

**UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO
MOVIMENTO HUMANO**

**Exercício físico aeróbico associado à suplementação com
nucleotídeos favorece a recuperação de parâmetros
comportamentais de ratos submetidos à desnutrição e recuperação
proteica**

Luís Felipe Silio

2018

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LUÍS FELIPE SILIO

**EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO ASSOCIADO À
SUPLEMENTAÇÃO COM NUCLEOTÍDEOS FAVORECE A
RECUPERAÇÃO DE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS DE RATOS SUBMETIDOS À
DESNUTRIÇÃO E RECUPERAÇÃO PROTEICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, da Universidade Metodista de Piracicaba, para obtenção do Título de Mestre em Ciências do Movimento Humano

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Pertille

**PIRACICABA – SP
2018**

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UNIMEP Bibliotecária: Marjory Harumi Barbosa Hito - CRB-8/9128.

<p>Silio, Luís Felipe</p> <p>S583e Exercício físico aeróbico associado a suplementação com nucleotídeos favorece a recuperação de parâmetros comportamentais de ratos submetidos a desnutrição e recuperação proteica / Luís Felipe Silio. – 2018.</p> <p>70 f. : il. ; 30 cm.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Adriana Pertille</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Metodista de Piracicaba, Ciências do Movimento Humano, Piracicaba, 2018.</p> <p>1. Desnutrição Proteico-Energética. 2. Recuperação Nutricional. 3. Exercício Físico. I. Pertille, Adriana. II. Título.</p> <p>CDU – 613.2</p>
--

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, onde deposito toda a minha fé, que sempre me conduziu para o caminho correto, colocando pessoas especiais em minha vida e possibilitando a minha entrada no programa de pós-graduação em Ciências do Movimento Humano.

Agradeço profundamente aos meus pais, Reinaldo Sílio e Maria José de Oliveira Sílio, e a toda a minha família pela educação adquirida, pelo apoio sem medir esforços em todos os momentos da minha vida, com certeza o fruto do meu empenho e conquistas são devido à minha família.

Agradeço a minha noiva, Natalia Nunes Borda, pelo imenso apoio, pelo carinho nos momentos difíceis.

Agradeço à professora doutora Adriana Pertille, pela oportunidade de ser orientado, pelo grande apoio e carinho, por me aceitar no programa, sem ao menos me conhecer; sempre terei um carinho e respeito.

Agradeço ao professor doutor Carlos Alberto Silva, pela oportunidade de fazer parte do seu projeto de pesquisa, pela amizade e pela genialidade que sempre conduziu as pesquisas.

Agradeço ao professor doutor Rodrigo Dias, pela oportunidade de fazer parte de seu projeto de doutorado, pelos ensinamentos e pela amizade.

Agradeço ao meu amigo Ozi, que esteve junto de mim em todos os momentos do meu mestrado, me ajudando e aconselhando.

Agradeço a toda família Wistar, que literalmente deram sua vida em prol da ciência e pesquisa.

Agradeço de forma geral a todos que de forma direta e indireta fizeram parte da minha jornada no programa de pós-graduação em Ciências do Movimento Humano da UNIMEP.

Agradeço a CAPES-PROSUP pelo benefício concedido para realização do trabalho.

Mais Uma Vez

Renato Russo

*Mas é claro que o sol vai voltar amanhã
Mais uma vez, eu sei
Escuridão já vi pior, de endoidecer gente sã
Espera que o sol já vem
Tem gente que está do mesmo lado que você
Mas deveria estar do lado de lá
Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Tem gente enganando a gente
Veja a nossa vida como está
Mas eu sei que um dia a gente aprende
Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança!*

*Mas é claro que o sol vai voltar amanhã
Mais uma vez, eu sei
Escuridão já vi pior, de endoidecer gente sã
Espera que o sol já vem*

*Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena
Acreditar no sonho que se tem
Ou que seus planos nunca vão dar certo
Ou que você nunca vai ser alguém
Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Mas eu sei que um dia a gente aprende
Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança*

RESUMO

A desnutrição proteica influencia de forma negativa diversos sistemas e tecidos do corpo humano, prejudicando assim o desenvolvimento psíquico e motor. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do programa de treinamento aeróbico e suplementação de nucleotídeos nos parâmetros comportamentais e bioquímicos de ratos submetidos à desnutrição/recuperação proteica. Foram utilizados 50 ratos Wistar jovens randomicamente divididos em 10 grupos distintos (n=5 cada), sendo: Controle Sedentário 45 dias (CS45), Controle Sedentário 90 dias (CS90), Controle Sedentário 127 dias (CS127), Controle Treinado (CT), Controle Treinado Nucleotídeos (CT-NU), Desnutrido 45 dias (D45), Desnutrido Recuperado Sedentário 90 dias (DRS90), Desnutrido Recuperado Sedentário 127 dias (DRS127), Desnutrido Recuperado Treinado (DRT), Desnutrido Recuperado Treinado Nucleotídeos (DRT-NU). Os animais dos grupos desnutridos/recuperados foram submetidos a um protocolo de desnutrição/recuperação proteica com a utilização de dieta hipoproteica (6% proteína), protocolo de exercícios aeróbicos em meio aquático durante cinco semanas e uma subsequente suplementação com adição de nucleotídeos (dosagens médias de 2,01 mg.100g.dia⁻¹) pelo mesmo período. Os demais grupos foram conduzidos com os mesmos protocolos de treinamento e suplementação, porém utilizando de dieta normoproteica (14% proteína). Após o período de intervenção foram realizados testes comportamentais (Open Field ou Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado e Memória de Reconhecimento Social) e retirado o cérebro para determinação da massa cerebral. Os dados coletados foram tabulados e posteriormente analisados pelo programa estatístico SPSS versão 18®. A análise estatística foi procedida pela aplicação do teste Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos dados, foi aplicado o teste de análise de variância (two-way ANOVA) e nível de significância adotado de $p \leq 0,05$. Os resultados mostraram que os animais submetidos à dieta hipoproteica e recuperados apresentaram menor massa corporal quando comparados aos animais submetidos à dieta normoproteica ($p \leq 0,05$). Foi observado um efeito ansiolítico e atividade exploratória superior nos animais que foram submetidos a dieta normoproteica e subsequente programa de treinamento aeróbico comparados com o grupo controle no mesmo momento ($p < 0,05$). Também foi observado melhora na memória de reconhecimento social nos grupos que treinaram e fizeram a suplementação com adição de nucleotídeos. Com os resultados do presente estudo pode-se concluir que o treinamento aeróbico de cinco semanas favoreceu o efeito ansiolítico nos animais, melhora na atividade exploratória e memória de reconhecimento social principalmente nos grupos com dieta 14% proteína e reduziu os efeitos deletérios da desnutrição proteica.

Palavras-chave: desnutrição proteica, recuperação nutricional, exercício físico, nucleotídeos, comportamento, ratos.

ABSTRACT

Protein malnutrition negatively influence different systems and tissues of the human body, hindering the psychic and motor development. The objective of this work was to evaluate the effect of aerobic training program and supplementation of nucleotides in behavioral and biochemical parameters of rats subjected to malnutrition/protein recovery. 50 young Wistar rats were randomly divided into 10 distinct groups (n = 5 each), being: Sedentary Control 45 days (CS45), Sedentary Control 90 days (CS90), Sedentary Control 127 days (CS127), Trained (CT), Trained Control Nucleotides (CT-NU), Malnourished 45 days (D45), Malnourished Recovered Sedentary 90 days (DRS90), Malnourished Recovered Sedentary 127 days (DRS127), Malnourished Recovered Trained (DRT), Malnourished Recovered Trained Nucleotides (DRT-NU). The animals of the malnourished groups/retrieved underwent a malnutrition/protein recovery Protocol with the use of hipoproteica diet (6% protein) of aerobic exercise in water for five weeks and a subsequent supplemental with the addition of nucleotides (average dosages 2.01 mg. 100 g. day⁻¹) for the same period. The other groups were conducted with the same training and supplementation protocols, however using the present diet (14% protein). After the intervention period behavioral tests were carried out (Open Field or open field Maze in High Cross and Social Recognition memory) and removed the brain for determination of brain mass. The collected data were tabulated and subsequently analyzed by the statistical program SPSS version 18 ®. The statistical analysis was preceded by implementation of the Shapiro-Wilk test for normality of the data verification, was applied to the analysis of variance test (two-way ANOVA) and significance level adopted from $p \leq 0.05$. The results showed that the animals submitted to hipoproteica diet and recovered showed reduced body weight when compared to animals undergoing the present diet ($p \leq 0.05$). It was observed an anxiolytic and exploratory activity in animals that have undergone the present diet and subsequent aerobic training program compared with the control group at the same time ($p < 0.05$). Improvement was also observed in memory of social recognition to groups that were trained and supplementation with added nucleotides. With the results of this study it can be concluded that aerobic training five weeks favored the anxiolytic effect in animals, improvement in exploratory activity and social recognition memory mainly in groups with 14% protein diet and reduced the effects the deleterious protein malnutrition.

Keywords: protein malnutrition, nutritional recovery, physical exercise, nucleotides, behavior, rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Animais	19
3.2 Grupos Experimentais.....	20
3.3 Modelo Experimental.....	22
3.4 Caracterização das Dietas.....	23
3.5 Determinação da Massa Corporal.....	24
3.6 Adaptação ao Ambiente de Treinamento.....	24
3.7 Programa de Treinamento Periodizado.....	25
3.8 Informações Nutricionais e Protocolo de Suplementação com Composto com Adição de Nucleotídeos.....	28
3.9 Avaliação Comportamental.....	30
3.9.1 Labirinto em cruz elevado.....	30
3.9.2 Teste de Campo Aberto ou Open Field.....	31
3.9.3 Memória reconhecimento social.....	33
3.10 Eutanásia e coleta do material	34
3.11 Determinação da Massa do Cérebro.....	35
3.12 Tratamento Estatístico.....	35
4. RESULTADOS	36
5. DISCUSSÃO	49
6. CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXO 1 - Aprovação do Comissão de Ética no Uso de Animais	66

LISTA DE ABREVIATURAS

Ad	adaptação
AMPK	proteína quinase ativada por AMP
AP	argolas plásticas
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CK	creatina quinase
CP	canos plásticos
cp	carga programada
cr	carga realizada
CS	Controle Sedentário
CIS	citrato sintase
CS-NU	Controle Sedentário Nucleotídeos
CT	Controle Treinado
CT-NU	Controle Treinado Nucleotídeos
DH	dieta hipoproteica
di	dosagens ideais
DN	dieta normoproteica
DNA	ácido desoxirribonucleico
dr	dosagens realizadas
DRS	Desnutrido Recuperado Sedentário
DRS-NU	Desnutrido Recuperado Sedentário Nucleotídeos
DRT	Desnutrido Recuperado Treinado
DRT-NU	Desnutrido Recuperado Treinado Nucleotídeos
ER	esferas de resina
ESS	estimulação somato-sensorial
FC	frequência cardíaca
FDP	fase de desnutrição proteica
FRP	fase de recuperação proteica
GH	hormônio do crescimento
IMC	índice de massa corporal
ip	intensidade programada

ir	intensidade realizada
LCE	labirinto em cruz elevado
MAT	macrociclo de treinamento
MCT	transportador monocarboxilato
MET	mesociclo de treinamento
MFEL	máxima fase estável de lactato
MIT	microciclo de treinamento
NU	nucleotídeos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PM	pedaços de madeira
RNA	ácido ribonucleico
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro
RP	repouso passivo
vp	volume programado
vr	volume realizado

LISTA DE SINAIS

- ∅ privação do consumo de ração por 90 minutos antecedente as sessões de treinamento e coletas
- O dias de suplementação
- ☀ período em que os animais tornam-se sexualmente maduros

1. INTRODUÇÃO

A desnutrição é estabelecida como um estado onde o organismo apresenta um desequilíbrio ou deficiência energética dos macronutrientes como proteínas, carboidratos e gorduras, também podendo acarretar os micronutrientes. Tal deficiência gera danos em diversos sistemas e tecidos do corpo humano, levando a alterações na massa corporal e no crescimento (GURMINI et al., 2005; LOCHS et al., 2006; NUNES et al., 2002). Além de danos no crescimento e desenvolvimento, a desnutrição afeta de forma indireta ou direta os sistemas, tendo assim, um retardo neuropsicomotor, bem como o surgimento de patologias como epilepsia, mal de Alzheimer e doença de Parkinson (BOURKE et al., 2016; RYTTER et al., 2015; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Tendo em vista os problemas de saúde que englobam o mundo, atingindo principalmente os países subdesenvolvidos e aqueles em desenvolvimento, a desnutrição está entre as principais preocupações de saúde pública, sendo que aproximadamente 20 milhões de crianças na faixa de cinco anos padecem de desnutrição aguda grave (AGÊNCIA DE SAÚDE DAS NAÇÕES UNIDAS, 2013; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Nessa perspectiva é estabelecida uma correlação entre o nível de pobreza com os dados de desnutrição, sendo consequência direta das desigualdades socioeconômicas, crises políticas e uma distribuição de renda desigual, dificultando o acesso das famílias de baixa renda aos alimentos, tornando assim a desnutrição um dos maiores fatores da mortalidade infantil

em países em desenvolvimento (MONTE, 2000; NUNES et al., 2002; MONTEIRO, 2003).

A deficiência na ingestão e utilização de proteínas é classificada como desnutrição proteica, e quando associada com a baixa ingestão calórica caracteriza-se, nessa situação, a desnutrição energético-proteica ou proteico-calórica (LOCHS et al., 2006; SIZER; WHITNEY, 2003), apresentando potencial para gerar o surgimento de diferentes síndromes denominadas de marasmo, kwashiorkor ou kwashiorkor marásmico (RENNER et al., 2013; RYTTER et al., 2015; SIZER; WHITNEY, 2003).

Tem sido recorrentemente sugerida à associação entre déficit nutricional no período gestacional e subsequente abundância nutricional após o nascimento, com maior probabilidade de acometimento por desordens metabólicas (BEAUCHAMP; CAMBRI et al., 2010a; GLUCKMAN et al., 2007; HARPER, 2016; LAKER et al., 2013; RIBEIRO et al., 2015; SILVEIRA et al., 2007; VICKERS, 2014; XU et al., 2009).

Também tem sido levantado em muitos estudos que o estabelecimento de uma condição de desnutrição determinada nos estágios iniciais do desenvolvimento, pode modular de maneira negativa o funcionamento e posterior desenvolvimento dos diferentes tecidos em ratos, como ossos, cérebro e músculo esquelético (MARTIN et al., 2015; MUNIZ et al., 2013; PEREIRA et al., 2014; PÉREZ-GARCIA et al., 2016; PERTILLE et al., 2016; PODAZA et al., 2015).

Estudos que se propuseram a avaliar os efeitos da recuperação proteica, subsequente a condição de desnutrição definida nos estágios iniciais

do desenvolvimento, têm indicado recuperação total, parcial ou até mesmo nenhum indício de recuperação no que diz respeito ao funcionamento e desenvolvimento dos diversos tecidos, como, ossos, pâncreas, intestino, cérebro, rins, fígado, pulmões, baço, sangue, miocárdio, endotélio, placenta, eixos endócrinos e músculo esquelético (BRITO et al., 2011; CHAMSON-REIG et al., 2009; LIMA et al., 2011; MANUEL-APOLINAR et al., 2010; MUNIZ et al., 2013; PERTILLE et al., 2016; PÉREZ-GARCIA et al., 2016; PEZOLATO et al., 2015; PEZOLATO et al., 2013).

Em relação à outras modificações estruturais no sistema nervoso central, as principais se relatam a redução do número e do volume de células cerebrais, bem como modificações na ramificação dendrítica e na camada de mielina dos neurônios (MORGANE et al., 1993)

Diversas regiões do cérebro são atingidas em consequência do estado de desnutrição precoce, podendo citar, o cerebelo e o sistema hipocampal (MORGANE et al., 1993). A desnutrição proteica acarreta modificações neuroquímicas, altera o nível de neurotransmissores e a conexão de receptores de vários sistemas de neurotransmissão, como o serotoninérgico, o dopaminérgico, o gabaérgico e o colinérgico (ALMEIDA; TONKISS; GALLER, 1996).

Ademais, diversas alterações neurofisiológicas desenvolvidas pelo estado de desnutrição ocasionam danos na plasticidade sináptica e alteração na capacidade de potencialização da neurotransmissão em longo período (GALLER; SHUMSKY; MORGANE, 1996).

Em relação à percepção funcional, a desnutrição afeta os aspectos como a emoção, a motivação e a ansiedade, além de modificar os processos relacionados com a memória e a aprendizagem (SILVA; ALMEIDA, 2016; STRUPP; LEVITSKY, 1995).

Déficits de aprendizagem e aumento de impulsividade são mencionadas na literatura em decorrência da desnutrição proteica (ALMEIDA et al., 1998, ALMEIDA; ARAUJO, 2001; CASTRO; TRACY; RUDY, 1989; CÓRDOBA et al., 1994, SILVA; ALMEIDA, 2016; TONKISS et al., 1990).

O hipocampo é considerado uma das principais estruturas do cérebro relacionado com a neuroplasticidade e sendo reconhecido como uma região cerebral sensível aos efeitos advindos da atividade física, principalmente nos programas que envolvam exercícios aeróbicos (COTMAN et al., 2007; FIRTH et al., 2018).

O efeito do exercício aeróbio no tamanho e função do hipocampo tem sido fonte de estudos em ratos (VAN PRAAG et al., 2005). Esses estudos em modelo animal evidenciaram que o exercício aeróbio está relacionado à neurogênese do hipocampo (VAN PRAAG, 2008).

Estudos realizados em modelos animais e em humanos, a prática de exercício aeróbico tem como consequência diversos efeitos positivos sobre a neurofisiologia do cérebro, melhorando assim, a expressão de neurotrofinas, o aumento no volume do hipocampo e melhorou o desempenho cognitivo (HERTING et al., 2012; MATTSON, 2012). Outro autores também demonstraram uma correlação entre a prática de atividade física e os volumes cerebrais (ERICKSON et al., 2014), e observaram uma associação positiva de

modificações no hipocampo com a melhora da aptidão cardiorrespiratória através do exercício físico (ERICKSON et al., 2011; KLEEMEYER et al., 2016).

A periodização do treinamento, por possibilitar a maximização da *performance* e diminuição dos riscos de lesão e supertreinamento, é uma estratégia frequentemente utilizada por técnicos de vários esportes, tais como a natação, corrida, treinamento de força, entre outros (GOMES, 2009).

A utilização do modelo de periodização no treinamento pode proporcionar uma melhora da *performance* e conseqüente redução nos parâmetros de lesão (ARAUJO et al., 2010; FRY et al., 1992; ROWBOTTOM, 2003).

A periodização do treinamento traz como principal característica a inter-relação das variáveis volume e intensidade, conduzidas em um período de tempo caracterizado como macrociclo (GOMES, 2009; HARTMANN et al., 2009; KRAEMER et al., 2000; KRAEMER et al., 2003).

Além disso, a periodização clássica é denominada uma ramificação de um macrociclo em pequenos períodos, assim ocorrendo uma detalhada prescrição do exercício em cada uma das fases do treinamento (GOMES, 2009).

No término de cada periodização, as cargas são menores, tendo como objetivo a preservação do sistema energético, obtendo assim, resultados favoráveis na *performance* (GOMES, 2009; KRAEMER et al., 2000; KRAEMER et al., 2003; MUJICA; PADILLA, 2003).

Os nucleotídeos são essenciais praticamente para todos os processos biológicos, incluindo DNA e síntese de RNA, síntese de coenzimas,

metabolismo energético e sinalização celular (CARVER; WALKER, 1995; GRIMBLE; WESTWOOD, 2001; HESS; GREENBERG, 2012).

Os nucleotídeos produzidos pelo corpo via síntese são muitas vezes insuficientes para atender às necessidades dos tecidos que crescem rapidamente, assim, se faz necessário uma via de suporte para sintetizar nucleotídeos de fontes exógenas (GIL, 2002).

Também, os nucleotídeos de fonte alimentar são necessários para manter a função imune, o crescimento do tecido e reparo celular (CARVER & WALKER, 1995, GIL, 2002, HESS & GREENBERG, 2012).

A suplementação com compostos apresentando adição de nucleotídeos tem indicado importantes resultados em determinados parâmetros do sistema imunológico, hormonais, bioquímicos e de desempenho, quando comparada a condição placebo (MCNAUGHTON et al., 2007; OSTOJIC et al., 2013; OSTOJIC; OBRENOVIC, 2012; RIERA et al., 2013; MCNAUGHTON et al., 2006; STERCZALA et al., 2016).

Ressalta-se que, dentre todos os estudos relatados, alguns tiveram como foco o impacto do exercício físico aeróbico sobre as variações agudas e possíveis adaptações crônicas nas descritas condições nutricionais, também não inferindo qualquer análise no que se refere as possíveis estratégias de suplementação em conjunto de um programa de exercício (ALMEIDA; MELLO, 2004; BRITO et al., 2011; MUNIZ et al., 2013; VOLTARELLI et al., 2007).

Entretanto, em nenhum dos estudos descritos obteve-se o prévio conhecimento da condição nutricional, onde os indivíduos foram submetidos a desnutrição/recuperação proteica ao longo dos estágios iniciais e primordiais

do desenvolvimento, sendo assim, surgindo novos caminhos para uma investigação.

O estudo tem como hipótese que o programa de treinamento aeróbico, apresentaria de maneira geral, potencial para modular positivamente os marcadores morfológicos e comportamentais, especificamente para a condição de dieta normoproteica, e que, o referido programa de treinamento em conjunto a suplementação com composto apresentando adição de nucleotídeo, apresentaria potencial para minimizar, ao menos de forma parcial, as consequências fisiológicas da condição de desnutrição e recuperação proteica, desenvolvida nos estágios iniciais do crescimento.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do programa de treinamento aeróbico e suplementação com nucleotídeos em parâmetros comportamentais e bioquímicos de ratos submetidos à desnutrição e recuperação proteica.

2.2 Objetivos específicos

- analisar a massa no cérebro dos animais;
- avaliar os níveis de ansiedade e reconhecimento social;
- avaliar a atividade exploratória dos animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 50 ratos da linhagem *Wistar* (*Rathus norvegicus* var, *albinus*, *Rodentia*, *Mamalia*), desmamados no 21º dia de vida, provenientes da empresa *Anilab*[®] (Paulínia-SP). Os animais foram mantidos no biotério em gaiolas coletivas de polipropileno com dimensões de 410 x 340 x 160 cm, contendo em média cinco animais por gaiola.

Os animais receberam água e ração *ad libitum* e foram mantidos em ambiente com temperatura controlada de 23 ± 2 °C e iluminação adequada, ciclo claro/escuro de 12 horas. Ressalta-se que, com relação à limpeza das gaiolas, foi adotado o procedimento de se transferir pequena porção do material da gaiola suja (maravalha com fezes e urina) para a gaiola limpa, sendo em seguida, misturada a maravalha limpa, objetivando a manutenção das marcas olfatórias e consequentemente a estabilidade da hierarquia social dos animais em cada gaiola, reduzindo assim, possíveis picos de estresse (NEVES et al., 2013).

Ainda, durante todo o período experimental, os animais foram continuamente expostos de forma sistemática/organizada a diferenciadas condições de enriquecimento ambiental, utilizando-se para tanto, canos plásticos (CP), argolas plásticas (AP), pedaços de madeira (PM) e esferas de resina (ER), considerando orientações previamente publicadas (NEVES et al., 2013), a fim de minimizar a monotonia da confinamento e proporcionar maior possibilidade de interações naturais da espécie no que diz respeito às questões ambientais e sociais. A condição de ambiente enriquecido apresenta potencial para minimizar o nível de estresse e, conseqüente aumento das possibilidades de obtenção de animais mais estáveis com relação à similaridade dos parâmetros fisiológicos (NEVES et al., 2013; SIMPSON; KELLY, 2011), assegurando possibilidades comparativas mais adequadas.

Considerando que, padrões de estimulação somato-sensorial (ESS) realizados em ambiente laboratorial apresentam potencial para alterar o comportamento de ansiedade e exploratório dos animais em experimentação, foram realizados semanalmente ao longo de todo o período experimental,

toques digitais de leve pressão nos principais locais de interpretação somato-sensorial dos animais (vibrissas, membros anteriores e posteriores) pelo período de cinco minutos, considerando orientações previamente publicadas (ARRUDA et al., 2011), objetivando homogeneizar as condições experimentais decorrente dos fatores inerentes aos procedimentos de manipulação dos animais.

Os animais foram tratados de acordo com as recomendações do *Guide for Care Use of Laboratory Animals* (National Research Council, 1996), sendo o trabalho aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP) sob o protocolo de número 04/2016 (Anexo 1).

3.2 Grupos Experimentais

Após o período de desmame dos animais, os mesmos foram randomicamente divididos em 10 grupos distintos (n=5 cada) e assim denominados:

- Controle Sedentário (CS45), aos quais foram alimentados com dieta normoproteica pelo período de 45 dias;
- Controle Sedentário (CS90), aos quais foram alimentados com dieta normoproteica pelo período de 90 dias;
- Controle Sedentário (CS127), aos quais foram alimentados com dieta normoproteica pelo período de 90 dias e, posteriormente, submetidos a manutenção da condição sedentária pelo período de cinco semanas com a mesma dieta;
- Controle Treinado (CT127), aos quais foram alimentados com dieta normoproteica pelo período de 90 dias e, posteriormente, submetidos a um programa de treinamento físico periodizado pelo período de cinco semanas com a mesma dieta;
- Controle Treinado Nucleotídeos (CT-NU), aos quais foram alimentados com dieta normoproteica pelo período de 90 dias e, posteriormente, submetidos a um programa de treinamento físico periodizado pelo

- período de cinco semanas com a mesma dieta e suplementados com composto com adição de NU;
- Desnutrido (D45), os animais foram alimentados com dieta hipoproteica por 45 dias, sendo tal fase denominada de fase de desnutrição protéica (FDP);
 - Desnutrido Recuperado Sedentário (DRS90), aos quais foram alimentados com dieta hipoproteica por 45 dias (FDP) e, posteriormente, com dieta normoproteica por mais 45 dias, sendo tal fase denominada de fase de recuperação proteica (FRP);
 - Desnutrido Recuperado Sedentário (DRS127), aos quais foram alimentados com dieta hipoproteica por 45 dias (FDP) e, posteriormente, recuperados com dieta normoproteica por mais 45 dias (FRP) e, em seguida, submetidos a manutenção da condição sedentária pelo período de cinco semanas, mantendo a dieta normoproteica;
 - Desnutrido Recuperado Treinado (DRT 127), aos quais foram alimentados com dieta hipoproteica por 45 dias (FDP) e, posteriormente, com dieta normoproteica por mais 45 dias (FRP) e, em seguida, submetidos a um programa de treinamento físico periodizado pelo período de cinco semanas, mantendo a dieta normoproteica;
 - Desnutrido Recuperado Treinado Nucleotídeos (DRT-NU 127), aos quais foram alimentados com dieta hipoproteica por 45 dias (FDP) e, posteriormente, recuperados com dieta normoproteica por mais 45 dias (FRP) e, em seguida, submetidos a um programa de treinamento físico periodizado pelo período de cinco semanas, mantendo a dieta normoproteica e suplementados com composto com adição de NU.

3.3 Modelo Experimental

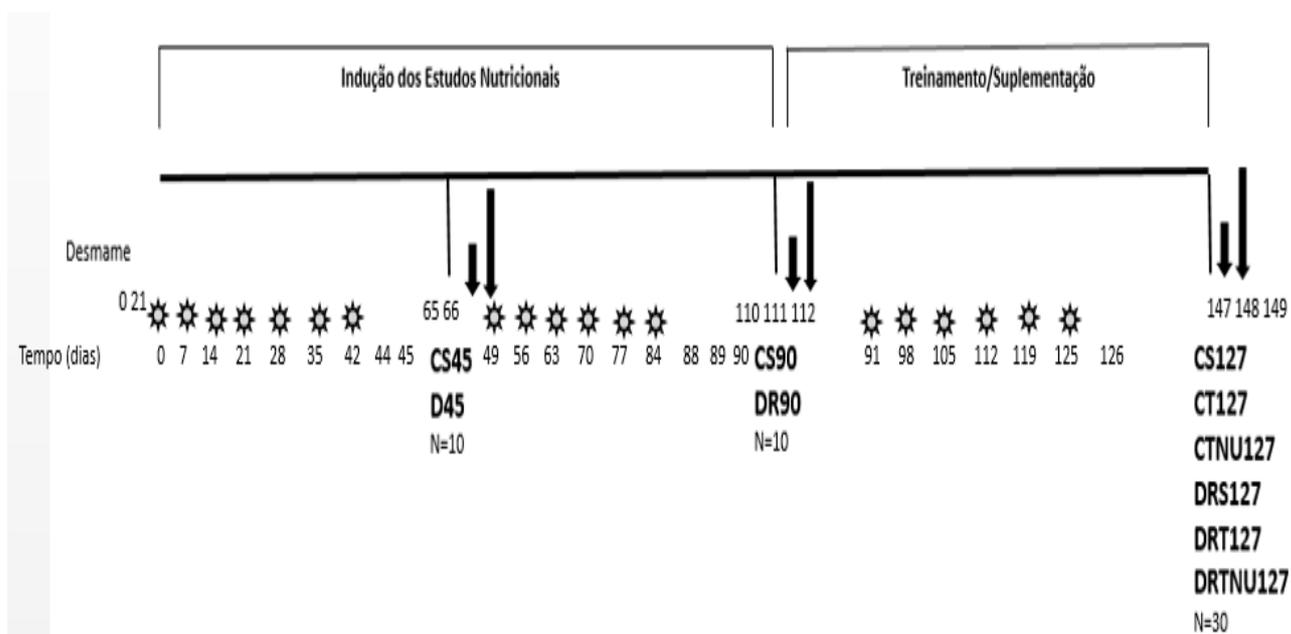


Figura 1. Delineamento do desmame, dietas, suplementação com composto apresentando adição de nucleotídeos, Controle Sedentário (CS45), Controle Sedentário (CS90), Controle Sedentário (CS127), Controle Treinado (CT127), Controle Treinado Nucleotídeos (CT-NU127), Desnutrido (D45), Desnutrido Recuperado Sedentário (DRS90), Desnutrido Recuperado Sedentário (DRS127), Desnutrido Recuperado Treinado (DRT 127), Desnutrido Recuperado Treinado Nucleotídeos (DRT-NU 127); momentos das coletas da massa corporal, tamanho corporal, ingestão alimentar sólida, índice de ingestão alimentar sólida, ingestão calórica e índice de ingestão calórica, bem como limpeza das gaiolas, estimulação somato-sensorial e organização/padronização do enriquecimento ambiental (☀), setas na cor preta pequenas denotam o momento de coleta dos testes comportamentais e setas na cor preta grande denotam o momento de coleta da massa do cérebro.

3.4 Caracterização das Dietas

As referidas rações utilizadas no presente estudo, foram comercializadas pela empresa PragSoluções Comércio e Serviços Ltda; CNPJ: 03.420.938/0001-59 / IE: 401.091.476.112-ME, com composição dietética devidamente padronizada (Tabela 1).

Tabela 1. Composição das dietas para as diferentes condições nutricionais.

Dieta Normoproteica 14%		Dieta Hipoproteica 6% desnutrição	
Ingredientes	g/kg	Ingredientes	g/kg
Amido milho	465,7	Amido milho	508,0
Caseína	140,0	Caseína	66,0
BCAAs	23,8	BCAAs	11,22
Leucina	10,9	Leucina	5,14
Valina	7,0	Valina	3,3
Isoleucina	5,9	Isoleucina	2,78
Amido dextrinizado	155,0	Amido dextrinizado	166,5
Sacarose	100,0	Sacarose	121,0
Óleo de soja	40,0	Óleo de soja	40,0
Cel. Microcrist.	50,0	Cel. Microcrist.	50,0
L-cistina	1,8	L-cistina	1,0
Cloreto colina	2,5	Cloreto colina	2,5
Mix mineral G	35,0	Mix mineral G	35,0
Mix vitamínico	10,0	Mix vitamínico	10,0
TOTAL	1000,0	TOTAL	1000,0

Fonte: Reeves, Nielsen e Fahey Jr (1993)

3.5 Determinação da Massa Corporal

A massa corporal foi avaliada semanalmente, no período matutino, sendo os resultados expressos em gramas (g), utilizando uma balança digital da marca *Gehaka BG 1000*[®].

3.6 Adaptação ao Ambiente de Treinamento

A fim de minimizar o estresse inicial ao ambiente de treinamento, foram delineadas na semana antecedente ao programa de treinamento periodizado, sessões de adaptação (Ad) no aquário com dimensões de 50 x 40 x 100 cm de altura, largura e comprimento respectivamente, estando a coluna de água a uma altura de 47 cm e mantida em temperatura controlada de 30 ± 2 °C por meio de um aquecedor. Os animais foram expostos ao referido ambiente no mesmo horário das sessões treinamento, no período vespertino. Ressalta-se que, a altura da coluna de água utilizada, possibilitava aos animais caminharem no tanque, sem a necessidade de que os mesmos realizassem a natação.

Dessa forma, foram delineadas cinco sessões por dia, com duração de 20 minutos cada. Tal adaptação foi realizada, a fim de minimizar o estresse ao ambiente, porém, sem promover concomitantes adaptações ao treinamento, considerando orientações previamente publicadas (GOBATTO et al., 2001).

3.7 Programa de Treinamento Periodizado

O macrociclo de treinamento (MAT) apresentou duração de 5 semanas, sendo este, organizado em 3 mesociclos de treinamento (MET) denominados de mesociclo de treinamento (MET)-1, MET-2 e MET-3 com duração de 2, 2 e 1 semana respectivamente. Dessa forma, o MET-1 foi organizado em 2 microciclos de treinamento denominados de microciclo de treinamento (MIT)-1 e MIT-2 com duração de 7 dias cada, constituindo-se este, no período preparatório básico de treinamento. O MET-2 foi organizado em 2 microciclos de treinamento denominados de MIT-3 e MIT-4 com duração de 7 dias cada, constituindo-se este, no período preparatório específico de treinamento. Por fim, o MET-3 foi organizado em 1 microciclo de treinamento denominado de MIT-5 com duração de 7 dias, constituindo-se este, no período de polimento (Figura 3).

O objetivo primário do referido MAT-1, MAT-2 e MAT-3 foi a melhora da *endurance* muscular independentemente das diferentes condições nutricionais.

No que diz respeito a organização das cargas de treinamento no período final da periodização, o volume de trabalho diminui de forma acentuada, porém a intensidade mantém-se em níveis elevados nas sessões de treinamento, objetivando acentuar as adaptações ao treinamento.

Para o delineamento das cargas, foram utilizados chumbos de pesca da marca *Buriman*[®], sendo os mesmos, acoplados ao ventre dos animais por meio de linhas de costura da marca *Resistente*[®]. Na utilização de linhas de pesca, o centro de gravidade dos animais era favoravelmente mantido, pelo fato dos chumbos se posicionarem adequadamente na região ventral dos animais ao longo de todas as sessões de treinamento. Além disso, a fim de induzir um centro de gravidade favorável, a distribuição dos chumbos era feita de tal forma que, a organização dos mesmos respeitasse a alocação dos chumbos de maior massa no centro e, os chumbos de menor massa lateralmente aos de maior massa.

Após o acoplamento das cargas, os animais eram sistematicamente transferidos das respectivas gaiolas coletivas para gaiolas individuais de polipropileno com dimensões de 300 x 180 x 130 cm da marca *Insight EB 241*[®],

tomando o cuidado de que, nas referidas gaiolas individuais, fossem alocados no máximo de 2-3 animais por gaiola. Esse procedimento foi tomado, com o objetivo de promover mínimas possibilidades de deambulação espontânea dos animais, minimizando assim, o gasto energético primariamente decorrente das próprias cargas já acopladas aos mesmos, porém, permitindo adequada mobilidade para a livre ingestão de água.

Ressalta-se que, a organização do treinamento, foi delineada no sentido de buscar maior aproximação do presente estudo experimental com os conceitos do treinamento físico utilizados na realidade humana tanto no meio desportivo bem como com vistas a manutenção/melhora da saúde.

O modelo de exercício escolhido foi à natação, sendo realizado em tanque de vidro com dimensões de 50 x 40 x 100 cm de altura, largura e comprimento respectivamente, estando a coluna de água a uma altura de 44 cm e mantida em temperatura controlada de 30 ± 2 °C por meio de um aquecedor. As sessões de treinamento foram delineadas as 13:30 horas, tomando o cuidado de que, os animais fossem privados do consumo de ração, pelo período de 1,5 hora antes das próprias sessões de treinamento, a fim de estabelecer uma condição metabólica similar para todos os animais ao longo de todas as 25 sessões de exercícios.

Para a prescrição da intensidade do esforço ao longo das sessões de treinamento, foi considerada a observação prévia de que, cargas adicionais de 5% da massa corporal, onde as mesmas foram definidas semanalmente, corresponde a uma intensidade inferior ao ponto de inflexão da curva de limiar de lactato (intensidade limítrofe do domínio aeróbio) para ratos da linhagem *Wistar (Rathus norvegicus var, albinus, Rodentia, Mamalia)* adequadamente nutridos (GOBATTO et al., 2001; MANCHADO et al., 2006; VOLTARELLI et al., 2007; VOLTARELLI et al., 2004; VOLTARELLI et al., 2002;) e desnutridos (VOLTARELLI et al., 2007).

111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145			
Idade dos Animais (dias)																																					
MAT																																					
MET-1												MET-2												MET-3													
MIT-1				MIT-2				MIT-3				MIT-4				MIT-5																					
30	35	40	45	50	0	0	55	60	55	60	55	0	0	60	60	60	60	60	0	0	60	60	60	60	60	0	0	50	40	35	30	25	0	0			
Volume das Sessões de Treinamento (minutos): CT, CT-NU, DRT e DRT-NU																																					
2,5	2,5	3	3	3,5	0	0	3,5	4	4	4,5	4,5	0	0	5	5	5	5	5	0	0	5,5	6	5,5	6	5,5	0	0	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	0	0			
Intensidade das Sessões de Treinamento (% massa corporal): CT e CT-NU																																					
2,5	2,5	3	3	3,5	0	0	3,5	4	4	4,5	4,5	0	0	5	5	5	5	5	0	0	5	5,5	5	5,5	5	0	0	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	0	0			
Intensidade das Sessões de Treinamento (% massa corporal): DRT e DRT-NU																																					
75	87,5	120	135	175	0	0	192	240	220	270	247	0	0	300	300	300	300	300	0	0	330	360	330	360	330	0	0	285	228	199	171	142	0	0			
Carga das Sessões de Treinamento (u.a. = volume x intensidade): CT e CT-NU																																					
75	87,5	120	135	175	0	0	192	240	220	270	247	0	0	300	300	300	300	300	0	0	300	330	300	330	300	0	0	260	208	182	156	130	0	0			
Carga das Sessões de Treinamento (u.a. = volume x intensidade): DRT e DRT-NU																																					
∅	∅	∅	∅	∅			∅	∅	∅	∅	∅			∅	∅	∅	∅	∅			∅	∅	∅	∅	∅			∅	∅	∅	∅	∅					
○	○	○	○	○			○	○	○	○	○			○	○	○	○	○			○	○	○	○	○			○	○	○	○	○					
↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓	↓	↓			↓	↓	↓	↓	↓					
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125			

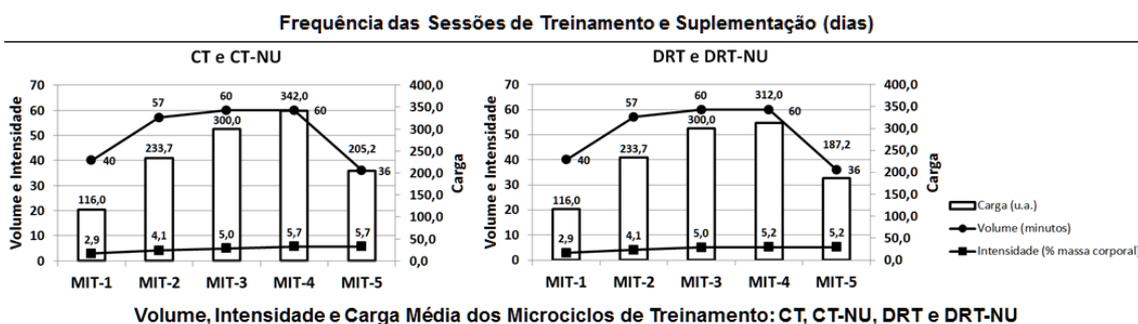


Figura 3. Delineamento da periodização do programa de treinamento inerente aos períodos preparatório básico e específico de treinamento e estratégia de polimento, no que diz respeito especificamente as variáveis agudas do treinamento como frequência, volume, intensidade, cargas de treinamento e dias de recuperação passiva; repouso passivo (RP); grupo controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU); macrociclo de treinamento (MAT); mesociclo de treinamento (MET)-1, MET-2 e MET-3; microciclo de treinamento (MIT)-1, MIT-2, MIT-3, MIT-4 e MIT-5; dias de suplementação (○); privação do consumo de ração por 90 minutos antecedente as sessões de treinamento (∅); setas pequenas denotam os dias de treinamento.

3.8 Informações Nutricionais e Protocolo de Suplementação com Composto com Adição de Nucleotídeos

O *Nucleocell*[®] é um composto suplementar na forma de cápsulas de celulose que contém uma mistura de elevado nível de RNA e NU específicos naturais purificados (decorrentes de bases pirimídicas: uridina, citidina e timina; bem como de bases púricas: adenosina e guanosina), aos quais são sintetizados a partir de extratos de levedura, sendo idênticos a aqueles produzidos pelo próprio organismo, ou seja, de maneira endógena (componentes primários para a síntese protéica). Reconhecidamente, uma porção do suplemento comercial da marca *Nucleocell*[®] (4 cápsulas = 1404,6 mg), apresenta 0,6 g de proteínas, 0,4 g de carboidratos, 0 g de gorduras, 38 mg de vitamina C, 100 µg de ácido fólico, 3 mg de ácido pantotênico, 15 µg de biotina, 3,6 mg de vitamina E, 0,8 µg de vitamina B12, 300 mg de metionina e 60 mg de lisina, perfazendo 4 kcal. Ademais, o conteúdo de NU específicos encontrado no referido composto suplementar é de 224,74 mg por porção.

A correção das dosagens foi realizada, considerando um homem adulto de 70 kg, e, transpondo tais recomendações a população experimental do presente estudo, considerando a evolução da massa corporal de forma semanal, sendo que, foram delineadas dosagens médias de 2,01 mg.100g.dia⁻¹ ao longo de todo o programa de treinamento de maneira independente da condição nutricional imposta.

As dosagens diárias delineadas nos dias das sessões de treinamento, foram divididas em duas porções iguais, sendo administradas 60 minutos antes e 10-15 minutos após as sessões de treinamento.

Considerando que os animais foram expostos a um período de privação do consumo de ração por 90 minutos antecedente as sessões de treinamento (Figura 2), especificamente a partir das 12:00 horas até as 13:30 horas (início das sessões de treinamento), o período preterido para a administração da suplementação antecedente as sessões de treinamento foi as 12:30 horas, ou seja, 60 minutos anteriormente as sessões de treinamento.

Por fim, no que diz respeito ao período de suplementação adotado para o presente estudo, período este de cinco semanas, o mesmo foi determinado

considerando orientações do próprio fabricante do suplemento com adição de NU da marca *Nucleocell*[®], ou seja, que o referido suplemento deve ser utilizado de forma regular.

No que diz respeito ao preparo do suplemento, este foi realizado de forma semanal, sendo o mesmo, acondicionado em tubos de polipropileno com armazenamento máximo de 200 mL da marca *Labcon*[®] na proporção de 2 mL de água deionizada para cada dosagem diária, ou seja, 1 mL de água deionizada para cada porção, sendo os mesmos mantidos ao abrigo da luz a temperatura de 19-21°C.

Para a administração das dosagens foi utilizada a via oral pelo método gavagem por sonda orogástrica, considerando orientações previamente publicadas (NEVES et al., 2013), tomando cuidado especial com relação ao tamanho da sonda orogástrica a ser conectada a seringa, assim como na manipulação/imobilização dos animais, a fim de minimizar ao máximo o risco de perfuração do esôfago e/ou estômago dos animais. Objetivando garantir uma ótima dosagem do referido suplemento, os frascos foram homogeneizados em aparelho específico da marca *Phoenix AP 56*[®] com velocidade padronizada e pelo período de 15-20 segundos anteriormente a cada uma das porções delineadas ao longo de todo o período experimental.

3.9 Avaliação Comportamental

Para a determinação da avaliação comportamental foram avaliados os indicadores de ansiedade, exploratório e de reconhecimento social através dos testes de labirinto em cruz elevada (CRUZ et al., 1994), campo aberto (ROYCE, 1977) e comportamento/memória de reconhecimento social (MOURA; XAVIER, 2010), respectivamente, sendo para tanto, realizado o transporte dos animais para a sala de avaliação 30 minutos antes da realização dos referidos testes, no período matutino, a fim de padronizar o nível de estresse inicial em todas as avaliações, bem como as influências circadianas nas variáveis avaliadas.

3.9.1 Labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado (Figura 4) é um aparato em forma de cruz com dois braços em oposição, formando quatro braços, dois deles protegidos por paredes laterais e outros dois abertos. No ponto de intersecção dos dois braços opostos é determinado o quadrante central. O labirinto em cruz elevado é utilizado para o estudo da ansiedade baseando-se no medo inato que roedores apresentam em espaços abertos.

Para a avaliação do indicador de ansiedade, cada animal foi individualmente exposto em ambiente específico e desconhecido pelo período de cinco minutos, a fim de avaliar o grau de ansiedade dos mesmos via conflito gerado pela tendência natural dos animais em explorar ambientes novos e evitar situações potencialmente perigosas. Para tanto, foi realizada a contagem do tempo de permanência dos mesmos nos braços fechados e abertos, e, considerado como alto e baixo grau de ansiedade, quando os animais permanecem mais tempo nos braços fechados ou abertos respectivamente, sendo os resultados expressos em número relativo (%) de tempo de permanência em cada um dos referidos braços. Ademais, foi computada a frequência de entradas nos braços fechados e abertos, sendo a frequência de entradas em cada um dos braços definidas como o número de entradas que o animal realizou com as quatro patas em cada um dos braços do labirinto, considerando orientações previamente publicadas (CRUZ et al., 1994). Ressalta-se, que a fim de padronizar a exposição inicial de cada animal, todos foram sempre posicionados com a narina direcionada para um dos braços abertos.



Figura 4: Labirinto em cruz elevada usado na avaliação do grau de ansiedade.

3.9.2 Teste de Campo Aberto ou Open Field

Para a avaliação do indicador exploratório foi utilizado o teste de “open field” ou campo aberto, que consiste em uma caixa com dimensão de 46x46x25cm, divididos em 9 quadrados com dimensão de 225 cm² como representado na figura 5.

Os animais foram individualmente expostos em um ambiente específico e desconhecido pelo período de três minutos, a fim de avaliar a atividade exploratória e consequente adaptação dos mesmos ao ambiente, sendo para tanto, realizada a contagem de deslocamento a partir do posicionamento de três membros dos mesmos em um quadrado, tendo dessa forma, a deambulação espontânea, sendo os resultados expressos em número total de quadrados percorridos, considerando orientações previamente publicadas (ROYCE, 1977). Ressalta-se, que a fim de padronizar a exposição inicial de

cada animal, todos foram sempre posicionados com a narina direcionada para um dos lados do referido ambiente.



Figura 5. Teste de “open field”

3.9.3 Memória reconhecimento social

Para a avaliação do comportamento social, cada animal foi exposto em ambiente específico e desconhecido com outro animal co-específico/desconhecido, denominado de intruso, sendo delineadas duas sessões de exposição de sete minutos cada, separadas por um intervalo de 15 minutos, com manutenção individual dos animais entre as referidas sessões em gaiolas na própria sala de avaliação, minimizando o estresse causado pelo transporte.

A avaliação do comportamento/memória de reconhecimento social tem como propósito, avaliar as ações, bem como o tempo de contato social do animal avaliado em relação ao animal intruso, via as seguintes ações: cheirar, lambear, tocar, aproximar, perseguir, empurrar, morder, chutar, investigação ano-genital, passar por cima ou por baixo, montar e catação social “*grooming*”, sendo para tanto, realizada a identificação e contagem das diferentes ações, e, considerado como índice de memória social, a diferença no tempo de contato social registrado entre a primeira e a segunda exposição, considerando orientações previamente publicadas e representado na figura 6 (MOURA; XAVIER, 2010). Ressalta-se, que a fim de padronizar a exposição inicial de cada animal, todos foram sempre posicionados com as narinas direcionadas um em relação ao outro.

Destaca-se que os ambientes utilizados para os testes foram limpos com solução de álcool a 10% anteriormente a cada sessão de exposição de avaliação e respeitando um tempo de três minutos até que a secagem dos ambientes fosse completa, sendo os testes realizados na seguinte ordem: labirinto em cruz elevada, campo aberto e comportamento/memória de reconhecimento social, a fim de que todos os animais avaliados fossem expostos as mesmas condições ambientais de experimentação. Todos os testes delineados foram filmados com uma câmera digital da marca *Sony DCR-SX20*[®] para posterior análise detalhada dos mesmos.

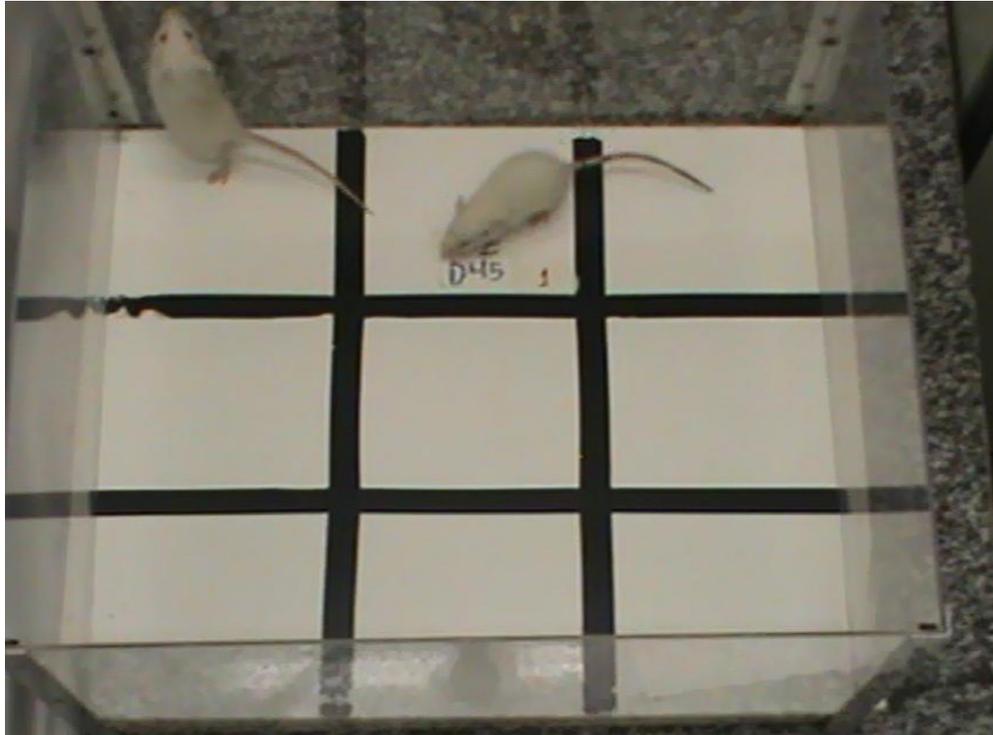


Figura 6: Teste de reconhecimento social. O animal residente (desnutrido 45 dias) recebe na sua arena um animal intruso para avaliação do comportamento social.

3.10 Eutanásia e coleta do material

Os animais foram anestesiados com mistura de cloridrato de *ketamina* e cloridrato de *xilazina*, via intraperitoneal, sendo delineados 0,1 ml/100g e 0,07 ml/100g, respectivamente. Após sinais de anestesia foi realizada a decaptação e retirada do cérebro. Os devidos procedimentos foram realizados nos momentos, 45, 90 e 127 dias após o período de desmame dos animais.

3.11 Determinação da massa do cérebro

A massa do cérebro foi determinada balança digital da marca *Mettler Toledo PB 303*[®], sendo os resultados expressos em mg, em seguida, o material foi armazenado em biofreezer da marca *Jouan VX380E*[®] a temperatura de -70 °C para posterior determinação de parâmetros bioquímicos e teciduais específicos.

3.12 Tratamento Estatístico

Os dados coletados foram tabulados e posteriormente analisados pelo programa estatístico *SPSS versão 18*[®]. A análise estatística foi procedida pela aplicação do teste *Shapiro-Wilk* para verificação da normalidade dos dados. Assim sendo, para as comparações inter e intra-grupos, foi aplicado o teste de análise de variância (*two-way ANOVA*) de comparações múltiplas seguido do teste de *Sidak* para dados paramétricos, assim como o teste de *Kruskal-Wallis* seguido do teste de *Dunn* para dados não paramétricos. Os resultados foram expressos pela média \pm erro padrão da média. Em todos os casos foi adotado um valor crítico de $p \leq 0,05$ para significância estatística.

4. RESULTADOS

Na primeira parte dos resultados serão apresentadas as avaliações da massa corporal e morfológicas que compreendem tanto a fase de desnutrição e recuperação proteica, em seguida serão apontados os resultados da avaliação comportamental. Enfatizando que o ponto principal e foco da dissertação, são os parâmetros determinados na fase pós-recuperação nutricional em conjunto com o exercícios e suplementação de nucleotídeos.

Em relação a massa corporal dos animais pode-se verificar na figura 7 que o grupo tratado com dieta normoproteica (AN- 14%) denominado controle no momento 45 dias (CS45) apresentou a massa corporal 5,2 vezes maior que o mesmo grupo que foi tratado com dieta hipoproteica (AN- 6%; D45). Os demais grupos desnutridos e recuperados apresentaram a massa corporal maior que o grupo D45 ($p < 0,05$), sendo 5,2 vezes maior no grupo DRS90 e 7,29 vezes maior no grupo DRS127, mostrando a recuperação proteica ao longo do tempo, entretanto não alcançou os valores do grupo CS127. Figura 7).

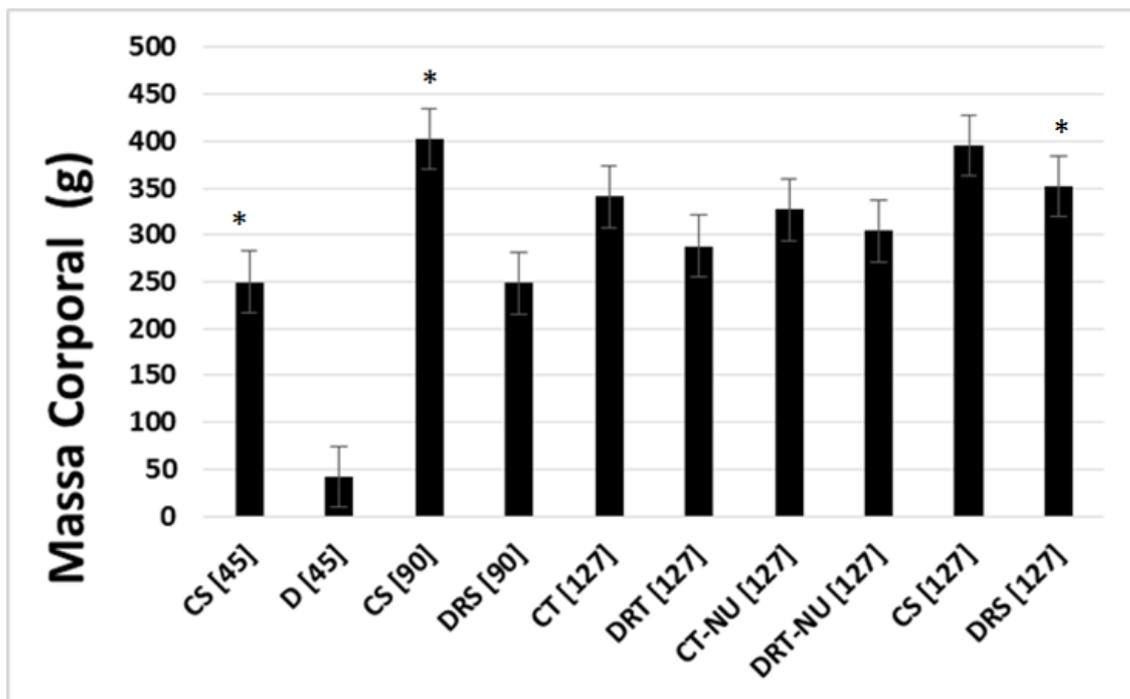


Figura 7: Valores expressos pela média \pm desvio-padrão da massa corporal nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) difere do respectivo grupo D ou DRS no mesmo momento ($p < 0,05$).

Em seguida, foi avaliado o parâmetro morfológico, representado pela massa cerebral. A figura 8 apresenta a massa no cérebro, sendo evidenciado diferença estatisticamente significativa no grupo D45 quando comparado aos grupos CS90 (1,51 vezes maior) e CT127 (1,56 vezes maior; $p < 0,05$).

Os grupos treinados não se diferem dos demais controles no mesmo período de intervenção, também evidenciado para os grupos que fizeram o uso da suplementação de nucleotídeos.

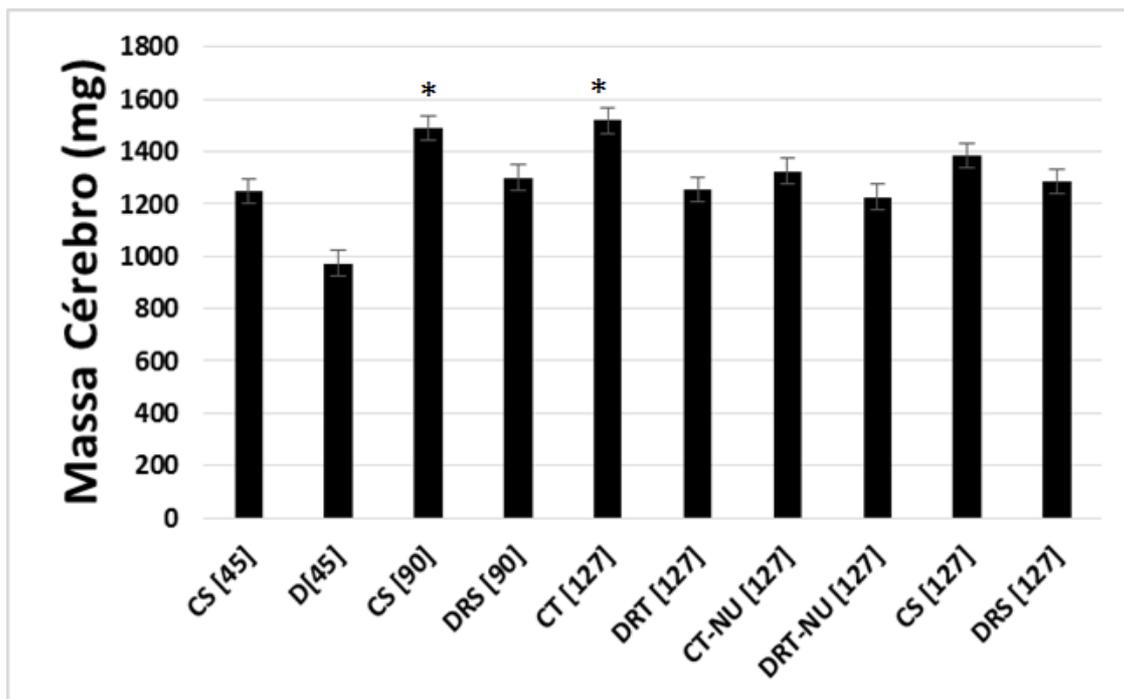


Figura 8: Valores expressos em média e desvio padrão da massa do cérebro, em miligramas (mg) nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) estatisticamente diferente em relação ao grupo D45, $p < 0,05$.

A avaliação comportamental se refere a segunda parte dos resultados. Esta fase experimental teve início com a avaliação do percentual de tempo de permanência no braço fechado no teste em (labirinto em cruz elevado).

A figura 9 mostra que, quando submetido ao teste, o grupo CT127 se difere de todos os demais grupos ($p < 0,05$), mostrando o efeito do treinamento em explorar as hastes abertas. Quando comparado o efeito do grupo DRT-NU 127 com o seu controle (DRS127) não houve diferença estatística, porém quando comparado com o grupo D45, houve uma redução de 24% na permanência no braço fechado ($p < 0,05$). Os grupos DRT127 e DRT-NU127 apresentaram resultados semelhantes. Os grupos DRT127, DRT-NU127 e DRS127 apresentaram aumento significativo na permanência no braço fechado em comparação aos respectivos controles ($p < 0,05$).

A figura 10 apresenta os resultados do percentual de entrada nos braços abertos no teste de labirinto em cruz elevado. O grupo CT127 se difere dos

demais grupos ($p < 0,05$) mostrando maior tempo de permanência (entrada) no braço aberto. O grupo CTNU127 obteve valores superiores em comparação com o seu controle sedentário CS127, mostrando assim, diferença significativa.

O grupo DRT127 em comparação com o controle sedentário no mesmo período de tempo não obteve valores significativos, mostrando valores menores nas entradas no braço aberto (3%). Quando feito a intervenção com suplementação de nucleotídeos, o grupo (DRT-NU) em comparação com o grupo controle sedentário (DRS127) mostrou valores 8% maior no percentual de entradas.

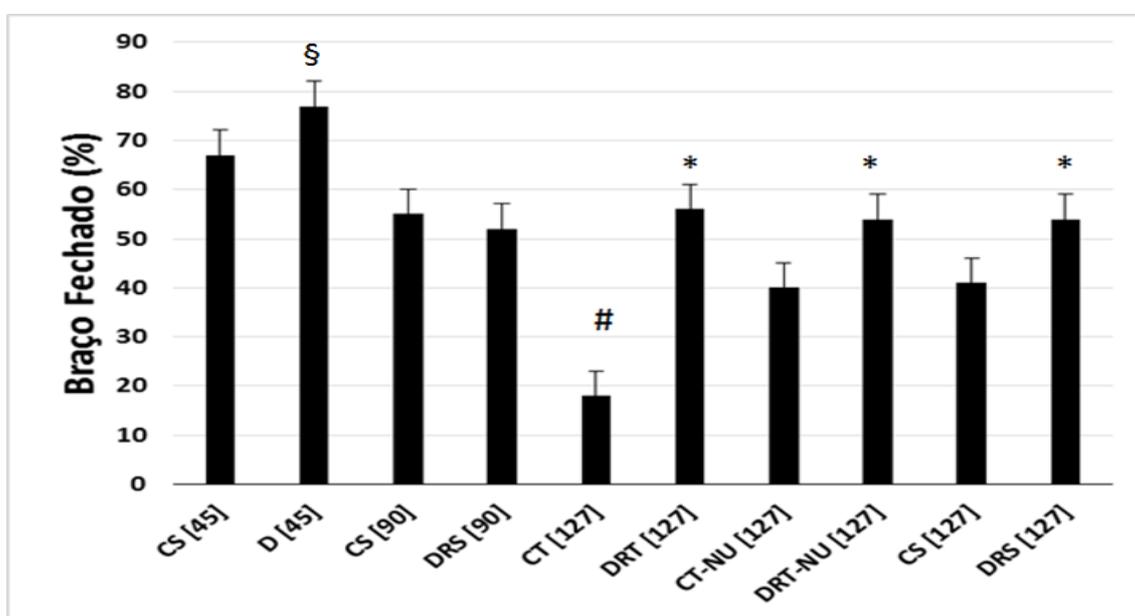


Figura 9. Valores expressos pela média \pm desvio-padrão da permanência no braço fechado, em porcentagem nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU).; (*) estatisticamente diferente em relação ao grupo controle no mesmo período de tempo, (#) em relação aos demais grupos e (§) em relação aos grupos CS90, DRS90, CT127, DRT127, CT-NU127, DRT-NU127, CS127 e DRS127 ($p < 0,05$).

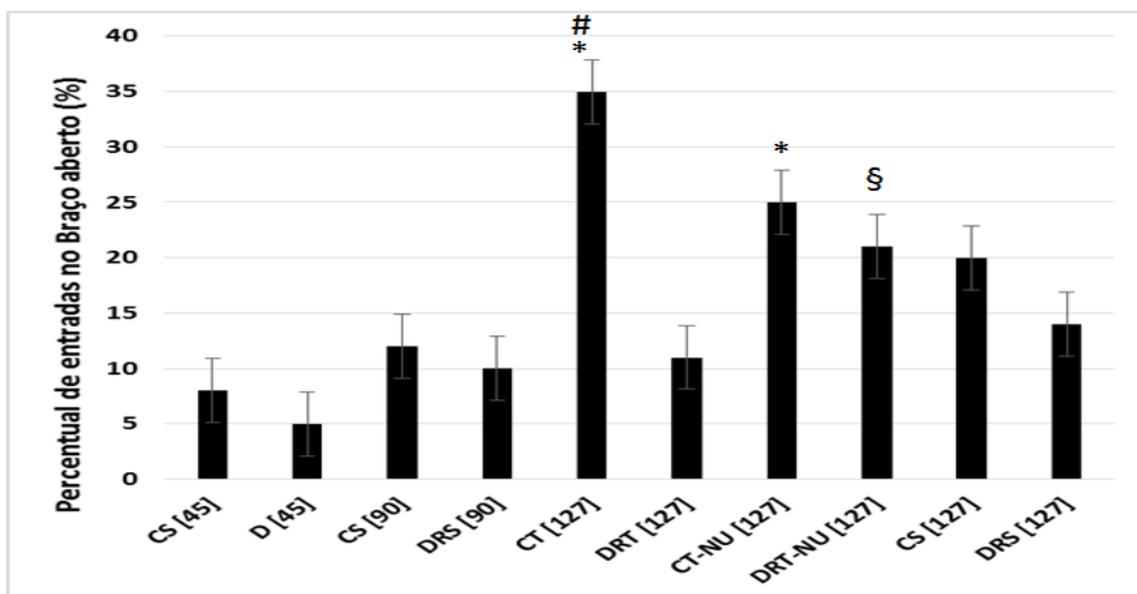


Figura 10. Valores expressos pela média \pm desvio-padrão da permanência (entradas) no braço aberto, em porcentagem nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). Valores expressos pela média \pm desvio-padrão da média; (*) estatisticamente diferente em relação ao grupo controle sedentário no mesmo período de tempo, (#) em relação aos demais grupos e (§) em relação aos grupos DRS 127, D45 e DRS90 ($p < 0,05$).

Sobre a avaliação do índice de deslocamento em campo aberto (Open Field), a figura 11 mostra que o grupo D45 apresentou índice de deslocamento 50% menor se comparado ao grupo CS45 ($p < 0,05$). No período de recuperação proteica, o grupo DRS90 e DRS127 apresentam valores 58% e 53% maiores em comparação ao grupo D45 ($p < 0,05$). O grupo CT127 demonstrou valores 22% maiores em comparação ao grupo CS127.

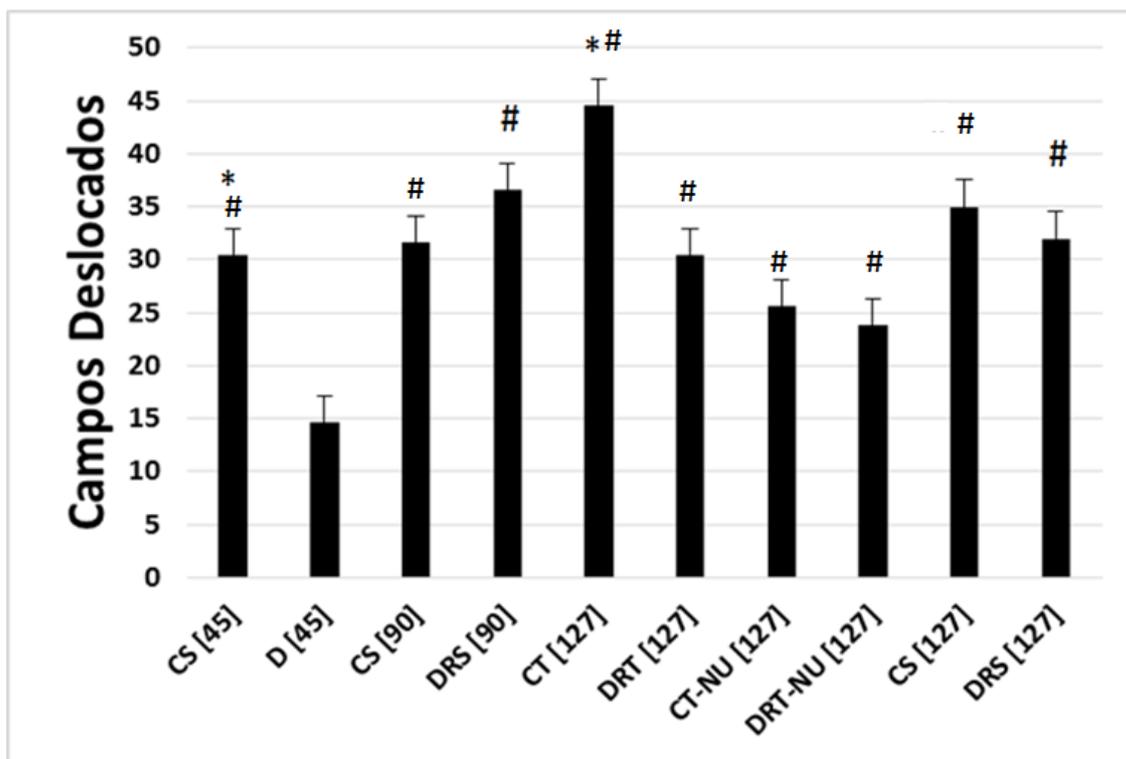


Figura 11. Valores expressos pela média e desvio-padrão de número de campos deslocados nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) estatisticamente diferente em relação aos grupos sedentários no mesmo momento, (#) em relação ao grupo D45 dias, ($p < 0,05$).

Quando os animais são expostos no campo aberto, ocorrem algumas manifestações de comportamento, uma delas é a quantidade de vezes em que o animal tende a ficar nos cantos da arena, mostrando assim uma tendência ao medo. Na figura 12 foi evidenciado que o grupo D45 foi 66% maior na manifestação de ir ao canto inicial em comparação ao grupo CS45 ($p < 0,05$). Na fase de recuperação proteica, os grupos DRS90 e DRS127 redução de 25% em relação ao grupo DR45 ($p < 0,05$). Quando foi adicionado o programa de treinamento em conjunto com a suplementação, ambos os grupos DRT e DRT-NU tiveram valores 66% menores em relação ao grupo D45 ($p < 0,05$). O grupo controle treinado CT e controle treinado nucleotídeos (CTNU127) mostraram valores 50% menores em relação ao seu controle sedentário (CS127), mostrando diferença estatística.

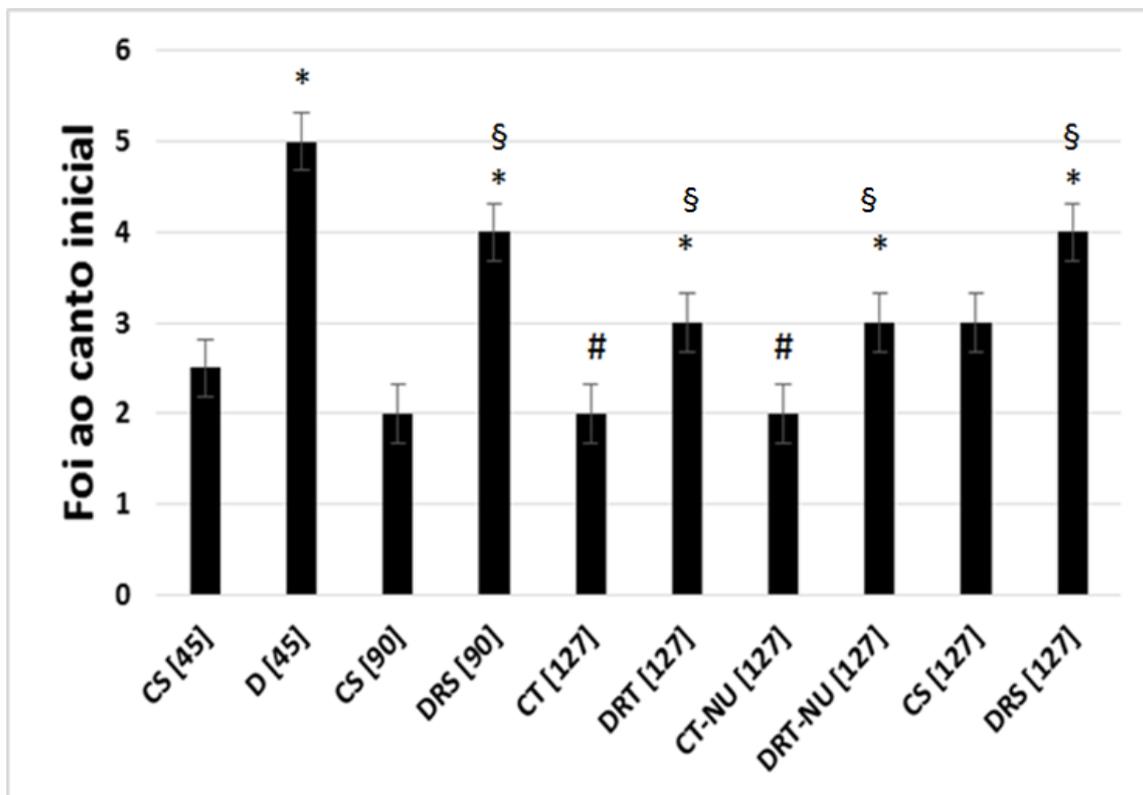


Figura 12. Open Field, valores expressos pela média e desvio-padrão do número de vezes que o animal foi ao canto inicial, nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) estatisticamente diferente em relação aos grupos controle sedentários no mesmo período, (#) em relação ao grupo CS127 e (§) em relação ao grupo D45 ($p < 0,05$)

Os animais do grupo D45 manifestaram o perfil não emocional, onde buscaram se movimentar pelas bordas do campo, manifestando bipedação 75% maior em comparação ao grupo CS45 ($p < 0,05$), o que indica um animal não emocional que necessita avaliar a presença de predadores por muitas vezes. Quando recuperado, o grupo DRS127 obteve valor 27% menor em comparação ao grupo D45 ($p < 0,05$). Os animais que fizeram a intervenção do treinamento CT127 apresentaram redução de 80% na manifestação de bipedação em comparação com o grupo CS127 ($p < 0,05$). Quando comparado os grupos treinado (CT127) e treinado com a suplementação de nucleotídeos

(CTNU 127), apresentam uma diferença de 25%, onde o grupo suplementado apresentou valores menores, porém não significativo (Figura 13)

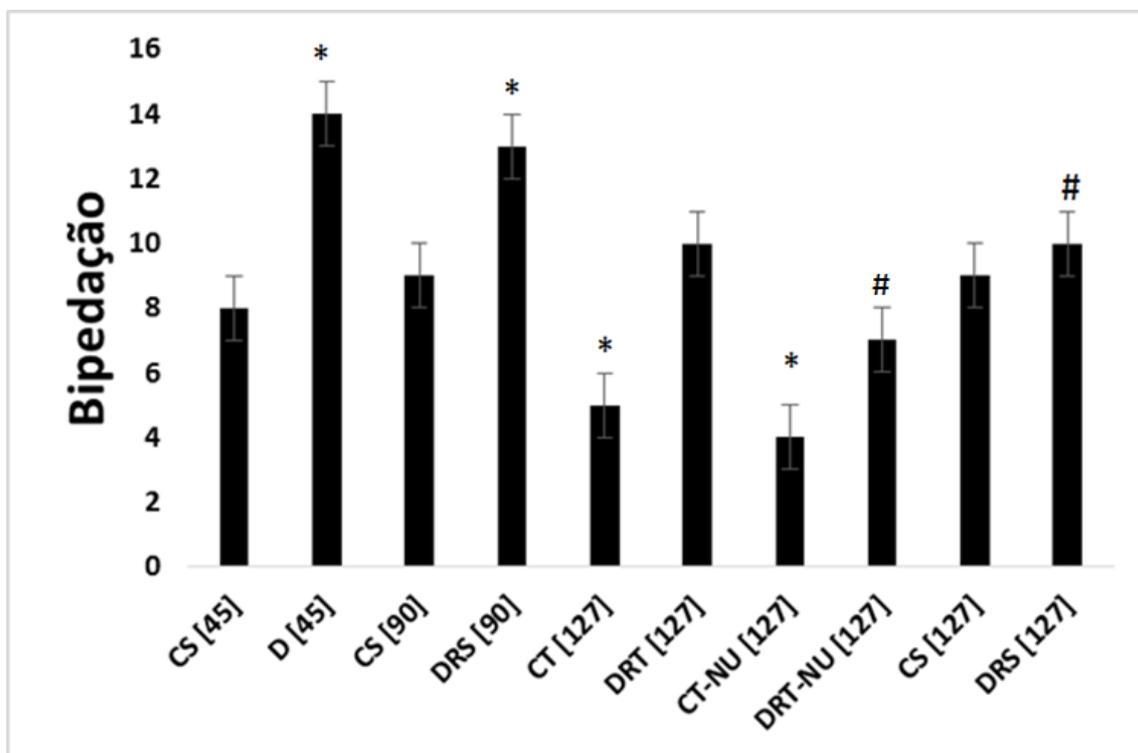


Figura 13. Open Field, valores expressos pela média e desvio-padrão do número de vezes que o animal realizou bipedação, nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) estatisticamente diferente em relação aos grupos controle sedentário no mesmo período, (#) em relação ao grupo D45 ($p < 0,05$).

Também foram avaliados outros comportamentos/manifestações como o “grooming” que indica adaptação ao ambiente e foi verificado que os ratos do grupo D45 apresentaram valores 200% menor no comportamento (grooming) em comparação com o grupo CS45 ($p < 0,05$). No período de recuperação proteica, os animais que fizeram o protocolo de treinamento (DRT127) e também o grupo que realizou o treino com adição da suplementação (DRTNU127) foram diferentes em comparação com o grupo desnutrido (D45), indicando valores 200% e 300% respectivamente. O grupo DRT-NU em

comparação ao grupo DRS127 apresentou valores maiores de 100% de diferença ($p < 0,05$). Os animais do grupo CT127 tiveram valores 33% maior em comparação com o seu controle CS127, já o grupo treinado com adição de nucleotídeos (CTNU 127) mostram valores 66% maior em comparação com o controle CS127 (figura 14).

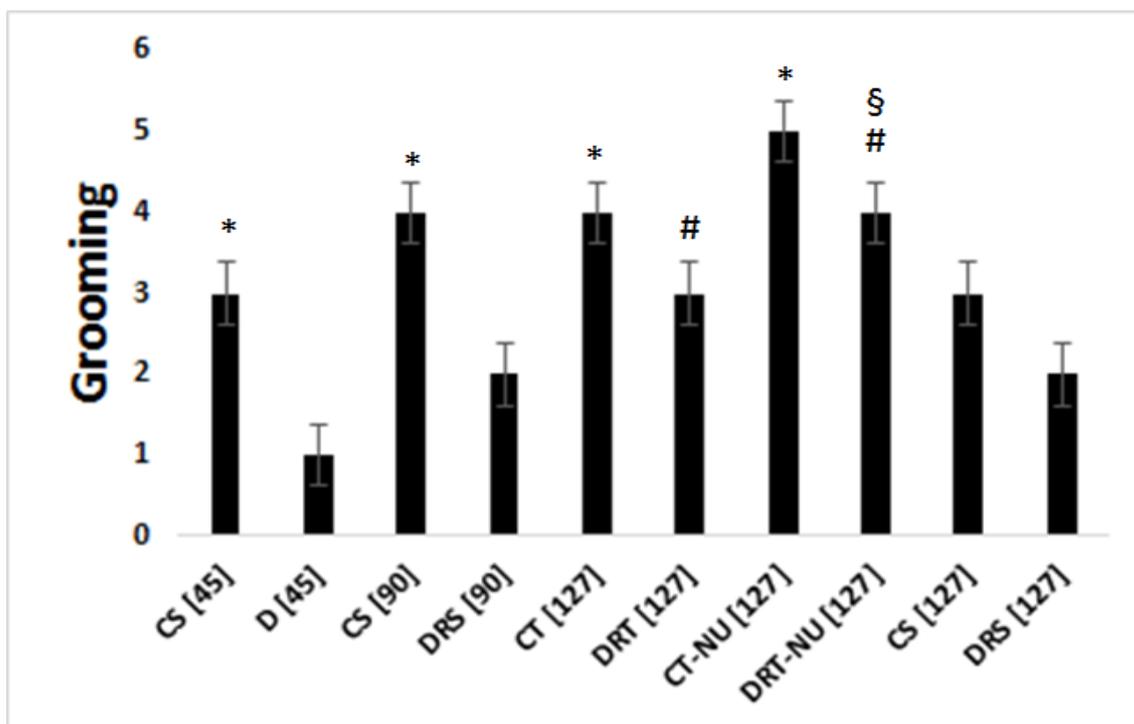


Figura 14. Open Field, valores expressos pela média e desvio-padrão do número de vezes que o animal realizou grooming, nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) estatisticamente diferente em relação aos grupos no mesmo período, (#) em relação ao grupo D45 e DRS90 dias e (§) em relação ao grupo DRS127 ($p < 0,05$).

A seguir avaliou-se o reconhecimento social através do número de contatos entre 2 encontros consecutivos separados por um intervalo de 15 minutos no comportamento social de cheirar, tocar, empurrar e lambar. O grupo CT-127 apresentou valores menores em relação ao primeiro contato (cheirar, tocar, empurrar e lambar) de 50%, 76%, 120% e 228%. Foi observado uma redução nas manifestações para o grupo CT-NU 127 em comparação com

o primeiro contato, (cheirar, tocar, empurrar e lambe) de 80%, 69%, 100% e 171%. Os demais grupos, com dieta 6% não apresentaram mudança em relação ao segundo contato como mostram as tabelas 2, 3, 4 e 5.

Tabela 2. Comportamento de cheirar o intruso (número de vezes). Os valores correspondem à média \pm dp, n=05 e representam o número de contato social no 1º e 2º momento.

Grupos n=05	1º contato	2º contato
D [45]	1,6 \pm 0,54	1,8 \pm 0,44
DRS [90]	2 \pm 0,70	2,2 \pm 0,83
DRS [127]	7,2 \pm 1,9	9,4 \pm 1,6
DRT [127]	7,6 \pm 2,7	6,4 \pm 2,3 #
DRT-NU [127]	8,2 \pm 3,0	6,2 \pm 2,775
CS [45]	9,2 \pm 2,5	6 \pm 2,9
CS [90]	10,2 \pm 1,4	5,4 \pm 2,0 *
CS [127]	9,2 \pm 2,5	4,4 \pm 2,0 *
CT-NU [127]	9,6 \pm 2,0	5,6 \pm 1,1 * #
CT [127]	9,2 \pm 3,114	6,2 \pm 1,3 * #

Coletas realizadas nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) $p < 0,05$ comparado ao primeiro contato, (#) $p < 0,05$ comparado ao grupo DRS 127 no segundo contato

Tabela 3. Comportamento de tocar o intruso (número de vezes). Os valores correspondem à média \pm dp, n=05 e representam o número de contato social no 1º e 2º momento.

Grupos n=05	1º contato	2º contato
D [45]	1 \pm 0,70	0,8 \pm 0,43
DRS [90]	1,4 \pm 0,54	1,2 \pm 0,44
DRS [127]	2,4 \pm 0,54	2,2 \pm 0,46
DRT [127]	2,4 \pm 0,89	1,4 \pm 0,52
DRT-NU [127]	2,4 \pm 1,1	2 \pm 0,70
CS [45]	3,2 \pm 1,3	2,2 \pm 0,83
CS [90]	4 \pm 1,5	2 \pm 0,71
CS [127]	4 \pm 1,2	1,6 \pm 0,54*
CT-NU [127]	4,4 \pm 1,1	2,6 \pm 0,51*
CT [127]	4,6 \pm 1,1	2,6 \pm 0,78*

Coletas realizadas nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) $p < 0,05$ comparado ao primeiro contato

Tabela 4. Comportamento de empurrar o intruso (número de vezes). Os valores correspondem à média \pm dp, n=05 e representam o número de contato social no 1º e 2º momento.

Grupos n=05	1º contato	2º contato
D [45]	0,6 \pm 0,51 #	0,8 \pm 0,44
DRS [90]	1,4 \pm 0,52	1,6 \pm 0,54
DRS [127]	3,6 \pm 0,54	2 \pm 1,0 *
DRT [127]	2 \pm 0,70	1,2 \pm 0,44
DRT-NU [127]	2,8 \pm 0,83	1,4 \pm 0,54
CS [45]	1,6 \pm 0,54	1,4 \pm 0,52
CS [90]	1,6 \pm 0,89	1,2 \pm 0,44
CS [127]	1,8 \pm 0,83	1 \pm 0,70
CT-NU [127]	2 \pm 0,69	1 \pm 0,65
CT [127]	2,2 \pm 0,83	1 \pm 0,64

Coletas realizadas nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) $p < 0,05$ comparado ao primeiro contato.

Tabela 5. Comportamento de lambar o intruso (número de vezes). Os valores correspondem à média \pm dp, n=05 e representam o número de contato social no 1º e 2º momento.

Grupos n=05	1º contato	2º contato
D [45]	1 \pm 0,70	1,6 \pm 0,54
DRS [90]	1,2 \pm 0,44	2,6 \pm 0,54
DRS [127]	2,6 \pm 1,5	5,6 \pm 1,1 *
DRT [127]	2,4 \pm 0,54	2,6 \pm 0,89
DRT-NU [127]	2,4 \pm 1,1	2 \pm 0,70
CS [45]	3,4 \pm 0,89	1,6 \pm 0,54
CS [90]	3,8 \pm 1,0	2 \pm 0,70
CS [127]	3,4 \pm 0,89	1,0 \pm 0,70 *
CT-NU [127]	3,8 \pm 0,83	1,4 \pm 0,54*
CT [127]	4,6 \pm 0,54	1,40 \pm 0,54 *

Coletas realizadas nos momentos 45, 90 e 127 dias para o grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado nucleotídeos (CT-NU), desnutrido (D), desnutrido recuperado sedentário (DRS), desnutrido recuperado treinado (DRT) e desnutrido recuperado treinado nucleotídeos (DRT-NU). (*) $p < 0,05$ comparado ao primeiro contato.

5. Discussão

Enfatizando que o ponto principal e foco da dissertação, são os parâmetros determinados na fase pós-recuperação nutricional em conjunto com o exercícios e suplementação de nucleotídeos.

5.1 Massa Corporal

O modelo utilizado na presente pesquisa coincide com o estado de desnutrição do tipo marasmo (RENNER et al., 2013; RYTTER et al., 2015; SIZER; WHITNEY, 2003; TEODÓSIO et al., 1990).

A dieta hipoproteica (6% de proteína) imposta aos animais resultou em efeitos sobre seu desenvolvimento físico, como massa corporal significativamente menores em comparação a dieta controle (14% de proteína).

O estudo de Alves, Dâmaso e Dal Pai (2008) tiveram como objetivo estudar as características morfológicas de ratos submetidos a desnutrição proteica pré e pós-natal, sendo evidenciado que o peso corporal apresentaram-se menores nos grupos desnutridos.

Colaborando com o estudo anterior e a presente pesquisa Carvalho-Santos et al. (2010) elaboraram um protocolo com dietas normoproteicas (14% de proteína) e hipoproteica (6% proteínas) com o mesmo período de intervenção e recuperação proteica, foi evidenciado que os animais recuperados continuam com o peso corporal abaixo em comparação com o controle. Ademais, Cavalcante et al., 2016 em estudo recente, analisou a ingestão de alimento e ganho de peso em animais que foram submetidos a dieta (8% e 17% de proteínas) resultando em diferença no peso corporal entre os grupos controle e intervenção.

O menor ganho de peso dos animais alimentados com dieta hipoproteica apresenta alguns campos de discussão que estão associadas a mudanças funcionais das estruturas, como alterações morfológicas, especialmente do epitélio intestinal, comprometendo a digestão e a absorção dos nutrientes (NATALI et al., 2005; SOUZA, 2006; MOREIRA et al., 2008).

O treinamento aeróbico não mostrou potencial em aumentar a massa corporal, os grupos desnutridos e recuperados aumentaram seu peso corporal,

porém, semelhante aos que não foram submetidos ao protocolo de treinamento, bem como os grupos que fizeram a suplementação com adição de nucleotídeos.

5.2 Massa Cérebro

O desenvolvimento do cérebro é um processo complexo envolvendo inúmeros eventos sucessivos, agrupamento de progenitores e proliferação de células embrionárias, fase neurogênica e formação de neurônios corticais, mielinização, estabilização sináptica e apoptose (JIANG; NARDELLI, 2016).

Os estudos mostram que uma adequada nutrição é fundamental para o desenvolvimento do sistema nervoso central, a deficiência nutricional no período crítico de formação do sistema nervoso pode resultar em alterações morfológicas, neuroquímicas e comportamentais (ALMEIDA; TONKISS; GALLER 1996; MORGANE et al., 1993; PEREIRA-SILVA, 2005).

Na presente pesquisa podemos observar uma diferença estatística entre o grupo treinado e o controle sedentário no período de 45 dias. Estudo recente realizado por Selakovic et al. (2017) avaliaram os efeitos comportamentais da administração crônica (seis semanas) de nandrolona e exercício (protocolo de natação de 60 minutos por dia, cinco dias seguidos e dois dias de intervalo), observaram que o protocolo de exercício crônico induziu aumento significativo nos neurônios do hipocampo. O exercício aeróbio pode promover benefícios a diversas regiões e estruturas cerebrais, destacando a região do hipocampo, Firth et al. (2017) realizaram uma revisão sistemática e meta análise sobre os efeitos do exercício aeróbio sobre o volume do hipocampo humanos, o exercício aeróbio teve efeitos positivos significativos sobre o volume do hipocampo esquerdo em comparação com as condições de controle, mostrando assim, que as intervenções de exercícios aeróbicos podem ser úteis para prevenir a deterioração do hipocampo relacionada à idade e a manutenção da saúde neuronal.

5.3 Avaliação Comportamental

5.3.1 Labirinto em Cruz Elevado

A literatura relata que no teste do labirinto em cruz elevado, animais criados em ambiente padrão de bioterismo entram menos nos braços abertos, se arriscando pouco no deslocamento até o final do braço aberto, prevalecendo sua permanência no braço fechado, evidenciando assim, indicativo de ansiedade.

Na presente avaliação, alguns fatores podem induzir no comportamento, como exemplo, a aversão aos braços abertos, e estado nutricional. Procedimento experimental, como uma única ou múltiplas exposições ao labirinto e a hora do dia em que o teste é realizado.

Ademais, manipulações experimentais também influenciam o comportamento dos animais no teste do labirinto, tais como o tipo de transporte à sala de teste, o alojamento individual ou em grupo, e o tempo de permanência no biotério antes do teste (MCGAUGH, 2005).

O grupo CT127 se difere de todos os demais grupos ($p < 0,05$), em relação ao tempo de permanência no braço fechado, mostrando o efeito do treinamento em explorar as hastas abertas.

Barbosa e Lima (2016) em um estudo realizado com animais da linhagem Wistar, tiveram como objetivo avaliar os efeitos agudos do exercício físico em comportamentos relacionados a ansiedade, os grupos foram submetidos a um protocolo de natação que consistiu na realização de 30 minutos de exercício para os grupos 0% e 5% e dez sessões de dez saltos intercalados por um minuto de descanso para o grupo 50%, os resultados do LCE mostram que o grupo 5% apresentou um maior percentual de entradas nos braços abertos, assim, o exercício realizado com intensidade 5% do peso corporal indicou efeitos relacionados com a diminuição de ansiedade.

Colaborando com o estudo anterior, Selakovic et al. (2017) avaliaram os efeitos comportamentais do exercício durante seis semanas (protocolo de natação de 60 minutos por dia, cinco dias seguidos e dois dias de intervalo), observaram que o protocolo de exercício crônico induziu aumento significativo no tempo de permanência no braço aberto.

Outro estudo recente, Lapmanee et al., 2017 propuseram avaliar o efeito do exercício de corrida em roda voluntária por 4 semanas nos parâmetros

comportamentais de ansiedade, no teste de labirinto em cruz elevado foi identificado diferença estatística na frequência de entradas no braço aberto no grupo que realizaram o protocolo de exercício aeróbico.

5.3.2 Open Field ou Campo Aberto

O animal (ratos) é uma espécie que demonstra como manifestação comportamental a necessidade de explorar o ambiente e por natureza, se locomovem perto das paredes, onde se reconhecem mais protegidos além de explorarem todo o ambiente, deste modo, a quantidade de movimentos torna-se um indicador de atividade exploratória que correlaciona à aquisição de informação sobre o local onde se encontra. Esta avaliação indica os parâmetros emocionais do animal, onde, o rato emocional é aquele que apresenta um menor índice de exploração (DENENBERG, 1969).

O teste de campo aberto é uma metodologia que avalia o estado emocional do animal, pois a exploração, bem como a manifestação de levantar-se correlacionados com a coordenação motora, ao mesmo tempo que o comportamento/ manifestação de limpeza e defecação estão diretamente associado à adaptação do animal ao ambiente (PELLOW et al., 2005).

Analisando o deslocamento em campo aberto, sendo verificado que o grupo (D45) mantido com dieta hipoproteica (6% proteína) deslocou-se menos se comparado ao grupo (CS45) que recebeu a dieta normoproteica (14% proteína). Uma possível explicação pode estar associado à dieta (6% proteína) administrada nas fases iniciais e primordiais do desenvolvimento, levando assim a um déficit funcional (FUKUDA et al., 2002; SCHWEIGERT et al., 2009).

No período de recuperação proteica, o grupo DRS90 e DRS127 apresentam valores 58% e 53% maiores em comparação ao grupo D45 ($p < 0,05$). Evidenciando uma recuperação parcial na locomoção no teste, no período de recuperação proteica.

Foi encontrado um aumento do número de campos deslocados no teste no grupo CT127, esse índice está relacionado com a exploração, o que mostra um efeito ansiolítico, sendo uma característica de redução de ansiedade (Royce, 1977). Nossos dados colaboram com o estudo realizado por Dishman

et al. (1996) onde foi utilizado um protocolo de exercício de corrida em esteira, e os resultados de campos deslocados mostram um aumento de 45% na atividade exploratória dos animais.

Barbosa e Lima (2016) em um estudo realizado com animais da linhagem Wistar, tiveram como objetivo avaliar os efeitos agudos do exercício físico em comportamentos relacionados a ansiedade. Foram utilizados cinquenta e seis ratos Wistar machos que foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos, controle, 0%, 5% e 50% de carga correspondente ao peso corporal dos animais. Os grupos foram submetidos a um protocolo de natação que consistiu na realização de 30 minutos de exercício para os grupos 0% e 5% e dez sessões de dez saltos intercalados por um minuto de descanso para o grupo 50%, a análise dos dados no teste de campo aberto foram encontradas diferenças significativas nas medidas de cruzamento, ocorrendo um aumento de cruzamentos do grupo 5% com relação ao grupo controle.

Lapmanee et al. (2017) em seu estudo propuseram avaliar o efeito do exercício de corrida em roda voluntária por 4 semanas nos parâmetros comportamentais de ansiedade, no teste open field foi evidenciado um aumento na locomoção significativa em comparação com o grupo controle sedentário.

A respeito das manifestações no teste open field, o grupo desnutrido D45 manifestou defecação e micção, e conseqüentemente insistiam em percorrer um dos lados do campo, demonstrando latência para dar início ao deslocamento e imobilidade indicando timidez e dificuldade de decisão, depois com o processo de recuperação, podemos verificar a parcial recuperação desses índices, mas ainda sendo maiores as manifestações em comparação com os grupos dieta normoproteica (OVERSTREET, 2012).

5.3.3 Memória de Reconhecimento Social

A avaliação do comportamento social é comumente utilizada em modelo experimental com animais, especialmente em ratos, é recomendado observar o sistema olfatório, onde o mesmo, tem função de suma importância para a espécie (MOURA et al., 2010).

O reconhecimento social em animais é uma manifestação natural que objetiva analisar os indivíduos novos e avalia o aprendizado e a memória. A manifestação de cheirar o corpo e a região anogenital e também perseguir o intruso compreendem a investigação social (BIELSKY; YOUNG, 2004; FERGUNSON et al., 2002; MOURA et al., 2010).

O comportamento olfatório é seguido da manifestação de lambe e morder, tendo grande valor no desenvolvimento social e cognitivo (KEPECS et al., 2005; MOURA et al., 2010).

Após as análises das manifestações do comportamento, o grupo desnutrido D45 e o grupo desnutrido recuperado sedentário DRS90, apresentaram uma dificuldade no contato social direto com o intruso, tendo valores abaixo no primeiro contato com os demais grupos, quando realizado o segundo contato, os grupos não diminuem o contato, mostrando assim, um déficit na memória dos mesmos.

Este dado afirma o bloqueio de adaptação e agravo na transmissão gabaérgica e funções do hipocampo, onde o mesmo é descrito como primordial na tradução de memória social em ratos (MONDADORI et al., 1996; SILVA; ALMEIDA, 2006).

Silva e Almeida (2006) avaliaram se a desnutrição proteica imposta no início da vida produz prejuízos na memória social em ratos, os animais receberam dietas isocalóricas contendo 6% ou 16% de proteína do nascimento aos 21 dias, e dieta comercial a partir de 22 dias de idade, encontraram resultados semelhantes a pesquisa, onde os animais que fizeram o uso da dieta isocalórica (6% de proteínas) não diminuíram o tempo de contato social em relação ao primeiro contato.

Com relação aos efeitos do exercício na memória de reconhecimento social, tanto para os grupos controle treinado (CT127) e controle treinado que fizeram o protocolo de suplementação com adição de nucleotídeos (CTNU127), apresentam valores favoráveis, onde o comportamento de cheirar, tocar, empurrar e lambe, diminuíram em relação com o primeiro contato, mostrando a capacidade de armazenamento das informações no hipocampo.

6. Conclusão

Conclui-se que o treinamento aeróbico favoreceu uma melhora nos níveis de ansiedade, na atividade exploratória e no reconhecimento social. Os efeitos deletérios da desnutrição proteica foram parcialmente recuperados após o período de desnutrição, porém não foi evidenciado melhora no reconhecimento social.

A suplementação com adição de nucleotídeos não mostrou potencial para reverter os efeitos da desnutrição proteica, porém apresentou efeitos positivos na atividade exploratória e capacidade de memória social.

No presente estudo foi demonstrado a recuperação parcial dos animais que foram submetidos a desnutrição e recuperação proteica na variável massa corporal. O exercício físico mostrou potencial em modular os parâmetros comportamentais, principalmente na atividade exploratória, níveis de ansiedade e capacidade memória social. A suplementação com composto de nucleotídeos mostrou eficácia na capacidade de memória social e atividade locomotora.

Para futuras pesquisas envolvendo o modelo de desnutrição e o subsequente programa de treinamento aeróbico, se faz necessário a composição de maior tempo de intervenção e novas estratégias de suplementação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLARD, B. P. F.; DOBBING, John. Vulnerability of developing brain. V. Effects of fetal and postnatal undernutrition on regional brain enzyme activities in three-week-old rats. **Pediatric research**, v. 6, n. 1, p. 38-42, 1972.

ALMEIDA, S. S.; DE ARAUJO, M. Postnatal protein malnutrition affects play behavior and other social interactions in juvenile rats. **Physiology & behavior**, v. 74, n. 1-2, p. 45-51, 2001.

ALMEIDA, S. S. et al. Short-term social isolation does not reduce elevated plus-maze exploration in early protein malnourished rats. **Nutritional neuroscience**, v. 1, n. 2, p. 103-110, 1998.

ALMEIDA, SEBASTIÃO S.; TONKISS, John; GALLER, JANINA R. Malnutrition and reactivity to drugs acting in the central nervous system. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 20, n. 3, p. 389-402, 1996.

ALVES, Alessandra P.; DÂMASO, Ana R.; DAL PAI, Vitalino. The effects of prenatal and postnatal malnutrition on the morphology, differentiation, and metabolism of skeletal striated muscle tissue in rats. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 3, p. 264-271, 2008.

ARRUDA, E.J.; KITAMURA, J.H.; CHAVES, T.P.; DA SILVA, C.A.; MASCARIM, A.L. Comportamento Exploratório e Ansiolítico de Ratos e Ratas Submetidos à Estimulação Somatossensorial. **Rev Bras Terap Saúde**, v.2, n.1, p.7-12, 2011.

BANFI, G.; DOLCI, A. Preanalytical phase of sport biochemistry and haematology. **J Sports Med Phys Fitness**, v.43, n.2, p.223-230, 2003.

BARBOSA, Daniel Fernandes; LIMA, Carleuza Francisca de. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM COMPORTAMENTOS RELACIONADOS COM A ANSIEDADE EM RATOS. **Rev Bras Med Esporte**, v. 22, n. 2, p. 122-125, 2016.

BEAUCHAMP, Brittany et al. Undernutrition during pregnancy in mice leads to dysfunctional cardiac muscle respiration in adult offspring. **Bioscience Reports**, v. 35, n. 3, p. e00200, 2015.

BOURKE, Claire D.; BERKLEY, James A.; PRENDERGAST, Andrew J. Immune dysfunction as a cause and consequence of malnutrition. **Trends in Immunology**, v. 37, n. 6, p. 386-398, 2016.

BRITO VIEIRA, W. H. et al. Increased lactate threshold after five weeks of treadmill aerobic training in rats. **Brazilian J Biol**, v. 74, n. 2, p. 444-449, 2014.

BRITO, Vitor Caiaffo et al. Impacto da desnutrição e do treinamento aeróbico moderado sobre a estrutura da parede arterial de ratos em processo de envelhecimento. **Rev Bras Med Esporte**, v. 17, n. 4, p. 279-283, 2011.

BEAUCHAMP, Brittany; HARPER, Mary-Ellen. In utero undernutrition programs skeletal and cardiac muscle metabolism. **Frontiers in physiology**, v. 6, p. 401, 2016.

CABRAL, A. e ALMEIDA, S. S. Effects of tactile stimulation and underwater trauma on the behavior of protein-alnourished rats in the elevated plus-maze test. **Psychology and Neuroscience**, 1, 1. p. 67-72. 2008

CAMBRI, Lucieli Teresa et al. Aerobic capacity of rats recovered from fetal malnutrition with a fructose-rich diet. **Appl Physiol Nutrit Metabol**, v. 35, n. 4, p. 490-497, 2010.

CASTRO CA, TRACY M, RUDY JW. Early-life undernutrition impairs the development of the learning and short-term memory processes mediating performance in a conditional-spatial discrimination task. **Behav Brain Res**. 1989; 32(3):255-64.

CARVALHO-SANTOS, Judelita et al. Efeito do tratamento com triptofano sobre parâmetros do comportamento alimentar em ratos adultos submetidos à desnutrição neonatal. **Revista de Nutrição**, v.23, n.4, p.503-511, 2010.

CAVALCANTE, Taisy Cinthia Ferro et al. Effects of perinatal protein malnutrition and fenfluramine action on food intake and neuronal activation in the hypothalamus and raphe nuclei of neonate rats. **Physiology & behavior**, v. 165, p. 35-42, 2016.

COTMAN, Carl W.; BERCHTOLD, Nicole C.; CHRISTIE, Lori-Ann. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. **Trends in neurosciences**, v. 30, n. 9, p. 464-472, 2007.

CÓRDOBA, Nancy E. et al. Perinatal undernutrition impairs spatial learning in recovered adult rats. **Acta physiologica, pharmacologica et therapeutica latinoamericana: organo de la Asociacion Latinoamericana de Ciencias Fisiologicas y [de] la Asociacion Latinoamericana de Farmacologia**, v. 44, n. 3, p. 70-76, 1994.

CORTÉS-BARBERENA, E. et al. Effects of moderate and severe malnutrition in rats on splenic T lymphocyte subsets and activation assessed by flow cytometry. **Clin Exper Immunol**, v. 152, n. 3, p. 585-592, 2008.

CHAMSON-REIG, Astrid et al. Altered pancreatic morphology in the offspring of pregnant rats given reduced dietary protein is time and gender specific. **J Endocrinol**, v. 191, n. 1, p. 83-92, 2006.

CRUZ DE OLIVEIRA, Emerson et al. Treino físico promove aumento de peso em ratos desnutridos sem causar stress oxidativo. **Motricidade**, v. 11, n. 2, 2015.

CRUZ, A.P.M.; FREI, F.; GRAEFF, F.G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacol Biochem Behav**, v.49, n.1, p.171-176, 1994.

DANIEL, Zoe et al. The effect of maternal undernutrition on the rat placental transcriptome: protein restriction up-regulates cholesterol transport. **Genes Nutrition**, v. 11, n. 1, p. 27, 2016.

DENENBERG, V.H. Open-field behaviour in the rat: What does it mean? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1969: 159; 852-859.

DE ALMEIDA, Patricia Berbel Leme; DE MELLO, Maria Alice Rostom. Desnutrição protéica fetal/neonatal, ação da insulina e homeostase glicêmica na vida adulta: efeitos do jejum e do exercício agudo. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 18, n. 1, p. 17-30, 2004.

DISHMAN, R.K.; DUNN, A.L.; YOUNGSTEDT, S.D.; DAVIS, J.M.; BURGESS, M.L.; WILSON, S.P., et al. Increased open field locomotion and decreased striatal GABAA binding after activity wheel running. **Physiol Behav**. v.60, n.3, p.699-705, 1996.

DRAKE, A. J.; WALKER, B. R. The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. **J Endocrinol**, v. 180, n. 1, p. 1-16, 2004.

ELLIS, Peter JI et al. Thrifty metabolic programming in rats is induced by both maternal undernutrition and postnatal leptin treatment, but masked in the presence of both: implications for models of developmental programming. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 49, 2014.

ERICKSON, Kirk I. et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 7, p. 3017-3022, 2011.

ERICKSON, Kirk I.; LECKIE, Regina L.; WEINSTEIN, Andrea M. Physical activity, fitness, and gray matter volume. **Neurobiology of aging**, v. 35, p. S20-S28, 2014.

FRANCOLIN-SILVA, A.L. e ALMEIDA, S.S. The interaction of housing condition and acute immobilization stress on the elevated plus-maze behaviors of protein-malnourished rats. **Braz J Med Biol Res**, vol.37, no.7, p.1035-1042, 2004.

FINN, D.A.; RUTLEDGE-GORMAN, M.T.; CRABBE, J.C. Genetic animal models of anxiety. **Neurogenetics**. v.4, n.3, p.109-35, 2003.

FIORETTO, Jose R. et al. Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 282, n. 4, p. H1327-H1333, 2002.

FIRTH, Joseph et al. Effect of aerobic exercise on hippocampal volume in humans: A systematic review and meta-analysis. **NeuroImage**, v. 166, p. 230-238, 2018.

FLORES, Osvaldo et al. Hidden prenatal malnutrition in the rat: role of β 1-adrenoceptors on synaptic plasticity in the frontal cortex. **Journal of Neurochemistry**, v. 119, n. 2, p. 314-323, 2011.

FULK, L.J.; STOCK, H.S.; LYNN, A.; MARSHALL, J.; WILSON, M.A.; HAND, G.A. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. **Int J Sports Med**. v.25, n.1, p.78-82, 2004.

GALLER JR, SHUMSKY JS, MORGANE PJ. Malnutrition and brain development. In: Walker WA, Watkins J, editors. **Nutrition in Pediatrics**. 2nd ed. Neuilly Sur-Seine, France: Plenum Press; 1996. p.194-210.

GIL A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. **European journal of clinical nutrition** 56 Suppl 3: S1-4, 2002.

GOBATTO, C.A.; DE MELLO, M.A.; SIBUYA, C.Y.; DOS SANTOS, L.A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol**, v.130, n.1, p.21-27, 2001.

GOMES, Antonio Carlos. Treinamento desportivo: estruturação e periodização. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

GLUCKMAN, Peter D.; HANSON, Mark A.; BEEDLE, Alan S. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. **American Journal of Human Biology**, v. 19, n. 1, p. 1-19, 2007.

GURMINI, Jocemara et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 4, p. 271-8, 2005.

HALES, C. Nicholas; BARKER, David JP. The thrifty phenotype hypothesis. **British medical bulletin**, v. 60, n. 1, 2001.

HARTMANN, HAGEN; BOB, ANDREAS; WIRTH, KLAUS; and SCHMIDTBLEICHER, DIET MAR. Effects of different periodization models on rate of force development and power ability of the upper extremity. **The Journal of Strength and Conditioning Research**, v.23, n. 7, 2009.

HERTING MM, NAGEL BJ. Aerobic fitness relates to learning on a virtual Morris Water Task and hippocampal volume in adolescents. *Behav Brain Res*. 2012;233:517–525. doi: 10.1016/j.bbr.2012.05.012.

HESS JR AND GREENBERG NA. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. **Nutrition in clinical practice** : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA. **Síntese de indicadores sociais**. IBGE, 2009.

JIANG, Xiangning; NARDELLI, Jeannette. Cellular and molecular introduction to brain development. **Neurobiology of disease**, v. 92, p. 3-17, 2016.

JOUAVILLE, Lionel F. et al. Skeletal muscle expression of LDH and monocarboxylate transporters in growing rats submitted to protein malnutrition. **European journal of nutrition**, v. 45, n. 6, p. 355, 2006.

KEPECS, A.; UCHIDA, N.; MAINEN, Z.F. The Sniff as a unit of a olfactory processing. **Chemical Senses**. v.31, n.2, p.167-79, 2006.

KLEEMEYER, Maïke Margarethe et al. Changes in fitness are associated with changes in hippocampal microstructure and hippocampal volume among older adults. **Neuroimage**, v. 131, p. 155-161, 2016.

KRAEMER et al. Influence of resistance training volume and periodization on physiological and performance adaptations in collegiate women tennis players. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 28, n. 5, 2000.

KRAEMER et al. Physiological Changes with Periodized Resistance Training in Women Tennis Players. **Official Journal of the American College of Sports Medicine**, 2003.

LAKER, Rhianna C. et al. Epigenetic origins of metabolic disease: the impact of the maternal condition to the offspring epigenome and later health consequences. **Food Science and Human Wellness**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2013.

LAPMANEE, Sarawut et al. Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety-and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats. **PloS one**, v. 12, n. 11, p. e0187671, 2017.

LATORRACA, M.Q.; REIS, M.A.B.; CARNEIRO, E.M.; MELLO, M.A.R.; VELLOSO, L.A.; SAAD, M.J.A.; BOSCHERO, A.C. Protein Deficiency and Nutritional Recovery Modulate Insulin Secretion and the Early Steps of Insulin Action in Rats. **J Nutr**, v.128, p.1643-1649, 1998b.

LATORRACA, M.Q.; CARNEIRO, E.M.; BOSCHERO, A.C.; MELLO, M.A.R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced

insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. **Br J Nutr**, v.80, n.0, p.291-297, 1998a.

LO, S.; RUSSELL, J.C.; TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol**, v.28, n.2, p.234-236, 1970.

MARÇAL NATALI, María Raquel et al. Morphoquantitative evaluation of the duodenal myenteric neuronal population in rats fed with hypoproteic ration. **Biocell**, v. 29, n. 1, p. 39-46, 2005.

MANUEL-APOLINAR, Leticia et al. Fetal malnutrition affects hypothalamic leptin receptor expression after birth in male mice. **Archives of medical research**, v. 41, n. 4, p. 240-245, 2010.

MARTIN, R. et al. Functional Magnetic Resonance Study of Non-conventional Morphological Brains: malnourished rats. **Measurement Science Review**, v. 15, n. 4, p. 176-183, 2015.

MATTSON, Mark P. Evolutionary aspects of human exercise—born to run purposefully. **Ageing research reviews**, v. 11, n. 3, p. 347-352, 2012.

MCGAUGH, J.L. & WHALEN, N.M.W.R.E., *Psicobiologia – As Bases Biológicas Do Comportamento*. São Paulo, SP: Livros Técnicos e Científicos, p. 415, 2005.

MELLO, M.T.; BOSCOLO, R.A.; ESTEVES, A.M. Physical exercise and the psychobiological aspects. **Rev Bras Med Esporte**. v.11, n.3, p.195e-9, 2005.

MOREIRA, Neide Martins et al. Quantitative analysis of the neurons from the myenteric plexus in the ileum of rats submitted to severe protein deficiency. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 66, n. 2A, p. 242-245, 2008.

MONTEIRO, Carlos Augusto. A dimensão da pobreza, da desnutrição e da fome no Brasil. **Estudos avançados**, v. 17, n. 48, p. 7-20, 2003.

MORGANE, Peter J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 17, n. 1, p. 91-128, 1993.

MOURA, P.J.; GIMENES-JÚNIOR, J.A.; VALENTINUZZI, V.; XAVIER, G.F. Circadian phase and intertrial interval interfere with social recognition memory. **Physiol Behav**. v.96, n.1, p.51-6, 2009.

MOURA, P.J.; XAVIER, G.F. Memória de reconhecimento social em ratos. **Rev Psicol**, v.21, n.2, p.355-389, 2010.

MUJKA, Inigo; PADILLA, Sabino. Scientific bases for precompetition tapering strategies. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 35, n. 7, p. 1182-1187, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, Commission on Life Sciences, Institute of Laboratory Animal Resources. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. Washington: National Research Council, 1996.

NEVES, S.M.P.; FILHO, J.M.; WENZEL DE MENEZES, E. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**; São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Instituto de Química - Universidade de São Paulo, 2013.

NOVELLI, E.L.B.; DINIZ, Y.S.; GALHARDI, C.M.; EBAID, G.M.X.; RODRIGUES, H.G.; MANI, F.; FERNANDES, A.A.H.; COCOGNA, A.C.; NOVELLI FILHO, J.L.V.B. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Lab Anim**, v.41, n.1, p.111-119, 2007.

NUNES, Magda Lahorgue et al. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. **J Pediatr**, v. 1, p. 39-44, 2002.

OCKEN, Deborah A.; GRUNEWALD, Katharine K. The effects of exercise on catch-up growth of rats recovering from early undernutrition. **The Journal of nutrition**, v. 118, n. 11, p. 1410-1416, 1988.

OLIVEIRA, Fernanda LC et al. Desnutrição energética intra-uterina em ratos: alterações músculo-esqueléticas na 1a e 2a gerações. **J Pediatr**, v. 5, p. 350-356, 1999.

OVERSTREET, David H. Modeling depression in animal models. In: **Psychiatric Disorders. Humana Press**, p. 125-144, 2012..

PIMENTEL, Gustavo D. et al. The role of neuronal AMPK as a mediator of nutritional regulation of food intake and energy homeostasis. **Metabolism**, v. 62, n. 2, p. 171-178, 2013.

PAYNE-ROBINSON, Hazel M.; BROWN, Richard. The effect of malnutrition on insulin binding to rat erythrocytes. **British J Nutrit**, v. 67, n. 2, p. 279-286, 1992.

PELUSO, M.A.; GUERRA, D.E.; ANDRADE, L.H. Physical activity and mental health: the association between exercise and mood. **Clinics (Sao Paulo)**.v.60, n.1, p.61-70. 2005.

PEREIRA-SILVA, M.S.; DE OLIVEIRA, L.M. Malnutrition and levels of biogenic amines in the central nervous system. **Nutrire. J Brazilian Soc Food Nutr.**, v. 29, p. 75-97, jun. 2005.

PEREIRA, Mayara P. et al. High glucose uptake in growing rats adapted to a low-protein, high-carbohydrate diet determines low fasting glycemia even with

high hepatic gluconeogenesis. **Canadian J Physiol Pharmacology**, v. 92, n. 6, p. 460-466, 2014.

PERTILLE, A. et al. Evaluation of skeletal muscle regeneration in experimental model after malnutrition. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 1, p. 83-91, 2016.

PODAZA, E.; ECHARTE, E. M.; CHISARI, A. N. A low maternal proteindiet during pregnancy and lactation induce liver offspring dysfunction in the rat. **Ann Nutr Disord Ther**, v. 2, n. 1, p. 1020, 2015.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY JR, GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition, Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. **J Nutr**, v.123, n.11, p.1939-1951, 1993.

REIS, M.A.B.; CARNEIRO, E.M.; MELLO, M.A.R.; BOSCHERO, A.C.; SAAD, M.J.A.; VELLOSO, L.A. Glucose-induced insulin secretion is impaired and insulin-induced phosphorylation of the insulin receptor and insulin receptor substrate-1 are increased in protein-deficient rats. **J Nutr**, v.127, n.3, p.403-410, 1997.

RIBEIRO, Adolfo Monteiro et al. Baixo peso ao nascer e obesidade: associação causal ou casual?. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 3, p. 340-348, 2015.

ROCINHOLI, L. F.; ALMEIDA, S. S.; DE-OLIVEIRA, L. M. Response threshold to aversive stimuli in stimulated early protein-malnourished rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 407-413, 1997.

ROJER, A. G. M. et al. The prevalence of malnutrition according to the new ESPEN definition in four diverse populations. **Clinical Nutrition**, v. 35, n. 3, p. 758-762, 2016.

ROYCE, J.R. On the construct validity of open field measures. **Psychol Bull**, v.84, n.6, p.1098-1106, 1977.

ROWITCH, David H. et al. An 'oligarchy'rules neural development. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 8, p. 417-422, 2002.

RYTTER, Maren Johanne Heilskov et al. Social, dietary and clinical correlates of oedema in children with severe acute malnutrition: a cross-sectional study. **BMC pediatrics**, v. 15, n. 1, p. 25, 2015.

SANTHIAGO, Vanessa et al. Treinamento físico durante a recuperação nutricional não afeta o metabolismo muscular da glicose de ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, p. 76-80, 2006.

SELAKOVIC, Dragica et al. The opposite effects of nandrolone decanoate and exercise on anxiety levels in rats may involve alterations in hippocampal parvalbumin-positive interneurons. **PloS one**, v. 12, n. 12, p. e0189595, 2017.

SILVA, M. P. et al. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. **Motriz**, v. 5, n. 2, 1999.

SILVA, Rafael Pires da et al. Imunoglobulina A salivar (IgA-s) e exercício: relevância do controle em atletas e implicações metodológicas. **Rev Bras Med Esporte**, v. 15, n. 6, p. 459-466, 2009.

SILVA, Viviane Consiglio da; ALMEIDA, Sebastião de Sousa. Desnutrição protéica no início da vida prejudica memória social em ratos adultos. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, p.195-201, 2006.

SIMPSON, J.; KELLY, J.P. The impact of environmental enrichment in laboratory rats - Behavioral and neurochemical aspects. **Behav Brain Res**, v.222, n.1, p.246-264, 2011.

SOUZA AS. Conseqüências da Desnutrição na Distribuição Relativa de Ácidos Graxos de Cadeia Longa do Sistema Nervoso Central e no Comportamento Cognitivo de Ratos. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-graduação em Nutrição.- UFRJ, 2006. 137f.

STRUPP BJ, LEVITSKY DA. Enduring cognitive effects of early malnutrition: a theoretical reappraisal. **J Nutr**. 1995; 125(8 Suppl):2221S-32S.

SUGDEN, M. C.; HOLNESS, M. J. Gender-specific programming of insulin secretion and action. **Journal of Endocrinology**, v. 175, n. 3, p. 757-767, 2002.

TEODÓSIO, N. R. et al. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 40, n. 4, p. 533-547, 1990.

TONKISS J, GALLER JR, FORMICA RN, SHUKITT-HALE B, TIMM RR. Fetal protein malnutrition impairs acquisition of a DRL task in adult rats. **Physiol Behav**. 1990; 48(1):73-7.

VAN PRAAG, Henriette et al. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 38, p. 8680-8685, 2005.

VAN PRAAG, Henriette. Neurogenesis and exercise: past and future directions. **Neuromolecular medicine**, v. 10, n. 2, p. 128-140, 2008.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 11, p. 1389-1394, 2002.

VOLTARELLI, Fabrício A. et al. Limiar anaeróbio determinado pelo teste do lactato mínimo em ratos: efeito dos estoques de glicogênio muscular e do treinamento físico. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 4, n. 3, p. 16-25, 2004.

VOLTARELLI, Fabrício Azevedo; GOBATTO, Claudio Alexandre; DE MELLO, Maria Alice Rostom. Determinação da transição metabólica através do teste do lactato mínimo em ratos desnutridos durante exercício de natação. **Journal of Physical Education**, v. 18, n. 1, p. 33-39, 2008.

VICKERS, Mark H. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. **Nutrients**, v. 6, n. 6, p. 2165-2178, 2014.

XU, George; UMEZAWA, Masakazu; TAKEDA, Ken. Early development origins of adult disease caused by malnutrition and environmental chemical substances. **Journal of health science**, v. 55, n. 1, p. 11-19, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World health statistics 2013**. World Health Organization, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Vector biology: control unit**. WHO/EBL. 2014.

ZANGROSSI Jr., H.; FILE, S.E., Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. **Brain Research Bulletin**, v.29, n.3-4, p.381–388, 1992.

ANEXO I - Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Metodista de Piracicaba

Universidade Metodista de Piracicaba
Comissão de Ética no Uso de Animais



Piracicaba, 30 de maio de 2016

Para: Prof. Carlos Alberto da Silva
De: Comissão de Ética no Uso de Animais
Ref.: Aprovação do protocolo nº 04/2016

Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Metodista de Piracicaba **APROVOU** o protocolo nº 04/2016 intitulada "*Parâmetros bioquímicos, hormonais, imunológicos, teciduais, comportamentais e desempenho de ratos submetidos a desnutrição/recuperação proteica e programa de treinamento periodizado associado a suplementação com nucleotídeos.*" analisada por esta comissão.

Atenciosamente

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Patrícia Carla Paulino Belotto".

Patrícia Carla Paulino Belotto
Comissão de Ética no Uso de Animais