC). A histologia do tecido da região dorsal das línguas foi analisada por imunohistoquímica com coloração hematoxilina e eosina e a imunorreatividade com anticorpos para receptores CD36 e PGP 9.5. O grupo RC e DC+RC apresentaram redução significativa na queratinização da língua, quando comparado aos outros grupos, assim como marcação mais intensa ao receptor neuroquímico PGP 9.5 que representa a transmissão sináptica do sabor em tecidos centrais e periféricos. As análises de CD36 identificaram maior intensidade de marcação nos grupos RC, DC e DC+RC, mostrando resultados diferentes da literatura, que indica menor presença de receptor CD36 com o consumo de dieta gordurosa e obesidade. Esses resultados sugerem que dietas compostas com grande quantidade de alimentos industrializados e com alta densidade calórica como a dieta de cafeteria e o consumo de refrigerante, além de contribuírem para a prevalência da obesidade, podem causar alterações na queratinização da língua e percepção de sabor mediada por PGP 9.5.

Palavras-chave: dieta de cafeteria, refrigerante, distúrbios do paladar, papilas gustativas.

ABSTRACT

Industrialized foods are present in the daily food of the world population; it is known that in its composition there are chemical additives as preservatives and flavor enhancers, which make them hyperpalatable to human taste, causing excessive consumption. The objective of this study was to analyze the effect of caloric and non caloric soft drink intake on the gustatory structure of Wistar rats submitted to the cafeteria diet. It was used the biological material of rat's tongues of the study carried out by our group (Thoen et al., 2015). The animals were divided into six groups: Control (CON), Caloric Soft Drink (CS), Non caloric Soft Drink (NCS), Cafeteria Diet (CD), Cafeteria Diet + Caloric Soft Drink (CD+CS) and Cafeteria Diet + Non Caloric Soft Drink (CD + NCS). The tissue histology of the dorsal region of the tongues was analyzed by immunohistochemistry staining hematoxylin and eosin and immunoreactivity with antibodies to CD36 and PGP 9.5 receptors. The CS and CD + CS groups showed a significant reduction in the keratinization of the tongue when compared to the other groups, as well as a more intense marking to the PGP 9.5 neurochemical receptor that represents the synaptic transmission of the taste in central and peripheral tissues. The CD36 analyzes identified a greater intensity of labeling in the CS, CD and CD + CS groups, showing different results in the literature, indicating a lower presence of CD36 receptor with consumption of fatty diet and obesity. The CD36 analyzes identified a more intense marking in the CS, CD and CD + CS groups, showing different results from the literature, which shows a lower presence of CD36 receptor with consumption of fat diet and obesity. These results suggest that diets composed of large quantities of industrialized foods with high caloric density, such as the cafeteria diet and the consumption of soft drink, besides contributing to the prevalence of obesity, may cause changes in tongue keratinization and PGP9.5-mediated taste perception.

Keywords: cafeteria diet, soft drink, taste disorders; taste buds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Média de Ingestão de refrigerante, carboidratos, proteínas, e lipídios por grupo	34
Figura 2. Queratinização das Línguas.	35
Figura 3. Intensidade de Marcação das Papilas Fungiformes -CD36.....	36
Figura 4. Gráfico de intensidade do CD36.	37
Figura 5. Intensidade de Marcação das Papilas Fungiformes - PGP 9.5.	37
Figura 6. Foto das Papilas Fungiformes mostrando a Intensidade de Marcação do PGP 9.5.	38
Figura 7. Percentual de Intensidade de marcação nas papilas fungiformes com PGP 9.5.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.Composição da Ração Padrão.....	47
Tabela 2.Composição nutricional da dieta de cafeteria	48
Tabela 3.Valores nutricionais da Cola-cola® tradicional e Coca-cola® zero.....	49
Tabela 4.Média diária de consumo de nutrientes o longo das 12 semanas de tratamento com dieta de cafeteria e refrigerante.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL- Ácido graxo livre

AGCL- Ácido Graxo de Cadeia Longa

CAF- Dieta de cafeteria

CD36- receptor de gordura

CHO- Carboidratos

CON- Grupo controle

DC- Grupo dieta de Cafeteria

DC+RC- Grupo de dieta de cafeteria e refrigerante calórico

DC+RNC- Grupo de cafeteria e refrigerante não calórico

DCNTs- Doenças crônicas não transmissíveis

DM2- Diabetes Mellitus tipo 2

HAS- Hipertensão Arterial Sistêmica

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IMC - Índice de Massa Corporal

LIP- Lipídeos

OMS - Organização Mundial da Saúde

PTN - Proteína

RC - Grupo Refrigerante calórico

RNC - Grupo Refrigerante não calórico

UEA - Unidade de Experimentação Animal

WHO- World Health Organization

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 MUDANÇA NO PADRÃO ALIMENTAR	12
2.2 OBESIDADE E DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS CRÔNICAS	12
2.4 PALADAR E PERCEPÇÃO DE SABOR.....	14
2.5 PALATABILIDADE E CONSUMO ALIMENTAR.....	16
2.6 MARCADORES NEUROQUÍMICOS - RECEPTORES CD36 E PGP 9.5.....	16
2.7 QUERATINIZAÇÃO.....	18
3. JUSTIFICATIVA.....	18
4.1 Objetivo Geral.....	19
4.2 Objetivos Específicos.....	19
5. REFERÊNCIAS.....	20
6. ARTIGO ORIGINAL.....	24
ANEXO I TABELAS	46
ANEXO II NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NO APPETITE JOURNAL.....	51

1. INTRODUÇÃO

O estudo da qualidade da dieta com a ingestão de refrigerante calórico e não calórico é pouco explorado, principalmente em estudos controlados. Pesquisas sobre os efeitos da ingestão de refrigerante calórico sobre os hábitos alimentares são muito recentes. Alguns trabalhos sugerem que a ingestão de refrigerante pode influenciar na quantidade e na qualidade da ingestão de nutrientes em humanos, podendo ser caracterizada então, como uma dieta de baixa qualidade (VARTANIAN et al., 2007; YAMADA et al., 2008). A maioria dos alimentos industrializados são processados ou ultraprocessados e costumam ser densos em energia, com altas quantidades de açúcar refinado, sal e gorduras saturadas, que são comumente adicionados para aumentar a palatabilidade (RUSH et al., 2017; BAKER et al., 2014; WEBSTER et al., 2010). Além disso, possuem muitas substâncias sintetizadas pela indústria, que atuam como aditivos alimentares, possuindo a função de estender a duração desses alimentos, assim como atribuir mais cor, sabor, aroma e textura resultando em produtos extremamente atraentes (BRASIL, 2014). O alto teor de gordura, açúcar e fritura resultam em um consumo excessivo e estão relacionados positivamente ao ganho de peso corporal e à obesidade devido às suas características de saciedade (RUSH et al., 2017; ASTRUP et al., 2002).

Algumas alterações nas condições normais de saúde, como diabetes, pressão arterial alta e câncer, com ou sem a utilização de medicamentos, podem ser associadas com alterações na percepção do sabor. Porém, ainda não há conclusões definitivas, pois os protocolos de pesquisa variam muito (PEREIRA et al., 2016). Muitos estudos relacionam a qualidade da dieta com aumento no peso corporal, porém, ainda não há informações suficientes na literatura científica sobre possíveis efeitos da dieta baseada em alimentos ultraprocessados e alterações na estrutura e/ou na percepção de sabor do principal órgão responsável pelo paladar: a língua. Por isso, é necessário investigar se o consumo habitual de uma dieta rica em alimentos industrializados pode afetar e alterar as condições homeostáticas da percepção de sabor e estrutura da língua, visto que é nela onde ocorre o primeiro contato com os alimentos e transmissão de sabor (FERNANDES et al, 2013).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MUDANÇA NO PADRÃO ALIMENTAR

O comportamento alimentar de um indivíduo é moldado por fatores que vão desde condições econômicas e práticas culturais, até influências biológicas (ROGERS, 1999). Pinheiro e colaboradores (2004) identificaram a transição nutricional como resultado de modificações sequenciais no padrão de consumo alimentar, acompanhado de mudanças econômicas, sociais e demográficas e, também, mudanças no perfil de saúde das populações. Neste novo contexto, a urbanização determinou uma mudança nos padrões de comportamento alimentar que, contribuiu para o aumento do excesso de peso e obesidade. Com o processo de globalização, o acesso à comida se tornou muito mais fácil e os alimentos industrializados estão presentes tanto em países desenvolvidos, quanto em países em desenvolvimento, sendo de fácil preparo e acesso a todos. Como consequência, observou-se um aumento do consumo de ácidos graxos saturados, açúcares, refrigerantes, álcool, produtos industrializados com excesso de ácidos graxos “trans”, carnes, leite e derivados ricos em gorduras, guloseimas como doces, chocolates, balas, etc. Junto a isso, houve uma redução significativa no consumo de carboidratos complexos, frutas, verduras e legumes. Esse fato gera um quadro de excesso calórico devido à elevada ingestão de macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos) e deficiência de micronutrientes (vitaminas e minerais) (ESCODA, 2002). O desequilíbrio alimentar vem crescendo de maneira contínua e, recentemente, a obesidade passou a ser uma doença que acomete cada vez maior número de adultos, crianças e adolescentes (SAWAYA et al., 2013).

2.2 OBESIDADE E DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS CRÔNICAS

De acordo com os dez fatos sobre a obesidade da Organização Mundial da Saúde (OMS), nas últimas décadas, a obesidade atingiu proporções epidêmicas em proporção global. A prevalência de pessoas obesas quadruplicou desde 1980 até 2014. Característica essa que antigamente era associada a países de alta renda, atualmente, é prevalente também em países de baixa e média renda (WHO, 2017). A cada ano há pelo menos 2,8 milhões de mortes associadas ao sobrepeso ou obesidade, pois além de alterar as condições homeostáticas normais do organismo, essa condição favorece o aparecimento de diversas complicações e desenvolvimento de DCNTs, como diabetes tipo 2 (DM2), hipertensão arterial (HAS), doenças cardíacas, dislipidemia, síndrome metabólica (SM) e, até mesmo, alguns tipos de câncer (MACHADO et al., 2006).

A obesidade possui causa multifatorial, podendo ter associação com fatores genéticos, ambientais, metabólicos e /ou comportamentais (DAMASO et al., 2003). Alterações no estilo de vida e no padrão alimentar, como a má-alimentação e redução no gasto calórico diário são os principais fatores que explicam o crescimento exponencial de indivíduos com excesso de peso e obesos (DE SOUZA, 2010), que são características definidas pela OMS como acumulação de gordura anormal ou excessiva que pode prejudicar a saúde (WHO, 2017).

A maioria dos casos de obesidade se desenvolve a partir de um desequilíbrio entre a quantidade de energia consumida e a energia gasta. O consumo excessivo de alimentos ricos em energia e lipídios é considerado como uma das causas nutricionais desta epidemia (NIOT e BESNARD, 2017). Segundo Pinto Júnior e colaboradores (2012), a população de obesos cresceu significativamente por causa de hábitos alimentares ruins (junk food), inatividade e / ou distúrbios genéticos.

2.3 DIETA DE CAFETERIA E CONSUMO DE REFRIGERANTE

O tipo de alimentação atual, com dieta rica em alimentos industrializados e ultraprocessados, fast foods e bebidas açucaradas contribui para o aumento de peso em todo o mundo (WHO, 2017), pois são alimentos com alta palatabilidade, que induzem à hiperfagia (ingestão excessiva), e possuem alta densidade calórica.

De acordo com a literatura, indivíduos obesos consomem dietas ricas em gordura (BLUNDELL, 2001; DE SOUZA, 2005), paralelamente, temos alimentos fast foods que estão disponíveis a toda a população e que possuem em sua composição, principalmente, muita gordura, açúcar e sal. O consumo elevado deste tipo de alimento está diretamente relacionado com uma maior ingestão de energia e uma má nutrição (RUSH et al., 2017), como relatado também no estudo de Ngyuen e colaboradores (2014). A grande oferta de comida e a predominância de gordura presente na maioria dos alimentos contribuem diretamente para o aumento da população obesa no mundo (PINTO JÚNIOR et al, 2012).

A dieta da cafeteria (DC) é um modelo de indução à obesidade amplamente utilizado em ratos. De acordo com Shafat e colaboradores (2009), essa dieta é composta por alimentos com alta densidade calórica e hiperpalatáveis, que induzem hiperfagia e aumento de peso no rato, sugerindo que o seu consumo desenvolva a obesidade.

O consumo de açúcares e alimentos açucarados aumentou consideravelmente nas últimas décadas, juntamente com a prevalência e incidência da obesidade mundial

(TAVARES, 2013). O consumo de refrigerantes está intimamente relacionado ao excesso de peso, obesidade e diabetes em todo o mundo, inclusive nos países de baixa e média renda (BASU et al., 2013; RUSH et al., 2017). Segundo Yamada et al., 2008, a ingestão de refrigerantes pode ser um fator importante a considerar na avaliação da ingestão dietética geral e da qualidade da dieta.

No Brasil, segundo relato sobre o setor de bebidas do BNDES em 2014, a produção de refrigerantes se destacou como o principal item do setor de bebidas, perdendo apenas para a produção de cervejas. O relatório ainda descreve que, de acordo com os dados da Euromonitor International (líder mundial em pesquisa de estratégia para mercados consumidores) o Brasil consome cerca de 85 litros de refrigerante/habitante/ano, o que o faz ocupar a 12ª posição do ranking mundial. Nas primeiras posições estão os EUA (170 litros/habitante/ano), o México (146 litros/habitante/ano) e o Chile (127 litros/habitante/ano), de acordo com dados do Euromonitor (CERVIERI JÚNIOR, et al., 2014). Este desequilíbrio no consumo alimentar é tão grave que foi motivo de destaque no atual Guia Alimentar para a População Brasileira (GAPB) (2014), o qual enfatiza a importância de evitar o consumo de alimentos ultraprocessados como biscoitos recheados, macarrão instantâneo, salgadinhos de pacote e refrigerantes, principalmente, pois são consumidos em excesso devido a sua formulação e apresentação. Além disso, o GAPB orienta as pessoas a preferirem refeições caseiras e minimamente processadas e a evitar a alimentação em redes de fast food e com produtos prontos que dispensam preparação culinária (BRASIL, 2014).

2.4 PALADAR E PERCEPÇÃO DE SABOR

Segundo Niot e Besnard (2017), devido ao aumento dramático da obesidade em todo o mundo, compreender os mecanismos que regem a ingestão de alimentos é um problema de saúde pública.

O primeiro contato dos alimentos com o sistema digestório é na cavidade oral, onde temos a língua, o principal órgão humano com função sensorial no processo do gosto. A língua possui pequenas saliências, denominadas de papilas gustativas, que se distribuem em grande quantidade ao longo do sulco terminal e possuem uma alta quantidade de células sensoriais que, segundo Yee e colaboradores (2001), assim como os neurônios, contém neurotransmissores. Segundo Fernandes et al., 2013, o paladar é a função sensorial presente na língua que possibilita a percepção dos sabores e a sua transmissão até o cérebro, onde eles são codificados e analisados.

Os receptores gustativos estão agrupados nos botões gustatórios, presentes na superfície da língua. Um botão gustatório é composto de 50-150 células receptoras gustatórias (CRGs), as quais permitem a percepção dos sabores. A grande maioria dos estudos sobre transdução do sabor é focada na sinalização dentro das papilas gustativas da língua, sendo o rato o modelo animal amplamente utilizado para estes estudos (GILBERTSON et al., 2010). A língua de ratos é muito semelhante à humana, possuindo também papilas fungiformes, filiformes e circunvaladas, porém em menores quantidades (FERNANDES et al., 2013). A maioria da literatura atual é baseada em resultados com papilas circunvaladas, porém, enquanto os humanos possuem em média 12 ou mais papilas deste tipo, os ratos apresentam apenas uma (GILBERTSON et al., 2010). Já, em relação às papilas fungiformes, nos mamíferos em forma geral, estão presentes em dois terços anteriores da língua (CORREA et al., 2015).

As papilas gustativas fungiformes contam com a presença e distribuição de vários marcadores neuroquímicos que podem ser estudados pela técnica de imuno-histoquímica. As CRG das papilas estão em contato sináptico com as terminações nervosas sensoriais e, considerando que as papilas gustativas funcionam estritamente como órgãos sensoriais especializados, a quantidade e a distribuição de alguns dos marcadores neuroquímicos podem revelar informações importantes sobre a capacidade de percepção de gosto (ASTBÄCK et al., 1995).

Proteínas quimiossensíveis (canais iônicos, receptores metabotrópicos e ionotrópicos) localizadas no lado apical da CRG é que são responsáveis pela percepção do gosto. Interações entre o sabor e seu receptor específico levam a mudanças no potencial de membrana e/ou concentração de cálcio livre intracelular ($[Ca^{2+}]_i$), desencadeando assim, a liberação dos neurotransmissores, gerando por sua vez, o disparo de fibras nervosas aferentes gustativas (KHAN et al., 2009; SUGITA et al., 2006; GILBERTSON et al., 2003).

Atualmente, são bem estabelecidos pela literatura cinco sabores básicos da língua, sendo estes: doce, salgado, amargo, ácido e umami. Segundo McCrickerd e colaboradores (2016), o sabor umami é descrito como saboroso, sendo uma sugestão sensorial nutricionalmente importante. Além disso, o glutamato monossódico geralmente está associado ao sabor umami, pois potencializa o sabor salgado e é adicionado aos alimentos para aumentar sua palatabilidade, um forte sabor de umami pode sinalizar a chegada iminente de nutrientes. Em 2009, Khan e colaboradores indicaram a existência de um sexto sabor adicional, dedicado à percepção de lipídios mediadas pelo CD36.

2.5 PALATABILIDADE E CONSUMO ALIMENTAR

A palatabilidade dos alimentos está diretamente relacionada com as escolhas alimentares, assim como também influencia no desejo de consumo de certos alimentos e na quantidade a ser ingerida (SILVA, 2015). Sabe-se que alimentos que contêm açúcar, sal e gordura, principalmente, são muito palatáveis na percepção do gosto humano e animal, podendo gerar vício alimentar (SAWAYA et.al, 2013) e, inclusive alimentos com adoçantes não calóricos também possuem alta palatabilidade (TAVARES, 2013). A palatabilidade da gordura resulta não apenas da olfação e somato sensação (principalmente toque e textura), mas também participa da gustação. Esses dados apoiam ainda mais a existência de uma sexta modalidade de sabor dedicada à percepção de lipídios (KHAN et. al, 2009).

Alimentos ricos em açúcar, sal e gordura são alimentos recompensadores (que dão sensação de recompensa) (KENNY, 2011) e provocam hiperfagia (ABUMRAD, 2005), contribuindo diretamente para o elevado consumo energético e, conseqüentemente, para o excessivo ganho de peso corporal e obesidade, com possível desenvolvimento de comorbidades a longo prazo.

Acredita-se que o apetite é controlado pela interação de processos internos (genéticos, fisiológicos e químicos) e externos (ambientais e psicossociais). O papel dos fatores nutricionais e alimentares no controle da expressão do apetite é particularmente importante. Assim, o apetite aumentado (hiperfagia) pode ser induzido por mudanças em neurotransmissores cerebrais e neuromoduladores, metabolismo hepático alterado, ajustes dos componentes nutrientes/sensoriais da dieta e a imposição mental e comportamental da dieta (BLUNDELL, 1990).

2.6 MARCADORES NEUROQUÍMICOS - RECEPTORES CD36 E PGP 9.5

As quantidades e a distribuição de alguns dos marcadores neuroquímicos devem ser levadas em consideração, visto que as papilas gustativas funcionam como órgãos sensoriais especializados (ASTBÄCK et al, 1995).

A grande maioria dos estudos de transdução do sabor tem sido focada na sinalização dentro das papilas gustativas da língua (GILBERTSON et al., 2010). Ao longo da última década, a identificação de receptor de ácidos graxos em lugares estratégicos do corpo (ou seja, o trato oro-intestinal e cérebro) proporcionou um grande progresso na descoberta de fatores reguladores envolvidos no controle da ingestão alimentar (NIOT e BESNARD, 2017). O

receptor CD36 recebeu destaque por parecer estar envolvido no processo de regulação da ingestão alimentar.

Laugerette e colaboradores (2005) identificaram o receptor CD36 como um receptor de sabor para ácido graxo, fornecendo evidências sobre a base molecular da nossa preferência por gordura. O CD36 é um receptor de ácido graxo de cadeia longa (AGCL) identificado nas papilas gustativas de ratos, a inativação do gene CD36 leva à diminuição da preferência por alimentos gordurosos, o que revela seu envolvimento na regulação da alimentação (MARTIN et al., 2011). Desde a identificação inicial do CD36 no sistema periférico, vários estudos validaram sua expressão e seu papel funcional na quimiorrecepção de ácidos graxos (Gilbertson et al., 2010).

Estudos recentes em roedores e seres humanos sugerem que a quimiorrecepção de AGCL na língua e cavidade oral como um todo está relacionada com a preferência espontânea para alimentos gordurosos e pode contribuir para o risco de desenvolvimento da obesidade. Segundo Martin e colaboradores (2011) a detecção de lipídios mediada por CD36 afeta o comportamento alimentar e o equilíbrio energético.

Chevrot et al. (2013), usando uma combinação de abordagens bioquímicas, fisiológicas e comportamentais descobriram que a atração por lipídios é diminuída em ratos obesos e que essa mudança de comportamento tem uma origem orosensorial. Seu estudo revelou uma correlação inversa entre o CD36 de gordura e o tamanho do tecido adiposo e concluiu que a obesidade altera o sistema de detecção de lipídios responsável pela percepção oral de lipídios na dieta. Esse fenômeno parece ocorrer por meio de um mecanismo mediado por CD36, levando a mudanças no comportamento alimentar.

A identificação de CD36 como um receptor de gosto pela gordura pode ter relevância clínica, pois quanto maior o conhecimento e aprendizagem sobre a especificidade e mecanismo da função deste receptor, maior é a possibilidade de planejar estratégias nutricionais para tratar alguma das causas do desenvolvimento da obesidade. É sugerido por muitos estudos, que disfunções no paladar (herdadas ou adquiridas) podem ser responsáveis por alterações na ingestão de alimentos, levando à obesidade (ABUMRAD, 2005).

A proteína PGP 9.5 é uma proteína marcadora de paraneurônios, foi localizada no citoplasma de células gustativas do tipo III em ratos em 1996 por Kanazawa e colaboradores. Segundo Fernandes et al. (2013), as células do tipo III são caracterizadas por expressar proteínas sinápticas e possuir rápida despolarização, sendo consideradas células "pré-sinápticas" que facilitam a transmissão do gosto até o cérebro .

Os anticorpos para o produto do gene da proteína 9.5 (PGP 9.5) foram descritos há mais de uma década, por Astbäck et al. (1995), que revelou a existência de numerosas fibras nervosas e / ou células imunorreativas nas papilas fungiformes, no epitélio, no tecido conjuntivo e em torno dos vasos sanguíneos, bem como nas gargantas ou nas proximidades. Essas evidências científicas de que as células gustativas apresentam uma imunorreatividade positiva muito forte contra o PGP 9.5, representam um dado muito importante, tendo em vista que ele revela toda a rede neuronal em tecidos centrais e periféricos (ASTBÄCK et al., 1995).

2.7 QUERATINIZAÇÃO

De acordo com Kokobun e colaboradores (2012), os mamíferos possuem queratinização normalmente associada à mucosa mastigatória oral, que reveste a parte dorsal do corpo da língua. Essa queratinização parece estar relacionada com uma maneira de proteção e/ou resistência contra danos no tecido (IWASAKI 2002, ZHENG & KOBAYASHI 2006).

A morfologia, estratificação e o nível de queratinização da língua, assim como sua funcionalidade, podem ser alterados conforme o ambiente em que o animal se encontra e o tipo de alimentação que ele tem. A alimentação ao friccionar as papilas, pode causar um desgaste na queratina, que tem o intuito de proteger a mucosa oral (KOKOBUN, et al., 2012; BACHA & BACHA, 2000).

3. JUSTIFICATIVA

O consumo de refrigerantes e de alimentos altamente palatáveis está modificando os hábitos alimentares das pessoas, causando um acentuado descontrole alimentar que resulta no aumento da epidemia da obesidade no mundo.

Em estudo realizado por nosso grupo (THOEN et al., 2015), a oferta de alimentos palatáveis e de refrigerante calórico ou não calórico provocou aumento da ingestão de gordura, aumento do consumo de energia total, aumento do peso corporal e aumento da deposição de gordura visceral em ratos no período de 12 semanas. Esses resultados motivaram a investigação sobre o efeito do consumo desses alimentos e de refrigerante nas papilas gustativas desses animais.

Os receptores de sabores da língua podem exercer influência na escolha alimentar. A obesidade, sendo uma doença metabólica multifatorial, tem seu desenvolvimento influenciado por fatores modificáveis e não modificáveis. Sendo assim, a predileção por alimentos mais

palatáveis, normalmente mais ricos em açúcares, sódio e lipídios pode estar relacionada à expressão e função de receptores gustatórios na língua. A língua do rato apresenta estrutura morfológica e funcional muito semelhante à língua humana, sendo possível mimetizar o processo de possíveis alterações estruturais causadas pela dieta. Portanto, a análise da língua de animais de um modelo de obesidade torna-se viável para o estudo dessa possível relação.

Devido à ausência de evidências que comprovem que o tipo de dieta consumida pode levar à alteração da percepção do sabor e estrutura da língua, justifica-se este estudo que avaliou o material biológico de línguas de ratos submetidos à dieta de cafeteria.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito da ingestão de refrigerante calórico e não calórico sobre a estrutura gustatória de ratos Wistar submetidos à dieta de cafeteria.

4.2 Objetivos Específicos

- 1) Realizar teste anatomopatológico no tecido das línguas dos ratos, por meio de coloração hematoxilina e eosina;
- 2) Avaliar a imunorreatividade das células gustatórias tipo III, por imunohistoquímica por meio do anticorpo PGP 9.5;
- 3) Avaliar a imunorreatividade das papilas gustativas fungiformes, por imunohistoquímica por meio do anticorpo CD 36;
- 4) Analisar o grau de queratinização nas papilas dos ratos;
- 5) Comparar o consumo de macronutrientes com a alteração morfológica da estrutura gustatória dos animais do estudo.

5. REFERÊNCIAS

ABUMRAD, N.A. CD36 may determine our desire for dietary fats. **Journal of clinical investigation**, v. 115, n. 11, p. 2965, 2005.

ASTBÄCK, J.; ARVIDSON, K.; JOHANSSON, O. Neurochemical markers of human fungiform papillae and taste buds. **Regulatory peptides**, v. 59, n. 3, p. 389-398, 1995.

ASTRUP, A. et al. Low-fat diets and energy balance: how does the evidence stand in 2002?. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 61, n. 2, p. 299-309, 2002.

BACHA W.J. & Bacha L.M. 2000. **Color Atlas of Veterinary Histology**. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 318p.

BAKER, P.; FRIEL, S. Processed foods and the nutrition transition: evidence from Asia. **Obesity Reviews**, v. 15, n. 7, p. 564-577, 2014.

BASU, S. et al. Relationship of soft drink consumption to global overweight, obesity, and diabetes: a cross-national analysis of 75 countries. **American journal of public health**, v. 103, n. 11, p. 2071-2077, 2013.

BLUNDELL, J.E. Appetite disturbance and the problems of overweight. *Drugs*, v. 39, n. 3, p. 1-19, 1990.

BLUNDELL, J.E.; GILLETT, A. Control of food intake in the obese. **Obesity**, v. 9, n. S11, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. Guia alimentar para a população brasileira. 2014

CERVIERI, J.; OSMAR et al. O setor de bebidas no Brasil. **BNDES Setorial, Rio de Janeiro**, n. 40, 2014.

CHEVROT, M. et al. Obesity alters the gustatory perception of lipids in the mouse: plausible involvement of lingual CD36. **Journal of lipid research**, v. 54, n. 9, p. 2485-2494, 2013.

CORREA, M. et al. Reduced taste function and taste papillae density in children with chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, v. 30, n. 11, p. 2003-2010, 2015. Damaso A, Guerra RLF, Botero JP, Prado WL. Etiologia da obesidade. In: DAMASO, A. Obesidade. Rio de Janeiro: Medsi, 2003;03-15

DE SOUZA, E.B. Transição nutricional no Brasil: análise dos principais fatores. *Cadernos UniFOA*, v. 5, n. 13, p. 49-53, 2010.

ESCODA, Q.; M.S. Para a crítica da transição nutricional. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 7, n. 2, 2002.

FERNANDES, S.A et al. Is the Phase Angle, a Prognostic Indicator for Nutritional Status in Cirrhotic Patients. **J Antivir Antiretroviral S**, v. 3, p. 2, 2013.

GILBERTSON, T.A.; BOUGHTER J.D.J. Taste transduction: appetizing times in gustation. **Neuroreport**, v. 14, n. 7, p. 905-911, 2003.

GILBERTSON, T.A.; YU, T.; SHAH, B.P. Gustatory mechanisms for fat detection. 2010.

IWASAKI, S. Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. **Journal of Anatomy**, v. 201, n. 1, p. 1-13, 2002.

KANAZAWA, H.; YOSHIE, S. The taste bud and its innervation in the rat as studied by immunohistochemistry for PGP 9.5. **Archives of histology and cytology**, v. 59, n. 4, p. 357-367, 1996.

KENNY, P. J. Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. **Neuron**, v. 69, n. 4, p. 664-679, 2011..

KHAN, N.A.; BESNARD, P. Oro-sensory perception of dietary lipids: new insights into the fat taste transduction. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1791, n. 3, p. 149-155, 2009.

KOKUBUN, H.S. et al. Histological and comparative analysis of lingual papillae of the deer *Mazama americana* and *Mazama gouzoubira* by light and scanning electron microscopy. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1061-1066, 2012.

LAUGERETTE, F. et al. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 11, p. 3177, 2005.

MACHADO, U.F; SCHAAN, B.D; SERAPHIM, P.M. Glucose transporters in the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 177-189, 2006.

MARTIN, C. et al. The lipid-sensor candidates CD36 and GPR120 are differentially regulated by dietary lipids in mouse taste buds: impact on spontaneous fat preference. **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. e24014, 2011.

MCCRICKERD, K.; FORDE, C.G. Sensory influences on food intake control: moving beyond palatability. **obesity reviews**, v. 17, n. 1, p. 18-29, 2016.

NGUYEN, B.T.; POWELL, L.M. The impact of restaurant consumption among US adults: effects on energy and nutrient intakes. **Public health nutrition**, v. 17, n. 11, p. 2445-2452, 2014.

NIOT, I.; BESNARD, P. Appetite control by the tongue-gut axis and evaluation of the role of CD36/SR-B2. **Biochimie**, 2017.

PEREIRA, L. J.; BILT, A. The influence of oral processing, food perception and social aspects on food consumption: a review. **Journal of oral rehabilitation**, v. 43, n. 8, p. 630-648, 2016.

PINHEIRO, A.R.O.; FREITAS, S.F.T.; CORSO, A.C.T. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. **Rev. Nutr.** v. 17, n. 4, p. 523-533, Dec. 2004.

PINTO JÚNIOR, D.A.C.; SERAPHIM, P.M. Cafeteria diet intake for fourteen weeks can cause obesity and insulin resistance in Wistar rats. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 3, p. 313-319, 2012.

ROGERS, P.J. Eating habits and appetite control: a psychobiological perspective. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 1, p. 59-67, 1999.

RUSH, E.C.; YAN, M.R. Evolution not Revolution: Nutrition and Obesity. **Nutrients**, v. 9, n. 5, p. 519, 2017.

SAWAYA, A.L.; FILGUEIRAS, A. "Abra a felicidade"? Implicações para o vício alimentar. **Estud. av.**, São Paulo , v. 27, n. 78, p. 53-70, 2013 .

SHAFAT, A; MURRAY, B; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. **Appetite** 52, 34-38, 2009

SILVA, C.O.R.L. **Palatabilidade: da formação à associação com o excesso de peso e possíveis co-morbidades associadas.** Dissertação de mestrado- Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós- Graduação em Nutrição, 2015.

SUGITA, M. Taste perception and coding in the periphery. **Cellular and molecular life sciences**, v. 63, n. 17, p. 2000-2015, 2006.

TAVARES, C.F. Densidade energética da dieta e ingestão energética total segundo consumo de adoçantes e/ou alimentos processados com adoçantes. 2013. Dissertação (Mestrado em Nutrição em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. doi:10.11606/D.6.2013.tde-23102013-160348. Acesso em: 2017-10-09.

THOEN, R.U. Efeito da ingestão de refrigerante calórico e não calórico sobre o consumo alimentar e modificações morfológicas em ratos Wistar submetidos a dieta de cafeteria. 2015. 64 f. Trabalho de conclusão do curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

VARTANIAN, L.R.; SCHWARTZ, M.B.; BROWNELL, K.D. Effects of Soft Drink Consumption on Nutrition and Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Am J Pub Health**, 97, 4,2007.

WEBSTER, J.L; DUNFORD, E.K; NEAL, B.C. A systematic survey of the sodium contents of processed foods. **The American journal of clinical nutrition**, v. 91, n. 2, p. 413-420, 2010.

YAMADA, M. et al. Soft Drink Intake Is Associated with Diet Quality Even among Young Japanese Women with Low. **J Am Diet Assoc**, 108, 1997-2004, 2008.

YEE, C.L. et al. "Type III" cells of rat taste buds: Immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron-specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. **Journal of Comparative Neurology**, v. 440, n. 1, p. 97-108, 2001.

ZHENG, J.; KOBAYASHI, K. Comparative morphological study on the lingual papillae and their connective tissue cores (CTC) in reeves' muntjac deer (*Muntiacus reevesi*). **Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger**, v. 188, n. 6, p. 555-564, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and Overweight factsheet from the WHO. Health, 2017. Disponível em: < <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/en/>> acesso em: 15 de out.2017.

6. ARTIGO ORIGINAL

“O Consumo da Dieta de Cafeteria e Refrigerante altera a Estrutura Gustatória de Línguas de Ratos Wistar”.

6.1 Revista de escolha: Appetite Journal

Título O Consumo da Dieta de Cafeteria e Refrigerante altera a Estrutura Gustatória de Línguas de Ratos Wistar.

Título em inglês: Cafeteria diet and soft drink consumption alter the gustatory structure of Wistar rats

Autores:

Carolina Amanda Marques Lucas¹, Rutiane Ullmann Thoen¹, Martine Elisabeth Kienzle Hagen^{1,2}

Afiliações:

¹Departamento de Nutrição, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2.400, 4º andar, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Centro de Estudos em Alimentação e Nutrição - HCPA/UFRGS.

Endereço do autor principal, telefone e e-mail

Martine Elisabeth Kienzle Hagen

Rua Ramiro Barcelos, 2400 – 4º andar, sala 405

CEP: 90035-903

Telefone: 51 99959-5299

E-mail: martine.hagen@ufrgs.br

Financiado por

Pesquisa financiada pelo Fundo de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) e CNPq.

RESUMO

Os alimentos industrializados estão presentes na alimentação diária da população mundial, sabe-se que em sua composição há aditivos químicos como conservantes e realçadores de sabor, o que os tornam hiperpalatáveis ao gosto humano, provocando um consumo excessivo. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito da ingestão de refrigerante calórico e não calórico sobre a estrutura gustatória de ratos Wistar submetidos à dieta de cafeteria. Foi utilizado o material biológico de línguas de ratos do estudo realizado por nosso grupo (Thoen et al., 2015). Os animais foram divididos em seis grupos: Controle (CON), Refrigerante Calórico (RC), Refrigerante Não Calórico (RNC), Dieta de Cafeteria (DC), Dieta de Cafeteria+Refrigerante Calórico (DC+RC) e Dieta de Cafeteria+Refrigerante Não Calórico (DC+RNC). A histologia do tecido da região dorsal das línguas foi analisada por imunohistoquímica com coloração hematoxilina e eosina e a imunorreatividade com anticorpos para receptores CD36 e PGP 9.5. O grupo RC e DC+RC apresentaram redução significativa na queratinização da língua, quando comparado aos outros grupos, assim como marcação mais intensa ao receptor neuroquímico PGP 9.5 que representa a transmissão sináptica do sabor em tecidos centrais e periféricos. As análises de CD36 identificaram maior intensidade de marcação nos grupos RC, DC e DC+RC, mostrando resultados diferentes da literatura, que indica menor presença de receptor CD36 com o consumo de dieta gordurosa e obesidade. Esses resultados sugerem que dietas compostas com grande quantidade de alimentos industrializados e com alta densidade calórica como a dieta de cafeteria e o consumo de refrigerante, além de contribuírem para a prevalência da obesidade, podem causar alterações na queratinização da língua e percepção de sabor mediada por PGP 9.5.

Palavras-chave: dieta de cafeteria, refrigerante, distúrbios do paladar, papilas gustativas.

ABSTRACT

Industrialized foods are present in the daily food of the world population; it is known that in its composition there are chemical additives as preservatives and flavor enhancers, which make them hyperpalatable to human taste, causing excessive consumption. The objective of this study was to analyze the effect of caloric and non caloric soft drink intake on the gustatory structure of Wistar rats submitted to the cafeteria diet. It was used the biological material of rat's tongues of the study carried out by our group (Thoen et al., 2015). The animals were divided into six groups: Control (CON), Caloric Soft Drink (CS), Non caloric Soft Drink (NCS), Cafeteria Diet (CD), Cafeteria Diet + Caloric Soft Drink (CD+CS) and Cafeteria Diet + Non Caloric Soft Drink (CD + NCS). The tissue histology of the dorsal region of the tongues was analyzed by immunohistochemistry staining hematoxylin and eosin and immunoreactivity with antibodies to CD36 and PGP 9.5 receptors. The CS and CD + CS groups showed a significant reduction in the keratinization of the tongue when compared to the other groups, as well as a more intense marking to the PGP 9.5 neurochemical receptor that represents the synaptic transmission of the taste in central and peripheral tissues. The CD36 analyzes identified a greater intensity of labeling in the CS, CD and CD + CS groups, showing different results in the literature, indicating a lower presence of CD36 receptor with consumption of fatty diet and obesity. The CD36 analyzes identified a more intense marking in the CS, CD and CD + CS groups, showing different results from the literature, which shows a lower presence of CD36 receptor with consumption of fat diet and obesity. These results suggest that diets composed of large quantities of industrialized foods with high caloric density, such as the cafeteria diet and the consumption of soft drink, besides contributing to the prevalence of obesity, may cause changes in tongue keratinization and PGP9.5-mediated taste perception.

Keywords: cafeteria diet, soft drink, taste disorders; taste buds.

1. INTRODUÇÃO

Em estudo realizado por nosso grupo (Thoen et al., 2015), a oferta de alimentos palatáveis e de refrigerante calórico ou não calórico provocou aumento da ingestão de gordura, aumento do consumo de energia total, aumento do peso corporal e aumento da deposição de gordura visceral em ratos no período de 12 semanas. Esses resultados motivaram a investigação sobre o efeito do consumo desses alimentos e de refrigerante nas papilas gustativas desses animais. Os receptores de sabores da língua podem exercer influência na ingestão alimentar (Cambraia, 2004; Martin et al., 2011; Stewart et al., 2011). Sendo assim, a predileção por alimentos mais palatáveis, normalmente mais ricos em açúcares, sódio e lipídios pode estar relacionada à expressão e função de receptores gustatórios na língua. A língua do rato apresenta estrutura morfológica e funcional muito semelhante à língua humana, sendo possível mimetizar o processo de possíveis alterações estruturais causadas pela dieta. Devido à ausência de evidências que comprovem que o tipo de dieta consumida pode levar à alteração da percepção do sabor e estrutura da língua, justifica-se este estudo que analisou o consumo de macronutrientes e o efeito da ingestão de refrigerante calórico e não calórico sobre a estrutura gustatória de ratos Wistar submetidos à dieta de cafeteria.

1.1. *Dieta de Cafeteria*

A dieta da cafeteria (CAF) é um modelo de indução à obesidade amplamente utilizado em ratos. De acordo com Shafat e colaboradores (2009), essa dieta é composta por alimentos com alta densidade calórica e hiperpalatáveis, que induzem hiperfagia e aumento de peso no rato, sugerindo que o seu consumo frequente desenvolva a obesidade.

1.2. *Refrigerante*

O consumo de refrigerantes também está intimamente relacionado ao excesso de peso, obesidade e diabetes em todo o mundo, incluindo países de baixa e média renda (Basu et al., 2013; Rush et al., 2017). No Brasil, em 2014 a produção de refrigerantes se destacou como o principal item do setor de bebidas e, de acordo com os dados da Euromonitor International (líder mundial em pesquisa de estratégia para mercados consumidores), o Brasil consome cerca de 85 litros de refrigerante/habitante/ano, o que o faz ocupar a 12ª posição do ranking mundial, em cujas primeiras posições estão os EUA (170 litros/habitante/ano), o

México (146 litros/habitante/ano) e o Chile (127 litros/habitante/ano) (Cervieri Júnior et al., 2014). Esses dados são preocupantes, visto que o consumo habitual desse tipo de bebida prejudica a nutrição e estado de saúde da população, tornando assim, uma questão de saúde pública (VARTANIAN et al., 2007).

O desequilíbrio alimentar é tão grave que foi motivo de destaque no atual Guia Alimentar para a População Brasileira (2014), que enfatiza a importância de evitar o consumo de refrigerantes e outros alimentos ultraprocessados, pois por sua formulação e palatabilidade, induzem ao consumo excessivo (Brasil, 2014).

1.3. Palatabilidade e consumo alimentar

A palatabilidade dos alimentos está diretamente relacionada com as escolhas alimentares, assim como também influencia no desejo de consumo de certos alimentos e na quantidade a ser ingerida (Kenny, 2011). Sabe-se que alimentos que contém açúcar, sal e gordura, principalmente, são muito palatáveis na percepção do gosto humano e animal, podendo gerar vício alimentar (Sawaya et al., 2013). Alimentos ricos em açúcar, sal e gordura são alimentos que ativam o sistema de recompensa (Kenny, 2011) e provocam hiperfagia (Abumrad, 2005), contribuindo diretamente para o elevado consumo energético e, conseqüentemente, para o excessivo ganho de peso corporal e desenvolvimento da obesidade, com provável desenvolvimento de co-morbidades a longo prazo.

Acredita-se que o apetite é controlado pela interação de processos internos (genéticos, fisiológicos e químicos) e externos (ambientais e psicossociais) (Cabraia, 2004). O papel dos fatores nutricionais e alimentares no controle da expressão do apetite é particularmente importante, pois o apetite aumentado (hiperfagia) pode ser induzido por mudanças em neurotransmissores cerebrais e neuromoduladores, metabolismo hepático alterado, ajustes dos componentes nutrientes/sensoriais da dieta e a imposição mental e comportamental da dieta (Blundell, 1990). Segundo Bellisle (1999), o glutamato monossódico é utilizado frequentemente pelas indústrias alimentícias de alimentos processados também nas preparações caseiras no mundo ocidental (caldos em tabletes, principalmente). Esta substância está relacionada com o sabor umami e é responsável por intensificar o sabor e a palatabilidade dos alimentos, tornando-os mais saborosos e, conseqüentemente, mais atraentes para o consumo (Mccrickerd, 2016).

1.4. *Marcadores neuroquímicos - receptores CD36 E PGP 9.5*

Considerando as papilas gustativas como órgãos sensoriais especializados, as quantidades e a distribuição de alguns dos marcadores neuroquímicos devem ser levadas em consideração (Astbäck et al., 1995). A grande maioria dos estudos de transdução do sabor tem sido focada na sinalização dentro das papilas gustativas da língua (Gilbertson et al., 2010). Ao longo da última década, a identificação de receptores de ácidos graxos em lugares estratégicos do corpo (ou seja, o trato oro-intestinal e cérebro) proporcionou um grande progresso na descoberta de fatores reguladores envolvidos no controle da ingestão alimentar (Niot e Besnard, 2017). Entre esses receptores, o CD36 localizado na língua recebe destaque por parecer desempenhar um papel significativo na nossa preferência por gordura.

1.5. *CD36*

É um receptor de ácido graxo de cadeia longa (AGCL) identificado nas papilas gustativas de ratos que apresenta envolvimento na regulação da alimentação (Martin et al., 2011). Desde a identificação inicial do CD36 no sistema periférico, vários estudos validaram que sua expressão possui papel funcional na quimiorrecepção de ácidos graxos (Gilbertson et al., 2010). Estudos recentes em roedores e seres humanos sugerem que a quimiorrecepção de AGCL na língua e cavidade oral como um todo, está relacionada com a preferência espontânea para alimentos gordurosos e pode contribuir para o risco de desenvolvimento da obesidade. Segundo os resultados de Martin et al. (2011), a detecção de lipídios mediada por CD36 afeta o comportamento alimentar e o equilíbrio energético.

1.6. *PGP 9.5*

É uma proteína marcadora de paraneurônios e foi localizada em 1996 por Kanazawa e colaboradores no citoplasma de células gustativas do tipo III em ratos. Segundo Fernandes et al. (2013), as células do tipo III são caracterizadas por expressar proteínas sinápticas e possuir rápida despolarização, sendo consideradas células "pré-sinápticas" que facilitam a transmissão do gosto até o cérebro .

Astbäck et al. (1995), revelaram a existência de numerosas fibras nervosas e / ou células imunorreativas nas papilas fungiformes, no epitélio, no tecido conjuntivo e em torno dos vasos sanguíneos, bem como nas gargantas ou nas proximidades. Fernandes et al. (2013) também utilizou o anticorpo PGP 9.5 para mostrar a inervação das papilas gustativas em ratos. Evidências científicas de que as células gustativas apresentam uma imunorreatividade positiva

muito forte contra o PGP 9.5 representam um dado muito importante, pois o PGP 9.5 revela toda a rede neuronal em tecidos centrais e periféricos.

1.7. *Queratina*

De acordo com Kokobun e colaboradores (2012), a morfologia, estratificação e o nível de queratinização da língua, assim como sua funcionalidade, podem ser alterados conforme o ambiente em que o animal se encontra e o tipo de alimentação que ele tem. A alimentação ao friccionar as papilas, pode causar um desgaste na queratina, que tem a função de proteger a mucosa oral (Bacha & Bacha, 2000).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Animais e Desenho experimental*

Estudo com material biológico (língua) de ratos machos Wistar. Os experimentos e procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA nº 14.0144) e estão de acordo com as diretrizes Brasileiras sobre o uso de animais na pesquisa (Lei nº 11.794).

Em estudo anterior do nosso grupo de pesquisa, os animais foram tratados e analisados o consumo alimentar e parâmetros morfológicos (Thoen et al., 2015). Os animais foram divididos em 6 grupos: Controle (CON) dieta padrão com ração e água. Refrigerante Calórico e Ração (RC); Refrigerante Não-Calórico e Ração (RNC) dieta padrão, água e Refrigerante Não-Calórico (zero); Dieta de Cafeteria e ração (DC,) dieta padrão e dieta de cafeteria; Dieta de Cafeteria e Refrigerante Calórico (DC+RC) ração padrão, dieta de cafeteria, água e Refrigerante Calórico; Dieta de Cafeteria e Refrigerante Não-Calórico (DC+RNC) ração padrão, água, dieta de cafeteria e Refrigerante Não-Calórico.

2.2. *Ração Padrão*

A ração padrão utilizada foi a ração para ratos e camundongos da marca Nuvilab CR-1 com a composição nutricional que segue na **Tabela 1**.

2.3. *Dieta de Cafeteria*

A dieta de cafeteria ofertada era composta por salgadinho Yokito (Yoki), biscoito wafer chocolate (Bauducco), bolacha recheada de morango (Trakinas), leite condensado (Elegê) e salsicha (Excelsior). A dieta de cafeteria foi oferecida com a ração padrão, água e refrigerante *ad libitum*. Os valores da composição nutricional da dieta de cafeteria estão representados na **Tabela 2**.

2.4. *Refrigerante calórico e não calórico (tradicional e zero)*

Os refrigerantes à base de cola foram adquiridos no comércio local e os valores nutricionais foram obtidos em consultoria ao site do fabricante de uma marca deste tipo de refrigerante. Informação nutricional consta na **Tabela 3**.

2.5. *Preparo das lâminas*

Após a dissecação, as línguas foram colocadas em formalina tamponada a 10% e encaminhados ao Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. As línguas foram incluídas em blocos de parafina, após, os blocos foram fixados ao Micrótomo (Leitz→1512) para corte em lâminas. As lâminas foram mergulhadas nos corantes de hematoxilina e eosina e picrosírius intermediadas por banho de água corrente. Para desidratação, as estruturas passaram por três recipientes com álcool absoluto e por dois de xilol. A lamínula foi colocada sobre a lâmina, utilizando-se Bálsamo do Canadá ou Entellan, finalizando o processo de preparação.

2.6. *Estudo histopatológico da língua*

2.6.1. *Avaliação Imunohistoquímica*

Para a avaliação Imunohistoquímica por PGP 9.5 e CD36, utilizamos os anticorpos PGP 9.5 da marca spring BIOS (cod. E 3344 policlonal, na diluição de 1:200, recuperação pH6) e CD36 (anticorpo secundário de coelho, diluição de 1:50 recuperação pH 6). As lâminas foram analisadas em microscópio binocular Olympus BX 51 no aumento de 10x, as fotos foram

feitas com a câmera digital para captura de imagens contida no equipamento e foi usado o software QCapture 2.81 (versão 2.81.0, 2005). Foram capturadas todas as partes da língua que possuíam papilas gustativas fungiformes, que foram analisadas quanto ao seu grau de sinalização para CD36 e PGP 9.5.

2.6.2. *Queratinização*

Para identificar as diferenças entre os grupos, foram capturadas fotos da parte frontal, medial e caudal de cada língua, também no aumento de 10x. As análises do tamanho das cristas de queratina foram realizadas por meio do programa Image J em cada uma das três fotos e foram feitas as médias das medidas.

2.7. *Comparação do consumo de macronutrientes com a alteração morfológica da estrutura gustatória dos animais do estudo*

A morfologia da estrutura gustatória de cada um dos animais do estudo foi correlacionada com a quantidade de carboidratos, proteínas e lipídeos consumidos por cada animal. No trabalho de Thoen e colaboradores (2015), os dados de consumo alimentar e de bebidas foram coletados e, de acordo com o consumo de cada alimento, foi calculada a quantidade de cada macronutriente consumido por animal em cada dia e realizada uma média de consumo ao longo das 12 semanas de tratamento, que pode ser conferida na **Tabela 4**.

2.8. *Análise estatística*

Todos os dados foram analisados pelo programa SPSS, versão 18. O efeito do tempo e tratamento (tempo vs. tratamento) sobre a ingestão de carboidratos, proteínas, lipídios e refrigerante ao longo das 12 semanas de tratamento foi analisado por ANOVA de medidas repetidas, seguida pelo pós-teste de Bonferroni. Os resultados de queratinização e do CD 36 foram analisados por ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. Os valores foram expressos como média, sendo considerados estatisticamente significativos valores de $P < 0,05$. Para analisar as correlações entre consumo de nutrientes, imunohistoquímica e queratina foi utilizado o teste de correlação de Spearman's.

3. RESULTADOS

3.1. Consumo de Refrigerante

O consumo de refrigerante está representado como média diária em mililitros de líquidos por animal (**Figura 1A**). Houve uma diferença na ingestão entre os grupos, os animais que receberam refrigerante calórico (RC e DC+RC) consumiram 68% e 38%, respectivamente, mais refrigerante quando comparados aos grupos que receberam refrigerante não calórico (RNC e DC+RNC). O grupo RC consumiu significativamente maior quantidade de refrigerante (39%) comparado aos outros grupos ($P < 0,05$). A ingestão de refrigerante não calórico foi semelhante nos grupos RNC e DC+RNC ($P > 0,05$).

3.2. Ingestão de Carboidratos

A ingestão média diária de carboidratos, ao longo do tratamento, está ilustrada na **Figura 1B**. Desde o início do tratamento, o consumo de carboidratos foi significativamente maior ($P > 0,05$) no grupo RC quando comparado aos outros grupos. Em relação ao grupo controle, o RC ingeriu 30% a mais de carboidrato e, em relação ao grupo DC+RC, o grupo RC ingeriu 18% a mais de carboidratos.

3.3. Ingestão de Proteínas

Conforme ilustrado na **Figura 1C**, a média de ingestão diária de proteínas foi significativamente maior nos grupos CON e RNC comparado aos grupos RC, DC, DC+RC e DC+RNC. O grupo RC consumiu 29% menos proteína quando comparado aos grupos CON e RNC, porém, em relação aos grupos que receberam dieta de cafeteria (DC, DC+RC, DC+RNC), o grupo RC consumiu maior quantidade de proteínas. A ingestão da dieta de cafeteria resultou na redução do consumo de proteínas em 50% no grupo DC comparado ao CON, 34% no grupo DC+RC comparado ao RC e 50% no grupo DC+RNC comparado ao RNC ($P > 0,05$).

3.4. Ingestão de Lipídios

Os grupos que receberam dieta de cafeteria (DC, DC+RC e DC+RNC) tiveram uma média de ingestão de lipídios 4-5 vezes maior comparado aos grupos que receberam somente ração (CON, RC, RNC) ($P < 0,005$), como pode ser observado na **Figura 1D**.

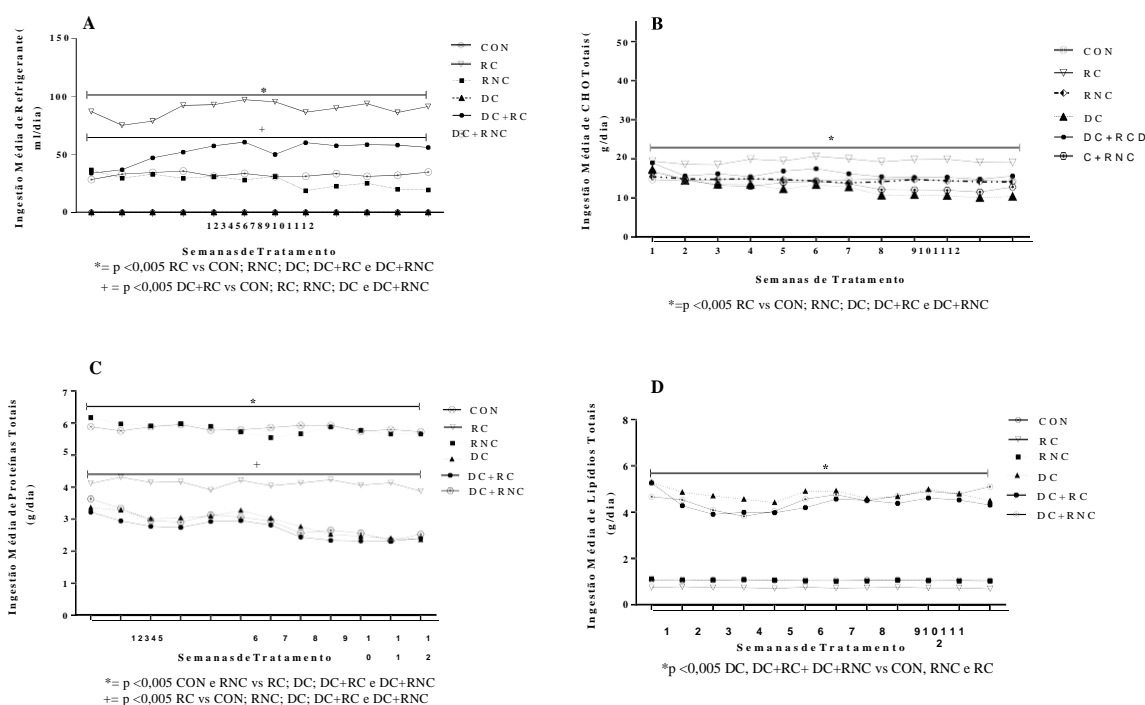


Figura 1. Média de Ingestão de refrigerante, carboidratos, proteínas, e lipídios por grupo. A) Média de consumo de refrigerante (A); Média de Ingestão de carboidratos (CHO)(B); Média de Ingestão de proteínas (C); Média de Ingestão de lipídios (D) por animal por grupo (g/d) ao longo das 12 semanas de tratamento. Dados expressos em média \pm EP de dez animais/grupo. CON (controle); RC (refrigerante calórico); RNC (refrigerante não calórico); DC (dieta de cafeteria); DC+RC (dieta de cafeteria + refrigerante calórico); DC+RNC (dieta de cafeteria + refrigerante não calórico). ($P < 0,05$; ANOVA de medidas repetidas seguida do pós teste de Bonferroni).

3.5. Papilas gustativas

A disposição das papilas gustativas varia de acordo com as condições de fixação e incorporação. Isso dificultou a identificação precisa dos diferentes tipos de células em algumas amostras. Foram visualizadas papilas gustativas filiformes e fungiformes. Nenhuma papila

circunvalada ficou visível nos nossos cortes histológicos, isso pode ter ocorrido devido ao fato dos ratos possuírem apenas uma papila circunvalada e os cortes não a contemplaram.

3.6. *Queratina*

Na **Figura 2**, observa-se a foto da queratinização das línguas (A e C – Grupo Controle; B – Grupo Refrigerante Calórico e D - Dieta de Cafeteria + Refrigerante Calórico). As línguas dos ratos que receberam refrigerante normal apresentaram menor grau de queratinização em comparação aos outros grupos. Porém, os animais do grupo DC+RC apresentaram redução significativa da queratina da língua em relação ao grupo RC ($p < 0,05$) Figura 3. A redução da queratina do DC+RC mostrou correlação negativa moderada com o consumo do refrigerante calórico ($R = -0,326$).

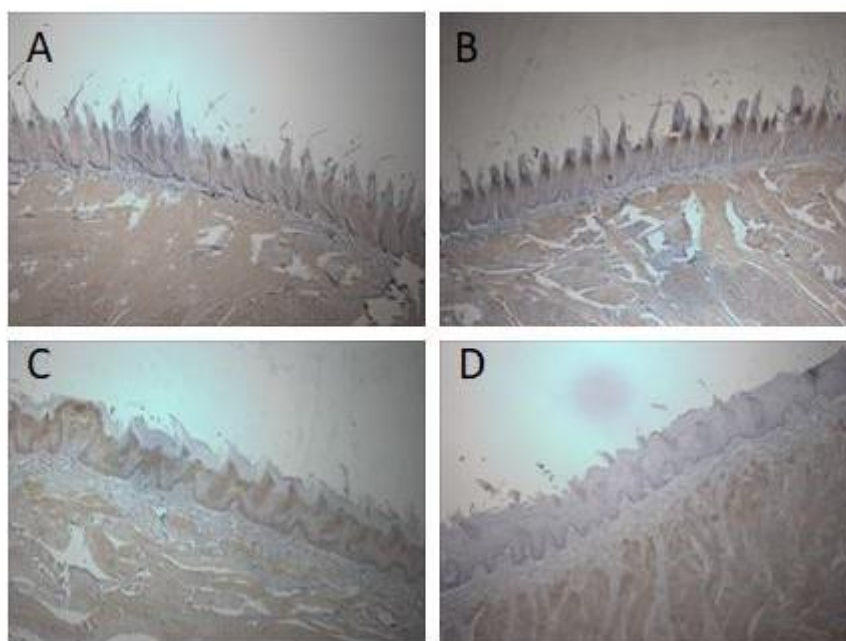


Figura 2. Queratinização das Línguas. A e C - Grupo controle; B- Grupo Refrigerante Calórico e D- Grupo DC+RC.

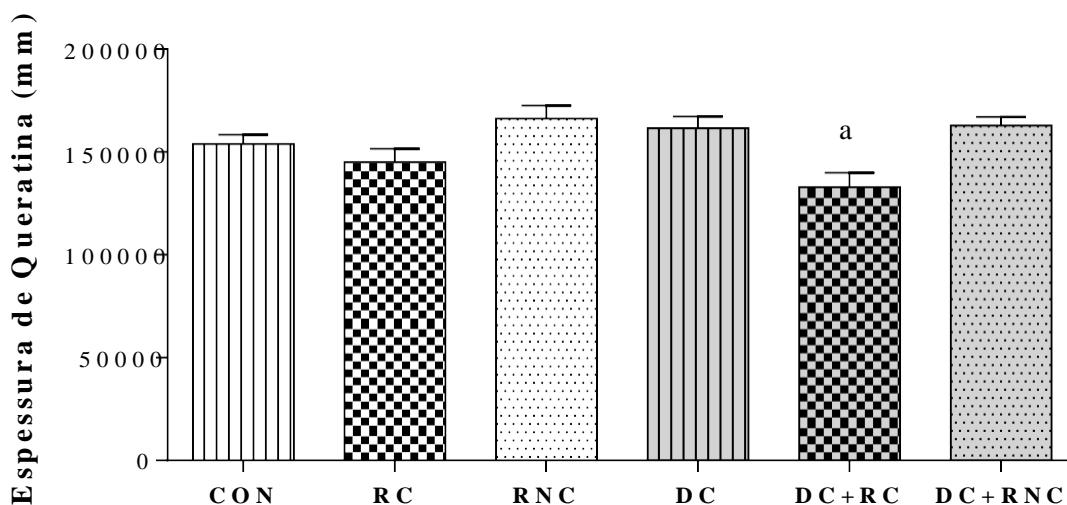


Figura 3. Espessura da Queratina entre os grupos. Dados expressos em media \pm EP de dez animais/grupo. CON (controle); RC (refrigerante calórico); RNC (refrigerante não calórico); DC (dieta de cafeteria); DC+RC (dieta de cafeteria + refrigerante calórico); DC+RNC (dieta de cafeteria + refrigerante não calórico). ^asignifica diferença estatística ($P < 0,001$; ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls).

3.7. Intensidade dos marcadores neuroquímicos CD36 e PGP 9.5

A intensidade de marcação do anticorpo CD36 e do PGP 9.5 foi avaliada por observação dos pesquisadores e definida por meio do teste de concordância de Kappa (0.795; $P < .05$), que revelou concordância entre os avaliadores.

3.7.1. CD36

Foram definidos três tipos de intensidade na marcação de C36: nula: quando não houve nenhum tipo de marcação ao anticorpo, fraca quando houve pouca marcação e apenas na região apical e intensa quando a marcação estava evidente em toda a papila, como pode ser observado na **Figura 4**.

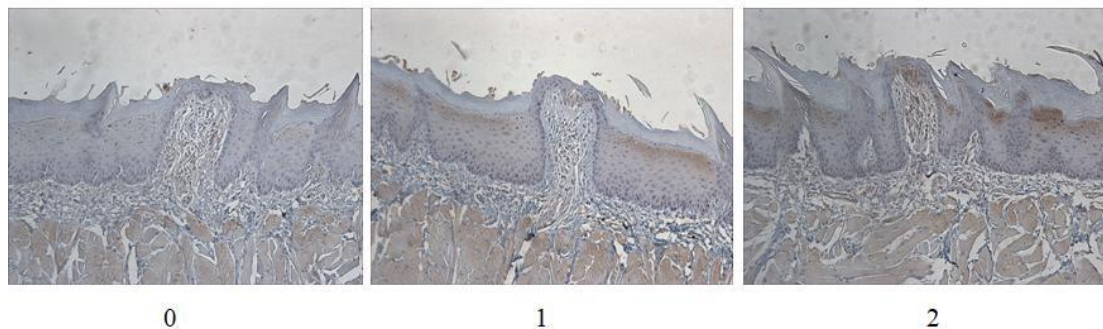


Figura 4. Foto das Papilas Gustativas de Ratos mostrando a Intensidade de Marcação das Papilas Fungiformes - CD36. A intensidade foi considerada como marcação nula = 0, fraca = 1 e intensa = 2.

A avaliação do CD36 nas papilas demonstrou que os grupos CON e RNC apresentaram marcação fraca, o grupo RC, DC e DC+RC apresentaram marcação intensa. O grupo que recebeu DC+RNC mostrou marcação muito fraca, sendo classificada como marcação nula (**Figura 5**).

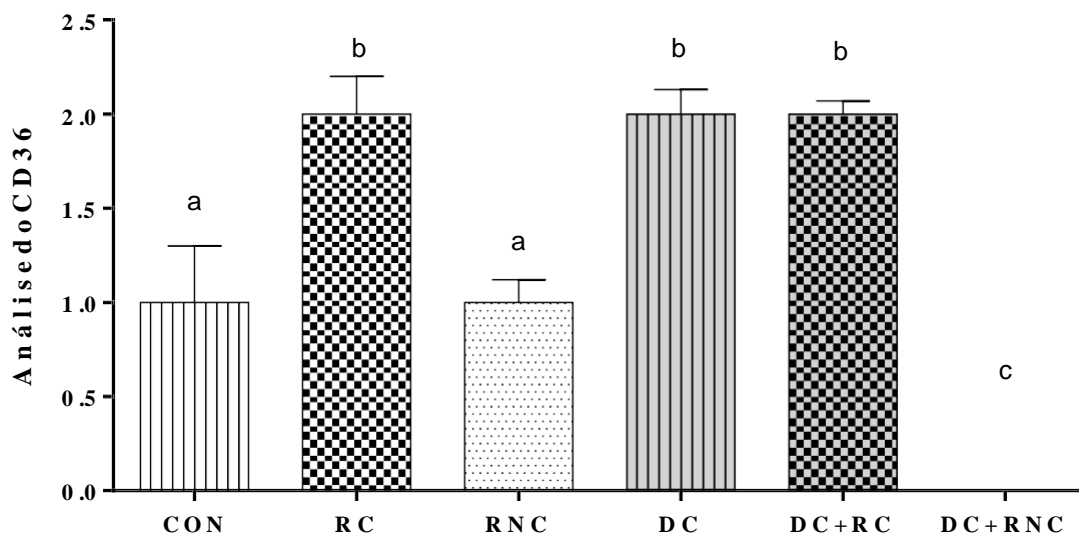


Figura 5. Análise de intensidade de marcação do anticorpo CD36. CON (controle); RC (refrigerante calórico); RNC (refrigerante não calórico); DC (dieta de cafeteria); DC+RC (dieta de cafeteria + refrigerante calórico); DC+RNC (dieta de cafeteria + refrigerante não calórico). ^{a, b, c}letras diferentes significam diferença estatística ($P < 0,001$; ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls).

3.7.2. PGP 9.5

A **Figura 6** demonstra a intensidade de marcação do PGP 9.5 nas papilas fungiformes. O grupo CON apresentou marcação moderada (50%), assim como o Grupo DC (55,6%). A presença de marcação intensa foi observada nos grupos RC (90%) e DC+RC (75%), mostrando uma diferença significativa em relação aos outros grupos [$F_{(5,54)} = 4,602$; $P < 0,002$]. Já os grupos RNC e DC+RNC, apresentaram marcação predominantemente fraca em 87,5% e 100%, respectivamente (**Figura 7**).

O consumo de refrigerante calórico mostrou correlação positiva com a intensa marcação do PGP 9.5 ($R = 0,284$). A intensidade de marcação do PGP 9.5 foi significativamente maior nos grupos que receberam refrigerante calórico em comparação com os grupos que receberam refrigerante não calórico. A intensidade da marcação do PGP 9.5 também mostrou correlação positiva moderada com o consumo de carboidratos ($R = 0,381$) nos grupos RC e DC+RC.

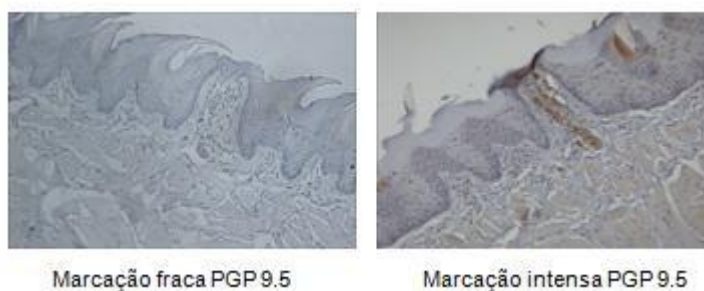


Figura 6. Foto das Papilas Fungiformes mostrando a Intensidade de Marcação do PGP 9.5.

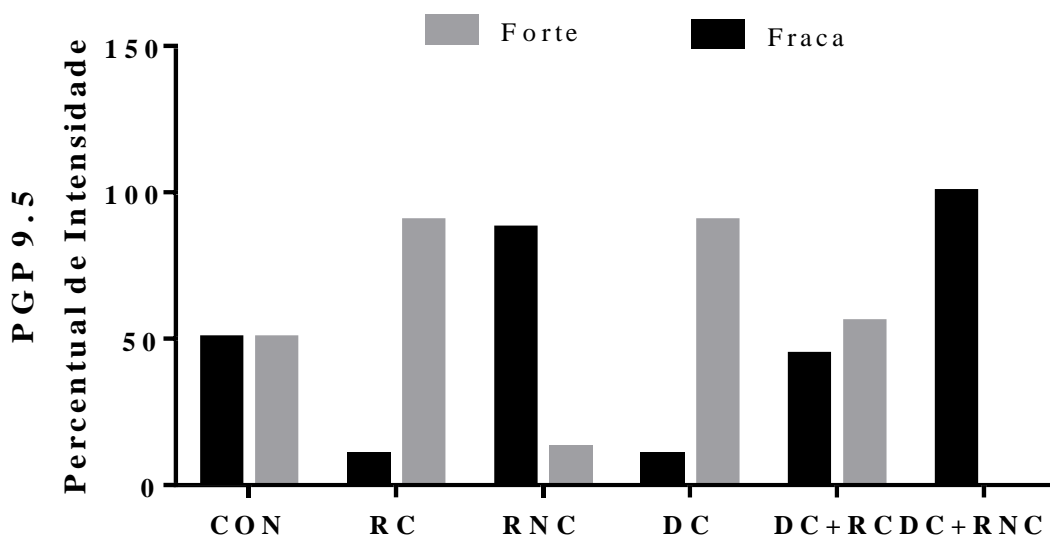


Figura 7. Percentual de Intensidade de marcação nas papilas fungiformes com PGP 9.5.

4. DISCUSSÃO

A globalização do fast food e de outros hábitos da alimentação moderna afetou os padrões alimentares, inclusive em crianças de diversos países no mundo (Adair et al., 2005). O estudo de Rush e colaboradores (2017) relatou que o consumo de alimentos processados por mais de duas vezes por semana está associado a um maior risco de aumento de peso até a obesidade (Rush et al., 2017; WORLD CANCER RESEARCH FUND, 2007). Em nosso recente estudo (Thoen et al., 2015), examinamos o comportamento alimentar em ratos, os animais que receberam a dieta de cafeteria e refrigerante calórico ou não calórico apresentaram um consumo de alimentos sólidos totais significativamente maior quando comparados aos grupos CON, RC e RNC, que receberam apenas ração padrão. Entretanto, a quantidade de ração padrão consumida pelos animais que receberam a dieta de cafeteria foi significativamente inferior quando comparada aos grupos CON, RC e RNC. A dieta de cafeteria, por apresentar uma variedade de alimentos altamente palatáveis, foi preferida pelos animais, todos consumiram uma quantidade superior de lipídeos e inferior de proteínas devido ao fato de a dieta de cafeteria ser rica em gorduras. O consumo da dieta de cafeteria resultou em elevado consumo de energia total, aumento do peso corporal e aumento da deposição de gordura visceral em ratos. Segundo Castro e colaboradores, essa dieta provoca uma disfunção no controle da ingestão alimentar e induz o acúmulo de gordura corporal e aumento do risco

metabólico, como observado nos animais que receberam dieta de cafeteria em nosso estudo. Esses resultados coincidem com os encontrados no estudo de Shafat et al. (2009) que também usou o modelo de dieta de cafeteria em ratos. Os animais ingeriram 25% de alimentos a mais em comparação ao grupo controle. A exposição à dieta de cafeteria resultou em um aumento de 58% na ingestão de energia total, aumentando o ganho de peso corporal e desenvolvimento da obesidade, resultados que também foram encontrados no nosso estudo (Thoen et al., 2015). Esses dados demonstraram que uma dieta variada e energeticamente densa induz à hiperfagia e obesidade nos ratos.

Pereira e colaboradores (2016) se referem à percepção alimentar como resultado da integração de vários fatores, e não somente de um sentido individual. Por isso, é importante o estudo dos efeitos da alimentação na percepção e consumo alimentar. No presente estudo, foram analisadas as línguas dos animais tratados para o nosso estudo anterior (Thoen et al., 2015), a finalidade foi avaliar o efeito da ingestão da dieta de cafeteria e refrigerante sobre a estrutura gustatória dos ratos Wistar.

O grupo que recebeu refrigerante e dieta de cafeteria apresentou menor queratinização na língua em comparação aos outros grupos que receberam dieta padrão. Conforme Kokobun et al. (2012), a morfologia, estratificação e o nível de queratinização da língua, assim como sua funcionalidade, podem ser alterados conforme o ambiente em que o animal se encontra e o tipo de sua alimentação. A alimentação ao friccionar as papilas, pode causar um desgaste na queratina, que tem a função de proteger a mucosa oral (Kokobun et al., 2012, Bacha & Bacha, 2000). Acreditamos que o consumo de refrigerante associado ao consumo de alimentos ultraprocessados possa ter sido a causa da alteração na espessura de queratina da língua. Talvez, a união de aditivos químicos presentes na composição desses alimentos (Louzada, 2015) possa alterar a queratina das línguas.

Os resultados do nosso estudo em relação à marcação do CD36 foram contraditórios aos que são encontrados na literatura (Zhang et al., 2011; Chevrot et al., 2011), os grupos que receberam Refrigerante Calórico, Dieta de Cafeteria, Dieta de cafeteria e Refrigerante calórico foram os que apresentaram maior intensidade na marcação de CD36 em comparação aos que não receberam dieta rica em gordura. Curiosamente, o grupo que recebeu Refrigerante Não Calórico, independente da dieta que recebeu, apresentou marcação fraca ou nula em relação aos outros grupos. De acordo com a literatura, era esperado que os animais que consumiram maior quantidade de gordura (DC, DC+RC e DC+RNC) apresentassem menor marcação do anticorpo CD36, pois de acordo com o estudo de Chevrot e colaboradores

(2013), há uma relação inversa entre o receptor de gordura CD36 e tamanho do tecido adiposo, onde a obesidade altera o sistema de detecção de lipídios oral, ou seja, os ratos que receberam dieta de cafeteria e refrigerante calórico desenvolveram sobrepeso e obesidade. Segundo dados do estudo de Zhang et al. (2011) e Stewart et al. (2010), esses animais deveriam apresentar menor sensibilidade ao receptor de gordura CD36 e, conseqüentemente, menor intensidade na marcação do CD36 em comparação aos grupos CON e RNC, pois quanto mais fraca a expressão de CD36, menor seria a sensibilidade à gordura e mais alimentos gordurosos precisariam ser consumidos para saciar. Uma menor sensibilidade aos lipídios relacionada à obesidade pode ser associada a um consumo excessivo de alimentos gordurosos (Passilly-Degrace, 2014).

A marcação do PGP 9.5 foi mais intensa nos grupos que receberam refrigerante calórico e também mostrou correlação positiva moderada com o consumo de carboidratos nos grupos RC e DC+RC. De acordo com o estudo de Yee et al. (2001) a imunorreatividade do PGP 9.5 nas papilas gustativas indica a presença de células tipo III, o que significa a existência de uma inervação neuronal intensa relacionada com a percepção do sabor. Esses dados sugerem que o consumo de alimentos hiperpalatáveis e densos em energia como o refrigerante calórico e a dieta de cafeteria, podem alterar a percepção biológica normal do sabor, visto que esses alimentos possuem grande quantidade de açúcar, aditivos químicos e realçadores de sabor, que aumentam a sensibilidade a percepções do gosto e os tornam muito saborosos, induzindo à hiperfagia (Brasil, 2014; Cambraia, 2004).

É importante observar que a maioria das evidências científicas mostram resultados de CD36 em papilas circunvaladas e cada uma com um método diferente de análise. No presente estudo, foi possível detectar apenas as papilas fungiformes que, de acordo com Correa et al. (2015), estão relacionadas com a sensibilidade ao gosto e contam com a presença e distribuição de marcadores neuroquímicos que podem ser analisados pela técnica de imunohistoquímica (Astbäck et al. 1995). Porém, existem limitações a serem observadas em relação à análise de papilas gustativas nos cortes histológicos da língua dos ratos, pois o corte pode influenciar na visibilidade dessas estruturas e na quantidade delas em cada lâmina, podendo variar o número e o tipo de papilas gustativas aparentes (Lawton et al., 2000).

5. CONCLUSÃO

Este estudo comparou o consumo de macronutrientes de diferentes dietas e seu efeito sobre a estrutura gustatória e percepção de sabor por meio da avaliação da marcação da imunorreatividade dos anticorpos CD36 e PGP 9.5 por técnica de imunohistoquímica. Os grupos que ingeriram refrigerante calórico tiveram a queratinização da língua diminuída em relação aos que receberam água ou refrigerante não calórico. Os resultados do nosso estudo em relação à marcação de CD36 foram contraditórios aos encontrados na literatura, pois os ratos que desenvolveram obesidade e consumiram maiores quantidades de gordura e açúcar, não apresentaram marcação intensa à imunorreatividade ao CD36 nas papilas. A marcação intensa do PGP 9.5 foi correlacionada com o consumo de refrigerante e carboidratos.

Esses dados sugerem que o consumo de alimentos hiperpalatáveis e densos em energia, que contêm grande quantidade de açúcar, gordura, aditivos químicos e realçadores de sabor, podem ser a causa da alteração morfológica da língua, resultando em distúrbio na percepção biológica normal do sabor. Porém são necessários estudos mais aprofundados em relação ao efeito do consumo de dieta de cafeteria e refrigerante na estrutura gustatória e expressão de receptores neuroquímicos em ratos.

CONFLITOS DE INTERESSE

Não há conflitos de interesse.

FINANCIAMENTO

Pesquisa financiada pelo Fundo de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) e CNPq.

REFERÊNCIAS

- Abumrad, N. A. (2005). CD36 may determine our desire for dietary fats. *Journal of clinical investigation*, 115(11), 2965.
- Adair, L. S. & Popkin, B. M. (2005). Are child eating patterns being transformed globally?. *Obesity*, 13(7), 1281-1299.
- Astbäck, J., Arvidson, K. & Johansson, O. (1995). Neurochemical markers of human fungiform papillae and taste buds. *Regulatory peptides*, 59(3), 389-398.
- Bacha W.J. & Bacha L.M. (2000). *Color Atlas of Veterinary Histology*. (2th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 318p.
- Baker, P., & Friel, S. (2014). Processed foods and the nutrition transition: evidence from Asia. *Obesity reviews*, 15(7), 564-577.
- Basu, S., McKee, M., Galea, G. & Stuckler, D. (2013). Relationship of soft drink consumption to global overweight, obesity, and diabetes: a cross-national analysis of 75 countries. *American journal of public health*, 103(11), 2071-2077.
- Bellisle, F. (1999). Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, 23(3), 423-438.
- Blundell, J. E. (1990). Appetite disturbance and the problems of overweight. *Drugs*, 39(3), 1-19.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. (2014). Guia alimentar para a população brasileira.
- Castro, H., Pomar, C. A., Picó, C., Sánchez, J. & Palou, A. (2015). Cafeteria diet overfeeding in young male rats impairs the adaptive response to fed/fasted conditions and increases adiposity independent of body weight. *International journal of obesity*, 39(3).
- Cervieri Júnior, O., Júnior, T., Rodrigues, J., Galinari, R., Rawet, E. L. & Silveira, C. T. J. D. (2014). O setor de bebidas no Brasil. *BNDES Setorial*, Rio de Janeiro, (40).
- Chevrot, M., Bernard, A., Ancel, D., Buttet, M., Martin, C., Abdoul-Azize, S. & Passilly-Degrace, P. (2013). Obesity alters the gustatory perception of lipids in the mouse: plausible involvement of lingual CD36. *Journal of lipid research*, 54(9), 2485-2494.
- Correa, M., Laing, D. G., Hutchinson, I., Jinks, A. L., Armstrong, J. E. & Kainer, G. (2015). Reduced taste function and taste papillae density in children with chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, 30(11), 2003-2010.
- Cambraia, R. P. B. (2004). Aspectos psicobiológicos do comportamento alimentar. *Revista de*

- Nutrição, 17(2), 217-225.
- Fernandes, S. A., Gonzalez, M. C., Bassani, L., Miranda, D., Pivatto, B., Harter, D. L. & Marroni, C. A. (2013). Is the phase angle, a prognostic indicator for nutritional status in cirrhotic patients. *J Antivir Antiretrovir S*, 3, 1-4..
- Gilbertson, T. A., Yu, T. & Shah, B. P. (2009). Gustatory Mechanisms for Fat Detection. *Fat Detection: Taste, Texture, and Post Ingestive Effects*, 83.
- Iwasaki, S. I. (2002). Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. *Journal of Anatomy*, 201(1), 1-13.
- Kanazawa, H. & Yoshie, S. (1996). The taste bud and its innervation in the rat as studied by immunohistochemistry for PGP 9.5. *Archives of histology and cytology*, 59(4), 357-367.
- Kenny, P. J. (2011). Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. **Neuron.**, 69(4), 664-79.
- Khan, N. A. & Besnard, P. (2009). Oro-sensory perception of dietary lipids: new insights into the fat taste transduction. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(3), 149-155.
- Kokubun, H. S., Esper, G. V. Z., Francioli, A. L. R., Silva, F. M. D. O., Rici, R. E. G. & Miglino, M. A. (2012). Histological and comparative analysis of lingual papillae of the deer *Mazama americana* and *Mazama gouzoubira* by light and scanning electron microscopy. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(10), 1061-1066.
- Laugerette, F., Passilly-Degrace, P., Patris, B., Niot, I., Febbraio, M., Montmayeur, J. P. & Besnard, P. (2005). CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *Journal of Clinical Investigation*, 115(11), 3177.
- Lawton, D. M., Furness, D. N., Lindemann, B. & Hackney, C. M. (2000). Localization of the glutamate-aspartate transporter, GLAST, in rat taste buds. *European Journal of Neuroscience*, 12(9), 3163-3171.
- Louzada, M. L. C., Martins, A. P. B., Canella, D. S., Baraldi, L. G., Levy, R. B. & Claro, R. M. (2015). Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. *Rev Saúde Pública*, 49(38), 1-11.
- McCrickerd, K. & Forde, C. G. (2016). Sensory influences on food intake control: moving beyond palatability. *obesity reviews*, 17(1), 18-29.
- Martin, C., Passilly-Degrace, P., Gaillard, D., Merlin, J. F., Chevrot, M. & Besnard, P. (2011). The lipid-sensor candidates CD36 and GPR120 are differentially regulated by dietary

- lipids in mouse taste buds: impact on spontaneous fat preference. *PLoS One*, 6(8), e24014.
- McCrickerd, K. & Forde, C. G. (2016). Sensory influences on food intake control: moving beyond palatability. *obesity reviews*, 17(1), 18-29.
- Niot, I. & Besnard, P. (2017). Appetite control by the tongue-gut axis and evaluation of the role of CD36/SR-B2. *Biochimie*, (136), 27-32.
- Passilly-Degrace, P., Chevrot, M., Bernard, A., Ancel, D., Martin, C., & Besnard, P. (2014). Is the taste of fat regulated?. *Biochimie*, 96, 3-7.
- Pereira, L. J. & Bilt, A. (2016). The influence of oral processing, food perception and social aspects on food consumption: a review. *Journal of oral rehabilitation*, 43(8), 630-648.
- Sawaya, A. L. & Filgueiras, A. (2013). " Abra a felicidade"? Implicações para o vício alimentar. *Estudos Avançados*, 27(78), 53-70..
- Shafat, A., Murray, B. & Rumsey, D. (2009). Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*, 52(1), 34-38.
- Silva, C.O.R.L. (2015). Palatabilidade: da formação à associação com o excesso de peso e possíveis co-morbidades associadas.
- Stewart, J. E., Newman, L. P. & Keast, R. S. (2011). Oral sensitivity to oleic acid is associated with fat intake and body mass index. *Clinical nutrition*, 30(6), 838-844.
- Thoen, R. U., Giacomelli, V., Silveira, T. T. & Hagen, M. E. K. (2015). Efeito da ingestão de refrigerante calórico e não calórico sobre o consumo alimentar e modificações morfológicas em ratos Wistar submetidos à dieta de cafeteria. 64 f. Trabalho de conclusão do curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research. (2007). *Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective* (Vol. 1). Amer Inst for Cancer Research.
- Yee, C. L., Yang, R., Böttger, B., Finger, T. E. & Kinnamon, J. C. (2001). "Type III" cells of rat taste buds: Immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron- specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. *Journal of Comparative Neurology*, 440(1), 97-108.
- Zheng, J. & Kobayashi, K. (2006). Comparative morphological study on the lingual papillae and their connective tissue cores (CTC) in reeves' muntjac deer (*Muntiacus reevesi*). *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 188(6), 555-564.

**ANEXO I
TABELAS**

Tabela 1
Composição da Ração Padrão

Energia	kcal/100g	295 kcal
Carboidratos	g/100g	40,5g
	Percentual de Energia	55%
Proteína	g/100g	16,2g
	Percentual de energia	22%
Lipídeo	g/100g	1,5g
	Percentual de Energia	4,5%
Fibras	g/100g	7g
Sódio	mg/100g	0,27mg

Dados obtidos através do fabricante – Ração Nuvilab CR-1.

Tabela 2

Composição nutricional da dieta de cafeteria

	Energia		Carboidratos		Proteína		Lípido		Sódio
	kcal/100g	g/100g	% de energia	g/100g	% de energia	g/100g	% de energia	mg/100g	
Salgadinho Yokitos (Yoki)	496	60	(48,4)	5,2	4,2	26	47,1	600	
Bolacha Recheada morango (Trakinas)	490	66,6	54,4	5,33	4,4	21	38,6	213,3	
Wafer chocolate (Bauducco)	523,3	63,3	48,4	4,7	3,6	28	48,1	176,6	
Leite condensado (Elegê)	320	55	68,7	7,5	9,4	8	22,5	90	
Salsicha (Excelsior)	192,8	4,2	8,7	12	24,9	14,2	66,3	1463	

Dados obtidos das embalagens dos alimentos.

Tabela 3

Valores nutricionais da Cola-cola® tradicional e Coca-cola® zero

Refrigerante	Quantidade(ml)	Kcal	Carboidratos(g)	Sódio (mg)	Caféina (mg)
Coca-cola tradicional ®	1	0,43	0,11	0,05	0,1
Coca-cola zero ®	1	0,00	0,00	0,28	0,1

Dados obtidos do site do fabricante.

Tabela 4

Média diária de consumo e nutrientes o longo das 12 semanas de tratamento com dieta de cafeteria e refrigerante

	CON (n10)	RC (n10)	RNC (n10)	DC (n10)	DC+RC (n10)	DC+RNC (n10)
CHO de sólidos (g)	14.6 ± 0.3 ^a	10.2±0.4 ^b	14.5±0.4 ^a	12.5±0.5 ^c	10.6±0.4 ^b	13.3±0.9 ^{a,c}
CHO de líquidos (g)	-	9.3±0.7 ^a	-	-	5.5±0.3 ^b	-
CHO Totais (g)	14.6±0.3 ^{a,c}	19.5±0.5 ^b	14.5±0.4 ^{a,c}	12.5±0.5 ^a	16.1±0.6 ^c	13.3±0.9 ^a
Proteína(g)	5.8±0.12 ^a	4.1±0.15 ^b	5.8±0.17 ^a	2.9±0.16 ^c	2.7±0.19 ^c	2.9±0.12 ^c
Lipídios (g)	1.06±0.02 ^a	0.7±0.02 ^a	1.06±0.03 ^a	4.8±0.2 ^b	4.4±0.12 ^b	4.5±0.2 ^b
Na alimentos sólidos (mg)	71.6±1.5 ^a	49.9±1.8 ^a	71.4±2.1 ^a	180.7±10.9 ^b	189.6±13.7 ^b	161±8.7 ^b
Na dos líquidos (mg)	-	4.3±0.3 ^a	3.8±0.3 ^a		2.8±0.3 ^b	4.5±0.3 ^a
Sódio Total (mg)	71.6±1.5 ^a	54.2±1.6 ^a	75.2±2.3 ^a	180±10.9 ^b	192.4±13.7 ^b	165.5±8.9 ^b

Dados expressos em média ± EP de 7-10 animais por grupo. CON (controle); RC (refrigerante calórico); RNC (refrigerante não calórico); DC (dieta de cafeteria); DC+RC (dieta de cafeteria+ refrigerante calórico); DC+RNC (Dieta de cafeteria+refrigerante não calórico). ^{a, b, c}letras diferentes significam diferença estatística (P<0,001; ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls).

Fonte: Thoen et al., 2015

ANEXO II

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NO APPETITE JOURNAL

Guide for Authors

Appetite Journal

Appetite is an international research journal specializing in cultural, social, psychological, sensory and physiological influences on the selection and intake of foods and drinks. It covers normal and disordered eating and drinking and welcomes studies of both human and non-human animal behaviour toward food. *Appetite* publishes research reports, reviews and commentaries. Thematic special issues appear regularly. From time to time the journal carries abstracts from professional meetings.

Research areas covered include:

Psychological, social, sensory and cultural influences on appetite

Cognitive and behavioural neuroscience of appetite

Clinical and pre-clinical studies of disordered appetite

Nutritional influences on appetite

Food attitudes and consumer behaviour towards food

Psychology and ethnography of dietary habits

History of food cultures

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click [here](#) for more information on our author services .

Please see our Guide for Authors for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our Support Center

Audience

Psychology, Social Research, Neuroscience, Physiology, Nutrition, Sensory Food Science

Impact Factor

2016: 3.403 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2017

Abstracting and Indexing

Scopus

Editorial Board

Executive Editors

N.W. Bond, Western Sydney University, Penrith, New South Wales, Australia

C. Davis, York University, Toronto, Ontario, Canada

J.O. Fisher, Temple University, Philadelphia, Pennsylvania, USA

N. Geary, Weill Medical College of Cornell University, New York, USA (retired)

M. Hetherington, University of Leeds, Leeds, UK

S. Higgs, University of Birmingham, Birmingham, UK

Editor

D. Hoffman, Rutgers University, New Brunswick, New Jersey, USA

L. Holm, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

K. Keller, Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, USA

T. Kral, University of Pennsylvania, Pennsylvania, USA

L. Lähteenmäki, Aarhus University, Aarhus V, Denmark

C. Nederkoorn, Maastricht University, Maastricht, Netherlands

S. Nicklaus, Institut National de la Recherche Agronomique, Dijon, France

H. Raynor, University of Tennessee, Knoxville, Tennessee, USA

P. Scholliers, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Brussel, Belgium

M. Siegrist, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH) Zürich, Zurich, Switzerland

D.M. Small, The John B Pierce Laboratory, New Haven, Connecticut, USA

L. R. Vartanian, UNSW Australia, Sydney, New South Wales, Australia

Advisory Editors

W. S. Agras, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, USA

S. Anton, National Institute of Aging (NIA), Gainesville, Florida, USA

B. Appelhans, Rush University Medical Center, Chicago, Illinois, USA

G.K. Beauchamp, Monell Chemical Senses Center, Philadelphia, Pennsylvania, USA

J. Blissett, Coventry University, England, UK

J. Brunstrom, University of Bristol, Bristol, UK

T. Bucher, Newcastle University, Callaghan, New South Wales, Australia

M. Caraher, City, University of London, London, England, UK

S. Carnell, John Hopkins University, Baltimore, Maryland, USA

P. Chandon, INSEAD, Fontainebleau, France

C. Collins, The University of Newcastle, Callaghan, New South Wales, Australia

S. Finkelstein, Stony Brook University, New York, USA

C. Fischler, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Paris, France

K.G. Grunert, Aarhus University, Aarhus C, Denmark

C. Hardman, University of Liverpool

C.P. Herman, University of Toronto, Toronto, Canada

A. Jansen, Maastricht University, Maastricht, Netherlands

P. Jansen, Erasmus Universiteit

E. Kemps, Flinders University, Adelaide, South Australia, Australia

S. Kirkpatrick, University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada

H. Kissileff, Columbia University Medical Center, New York, New York, USA

S. La Fleur, Academic Medical Center of the University of Amsterdam, Amsterdam, Netherlands

L. Lenard, University of Pécs (Pécsi Tudományegyetem), Pécs, Hungary

M. Lowe, Drexel University, Philadelphia, Pennsylvania, USA

J. Lumeng, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA

H. Meiselman, Herb Meiselman Training and Consulting, Rockport, Massachusetts, USA

E.K. Papiés, University of Glasgow, Glasgow, UK

Y. Pepino, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, USA

S. Pettigrew, Curtin University, Perth, Western Australia, Australia

B. Piqueras-Fiszman, Wageningen University & Research Centre, Wageningen, Netherlands

H. Preissl, Universität Tübingen, Germany

A. Roefs, Maastricht University, Maastricht, Netherlands

B.J. Rolls, Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania, USA

A. Sclafani, City University of New York (CUNY), Brooklyn, New York, USA

P.A.M. Smeets, University Medical Center Utrecht (UMC Utrecht) and Wageningen University, Netherlands

G.P. Smith

R. Stevenson, Macquarie University, Sydney, New South Wales, Australia

Y. Wada, Ritsumeikan University, Kyoto, Japan

M. Yeomans, University of Sussex, Brighton, England, UK

D.A. Zellner, Montclair State University, Montclair, New Jersey, USA

Founding Editor

D.A. Booth, University of Sussex, Brighton, England, UK

GUIDE FOR AUTHORS

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

To find out more, please visit the Preparation section below.

INTRODUCTION

Types of article

Full length papers

Full length papers including empirical reports and theoretical reviews are published. Reviews may be of any length consistent with succinct presentation, subdivided as appropriate to the subject matter.

Special Sections or Issues

Proposals for a themed collection, symposium or commentary should be sent to the Contact Editor and appetite@elsevier.com, listing provisional authors, titles and lengths of papers and suggesting Executive, Advisory or Guest Editors with a timetable for recorded peer-reviewing, revision and transmittal in the format required for publication. The reviews or reports in a special section or issue will be subject to the normal process of peer-review.

Commentary sections

Commentary sections may include a keynote paper, brief comments and reply.

Conference Abstracts

Conference Abstracts in guest-edited sets from international multidisciplinary conferences are sometimes published. All the abstracts in a set must be limited to a total word count of no more than 300 (4 per page) and formatted as a single paragraph with no subheadings. The abstract starts with the title (mostly in lower case), name(s) of author(s) (upper case) and one

postal address, complete with postcode and country, followed on the same line by one stand-alone e-mail address. Any acknowledgements or references are included within the paragraph: between the cited author(s) and year can be placed the abbreviated title of the journal, volume and pages. Tables, Figures and footnotes are not allowed. A published abstract should not promise findings or discussion, nor refer to presentation at the meeting. The title of the meeting as the main title, the location and dates as a sub-title must be provided to form the heading of the set of abstracts. Any session titles, special lectures or other material must fit into the format and word count for the abstracts in that set.

Please note that questionnaires and interview protocols (in Figure form) are not published.

Contact details for submission

Authors should submit their articles electronically at: <http://ees.elsevier.com/appetite/>.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'

- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimo-

ny, patent applications/ registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Authors are requested to declare if their work has been peer-reviewed previously, and if so they are encouraged to supply along with their manuscript files their responses to previous review comments.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the re-

quest, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more

about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 24 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Sex and Sexuality

Appetite publishes research across the spectrum of biological to cultural influences on eating. Both sorts of influences interact with sexuality. Appetite encourages attention to these interactions. To this end, authors are asked: to use "sex" rather than "gender" to describe indicators of biological sex, including sex chromosomes, gonads, internal reproductive organs, and external genitalia, and to consider using, in addition to "male" and "female," "intersex" or "other"

for combinations of these indicators that do not fit male and female; and to use appropriate terms, such as gay, lesbian, bisexual, transgender, etc., to describe subjects' sexuality if the research addresses this.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/appetite/>.

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees along with your reasons for suggesting them. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

Appetite has published an editorial with guidelines on design and statistics, which authors are encouraged to consult.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal

title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Please ensure your paper has consecutive line numbering, this is an essential peer review requirement.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

REVISED SUBMISSIONS

Number all the pages of the manuscript consecutively and make sure line numbers are included too.

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the

Guide to Publishing with Elsevier). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

Appendices are not encouraged. Critical details of Method should be described in that section of the manuscript.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems.

Avoid abbreviations and formulae where possible.

- ***Author names and affiliations.*** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower- case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- ***Corresponding author.*** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. As per the journal style, the abstract text should not be more than 280 words (1500 characters including spaces).

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred

file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI. The one exception to this rule is that energy may be expressed in kilocalories (kcal) or joules.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by \exp . Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Artwork Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files. A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Illustration services

Elsevier's WebShop offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the

figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any cita-

tions in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the samplereferences and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/appetite>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Sixth Edition, ISBN 978-1-4338-0561-5, copies of which may be ordered online or APA Order Dept.,

P.O.B. 2710, Hyattsville, MD 20784, USA or APA, 3 Henrietta Street, London, WC3E 8LU, UK.

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identi-

fied by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article.

Journal of Scientific Communications,

163, 51–59. Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style*. (4th ed.). New York: Longman, (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). New York: E-Publishing Inc.

Reference to a website:

Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK. (2003). <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> Accessed 13 March 2003.

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and anima-

tion files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

RESEARCH DATA

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on

ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online

article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Interactive plots

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. Full instructions.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is

available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.