A ASSOCIAÇÃO ENTRE RESTRIÇÃO CALÓRICA E EXERCÍCIO FÍSICO NO PERFIL DE ANSIEDADE EM ANIMAIS METABOLICAMENTE PROGRAMADOS SUBMETIDOS A UMA DIETA HIPERCALÓRICA

Isabela Silva Safraider (PIBIC/Fundação Araucária), Maiara Mikuska Cordeiro (Co-orientadora), e-mail: maiaramcordeiro@hotmail.com. Dionízia Xavier Scomparin (Orientadora), e-mail: scomparindio@hotmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Geral.

Área: fisiologia / Subárea: fisiologia dos órgãos e sistemas.

Palavras-chave: Obesidade, restrição alimentar, sedentário.

Resumo

O objetivo é analisar a influência da restrição calórica na vida adulta de animais oriundos de ninhadas reduzidas. Foram pegas ratas prenhas, obtidas no Núcleo de Assistência de estudos da Vida (NAEVI) da UEPG, após o nascimento, os filhotes foram separados em grupo de ninhada reduzida (3 machos) ou ninhada normal (9 machos). Aos 21 dias de vida foram separados aleatoriamente em 4 grupos: RN SR: animais ninhada reduzida sem restrição alimentar; RN RES: animais de ninhada reduzida que sofreram restrição calórica; NN SR: animais ninhada normal sem restrição e NN RES: animais ninhada normal com restrição calórica. Todos os grupos receberam dieta hipercalórica com cardápio diferenciado em três vezes na semana. A comida ficou *ad libitum* aos animais sem restrição calórica (SR), e aqueles submetidos a restrição calórica (RES) a partir dos 60 dias receberam 50% do colocado ao grupo SR. Foi realizado o teste do labirinto em cruz elevado para constatar o nível de ansiedade dos animais. Pode-se concluir com o trabalho que a restrição alimentar após o período de 30 dias não causou comportamento similar a ansiedade nos animais.

Introdução

Estudos relatam que tanto o excesso como a escassez de alimentos em períodos importantes do desenvolvimento, como o período pós-natal, levam à má programação metabólica (BOURET, 2012).

Segundo Bouret (2012) a programação metabólica só é possível, pois o hipotálamo se desenvolve desde o período embrionário até a adolescência. E uma alteração nutricional neste período é capaz de afetar vários processos, incluindo a não correta digestão de lipídeos e homeostase dos mesmos.

Sendo assim, em animais um modelo experimental para sobrenutrição pósnatal e consequentemente programação metabólica é a redução de ninhada (BOURET, 2012). Comprovadamente esta estratégia leva os ratos ao ganho excessivo de peso logo nas primeiras semanas. Associado com hiperfagia, hiperinsulinemia, hiperleptinemia e hipertensão, quadros estes que são levados para a vida adulta. (RODRIGUES et al, 2009).

Neste sentido a obesidade não implica somente na estética, mas também, está diretamente ligada a síndrome metabólica (SM). A qual consiste em um conjunto de fatores de risco: acúmulo de tecido adiposo visceral, dislipidemia, resistência à insulina, intolerância à glicose e hipertensão (MOHANKUMAR et al, 2012).

Para reverter o quadro de obesidade é necessário que o gasto energético seja maior que o consumo. Duas maneiras de isso ocorrer é fazendo a restrição calórica e prática de exercício físico. Combinados, eles podem gerar um gasto energético ainda maior, favorecendo a perda de peso em longo prazo (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004).

O objetivo inicial do trabalho seria analisar os resultados decorrentes da associação do exercício físico e da restrição alimentar em ratos oriundos de ninhada reduzida, entretanto, não foram realizados os grupos exercitados a tempo, desta forma o objetivo passou a ser, analisar o efeito da restrição alimentar em ratos de ninhada normal e reduzida, submetidos a alimentação hipercalórica desde a infância.

Materiais e Métodos

Foram obtidas ratas prenhas da linhagem Wistar, do Núcleo de Assistência de estudos da vida da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Após o nascimento, no terceiro dia de vida, o número de filhotes o grupo foi ajustado. No grupo RN apenas 3 animais machos e NN 9 animais. Aos 21 dias de vida os ratos foram separados em 4 grupos: RN SR: animais ninhada reduzida sem restrição alimentar; RN RES: animais de ninhada reduzida que sofreram restrição calórica; NN SR: animais ninhada normal sem restrição e NN RES: animais ninhada normal com restrição.

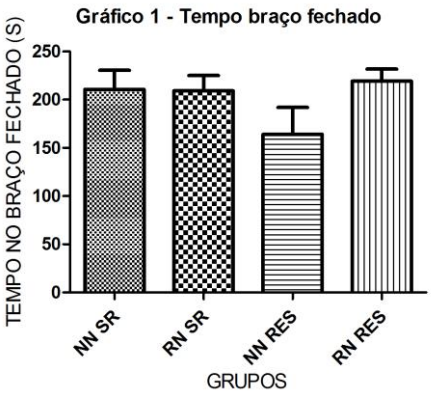
A dieta, a partir do 31º dia de vida foi acrescentada dieta hipercalórica *ad libitum*. Composta por alimentos hipercalóricos frescos, refrigerante de cola, ração padrão e água, com cardápio diferenciado três vezes na semana. Após os 60 dias de vida com comida *ad libitum,* os ratos dos grupos com restrição calórica (RES) passaram a receber somente 50% do ofertado ao grupo sem restrição (SR), até os 90 dias de vida. Segundo Melo (2013) é uma restrição calórica intensa.

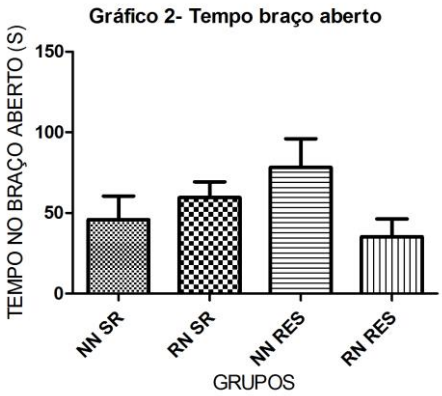
No 89º dia de vida foi realizado o teste de labirinto em cruz elevado, este teste é utilizado em roedores como um protocolo de avaliação do medo e ansiedade (Pellow, Chopin *et al.*, 1985). O aparelho consiste de dois braços abertos opostos (50 x 10 x 40 cm) e dois fechados (50 x 10 x 1 cm), também opostos, em forma de cruz grega, conectados por uma plataforma central (10 x 10 cm) e elevado a 45 cm do nível do chão. Os animais forão colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento gravado por 5 minutos para posterior análise. A análise dos vídeos ocorreu utilizando o programa *PlusMZ,* os resultados foram tabulados primeiramente no *Excel* e posteriormente analisados os dados no programa *GraphPad Prism 5.01* utilizando o *One-way Anova* e pós-teste de *Bonferroni.*

Resultados e Discussão

O presente trabalho, qual teve o objetivo de analisar a influência da restrição calórica no comportamento ansiolítico de ratos oriundos de ninhada reduzida, não obteve resultados com diferença significativa entre os grupos, como podemos observar nos gráficos abaixo.

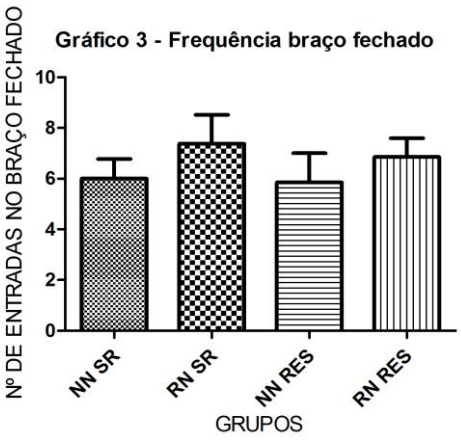
Os gráficos abaixo (1 e 2) representam o tempo (em segundos) em cada braço do teste de labirinto em cruz elevado. É possível observar que não se obteve grandes diferenças nos tempos quando se compara o mesmo braço. Entretanto é grande a diferença do tempo gasto no braço fechado e no braço aberto em quase todos os grupos, no braço fechado os ratos ficaram aproximadamente o dobro do tempo o que pode significar um comportamento similar ou associado a ansiedade.

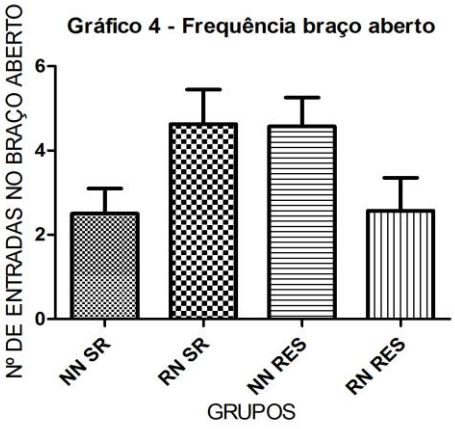




Já o estudo de Jahng *et al* (2007) que trata da restrição alimentar desde os 28 dias de vida com ratos, relatou que estes ao final do experimento apresentaram comportamento ansiolítico e depressivo. Em outro estudo, estudo de Parikh *et al* (2016), realizado com ratos idosos mostrou que a restrição alimentar colaborou para melhora do comportamento de ansiedade.

Outro conjunto de dados obtido e analisado é com relação a frequência de entradas nos braços abertos e fechados, representados nos gráficos abaixo (3 e 4). É possível observar que a frequência de entrada nos braços também não houveram diferenças significativas entre os grupos, porém aconteceu o mesmo que o tempo, em que a frequência do braço fechado é em quase todos aproximadamente o dobro da frequência do braço aberto.





Mesmo o trabalho não apresentando diferenças significativas entre os grupos, ele está de acordo como estudo de Levay *et al* (2007), em que ao analisar o efeitos da restrição calórica em diferentes proporções (25%, 50% e um episódio agudo) o grupo que teve 50% de restrição alimentar, no teste do labirinto em cruz elevado, não teve diferença significativa daquele que sofreu 25%. Todavia aqueles que tiveram um episódio agudo de restrição, apresentaram proporção menor de entradas nos braços abertos em comparação aos grupos controle, 25% e 50%.

Uma discussão a ser feita é que após certo período de restrição calórica os animais se acostumam, não gerando mais comportamento similar a ansiedade. Todavia, o tempo gasto no braço fechado, sendo aproximadamente o dobro do tempo no braço aberto, pode representar um comportamento ansiolítico, desta forma o agente estressante/causador da ansiedade pode ser a dieta hipercalórica e não a restrição alimentar, vendo que os grupos apresentaram, em ambos os parâmetros, médias similares.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho apesar de não apresentar diferença significativa estatisticamente, observamos que o tempo gasto pelos animais no braço fechado foi aproximadamente o dobro do tempo no braço aberto, o que pode representar comportamento ansiolítico ou medo, mas não pela restrição alimentar. O mesmo ocorreu com a frequência de entrada em cada braço.

É possível concluir que a restrição alimentar não levou ao comportamento ansiolítico ou aumento do mesmo. O que pode ser um fator importante e decisivo para este comportamento de não exploração do ambiente aberto (braço aberto) é a dieta de cafeteria.

Agradecimentos

Agradeço a UEPG pelo espaço concedido, a Fundação Araucária pela bolsa, minha professora orientadora, Dionizia X. Scomparin, e co-orientadora, Maiara M. Cordeiro, por acreditar em mim e dar todo o apoio necessário, a minha equipe que colabaram para a realização dos experimentos, principalmente a Janaini Brunoski e a Patrícia Biscaia.

Referências

BOURET, S. G. Nutritional programming of hypothalamic development: critical periods and windows of opportunity. Int J Obes Suppl, v.2, dec. 2012. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4850605/#bib58. Acesso em:27 mar. 2017.

CIOLAC, E. G; GUMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev Bras Med Esporte,* v.10, n.4, jul./ago. 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rbme/v10n4/22048. Acesso em: 27 mar. 2017.

JAHNG, J. W. et al. Chronic food restriction in young rats results in depression- and anxiety-like behaviors with decreased expression of serotonin reuptake transporter. Brain Research. V. 1150, 30 May 2007, Pages 100-107. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.02.080 . Acesso em: 23 ago 2018.

LEVAY, E. A. et al. Effects of adult-onset calorie restriction on anxiety-like behavior in rats. *Physiology & Behavior*. V. 92, December 2007, Pages 889-896. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.018 . Acesso em: 23 ago 2018.

MOHANKUMAR, S. K.; et al. Dietary supplementation of trans-11-vaccenic acid reduces adipocyte size but neither aggravates nor attenuates obesity-mediated metabolic abnormalities in fa/fa Zucker rats. *British Journal of Nutrition*, v.9, aug. 2012.

PARIKH, I. et al. Caloric restriction preserves memory and reduces anxiety of aging mice with early enhancement of neurovascular functions. *Aging:NY*, v.8(11), nov. 2016. Disponível em : 10.18632/aging.101094 . Acesso em: 23 ago 2018.

RODRIGUES, A. L; et al. Postnatal early overnutrition changes the leptin signalling pathway in the hypothalamic–pituitary–thyroid axis of young and adult rats. *J Physiol,* v. 587, apr. 2009. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2714028/. Acesso em: 27 mar. 2017.