



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

BRUNA RAFAELE DIÓGENES DA SILVA

Efeitos metabólicos e comportamentais da privação de sono associada ou não ao exercício físico

Fortaleza

2020

BRUNA RAFAELE DIÓGENES DA SILVA

Efeitos metabólicos e comportamentais da privação de sono associada ou não ao exercício físico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Veralice Meireles Sales de Bruin

Fortaleza

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S1e SILVA, BRUNA RAFAELE DIOGENES DA.
Efeitos metabólicos e comportamentais da privação de sono associada ou não ao exercício físico / BRUNA RAFAELE DIOGENES DA SILVA. – 2020.
67 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Veralice Meireles Sales de Bruin.

1. Privação de Sono. 2. Exercício. 3. metabolismo. 4. Córtex Cerebral. 5. Hipocampo. I. Título.
CDD 610

BRUNA RAFAELE DIÓGENES DA SILVA

Efeitos metabólicos e comportamentais da privação de sono associada ou não ao exercício físico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em: 20/01/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Veralice Meireles Sales de Bruin (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dr.^a Nylane Maria Nunes de Alencar

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dr.^a Milena Aguiar Braga

Faculdade Mauricio de Nassau – UNINASSAU

DEDICATÓRIA

*A DEUS sobre todas as coisas, à minha família e ao meu esposo pelo companheirismo e
amor.*

AGRADECIMENTOS

Dias de lutas, Dias de glória. O desenvolvimento desse projeto chamado mestrado requer muita dedicação, tempo, atenção, paciência, produção e muita força de vontade. E nesse processo, eu contei com pessoas que foram fundamentais para alcançar esse objetivo.

Agradeço primeiramente a Deus, pois em minha fé, acredito que por ELE e para ELE são todas as coisas.

Agradeço a minha orientadora Profa. Veralice que sempre me incentivou a sair da zona de conforto. Sou grata pelo voto de confiança para desenvolvermos juntas esse projeto. E agradeço toda paciência.

Sou imensamente grata ao meu esposo, porque teve momentos que desacreditei da minha capacidade, e ele me encorajou a prosseguir e a nunca desistir. Obrigado por sempre estar ao meu lado, pelo seu amor e cuidado para comigo.

Agradeço a minha família, minha base de tudo, onde eu aprendi ser determinada e sempre buscar dar o melhor de mim. Em especial minha mãe, que sempre nos ensinou a enfrentar as dificuldades da vida com muita fé e determinação. Ao meu pai, que sempre me motivou a dar sempre o melhor.

Em momento de dificuldade tive o privilégio de contar com duas amigas Camilla e Celine, obrigada pela amizade e pelos incentivos.

Obrigado a todos do laboratório do Sono. Ao meu amigo Iury, que quando precisava sempre se dispôs a ajudar. Agradeço a colaboração da Profa. Flávia do laboratório de Produtos Naturais e a EMBRAPA pela contribuição nas análises. Agradeço a FUNCAP e a todos da coordenação do programa de pós-graduação em ciências médicas.

Resumo

Objetivo: Avaliar os efeitos do exercício, privação do sono (PS) e exercício associado a PS, nos comportamentos de memória, ansiedade e depressão, e nos metabólitos lipídico e glicídico através dos níveis séricos, hepáticos e musculares de glicose, lactato, glicogênio, colesterol e triglicerídeos. Foram estudados padrões metabólicos no córtex cerebral e hipocampo.

Métodos: Camundongos (N=48) foram alocados aleatoriamente em 4 grupos (N=12, cada): controle (C), exercício (EX), privação do sono (PS) e privação do sono seguida de exercício (EXPS). Os animais foram treinados (8 semanas) em esteira (9cm/s) de 10:00 as 12:00. A PS (72h) foi obtida pela técnica de plataforma múltipla modificada (Porsolt). Foram avaliados os níveis sanguíneos de glicose, lactato, colesterol (total e frações) e triglicerídeos. Testes comportamentais incluíram nado forçado, Y-Maze e labirinto em cruz elevado e foram realizados (antes e após 24h do experimento). Amostras de sangue, fígado e músculo foram coletadas para a determinação do glicogênio, colesterol e triglicerídeos. Amostras de córtex cerebral e hipocampo foram analisadas por cromatografia líquida/espectrometria de massa.

Resultados: Os animais exercitados (EX) apresentaram maiores níveis sanguíneos de glicose, lactato e triglicerídeos. Os níveis sanguíneos de colesterol permaneceram inalterados em todos os grupos. Os triglicerídeos no sangue apresentaram-se reduzidos nos grupos PS e EXPS. O grupo EX apresentou níveis mais altos de glicogênio no fígado e um aumento modesto no músculo. O colesterol hepático e os triglicerídeos foram marcadamente reduzidos no grupo PS e isso foi revertido nos animais submetidos a exercício prévio (EXPS). Os animais EXPS apresentaram melhora no teste de memória quando comparados ao grupo PS (Y-maze). A análise quimiométrica revelou perfil metabólico distinto entre os grupos PS, EXPS, EX e C. O exercício aumentou os níveis de lactato, ácido n-acetilaspártico, creatina e taurina enquanto houve uma redução do conteúdo de etanol, alanina, ácido gama-aminobutírico (GABA), mio-inositol, colina e acetato. A PS aumentou o acetato e reduziu o etanol, lactato, alanina, GABA, ácido n-acetil aspártico, creatina, colina, taurina e mio-inositol no córtex. A PS aumentou os níveis de acetato e reduziu o etanol, lactato, alanina, GABA, ácido n-acetil aspártico, creatina, colina, taurina and mio-inositol no córtex. O córtex de animais do grupo C e EXPS apresentaram composição semelhante.

Conclusão: Exercício aeróbico crônico e PS modificam parâmetros metabólicos e comportamentais, em camundongos. O exercício prévio melhorou a memória nos animais submetidos a PS. De forma importante, a redução deletéria do colesterol hepático e dos

triglicerídeos associada à PS foi revertida pelo exercício (EXPS), sugerindo que os efeitos do exercício são modulados por condições preexistentes. O exercício prévio (EXPS) reverteu as alterações em córtex cerebral nos animais submetidos à PS. Portanto, o exercício prévio reverteu as alterações induzidas pela PS e apresentou uma ação protetora, recuperando as reservas hepáticas de lipídios e os metabólitos no córtex cerebral.

Palavras-chaves: Privação do sono, Exercício, Metabolismo, Memória, Córtex cerebral, Hipocampo

Abstract

Objective: To evaluate the effects of exercise, sleep deprivation (SD) and exercise associated with SD, on memory, anxiety and depression behaviors, and on lipid and glycidic metabolites through serum, liver and muscle levels of glucose, lactate, glycogen, cholesterol and triglycerides. Metabolic patterns in the cerebral cortex and hippocampus were studied.

Methods: Mice (N = 48) were randomly allocated into 4 groups (N=12 each): control (C), exercise (EX), sleep deprivation (SD) and sleep deprivation followed by exercise (EXSD). The animals were trained (8 weeks) on treadmill (9cm/s) from 10:00 to 12:00. The SD (72h) was obtained by the modified multiple platform technique (Porsolt). Blood levels of glucose, lactate, cholesterol (total and fractions) and triglycerides were evaluated. Behavioral tests included forced swimming, Y-Maze and elevated cross maze and were performed (before and after 24h of the experiment). Blood, liver and muscle samples were collected to determine glycogen, cholesterol and triglycerides. Samples of cerebral cortex and hippocampus were analyzed by liquid chromatography / mass spectrometry.

Results: The exercised animals (EX) presented higher blood levels of glucose, lactate and triglycerides. Blood cholesterol levels remained unchanged in all groups. Blood triglycerides were reduced in PS and EXSD groups. The EX group had higher liver glycogen levels and a modest increase in muscle. Hepatic cholesterol and triglycerides were markedly reduced in the SD group and this was reversed in previous exercise animals (EXSD). EXSD animals showed improvement in memory test when compared to SD group (Y-maze). Chemometric analysis revealed a distinct metabolic profile between the SD, EXSD, EX and C groups. Exercise increased the levels of lactate, n-acetyl aspartic acid, creatine and taurine while there was a reduction in the content of ethanol, alanine, gamma-aminobutyric acid (GABA), myo-inositol, choline and acetate. SD increased acetate and reduced ethanol, lactate, alanine, GABA, n-acetyl aspartic acid, creatine, choline, taurine and myo-inositol in the cortex. SD increased acetate levels and reduced ethanol, lactate, alanine, GABA, n-acetyl aspartic acid, creatine, choline, taurine and myo-inositol in the cortex. The cortex of group C and EXSD animals presented similar composition.

Conclusion: Chronic aerobic exercise and PS modify metabolic and behavioral parameters in mice. Prior exercise improved memory in animals undergoing SD. Importantly, the deleterious reduction in hepatic cholesterol and triglycerides associated with SD was reversed by exercise (EXSD), suggesting that the effects of exercise are modulated by pre-existing conditions. Prior

exercise (EXSD) reversed changes in cerebral cortex in animals undergoing SD. Therefore, previous exercise reversed the changes induced by SD and showed a protective action, recovering the hepatic lipid reserves and metabolites in the cerebral cortex.

Keywords: Sleep Deprivation, Exercise, Metabolism, Memory, Brain Cortex, Hippocampus

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AE – Alternância Espontânea
AVC – Acidente Vascular Cerebral
CA – Circunferência Abdominal
CM/S – Centímetro por segundo
EXPS – Exercício Privação Sono
GABA – Ácido gama-aminobutírico
GVJ – Glicemia Venosa de Jejum
HDL-C – High Density lipoprotein – Colesterol
IL-1 – Interleucina 1
LDL – Low Density Lipoproteins
MFEL – Máxima Fase Estável de Lactato
NAR – Número de Alternância Realizada
NREM – Non Rapid Eye Movement
NTE – Número Total de Entradas
OMS – Organização Mundial de Saúde
PA – Pressão Arterial
PS – Privação de Sono
REM – Rapid Eye Movement
SM – Síndrome Metabólica
SNS – Sistema Nervoso Simpático
SRAA – Sistema Reticular Ativador Ascendente
TG – Triglicerídeos Plasmáticos
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa
VLDL – Very-Low-Density Lipoprotein
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
ASCII – American Standard Code for Information Interchange
COW – Correlation Optimized Warping
SVD – Decomposição de Valor Singular
PC – Componentes Principais
PCA – Análise de Componentes Principais

LISTA DE TABELAS

1	Dados descritivos das análises bioquímicas dos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	46
2	Dados descritivos da avaliação do comportamento depressivo através do teste nado forçado, nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	50
3	Dados descritivos da avaliação de memória através do teste Y-Maze, antes e após a PS nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	52
4	Dados descritivos da ansiedade através do teste comportamental LCE, antes e após a PS dos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	53

LISTA DE FIGURAS

1	Vigília Inibição Recíproca	20
2	Sono NREM Inibição Recíproca	20
3	Fluxograma evidenciando a distribuição temporal e procedimentos executados nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	33
4	Método das plataformas múltiplas de privação de sono REM	34
5	Esteira rolante para camundongos	35
6	Labirinto em Y utilizados em camundongos	36
7	Labirinto em cruz elevada para camundongos	37
8	Teste de nado forçado para roedores	38
9	Níveis de glicemia nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	41
10	Níveis bioquímicos de lactato, triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL e VLDL nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	43
11	Níveis de glicogênio no tecido hepático e muscular nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	44
12	Níveis de colesterol e triglicerídeos hepático nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS	45
13	Espectro de ^1H RMN do córtex e do hipocampo	47
14	PCA do córtex	48
15	PCA do hipocampo	49
16	Avaliação do comportamento depressivo nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS antes e após a PS	50

17	Avaliação de memória nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS antes e após a PS	51
18	Avaliação de Ansiedade nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS antes e após a PS	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Sono – considerações gerais	18
1.1.1	<i>Estrutura do Sono</i>	19
1.1.2	<i>Regulação do sono</i>	21
1.1.3	<i>Privação de Sono</i>	23
1.1.4	<i>Modelos experimentais de PS em animais</i>	24
1.1.5	<i>Alterações metabólicas associadas a PS</i>	25
1.1.6	<i>Resistência à Insulina</i>	26
1.1.7	<i>Diabetes Mellitus</i>	26
1.1.8	<i>Obesidade</i>	27
1.1.9	<i>Dislipidemia</i>	27
1.1.10	<i>Elevação pressão arterial</i>	28
1.2	Exercício Físico	29
1.2.1	<i>Exercício e Metabolismo</i>	30
1.2.2	<i>Exercício e Sono</i>	30
2	JUSTIFICATIVA	32
3	Objetivos	32
	Objetivos gerais	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.2	Animais	33
4.3	Grupos estudados	33
4.4	Desenho do estudo	34
4.5	Protocolos de privação de sono	35
4.6	Protocolo de exercícios físicos aeróbios em esteira rolante	35
4.6.1	<i>Protocolo de exercício baseado no estudo de Ferreira et al. (2007)</i>	36
4.7	Testes comportamentais	36
4.7.1	<i>Avaliação da memória de trabalho - Teste do labirinto em Y-maze</i>	36
4.7.2	<i>Labirinto em Cruz Elevado (LCE) - Modelo experimental de ansiedade</i>	37
4.7.3	<i>Nado Forçado - Modelo experimental de depressão</i>	38
4.8	Sacrifício dos animais e retirada das regiões cerebrais, fígado e músculo	39
4.9	Análises bioquímicas	39
4.9.1	<i>Glicemia</i>	39
4.9.2	<i>Glicogênio Tecidual</i>	39
4.9.3	<i>Lipídeos hepáticos</i>	40

4.10	Análise Cerebral.....	40
4.10.1	Avaliação por espectroscopia de RMN	40
4.10.3	Análise quimiométrica	41
4.11	Análise estatística	41
5	RESULTADOS.....	42
5.1	Análises Bioquímicas Séricas	42
5.1.1	Glicemia	42
5.1.2	Lactato Sérico	42
5.1.4	Glicogênio Tecidual	45
5.1.5	Quantificação de Lipídeos Hepáticos	45
5.3.1	Nado Forçado	51
5.3.2	Labirinto em Y (Y-MAZE) quanto ao número de entradas e percentual de alternância	51
5.3.3	Labirinto em cruz elevado (LCE).....	53
7	DISCUSSÃO	55
7	CONCLUSÃO	59
	REFERENCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sono – considerações gerais

O sono é um estado fisiológico do corpo, caracteristicamente se apresenta de forma recorrente, a noite e durante várias horas. Observa-se um estado de inatividade, olhos fechados, músculos posturais relaxados e consciência praticamente ausente. Em oposição, a vigília é um estado no qual uma pessoa responde facilmente aos estímulos sensoriais, cortical e motora e comporta-se ativamente manifestando padrões locomotores e expressões cognitivas. Na vigília, a postura é dinâmica e oscila graças a variação do tônus muscular. Durante a vigília, ocorrem ondas cerebrais dessincronizadas (ALÓE; AZEVEDO; HASAN, 2005). Nos seres humanos o ciclo vigília sono ocorre aproximadamente a cada 24 horas e processos biológicos fundamentais essenciais a sobrevivência, tais como o metabolismo energético, ocorrem durante esses períodos (DING et al., 2018).

Problemas relacionados ao sono são comuns na sociedade atual. Vários estudos têm demonstrado que ao longo dos anos ocorre uma diminuição do tempo médio de sono da população. Essas alterações constituem-se em um problema de saúde pública e demandam uma atenção e intervenção tanto no nível individual quanto medidas mais amplas como programas de promoção da saúde pública (LE MOS et al., 2020; PAIXÃO; BRANCO; CONTREIRAS, 2006; RAO et al., 2020).

Estudos demonstram a alta prevalência de transtornos do sono em adultos (LIU et al., 2013b; RYU; KIM, 2011). Outros trabalhos identificam uma associação entre os transtornos do sono e as doenças metabólicas e cardiovasculares (VGONTZAS et al., 2009). Mais especificamente, alterações do sono associam-se com hipertensão arterial, dislipidemias, sobrepeso/obesidade e diabetes. A presença de tabagismo e etilismo se constituem em fatores de risco associados (BECCUTI; PANNAIN, 2013; KIM et al., 2012; PANDEY et al., 2013; PETERS et al., 2013).

O sono além de ser um período de repouso e relaxamento para o corpo e a mente, é uma função vital e complexa, que assegura a qualidade de vida e saúde. É também biologicamente fundamental na restauração do metabolismo energético cerebral (ANTUNES et al., 2007; ARAUJO et al., 2013). Trata-se de um processo biológico complexo manifestando-se em um ciclo e alternando-se com períodos de vigília (MULLER; GUIMARÃES, 2007).

Um número crescente de estudos examina as relações entre o sono e o funcionamento dos vários sistemas do organismo. Tem sido relatadas relações entre o sono e o processo de aprendizagem, a restauração da biossíntese celular, a conservação de energia e a consolidação da memória, entre outras (FULLER; SAPER; LU, 2007; MIGNOT, 2008). O sono e o ritmo circadiano são fundamentais para o controle dos padrões diários na fisiologia humana, tal como, para a função metabólica (DEPNER; STOTHARD; WRIGHT, 2014).

O sono é necessário para a reconstrução, reparo e manutenção dos organismos e sua duração relaciona-se com a expressão rítmica dos genes Clock (definir). A Privação de Sono (PS) compromete não somente a funcionalidade do organismo como a expressão de vários genes, entre eles, genes relacionados ao metabolismo lipídico (MACKIEWICZ et al., 2010).

Doenças como ansiedade, depressão e doenças degenerativas associam-se transtornos do sono. Do mesmo modo, o uso de medicamentos ou álcool para ajudar dormir, alteram o padrão e a qualidade do sono, impactando significativamente o desempenho físico, cognitivo e social dos indivíduos (NECKELMANN; MYKLETUN; DAHL, 2007; PASSARELLA; DUONG, 2008).

1.1.1 Estrutura do Sono

O sono é constituído por dois estados biológicos distintos: sono REM (*Rapid Eye Movement*) ou sono dessincronizado e sono NREM (*Non Rapid Eye Movement*) ou sono sincronizado (NEVES; , ANDRE S. GIORELLI , PATRICIA FLORIDO, 2013). Durante o período do sono observa-se uma alternância entre os dois estados, REM e NREM. Os estágios neurofisiológicos do sono são classificados de acordo com o padrão de ondas cerebrais, a atividade muscular periférica e o oculograma. A proporção e distribuição das fase do sono variam com a idade (CHOKROVERTY, 2010).

O sono NREM é subdividido em 3 estágios N1, N2 e N3. O estágio N1 caracteriza-se por redução das atividades musculares, ondas cerebrais de baixa frequência, sendo uma transição da vigília para o sono. No estágio N2 são observados fusos e complexo K e no estágio N3 ocorrem ondas delta que são lentas e de elevada amplitude (CHOKROVERTY, 2010; NEVES; , ANDRE S. GIORELLI , PATRICIA FLORIDO, 2013; RODRIGUES et al., 2012).

O sono REM caracteriza-se no eletroencefalograma por uma frequência mista e baixa amplitude. Nesse estágio há ausência de tônus muscular e observa-se atividade oculomotora caracterizada por movimentos rápidos dos olhos. Ocorrem flutuações cardiorrespiratórias, irregularidades da temperatura corporal e observa-se também uma

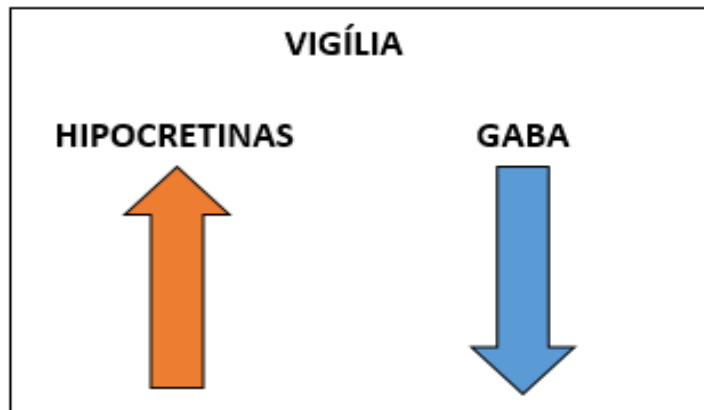
consolidação de aprendizados e a presença de sonhos (NEVES; , ANDRE S. GIORELLI , PATRICIA FLORIDO, 2013)

Algumas estruturas cerebrais participam do controle neural da vigília, do sono NREM e do sono REM, tais como o Sistema Ativador Reticular Ascendente (SARA) que é ativado durante a vigília. O SARA localiza-se no tronco encefálico e é formado por neurônios heterogêneos separados por fibras nervosas. Através dessa rede neural, o SARA possibilita a liberação de mediadores neuroquímicos inibitórios (STERIADE, 1984). No hipotálamo, situam-se estruturas importantes para o controle do ciclo sono-vigília. Na área peri-fórnice do hipotálamo situam-se as células produtoras de hipocretina (orexina) (figura 1), um neuropeptídeo responsável pela ativação da vigília e relacionado a mecanismos da fome (MURILLO-RODRÍGUEZ; ARIAS-CARRIÓN; SANGUINO-RODRÍGUEZ, 2009).

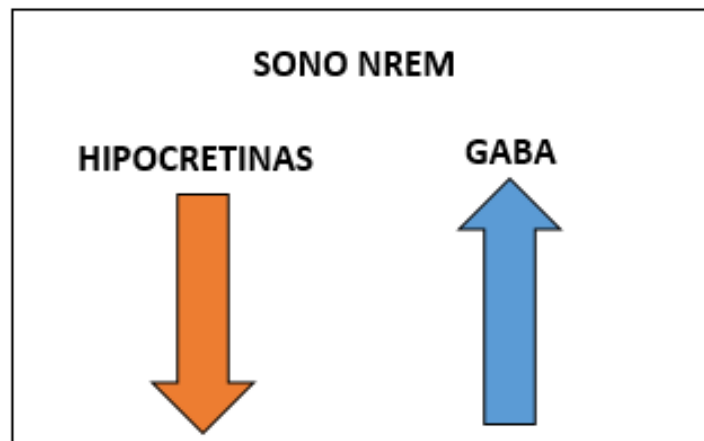
O núcleo do trato solitário (bulbo) é o principal núcleo envolvido na ativação do sono NREM, e o GABA é o principal neurotransmissor inibitório (figura 2). Quando esse núcleo é ativado, ocorre uma maior liberação de GABA no sistema nervoso que intervém de forma inibitória sobre as transmissões e atividades dos neurônios que se projetam ao tálamo e córtex. Esses neurônios GABAérgicos inibem os neurônios do SRAA, o principal ativador da vigília (TUFIK, 2008).

Tem sido mostrado que algumas citocinas presentes no organismo estão diretamente ligadas ao ciclo sono-vigília. As principais citocinas envolvidas na fisiologia do sono são IL-1 e o TNF α , que atuam na regulação do sono, regulação térmica e na resposta imunológica.

Deve ser ressaltado, que os sistemas responsáveis pelo comportamento sono/vigília envolvem conexões múltiplas relacionadas ao humor, audição e sensibilidade, entre outras. Os mecanismos intrínsecos e extrínsecos reguladores do sono/vigília ainda não são inteiramente conhecidos. Como exemplo, evidências indicam que o ciclo vigília sono é influenciado pelos endocanabinóides dado que o bloqueio do receptor CB1 ativa a vigília (MURILLO-RODRÍGUEZ; PASTRANA-TREJO; SALAS-CRISÓSTOMO, 2017).

Figura 1. Vigília Inibição Recíproca

Fonte: Elaborada pelo próprio autor

Figura 2. Sono NREM Inibição Recíproca

Fonte: Elaborada pelo próprio autor

Durante o sono REM ocorre intensa atividade cerebral. Nessa fase do sono, observam-se modificações das configurações sinápticas relacionadas a plasticidade neural. Provavelmente, tais processos relacionam-se com a memória, e cognição, entre outros (LENT, 2010).

1.1.2 Regulação do sono

O ciclo sono-vigília é regulado por dois processos: o processo circadiano e o processo homeostático (KIM et al., 2007). O processo circadiano é controlado por mecanismos endógenos e influenciados por alterações ambientais. Trata-se de uma adaptação do organismo ao ciclo dia e noite, também conhecido como sistema de temporização circadiana, no qual o centro regulador encontra-se no núcleo supraquiasmático (KREIER et al., 2007).

O principal regulador do núcleo supraquiasmático é a luz. O núcleo supraquiasmático recebe as informações sobre a luminosidade do ambiente por meio do feixe nervoso retino-hipotalâmico. Após essas informações, ele funciona como um relógio mestre que orienta o ritmo circadiano (NEVES; , ANDRE S. GIORELLI , PATRICIA FLORIDO, 2013).

O processo homeostático regula a propensão ao sono que é controlada pela necessidade ou débito do sono. O organismo tenta recuperar ou compensar o que foi esgotado durante a vigília, ou seja, ocorre um aumento da sonolência após um longo período de vigília associada ao acúmulo de adenosina (KIM et al., 2007).

A adenosina é um nucleosídeo endógeno e um neurotransmissor que participa de muitos processos neuronais e gliais essenciais para o metabolismo energético celular neuronal. Durante a vigília a adenosina acumula-se na fenda sináptica atuando de forma inibitória. O uso de inibidores da adenosina, i.e. cafeína, associa-se a aumento do comportamento de vigília (PORKKA-HEISKANEN; KALINCHUK, 2011).

Células do prosencéfalo basal são locais de armazenamento de adenosina, portanto, são consideradas como homeostatos do sono. A ação inibitória da adenosina ocorre nas células colinérgicas que desinibem as células GABAérgicas; essas deixam de estimular a hipocretina, dando início ao sono que geralmente ocorre após um longo período de vigília (PORKKA-HEISKANEN et al., 2002).

Esses processos fisiológicos, processo circadiano e homeostático, ocorrem sequencialmente, de forma sincronizada. Após o período do sono, a necessidade do sono é praticamente nula (processo homeostático) e o processo circadiano é ativado ao longo do dia. No final do dia, a redução da luz, ou seja, a informação da baixa luminosidade é levada ao núcleo supraquiasmático através do feixe retino-hipotalâmico. Por volta de 10 h da noite, concomitante a redução do estímulo da luz, se inicia a secreção da melatonina. Portanto, a regulação do ritmo circadiano endógeno, é desencadeada pelo núcleo supraquiasmático e o principal regulador externo é a luz. Após uma noite de sono, ocorre uma redução gradual da necessidade do sono (processo homeostático) e a vigília se inicia (CHOKROVERTY, 2010; GULYANI et al., 2013).

Dado que ancestralmente processos celulares bioquímicos e secreções hormonais ocorrem em acordo com o ritmo vigília/sono, as alterações do ritmo sono/vigília associam-se a transtornos metabólicos e alterações no processo cognitivo, entre outros. Há evidências de que manifestações patológicas e.g. alterações do humor, hipertensão arterial, neoplasias, e doenças neurodegenerativas podem estar vinculadas a alterações do ritmo sono/vigília (WU et al., 2019).

A utilização de modelos em animais de experimentação permite intervenções diversas e abordagens mais invasivas i.e. investigação tecidual de órgãos específicos (ANTUNES et al., 2007; PATTI et al., 2010).

1.1.3 Privação de Sono

Os estudos sobre a PS iniciaram-se em 1894 com os experimentos de Manacéine (DE MANACÉINE, 1894). No século 19, Tufik e colaboradores foram os pioneiros nesses estudos no Brasil (TUFIK; LINDSEY; CARLINI, 1978). Ainda existem divergências sobre alguns efeitos da PS. Quanto aos efeitos da PS sobre os hormônios sexuais e adrenais, cortisol, adrenalina, catecolaminas, hematócrito, glicemia, creatinina e magnésio, há discordâncias (BECK, 1981; DAVIDSON; MOLDOFSKY; LUE, 1991).

A PS ocorre quando há redução do sono parcial ou total, causando consequências negativas no cotidiano e na qualidade de vida das pessoas (MULLER; GUIMARÃES, 2007). Após a PS podem ocorrer modificações biológicas secundárias. Diversos aspectos ainda não estão totalmente estabelecidos mas sabe-se que o sono tem um efeito sobre o clearance de substâncias tóxicas como o amiloide, proteína envolvida na doença de Alzheimer e a degeneração neurofibrilar (AHMADIAN et al., 2018; CORDONE et al., 2019). Há também evidências que alterações metabólicas, tais como a sensibilidade a insulina e a obesidade relacionam-se com a PS. A PS também aumenta o estresse oxidativo e os níveis de neurotransmissores como a noradrenalina (DANIELE, 2017; GARY et al., 1996).

No que concerne o processamento cognitivo, a PS também compromete a responsividade atencional, causa prejuízos na memória, alterações no humor como o aumento da irritabilidade, cansaços, náuseas, dores de cabeça, ardência nos olhos, visão turva, dores articulares e redução da libido (BONNET; ARAND, 2003; SHEPHARD; SHEK, 1997). Outra função prejudicada é o processamento de informações, resultando em um aumento do tempo necessário para a tomada de decisões (ASKEN; RAHAM, 1983).

A PS é uma condição frequente na vida moderna e deve ser considerada como fator predisponente a diversas doenças, e.g. doenças cardiovasculares, endócrinas e imunológicas (KIM et al., 2007). Com relação ao sistema imune, este está diretamente ligado a qualidade de sono. Estudos mostram que a PS altera a produção de citocinas e a quantidade de células brancas relacionadas a duração da PS (DIMITROV et al., 2007; PALMA et al., 2007; ZAGER et al., 2007).

1.1.4 Modelos experimentais de PS em animais

Diversos modelos experimentais são utilizados para a obtenção de PS. Tais modelos podem reduzir, suprimir ou privar os animais de sono total ou do sono paradoxal (termo utilizado preferencialmente no sono de animais, ou sono REM para humanos). As abordagens mais usadas são: farmacológica, neuroanatômicas ou técnicas instrumentais (SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

As abordagens farmacológica utilizam drogas agonistas dos sistemas envolvidos durante a vigília, tais como a anfetamina ou os antagonistas do sistema colinérgico e.g. o biperideno (SALIN-PASCUAL et al., 1992). As abordagens neuroanatômicas consistem em lesões de feixes ou de núcleos relacionados com a ativação de sono paradoxal, ou ainda a estimulação de núcleos relacionados com a vigília (SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

As técnicas instrumentais, são métodos simples, em que se utilizam equipamentos apropriados. Essas técnicas se fundamentam em uma característica do sono paradoxal que é a presença de atonia muscular. Ao longo dos anos, algumas modificações foram introduzidas objetivando minimizar os efeitos colaterais destas técnicas. Entre os efeitos colaterais o estresse associado é observado. Em 1965, o primeiro estudo de privação seletiva do sono paradoxal foi o método plataforma única, que foi adaptado para ratos (COHEN; DEMENT, 1965; SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

No qual, um único animal era colocado numa plataforma circundada por água, produzindo a privação completa de sono paradoxal. Entretanto esse método recebeu muitas críticas por haver variáveis que poderiam induzir a interpretações errôneas dos resultados, devido o animal sofrer pelo menos dois tipos de estresse: a restrição dos movimentos e o isolamento social, dificultando discriminar se os resultados obtidos seriam devidos ao estresse do método ou da privação de sono (SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

Assim, novas técnicas foram elaboradas buscando minimizar os efeitos estressores do método. A plataforma múltipla foi desenvolvida para que o animal privado de sono pudesse se locomover dentro do tanque e evitando a restrição dos movimentos. Nesse modelo, várias plataformas são disponibilizadas dentro de um tanque para um único animal, entretanto o animal permanece isolado (SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

Nunes e Tufik, em 1994 desenvolveram uma nova técnica para minimizar os efeitos do isolamento social. Nesta plataforma múltipla, dez animais de gaiolas distintas eram colocados dentro de um tanque sobre 14 a 18 plataformas. Foi então observada uma certa dificuldade na socialização possivelmente devido ao fato de que esses animais eram de gaiolas distintas. Foi registrado que os efeitos comportamentais produzidos pelo método plataforma única e pela técnica proposta por Nunes e Tufik eram semelhantes (NUNES; TUFIK, 1994; SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

Assim foi realizado um ajuste e desenvolvido o método de plataforma múltiplas modificados, no qual os animais submetidos ao método eram criados juntos desde o desmame. Constatou-se então que esse método não somente privava o sono paradoxal como também reduzia o sono de ondas lentas (NUNES; TUFIK, 1994; SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

Outra técnica para privação de sono é o disco giratório. Nessa técnica, os animais são colocados sobre um disco giratório, circundado de água e registros polissonográficos informam um computador que ao detectar padrões de sono aciona uma rotação do disco, fazendo com que o animais andem no sentido contrário para não cair na água (RECHTSCHAFFEN et al., 1983; SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

No método da esteira os animais após a implantação de eletrodos para o registro eletrocorticográfico, são colocados em uma esteira que se move em um ciclo de 3 segundos ligadas e 12 segundos desligadas, assim, impedindo que o animal durma, nesse método a porcentagem do tempo de vigília nos animais privados de sono é de 92% (GUZMÁN-MARÍN et al., 2003; SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

Para privação curta de sono, em torno de 2 a 6 horas, um método que tem sido bastante utilizado é o *Gentle-handling*. Esse método pode ser usado em diversas animais, como ratos e camundongos e consiste em manipulações delicadas com a ponta de um pincel ou um objeto macio, de modo a evitar que o animal durma, reduzindo o estresse (SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, 2008).

1.1.5 Alterações metabólicas associadas a PS

A PS está associada a condições mórbidas como disfunção autonômica, alterações psiquiátricas, envelhecimento precoce, prevalência de depressão e ansiedade, insuficiência renal e também alterações endócrinas, tais como, intolerância à glicose e hipercortisolemia (DANDA et al., 2005; QUINHONES, 2011).

A síndrome metabólica (SM) denomina um conjunto de problemas cardiometabólicos, tais como, elevação da pressão arterial (PA), da glicemia venosa de jejum (GVJ), dos triglicerídeos plasmáticos (TG) e da circunferência abdominal (CA), e uma redução dos níveis de *high density lipoprotein-cholesterol* (HDL-C) (PAN; YEH; WENG, 2008; REAVEN, 2010). No Brasil ainda não existem dados epidemiológicos gerais sobre a prevalência da SM, no entanto, uma revisão apresentou a média ponderada de 29,6% para a prevalência de SM (VIDIGAL et al., 2013)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu a síndrome metabólica como um conjunto de critérios clínicos. É necessário para se classificar nesse diagnóstico, ser resistente a insulina pelos critério de *clamp* euglicêmico, ou ter diabetes tipo 2, tolerância a glicose diminuída ou glicemia em jejum alterada, acrescentada a duas das quaisquer comorbidades, obesidade (abdominal ou global), dislipidemia (alta TG ou Baixa HDL-C), pressão arterial elevada ou microalbuminúria (REAVEN, 2010).

1.1.6 Resistência à Insulina

A resistência à insulina é o elo que compõe os critérios para a SM. Ocorre nos tecidos periféricos, principalmente em músculos e no tecido adiposo, é um fator determinante na causa do Diabetes Mellitus (LAMOUNIER et al., 2010).

A resistência à insulina pode ser uma alteração no pré-receptor ou no pós-receptor. Envolve um aumento na secreção do hormônio insulina, causando uma elevação dos níveis de insulina na corrente sanguínea (hiperinsulinemia). Tal elevação é destinada a evitar o aumento da glicemia, a glicose (GUYTON; EDWARD, 2006; LAMOUNIER et al., 2010).

Sendo assim, a resistência à insulina é o fator responsável pelos distúrbios metabólicos e hemodinâmicos da síndrome metabólica (GAGLIARDI, 2002). A PS do sono associa-se a redução da sensibilidade a insulina (SANER; BISHOP; BARTLETT, 2018; ZHU et al., 2019).

1.1.7 Diabetes Mellitus

O diabetes é uma doença crônica, caracterizada por alterações no metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos. A identificação da doença é feita através da elevação dos níveis de glucose no sangue (hiperglicemia). O pâncreas produz a insulina que regula a glucose obtida através da alimentação, degradação de glicogênio no fígado e também pela formação através de outros compostos de carbono, tais como, lactato, piruvato, aminoácidos e glicerol, além da regulação a insulina converte essa glucose em energia para o músculo e tecidos. Quando não ocorre essa homeostase, e os níveis de insulina ficam alterados, pode haver a possibilidade de desenvolvimento de diabetes (PORETSKY, 2010).

Diabete tipo 2 se desenvolve quando o organismo resistente a insulina não pode secretar o aumento da quantidade de insulina necessária para compensar a resistência à insulina (LILLIOJA et al., 1993; REAVEN, 1988). O diabetes tipo 2 acomete cerca de 135 milhões de indivíduos dos quais 30% tem mais de 60 anos (LAMOUNIER et al., 2010).

1.1.8 Obesidade

Alguns estudos mostram que a PS está diretamente associada a obesidade, devido ao aumento do apetite e da tendência por ingestão de alimentos mais calóricos. A necessidade por esses alimentos causa preocupação, pois, além de indivíduos com PS apresentarem um padrão hormonal predisponente a esses alimentos mais calóricos, essas calorias tendem a ser de baixa qualidade nutricional, resultando no aumento de massa corporal (NAITOH, 1976; TAHERI et al., 2004).

A obesidade assim como fatores genéticos é o elemento que está ligado diretamente a resistência à insulina. O tecido adiposo abdominal tem mais células por área, um fluxo sanguíneo maior, mais receptores de glicocorticoides e de androgênios e maior lipólise induzida por catecolaminas em relação a outros tecidos. Esses fatores causam o estímulo hormonal mais suscetível a mudanças no metabolismo (REAVEN, 1988).

A obesidade está relacionada com o aumento de risco de doenças como, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares (hipertensão, acidente vascular cerebral), doença de Alzheimer e depressão. Também pode prejudicar a qualidade de vida e a capacidade funcional (BRAY; KIM; WILDING, 2017).

1.1.9 Dislipidemia

A dislipidemia é o aumento de gordura presente no sangue, que podem ser colesterol ou triglicerídeos, aumentando as chances de obstrução das artérias (aterosclerose), AVC (acidente vascular cerebral) e ataques cardíacos. O perfil lipídico da dislipidemia é o HDL

diminuído, VLDL aumentado e LDL aumentado, sistema que é regulado pela concentração sérica de insulina e pela disponibilidade de substrato (REAVEN, 1988; SPOSITO et al., 2007).

1.1.10 Elevação pressão arterial

A hiperinsulinemia pode contribuir para a hipertensão devido a estimulação do Sistema Nervoso Simpático (SNS) (RANTALA et al., 2000). A insulina causa aumento nos níveis plasmáticos de noradrenalina que está diretamente ligada a um aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial (LAMOUNIER et al., 2010; RANTALA et al., 2000).

O SNS pode aumentar a pressão arterial por diversos mecanismos, tais como, aumento da frequência cardíaca, aumento do volume sanguíneo cardiopulmonar, vasoconstrição direta dos vasos e pela absorção de sódio dos rins e vasodilatação renal (YAMASHITA et al., 1996).

Embora a relação entre os diversos fatores ainda não esteja totalmente compreendida, alguns pesquisadores reconhecem que a obesidade e a resistência à insulina são as causas principais da síndrome metabólica (PAN; YEH; WENG, 2008). Todos esses fatores de risco cardiovascular compõem a síndrome metabólica que acomete 10% da população com glicemia de jejum normal, 50% dos casos com glicemia alterada e aproximadamente 80% dos pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (OMS).

Outros fatores, ainda não incluídos nos critérios de diagnósticos, estão sendo associados a SM, tais como, marcadores inflamatórios, substâncias pró-trombóticas e a PS (DEPNER; STOTHARD; WRIGHT, 2014; OKUBO et al., 2014). Alguns estudos de intervenção laboratorial controlados apresentaram os seguintes dados, que a redução de horas de sono em homens saudáveis impactou alterações hormonais, aumentando a grelina diurna e reduzindo os níveis de leptina, essas alterações, foram associadas ao aumento da fome e do apetite (SPIEGEL et al., 2004).

Outro estudo controlou os níveis de leptina e grelina durante a privação de sono, e durante a recuperação do sono. Foi observado que durante a recuperação os níveis de grelina diminuíram e os níveis de leptina aumentaram, e houve um controle alimentar adequado (MARKWALD et al., 2013), esses dois estudos associaram o aumento da fome e da ingestão de alimentos, ao aumento do gasto energético como prováveis mecanismos pelos quais a privação de sono pode colaborar para a obesidade (DEPNER; STOTHARD; WRIGHT, 2014).

A PS também está associada ao metabolismo da glicose. Um estudo apresentou que a PS durante 6 noites, reduziu clearance de glicose em 40% e a resposta aguda a insulina a glicose em 30% durante um teste de glicose intravenosa (SPIEGEL; LEPROULT; CAUTER, 1999). Outro estudo com a PS apresentou a diminuição da sensibilidade a insulina avaliada pelo clamp euglicêmico hiperinsulinêmico (BUXTON et al., 2010). Outro estudo mais prolongado durante 14 dias, apresentou a redução a tolerância oral a glicose e a sensibilidade a insulina (NEDELTCHEVA et al., 2009).

Esse conjunto de fatores trazem prejuízos físicos, metabólicos, endócrino, cognitivo, assim, prejudicando a saúde e a qualidade de vida dos indivíduos acometidos pela doença e pelo transtorno do sono. No entanto, existem fatores que podem trazer benefícios cardiovascular, respiratório, endócrino, muscular, metabólico, e melhorar a qualidade do sono, é o caso do exercício físico (ANTUNES et al., 2007).

1.2 Exercício Físico

De forma geral, o exercício físico traz benefícios para o sistema nervoso, independente da modalidade (DISHMAN et al., 2006). A falta de exercício físico, por sua vez, tem sido considerado fator de risco para o surgimento de doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, resistência à insulina, diabetes tipo 2, dislipidemia e obesidade (LAKKA et al., 2003; RENNIE et al., 2003)

Diversos estudos apresentam resultados positivos do exercício físico no aprendizado, memória e na plasticidade do sistema nervoso (LAMBERT; FERNANDEZ; FRICK, 2005; XIONG et al., 2015). O exercício físico tem um papel importante para o controle, prevenção e tratamento da obesidade, câncer, depressão, declínio cognitivo associado ao envelhecimento, distúrbios neurológicos como doença de Parkinson, doença de Alzheimer, acidente vascular isquêmico e lesões modulares ou encefálicas (DISHMAN et al., 2006).

Resultados positivos do exercício sobre parâmetros fisiológicos como redução das concentrações de lipídios sanguíneos, controle da pressão arterial, melhora do sistema imunológico e do metabolismo da glicose, são encontrados na literatura (MUL et al., 2015). Conhecido como um método eficaz e não invasivo, evidências mostram que em todas as faixas etárias, o exercício apresenta uma melhoria em níveis moleculares, celulares e bioquímicos, sendo associado a redução da mortalidade (MORRIS; KERMEEN; HOLLAND, 2017; OGAWA et al., 2010).

1.2.1 Exercício e Metabolismo

Para a realização e manutenção do equilíbrio interno, durante o exercício físico ocorrem ajustes fisiológicos necessários, tais como, o aumento da frequência cardíaca, ventilação e respostas hormonais. A liberação de hormônios que são responsáveis pelo equilíbrio e regulação de glicose e hormônios, i.e., glucagon, adrenalina e cortisol. Tais hormônios participam direta ou indiretamente para o aumento da glicemia e diminuição da insulina (CONLEE, 1987).

Durante o exercício o principal substrato energético é o carboidrato, que é armazenado sob a forma de glicogênio no músculo e fígado. Durante o exercício, a disponibilidade é limitada e ocorre uma rápida diminuição nos níveis desse glicogênio. Essa ação que reduz os níveis do glicogênio recebe influência tanto dos hormônios circulantes, quanto dos níveis séricos de substratos como, lactato, piruvato e glicose (CONLEE, 1987; MUL et al., 2015).

Com a diminuição dos níveis da insulina, os efeitos dos hormônios contrarreguladores aumentam sobre o fígado, promovendo a produção de glicose, melhorando a mobilização dos triglicerídeos do tecido adiposo e muscular e o glicogênio muscular. Ocorre também um aumento da produção de glicose hepática. Por outro lado, a presença insulina e catecolaminas favorecem a mobilização dos lipídeos do tecido adiposo (MARLISS et al., 2018; WASSERMAN; VRANIC, 1986).

O exercício físico crônico apresenta resultados positivo sob o perfil lipídico (BELMONTE et al., 2004; CHAPADOS et al., 2009; LIRA et al., 2008). O fígado secreta e sintetiza as lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e corpos cetônicos entre outros. O tecido hepático armazena, e secreta os lipídios para contribuir no abastecimento de triacilglicerol, sendo assim capaz de gerar e repor energia necessária para o exercício físico. Finalizado o exercício físico, o metabolismo lipídico hepático assume a função de repor o triacilglicerol intramuscular (BELMONTE et al., 2004).

1.2.2 Exercício e Sono

O exercício é considerado uma intervenção não-farmacológica que pode melhorar o sono, embora ainda pouco investigada (LAVIE, 1996). Um estudo realizado por Tufik et al,

apresentou que o exercício físico teve efeitos benéficos em pacientes com apneia obstrutiva do sono, porém os mecanismos desse efeito ainda não estão bem definidos (TUFIK et al., 2010).

As teorias que buscam explicar os efeitos do exercício físico sobre o sono, estão associadas as hipóteses termorregulatória, da conservação de energia e da restauração corporal, ambas teorias se baseiam nos mecanismos homeostáticos reguladores do sono. A ideia termorregulatória é baseada nas evidências de que o sono é acionado pela diminuição da temperatura corporal que advém de forma circadiana no início da noite. Tal evento relaciona-se com o hipotálamo que regula a temperatura corporal e induz o sono (LU et al., 2000; MURPHY; CAMPBELL, 1997).

Sendo assim, quando o exercício aumenta a temperatura corporal, ativa o processo de dissipação de calor controlado pelo hipotálamo e consequentemente os mecanismo indutores de sono na mesma região (DRIVER; TAYLOR, 2000). A teoria reguladora baseia-se na facilitação do sono (atividade anabólica) através do exercício (atividade catabólica), por reduzir as reservas energéticas corporais, sendo assim, aumentaria a necessidade de sono (MONTGOMERY; TRINDER; PAXTON, SUSAN, 1982).

Já a teoria da conservação de energia é embasada na diminuição da taxa metabólica, que observamos durante o período do sono, ocorrendo um balanço energético positivo, portanto, o exercício promoveria o sono através do aumento do gasto energético, causando uma necessidade de um período de sono maior para que ocorra o balanço energético positivo e restabeleça a homeostase adequada para um novo período de vigília (BERGER; PHILLIPS, 1995; DRIVER; TAYLOR, 2000; HOBSON, 1968). Mais estudos sobre as bases mecanicista entre o exercício e o sono são necessários.

Anteriormente, o exercício aumentava a serotonina cerebral e reduzia a depressão e os níveis de norepinefrina cerebral associados à SD [9]. Esses efeitos são adequados aos efeitos benéficos esperados do exercício que são clinicamente observados. Permanecem incertezas quanto à quantidade e tipo de exercício e seus efeitos sobre os parâmetros metabólicos em situações clínicas, como a DP.

Estudo mostra que o exercício aumenta a serotonina cerebral e reduz a depressão e os níveis de norepinefrina cerebral associado a PS (DANIELE, 2017). Esses efeitos benéficos são observados clinicamente, são necessários mais estudos sobre o tipo de exercício e seus efeitos sobre os parâmetros metabólico em associação com a PS.

2 JUSTIFICATIVA

A redução das horas de sono é frequente na sociedade atual e potencialmente associa-se a condições mórbidas, tais como, a obesidade, hipertensão, transtorno do humor e comprometimento da função cognitiva. A privação do sono manifesta-se em condições nosológicas comuns como a insônia e a apneia do sono.

O exercício físico é reconhecido como uma abordagem não farmacológica que melhora condições, e.g., a síndrome metabólica, os transtornos do sono e as doenças neurodegenerativas. O exercício reduz a resistência à insulina, melhora o desempenho cognitivo e aumenta a expectativa de vida.

Os efeitos intrínsecos, bases mecanísticas e particularmente, os efeitos do exercício em associação com condições como a privação do sono não são bem conhecidos. O impacto do exercício sobre os metabólitos no sangue, fígado, músculo e cérebro na presença da privação do sono ainda não foi bem estudado.

O uso de um modelo animal permite induzir a privação de sono em associação com o exercício e investigar tanto as alterações comportamentais quanto as mudanças plasmáticas e teciduais. Tal investigação pode vir a esclarecer as bases mecanísticas que justificam as ações tanto do exercício quanto da privação do sono.

3 Objetivos

Objetivos gerais

Investigar os efeitos da privação de sono, do exercício e do exercício combinado a privação de sono sobre o comportamento e o metabolismo glicídico e lipídico em camundongos.

Objetivos específicos

Em camundongos, submetidos a privação de sono, exercício e exercício combinado a privação de sono, avaliar:

1. O comportamento de depressão, ansiedade e memória
2. Os níveis séricos de glicose, lactato, colesterol, triglicerídeos e as frações HDL, LDL e VLDL
3. Os níveis hepáticos de glicogênio, colesterol, triglicerídeos e as frações HDL, LDL e VLDL
4. Os níveis musculares de glicogênio

5. Metabolômica completa do cérebro de camundongos

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos realizados seguiram todos os princípios éticos da experimentação animal, estabelecidos pelas leis internacionais de cuidado e ética com animais em laboratório (Diretrizes da Comunidade Europeia de 24 de novembro de 1986, 86/609/EEC) e pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Os protocolos experimentais foram conduzidos em conformidade com as diretrizes estabelecidas pelos princípios éticos e práticos para o uso de animais em laboratório (ANDERSON et al., 2004).

4.2 Animais

Foram utilizados 48 camundongos adultos, com idade entre aproximada de 3 meses, do tipo Swiss, machos, com peso entre 25 e 32g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC) e mantidos no Laboratório do Sono e Ritmos Biológicos da UFC.

Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno (43x23x16 cm) contendo oito animais por caixa, forradas com raspas de madeira. Os camundongos foram mantidos em uma sala com temperatura controlada submetidos ao ciclo de claro/escuro de 12h/12h. Água e comida (ração comercial) foram fornecidas *ad libitum* aos animais durante todo o processo experimental.

4.3 Grupos estudados

Os animais foram distribuídos em 4 grupos de 12 animais, e submetidos aos modelos de PS, conforme descrito abaixo e ilustrado na figura 3.

a) Grupo Controle: camundongos alimentados do desmame (21 dias) até a idade adulta (150 dias), sem nenhuma intervenção (Controle).

b) Grupo exercitado: camundongos alimentados do desmame (21 dias) até a idade adulta (150 dias), e submetidos a exercícios físicos aeróbios por 8 semanas (corrida em esteira rolante) dos 90 aos 150 dias de vida (Exercitado).

c) Grupo com privação de sono por 72 horas: camundongos alimentados do desmame (21 dias) até a idade adulta (150 dias), submetidos ao protocolo de 72h PS (PS).

d) Grupo exercitado com privação de sono por 72 horas: camundongos alimentados do desmame (21 dias) até a idade adulta (150 dias), submetidos a exercícios físicos aeróbios por 8

4.5 Protocolos de privação de sono

O protocolo de PS foi o do modelo de plataformas múltiplas de Porsolt (72h-PS). O método de 72h-PS foi uma adaptação do teste de plataformas múltiplas originalmente desenvolvido para ratos (NUNES; TUFIK, 1994). Um grupo de 12 camundongos foi colocado em tanques (41x34x16,5cm), circundados de água contendo 14 plataformas (3cm de diâmetro cada) com água até 1 cm abaixo da superfície por um período de 72 horas. Neste modelo, os animais são capazes de se mover no tanque pulando de uma plataforma para outra, evitando o isolamento social. Comida e água foram oferecidas *ad libitum* durante todo o período da privação (Figura 4).

Figura 4. Método das plataformas múltiplas de privação de sono



4.6 Protocolo de exercícios físicos aeróbios em esteira rolante

Teste prévio na seleção dos animais corredores (teste da máxima fase estável de lactato)

O protocolo de exercício físico baseia-se do teste da máxima fase estável de lactato (MFEL). O teste da MFEL é considerado o melhor marcador de capacidade aeróbica e aceito como procedimento de padrão ouro para o treinamento aeróbio. A MFEL é definida como a mais alta intensidade na qual o metabolismo aeróbio ainda prepondera sobre o anaeróbio (BENEKE; HUTLER; LEITHAUSER, 2000). A determinação da MFEL foi descrita por Ferreira et al, 2007, em que os animais foram submetidos a testes com intensidades de carga de trabalho crescente demonstram capacidade na execução do protocolo de exercícios físicos em esteira rolante (FERREIRA et al., 2007).

4.6.1 Protocolo de exercício baseado no estudo de Ferreira et al. (2007)

O protocolo do treinamento de exercício físico em esteira rolante (*treadmill exercise*) foi iniciado com uma semana de familiarização (5 minutos/dia) para diminuir efeitos adversos. Os animais correram em uma esteira motorizada com 8 faixas separadas (Modelo Insight®- Equipamentos de pesquisa e educação-, Brasil) (Figura 5).

Este protocolo consiste na realização de exercícios 5 dias por semana com aumento progressivo de 10 até 60 minutos por 2 semanas, a uma velocidade de 9cm/s. O treinamento foi conduzido sempre no mesmo horário das 10:00 as 12:00.

Figura 5. Esteira rolante para camundongos



4.7 Testes comportamentais

4.7.1 Avaliação da memória de trabalho - Teste do labirinto em Y-maze

A memória operacional, também conhecida como memória de trabalho, foi avaliada através do teste do labirinto em Y-maze. Neste teste os animais foram colocados em um labirinto em forma de Y com os três braços iguais em que os animais apresentam forte tendência de alternar a entrada nos diferentes ambientes (BARBOSA et al., 2010; SARTER; BODEWITZ; STEPHENS, 1988). O labirinto em Y é constituído por 3 braços de acrílico idênticos, com 16 cm de altura, 5 cm de largura e 40 cm de comprimento (Figura 6).

Para a avaliação da memória os braços foram numerados (1,2 e 3). O animal foi colocado no aparelho e durante 8 minutos o número de cada braço que o animal entrou foi anotado. Foi considerado alternância cada vez que o animal entrou em 3 diferentes braços sem repetição. O resultado foi expresso em porcentagem e obtido através da seguinte fórmula matemática:

$\text{ALTERNÂNCIA ESPONTÂNEA (\%)} = \frac{\text{Nº DE ACERTOS}}{\text{Nº TOTAL DE ENTRADAS} - 2} \times 100$
--

Figura 6. Aparelho de Labirinto em Y utilizados em camundongos



O sucesso do teste foi indicado pela alta taxa de alternância nos braços sugerindo que os animais podem recordar em qual braço entraram por último e dessa forma manter uma alternância coerente. Entre cada sessão, o labirinto foi higienizado com uma solução de álcool etílico à 70% e secado com toalhas de papel.

4.7.2 Labirinto em Cruz Elevado (LCE) - Modelo experimental de ansiedade

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) baseia-se no modelo proposto, em ratos, por Pellow (PELLOW et al., 1985) e validado por Lister (LISTER, 1987) para camundongos. Consiste de dois braços abertos opostos (30x5x25cm) e dois fechados (30x5x25cm), também opostos, em forma de cruz grega (Figura 7).

Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5x5cm). Cada braço mede 30 cm de comprimento por 6 cm de largura e estão posicionados a uma altura de 31 cm do solo. Os camundongos foram colocados na região central, de frente para um dos braços fechados, permitindo-se livre exploração do aparelho por um período de 5 minutos. Durante este tempo, registrou-se os tempos despendidos nas explorações dos braços abertos e fechados, bem como o número de entradas com as quatro patas em cada um dos braços. O LCE foi limpo com álcool etílico (70%) após cada sessão para remoção de pistas olfatórias. Os resultados são apresentados com a percentagem média de entradas em relação ao tempo total do experimento (300 segundos).

Como indicativos da avaliação do comportamento foram registrados os seguintes parâmetros:

- Número de entradas nos braços abertos: corresponde ao ato de o animal entrar nos braços abertos com as quatro patas.
- Tempo de permanência nos braços abertos: corresponde ao tempo de permanência neste braço, em segundos.
- Número de entradas nos braços fechados: corresponde ao ato de o animal entrar nos braços fechados com as quatro patas.
- Tempo de permanência nos braços fechados: corresponde ao tempo de permanência neste braço, em segundos.

Neste modelo, os roedores privados de sono evitam os braços abertos do labirinto, restringindo a maioria de suas atividades aos braços fechados. Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos (entradas e tempo) revela um efeito ansiolítico.

Figura 7. Labirinto em cruz elevada para camundongos



4.7.3 Nado Forçado - Modelo experimental de depressão

O teste de nado forçado foi feito de acordo com o método de Porsolt (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977). Cada animal foi colocado em um cilindro vertical transparente (20cm de altura, 15cm de diâmetro) cheio até 15cm com água a 25°C por 6 minutos. Foi medido o tempo total de imobilidade, julgando o animal imóvel quando este cessava todos os comportamentos ativos e permanecia flutuando na água, com movimentos mínimos e com sua cabeça acima da superfície do líquido. A água foi trocada e o cilindro lavado com água limpa após cada animal testado (Figura 8).

Figura 8. Teste de nado forçado para roedores



4.8 Sacrifício dos animais e retirada das regiões cerebrais, fígado e músculo

Após o término dos testes comportamentais, os camundongos foram decapitados com uma guilhotina e as estruturas cerebrais – córtex frontal, hipocampo, fígado e músculo gastrocnêmio - foram rapidamente dissecadas. As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -70°C até a realização dos ensaios. Todas as precauções foram tomadas com o objetivo de minimizar o sofrimento e reduzir o número de animais utilizados.

4.9 Análises bioquímicas

4.9.1 Glicemia

A glicemia dos animais foi analisada a partir da retirada de uma amostra de sangue fresco imediatamente colocada pela decapitação em tira de teste para leitura no aparelho FreeStyle Optium Neo® da Abbott, cuja faixa de aferição é expressa em mg/dL, de 10 a 600 mg/dL.

4.9.2 Glicogênio Tecidual

A determinação do glicogênio tecidual foi realizada conforme descrito por Hassid e Albrahams (1957), adaptando-se a metodologia criada por Sjögren *et al.* (1938). Foram pesados entre 200-250 mg de tecido proveniente do músculo gastrocnêmio ou do fígado dos animais eutanasiados. Os tecidos foram digeridos em 2 mL de KOH 30% durante 60 minutos. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de solução saturada de Na₂SO₄, sendo o glicogênio precipitado por meio de duas lavagens de 3,5 mL de etanol fervente, seguidas de centrifugação

a 2000 g. O precipitado foi homogeneizado em água destilada e a determinação colorimétrica das amostras foi realizada com a adição de 200 µL do homogenato a 2 mL de solução de 0,2% de antrona em ácido sulfúrico concentrado. A absorbância foi mensurada em espectrofotômetro a 490 nm.

4.9.3 Lipídeos hepáticos

A extração de lipídeos hepáticos foi realizada por meio da homogeneização de 100 mg de tecido hepático em solução de álcool etílico e éter (3:1). Após aquecimento do homogenato a 65 °C por 1 h, este foi submetido a centrifugação a 2000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi então separado e concentrado por evaporação, sendo resfriado a temperatura ambiente e diluído em 3 mL de álcool isopropílico para posterior emprego dos ensaios de quantificação de Colesterol Total e Triglicerídeos de acordo com os seus respectivos kits bioquímicos (ENTERNMAN, 1943).

As frações de LDL-C e VLDL foram estimadas pela fórmula de Friedewald: $LDL-C = ColT - HDL-C - (Trig/5)$ e $VLDL = (Trig/5)$, para as amostras que tiveram resultado de triglicerídeos < 400 mg/dL.

4.10 Análise Cerebral

4.10.1 Avaliação por espectroscopia de RMN

A amostragem para análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) consistiu na obtenção de tecido cerebral, córtex e hipocampo, de 4 camundongos (*pool*) para dar origem a amostra a ser estudada. Portanto, cada grupo consistiu em triplicado de córtex ou hipocampo, totalizando a avaliação do cérebro de doze camundongos. Para a avaliação do córtex, foram utilizadas aproximadamente 75 mg das amostras, enquanto para o hipocampo foram utilizadas aproximadamente 20 mg.

As amostras foram solubilizadas em 600 µL de D₂O (água deuterada 99,9%) contendo 0,2 M de Na₂PO₄ / NaH₂PO₄ e 0,4 mM de TMSP-2,2,3,3-d₄ (propionato de sódio-3-trimetilsilil) (KOSTIDIS et al., 2017). O RMN de ¹H as experiências foram realizadas no espectrômetro Agilent de 600 MHz equipado com uma detecção inversa de 5 mm (HF / 15N-31P) One Probe™ com gradiente z ativamente blindado. Os dados do córtex e do hipocampo foram obtidos em triplicado com pulsos calibrados a 90°, 64 varreduras, 48 k de pontos no domínio do tempo com uma janela espectral de 16,0 ppm, tempo de aquisição de 5,0 s, atraso de relaxamento de 25,0 s.

Além disso, foi utilizado o valor de ganho do receptor pré-fixado de 30 para o córtex

e 56 para o hipocampo. Os espectros foram processados aplicando multiplicação exponencial dos FIDs por um fator de 0,3 Hz e transformação de Fourier de 16k pontos. A correção de fase foi realizada manualmente e a correção da linha de base foi aplicada em toda a faixa espectral.

4.10.2 Identificação molecular

A identificação dos constituintes foi realizada através de RMN 2D, como espectroscopia de correlação por gradiente (COZY), coerência quântica única gradiente heteronuclear (HSQC) e correlação de ligação múltipla heteronuclear gradiente (HMBC) (estruturas moleculares, desvios químicos ^1H e ^{13}C , multiplicidade, correlações e acoplamento constante, aquisição e processamento de dados de RMN 2D estão disponíveis em Informações Suplementares) e as avaliações usando um banco de dados de acesso aberto (www.hmdb.ca) (WISHART et al., 2013) e relatórios da literatura (GRAHAM; HOLSCHER; GREEN, 2014; LIU et al., 2013a; QUANSAH et al., 2017; WESLEY et al., 2019).

4.10.3 Análise quimiométrica

Os espectros de RMN de ^1H foram convertidos em arquivos ASCII (American Standard Code for Information Interchange) para criar as matrizes usando a região de 0,34 a 9,11 ppm para ambas as amostras e excluindo as regiões da água (de 4,65 a 4,90 ppm) e metanol residual (3,33 para 3,38 ppm). As matrizes foram importadas individualmente para o programa PLS Toolbox TM (versão 8.6.2, Eigenvector Research Incorporated, Manson, WA EUA) para análise quimiométrica.

Para pré-tratamentos espectrais, algoritmos para correção de linha de base como normalização e alinhamento de variáveis usando COW (Correlation Optimized Warping) com segmento de 20 pontos de dados e uma folga de 10 pontos de dados foram aplicados anteriormente à decomposição das matrizes (SOARES et al., 2017). Após os pré-tratamentos, os dados das amostras foram centrados na média e o algoritmo de Decomposição de Valor Singular (SVD) foi aplicado para decompor as matrizes para modelagem de PCA. As informações relevantes dos conjuntos de dados químicos foram obtidas nos dois primeiros componentes principais (PC) para todos os métodos, com nível de confiança de 95%.

4.11 Análise estatística

Os dados experimentais obtidos foram expressos como Média $\pm$ E.P.M., sendo estes submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste de Tukey. Valores

de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Utilizou-se para a realização da análise estatística o programa *GraphPad Prism*® 5.01.

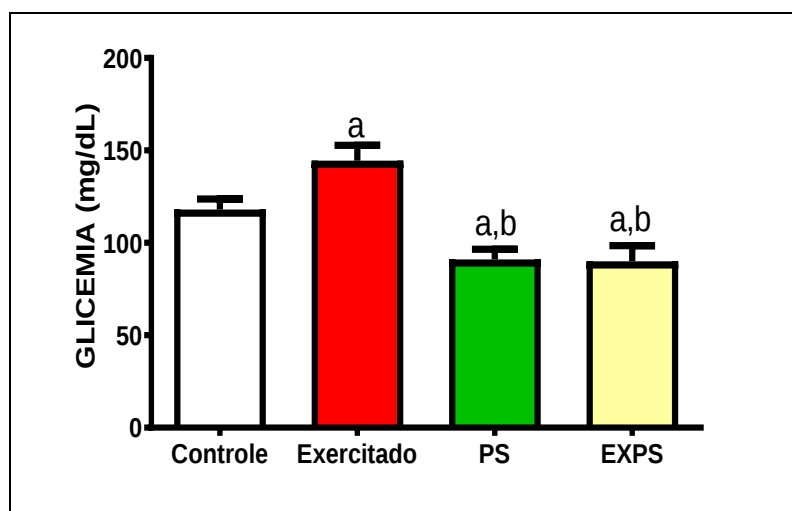
5 RESULTADOS

5.1 Análises Bioquímicas Séricas

5.1.1 Glicemia

O exercício físico promoveu um aumento significativo na glicemia dos animais ($144,40 \pm 8,27$ mg/dL) em comparação ao grupo Controle ($118,00 \pm 5,65$ mg/dL). Os animais submetidos a PS ($90,00 \pm 8,45$ mg/dL) e os submetidos a EXPS ($91,00 \pm 5,49$ mg/dL) apresentaram níveis semelhantes entre si e reduzidos em comparação ao grupo Controle (Figura 9).

Figura 9. Níveis de Glicemia nos grupos Controle, Exercício, PS e EXPS



Glicemia (mg/dL) (n = 12 por grupo). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ^a $p < 0,05$, comparação com o grupo Controle ^b $p < 0,05$, comparação com o grupo Exercitado.

5.1.2 Lactato Sérico

O exercício físico aumentou os níveis de lactato sérico no grupo Exercitado, ($98,50 \pm 4,56$ mg/dL) quando comparado ao grupo Controle ($71,69 \pm 4,56$ mg/dL). O grupo EXPS ($77,80 \pm 5,26$ mg/dL), apresentou níveis semelhantes ao grupo PS ($64,63 \pm 2,79$ mg/dL) e ao grupo Controle ($71,69 \pm 4,56$ mg/dL) (Figura 10A).

5.1.3 Lipídeos Séricos

Os níveis de triglicerídeos séricos aferidos no grupo Exercitado ($149,50 \pm 18,47$ mg/dL) foram mais elevados que o grupo Controle ($90,40 \pm 5,66$ mg/dL). Os níveis de

triglicerídeos séricos foram menores nos grupos PS ($50,56 \pm 3,79$ mg/dL) e no grupo EXPS ($54,03 \pm 2,58$ mg/dL) em relação aos grupos Controle e Exercitados (Figura 10B).

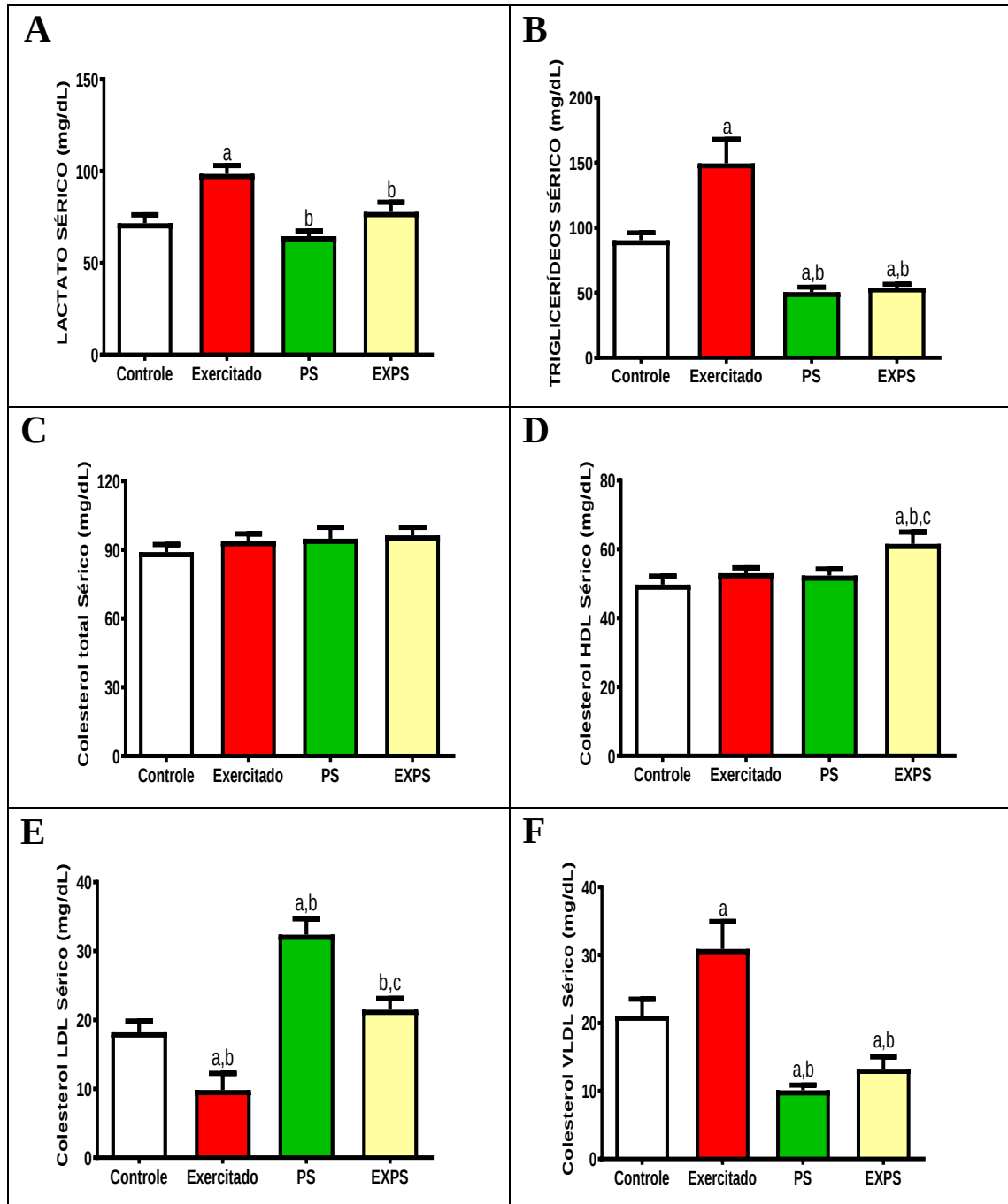
Os níveis de colesterol total sérico não apresentaram alterações significativas entre os grupos Controle ($89,00 \pm 3,28$ mg/dL), Exercitado ($93,78 \pm 3,19$ mg/dL), PS ($94,83 \pm 4,96$ mg/dL) e EXPS ($96,33 \pm 3,48$ mg/dL) (Figura 10C).

Os níveis de HDL colesterol no grupo EXPS ($61,57 \pm 3,39$ mg/dL) foram mais elevados que grupo Controle ($49,71 \pm 2,48$ mg/dL), Exercitado ($53,06 \pm 1,55$ mg/dL) e PS ($52,35 \pm 1,88$ mg/dL). Não houve diferença entre os grupos Controle, Exercitados e PS e Controle (Figura 10D).

O exercício reduziu o LDL colesterol (Grupo Exercitado, $9,83 \pm 2,40$ mg/dL) em relação ao grupo Controle ($18,20 \pm 1,63$ mg/dL). A PS elevou o LDL ($32,37 \pm 2,32$ mg/dL) em relação ao EXPS ($21,48 \pm 1,64$ mg/dL) (Figura 10E).

O exercício físico elevou significativamente os níveis de VLDL colesterol (Grupo Exercitado $30,89 \pm 4,04$ mg/dL) em comparação ao grupo Controle ($21,09 \pm 2,43$ mg/dL). A PS ($10,11 \pm 0,78$ mg/dL) e EXPS ($13,28 \pm 1,74$ mg/dL) reduziram os níveis de VLDL em relação ao grupo Controle e Exercitado (Figura 10F).

Figura 10. Níveis séricos de lactato, triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL e VLDL nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS



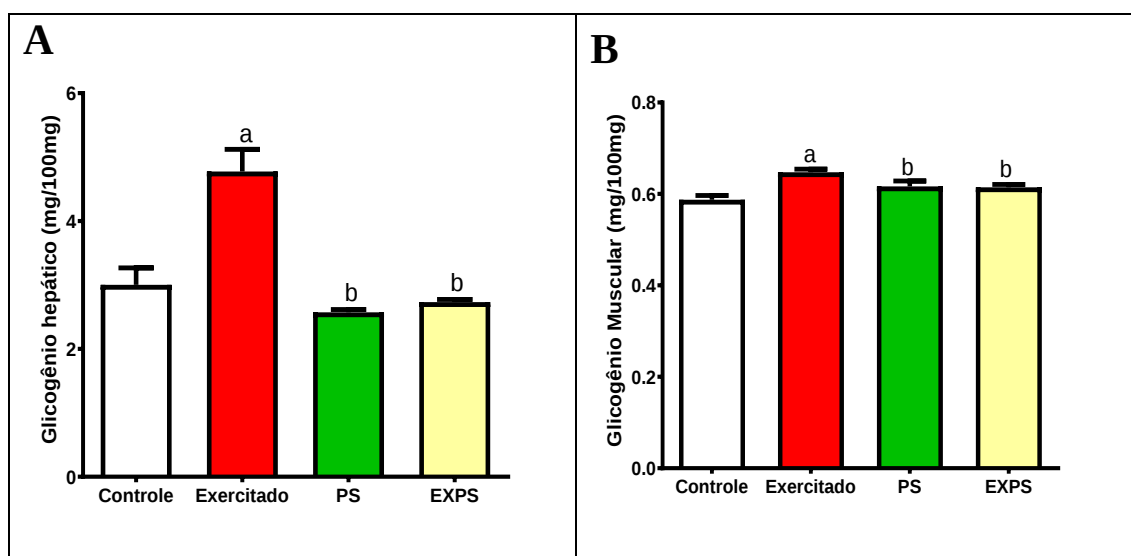
Análises bioquímicas séricas (mg/dL) (n=12, por grupo): Lactato (A), Triglicerídeos (B), Colesterol total (C), Colesterol HDL (D), Colesterol LDL (E) e Colesterol VLDL (F). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ^a $p < 0.05$, comparação com o grupo Controle. ^b $p < 0.05$, comparação com o grupo Exercitado. ^c $p < 0.05$, comparação com o grupo PS.

5.1.4 Glicogênio Tecidual

O exercício aumentou os níveis de glicogênio hepático (Exercitado $4,77 \pm 0,35$ mg/100mg) quando comparado aos grupos Controle ($2,75 \pm 0,08$ mg/100mg), PS ($2,57 \pm 0,04$ mg/100mg) e EXPS ($2,73 \pm 0,04$ mg/100mg), onde esses últimos não diferiram entre si, como observado na Figura 11a.

No tecido muscular, observou-se que o padrão dos níveis de glicogênio aferidos para o tecido foi mantido, porém uma discreta diferença foi observada. O grupo Exercitado ($0,6474 \pm 0,0067$ mg/100mg) apresentou aumento em relação aos grupos Controle ($0,5872 \pm 0,0093$ mg/100mg), PS ($0,6165 \pm 0,0116$ mg/100mg) e EXPS ($0,6144 \pm 0,0064$ mg/100mg) (Figura 11b).

Figura 11. Níveis de glicogênio no tecido hepático e muscular nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS



Quantificação de glicogênio (mg/100mg) (n = 12 animais por grupo) em tecido hepático (A) e muscular (B). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ^a $p < 0,05$, comparação com o grupo Controle. ^b $p < 0,05$, comparação com o grupo Exercitado.

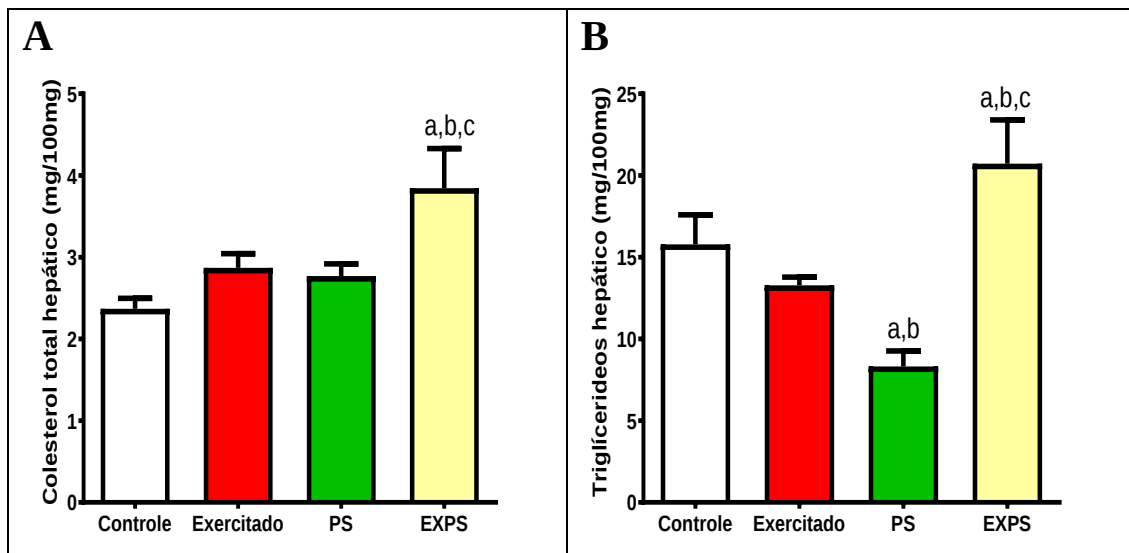
5.1.5 Quantificação de Lipídeos Hepáticos

O grupo EXPS apresentou aumento dos níveis de colesterol no fígado ($3,84 \pm 0,48$ mg/100mg) comparado aos grupos Controle ($2,37 \pm 0,13$ mg/100mg), Exercitado ($2,87 \pm 0,17$ mg/100mg) e PS ($2,77 \pm 0,15$ mg/100mg) (Figura 12A).

O grupo EXPS aumentou os níveis de triglicerídeos no fígado ($20,72 \pm 2,67$ mg/100mg) quando comparado aos grupos Controle ($15,78 \pm 1,81$ mg/100mg) e Exercitado ($13,28 \pm 0,50$ mg/100mg) e PS ($8,32 \pm 0,95$ mg/100mg). O grupo Controle ($15,78 \pm 1,81$

mg/100mg) e o grupo Exercitado ($13,28 \pm 0,50$ mg/100mg) não sofreram alterações significativas, enquanto o grupo PS ($8,32 \pm 0,95$ mg/100mg) apresentou uma redução quando comparado aos demais grupos (Figura 12B).

Figura 12. Níveis de colesterol e triglicerídeo hepático nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS



Quantificação de colesterol hepático total (A) e triglicerídeos hepáticos (B) (mg/100mg) (n = 12 animais por grupo). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ^a p < 0.05, comparação com o grupo Controle. ^b p < 0.05, comparação com o grupo Exercitado. ^c p < 0.05, comparação com o grupo PS.

Tabela 1. Dados descritivos das análises bioquímicas dos grupos controle, exercitado, PS e EXPS

Grupos	Glicemia	Lactato	TRIGLICERÍDEOS (Plasma)	Colesterol Total (Plasma)
Controle	118,00 ± 5,65 ^a	71,69 ± 4,56	90,40 ± 5,66	89,00 ± 3,28
Exercitado	144,40 ± 8,27 ^a	98,50 ± 4,56 ^a	149,50 ± 18,47 ^a	93,78 ± 3,19
PS	90,00 ± 8,45 ^{a,b}	64,63 ± 2,79 ^b	50,56 ± 3,79 ^{a,b}	94,83 ± 4,96
EXPS	91,00 ± 5,49 ^{a,b}	77,80 ± 5,26 ^b	54,03 ± 2,58 ^{a,b}	96,33 ± 3,48

Grupos	HDL	LDL	VLDL	GLICOGÊNIO HEPÁTICO
Controle	49,71 ± 2,48	18,20 ± 1,63	21,09 ± 2,43	2,75 ± 0,08
Exercitado	53,06 ± 1,55	9,83 ± 2,40 ^{a,b}	30,89 ± 4,04 ^a	4,77 ± 0,35 ^a
PS	52,35 ± 1,88	32,37 ± 2,32 ^{a,b}	10,11 ± 0,78 ^{a,b}	2,57 ± 0,04 ^b
EXPS	61,57 ± 3,39 ^{a,b,c}	21,48 ± 1,64 ^{b,c}	13,28 ± 1,74 ^{a,b}	2,73 ± 0,04 ^b

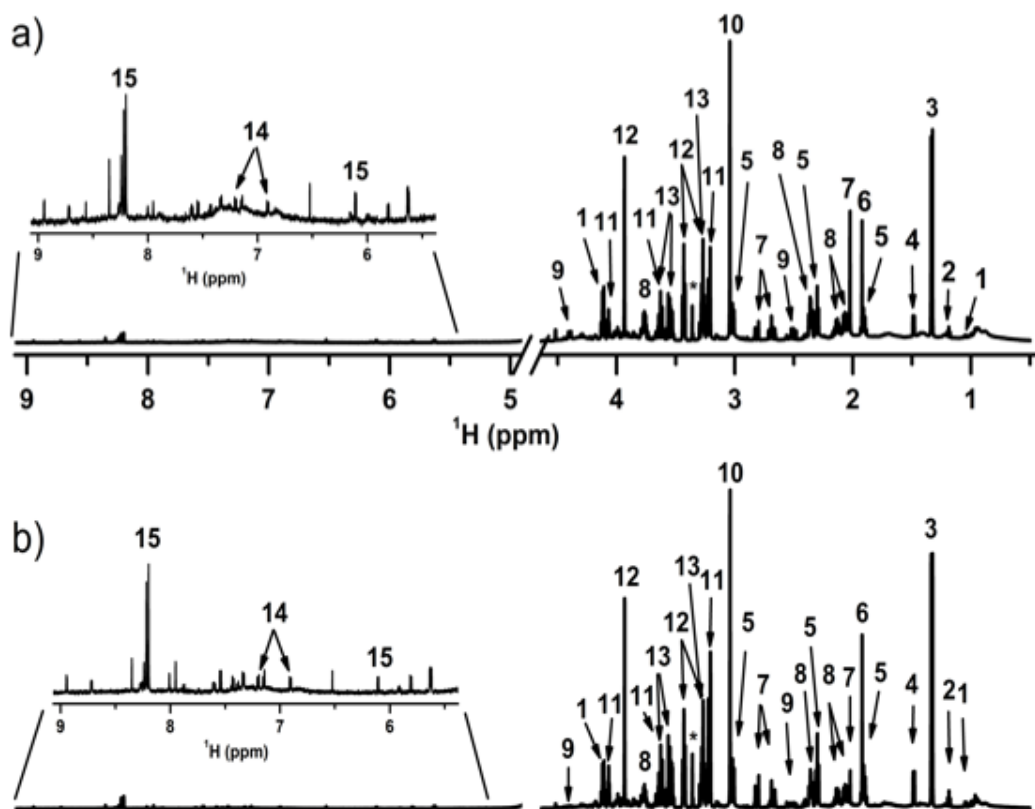
Grupos	GLICOGÊNIO MUSCULAR	COLESTEROL HEPÁTICO	TRIGLICERÍDEOS HEPÁTICO
Controle	0,5872 ± 0,0093	2,37 ± 0,13	15,78 ± 1,81
Exercitado	0,6474 ± 0,0067 ^a	2,87 ± 0,17	13,28 ± 0,50
PS	0,6165 ± 0,0116 ^b	2,77 ± 0,15	8,32 ± 0,95 ^{a,b}
EXPS	0,6144 ± 0,0064 ^b	3,84 ± 0,48 ^{a,b,c}	20,72 ± 2,67 ^{a,b,c}

5.2 Análise Cerebral

5.2.1 Perfil do córtex e hipocampo obtidos através de RMN acoplada a quimiometria

Amostras do cérebro de camundongos, córtex cerebral e hipocampo, dos grupos C, EX, PS e EXPS foram analisadas. A Figura 13a e 13b mostra um espectro de ¹H RMN do córtex e do hipocampo, respectivamente, com um total de 14 compostos identificados, que incluem aminoácidos, ácidos orgânicos de cadeia curta, álcoois e vitaminas.

Figura 13. Espectro de ^1H RMN do córtex e do hipocampo

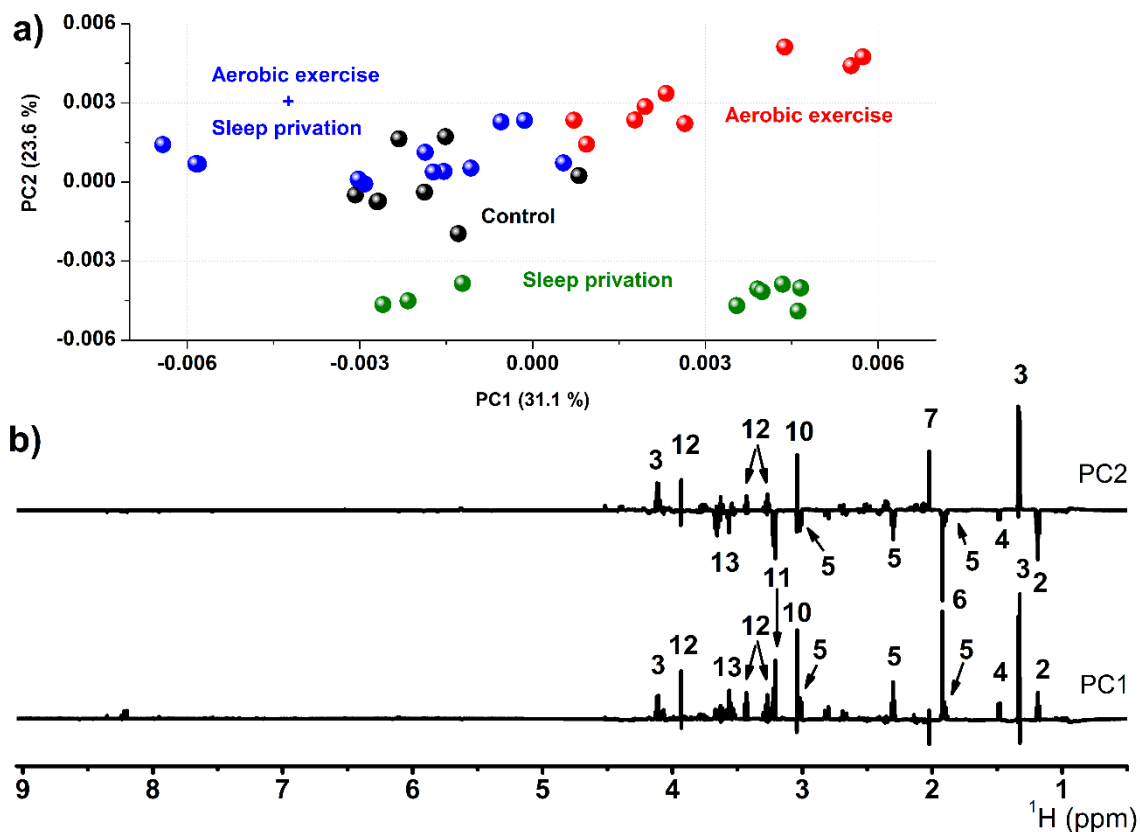


Espectros de ^1H RMN de a) córtex e b) hipocampo. Legenda: 1 - valina; 2 - etanol; 3 - lactato; 4 - alanina; 5 - ácido 5-gama-aminobutírico (GABA); 6 - acetato; 7 - ácido n-acetil-aspartico; 8 - glutamato; 9 - malato; 10 - creatina; 11 - colina; 12 - taurina; 13 - mio-inositol; 14 - tirosina; * metanol residual.

5.2.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

Devido à elevada dimensionalidade do conjunto de dados e à similaridade inerente à composição das amostras, foi desenvolvida uma avaliação quimiométrica para um entendimento profundo da variabilidade cerebral de acordo com os exercícios e a PS. Portanto, a modelagem não supervisionada pela Análise de Componentes Principais (PCA) foi aplicada na matriz numérica a partir de ^1H NMR do córtex e hipocampo. A Figura 14a ilustra os resultados de PCA do córtex que retinham 54,7% da variação total em dois PCs. A Figura 14b ilustra as cargas de PC1 e PC2 com os metabólitos importantes para a distinção de amostras de acordo com o projeto experimental.

Figura 14. PCA do córtex



a) Sistema de coordenadas de pontuação PC1 × PC2 para o córtex; b) Cargas PC1 plotadas em forma de linhas. Legenda: 2 - etanol; 3 - lactato; 4 - alanina; 5 - ácido 5-gama-aminobutírico (GABA); 6 - acetato; 7 - ácido 7-n-acetilaspártico; 10 - creatina; 11 - colina; 12 - taurina; 13 - mio-inositol.

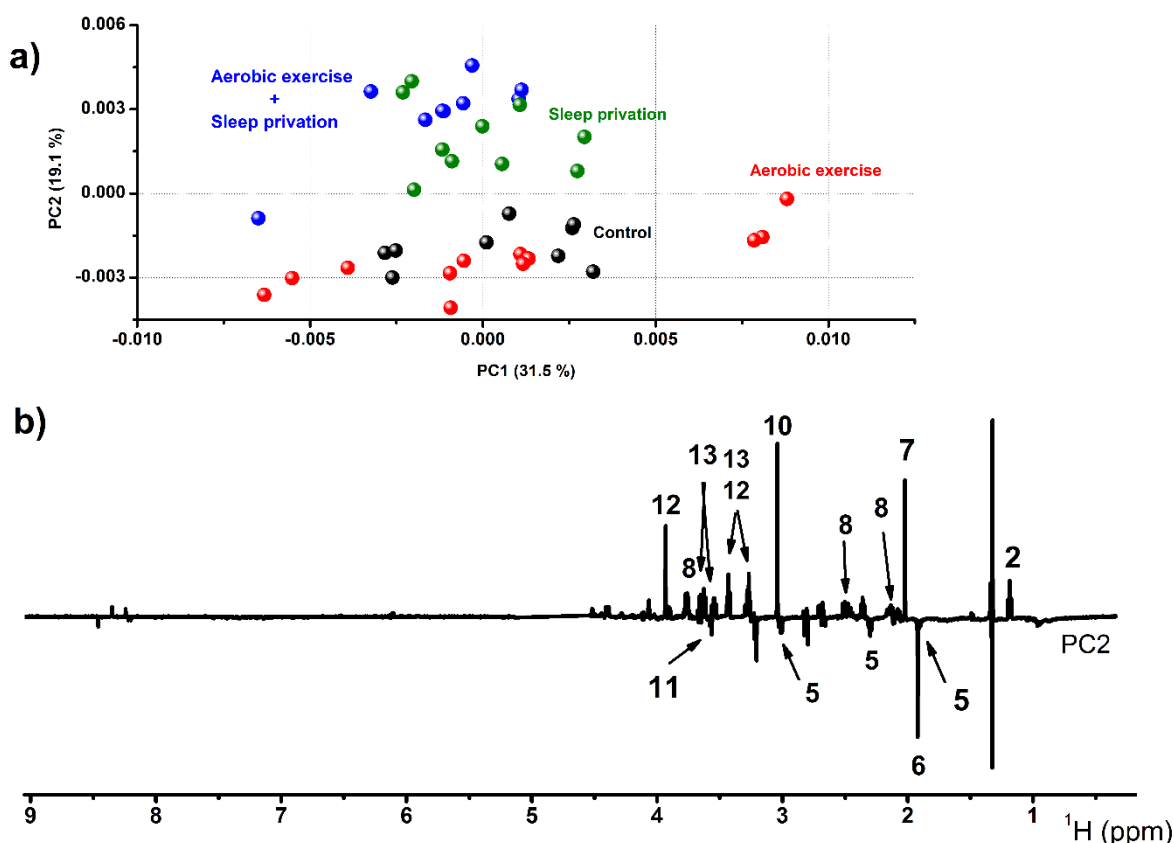
A Figura 14a exibe tendências de separação entre as amostras de córtex de acordo com o eixo PC1 e PC2, com o córtex submetido ao exercício com escores positivos de PC1 e as demais amostras com valores nulos do mesmo eixo. As cargas mostram que os exercícios aeróbicos induzem a produção de lactato, ácido n-acetil-aspártico, creatina, taurina enquanto diminuem o teor de etanol, alanina, ácido gama-aminobutírico, mio-inositol, colina e acetato.

O eixo PC2 exibe o córtex submetido à PS com escores negativos de PC2 e as demais amostras com escores positivos no mesmo eixo. As cargas mostram que a PS induz a produção de acetato, enquanto diminui o conteúdo de etanol, lactato, alanina, ácido gama-aminobutírico (GABA), ácido n-acetil-aspártico, creatina, colina, taurina e mio-inositol no córtex. Além disso, é importante observar que o córtex das amostras controle (sem exercício ou PS) apresenta composição semelhante às submetidas ao exercício seguido da PS.

A Figura 15a ilustra os resultados da PCA do hipocampo que reteve 50,6% da variação total em dois PCs. A Figura 15b ilustra as cargas de PC1 e PC2 com os metabólitos

importantes para a distinção de amostras de acordo com o projeto experimental. O hipocampo mostra tendências de dissimilaridade apenas no eixo PC2, que apresentou resposta diferente para exercícios e PS.

Figura 15. PCA do hipocampo



a) Sistema de coordenadas de pontuação PC1 $\times$ PC2 para hipocampo; b) Cargas PC1 plotadas em forma de linhas. Legenda: 2 - etanol; Ácido 5-gama-aminobutírico (GABA); 6 - acetato; Ácido 7-n-acetil-aspártico; 8 - glutamato; 10 - creatina; 11 - colina; 12 - taurina; 13 - mio-inositol.

A PS e o exercício seguidos à PS (EXPS) estão localizados em escores positivos de PC2 e as demais amostras localizadas em escores nulos e negativos de PC2. As cargas de PC2 mostram que a PS induz a produção de etanol, ácido n-acetil-aspártico, glutamato, creatina, taurina e mio-inositol, enquanto diminui o conteúdo de ácido gama-aminobutírico, acetato e colina. Essas alterações metabólicas são mais pronunciadas no hipocampo de camundongos submetidos a exercícios seguidos à PS. Além disso, é importante observar que as amostras do controle (sem exercício ou PS) apresenta composição semelhante às submetidas ao exercício aeróbico.

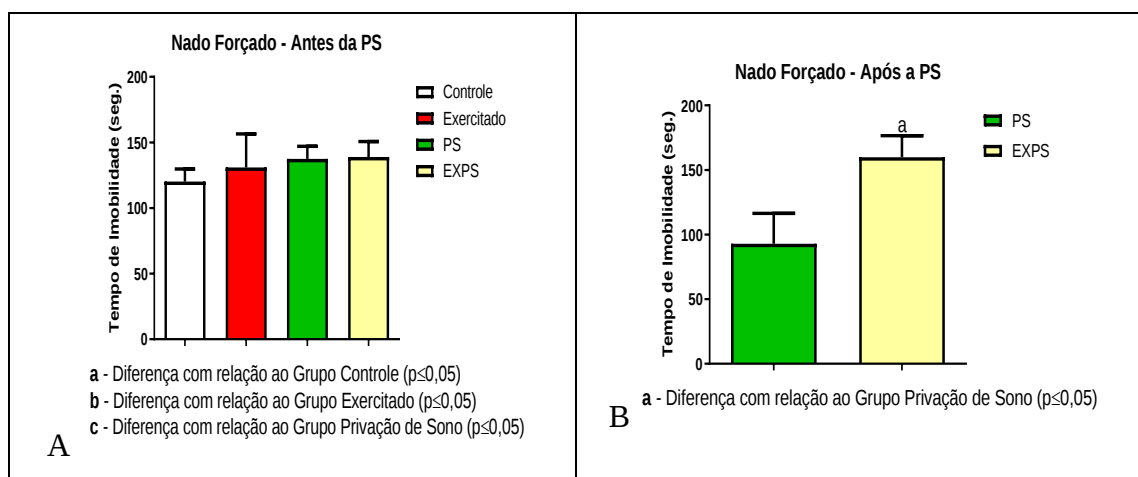
5.3 Testes Comportamentais

5.3.1 Nado Forçado

Com relação ao teste de nado forçado, antes da experimentação, não houve diferença entre os grupos Controle e Exercitados, PS e EXPS (Figura 16A).

A análise do nado forçado antes e após a PS e o EXPS não mostrou diferenças (Wilcoxon, $p=0,93$ e $p=0,11$, respectivamente; Figura 16B e Tabela 2).

Figura 16. Avaliação basal do comportamento depressivo (Teste do nado forçado) nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS antes e nos grupos PS e EXPS após a privação de sono



Quantificação do tempo de imobilidade (seg.) Comparativos entre todos os grupos antes da PS (A) e comparativo entre os grupos PS e EXPS após a intervenção (B) ($n=12$ animais por grupo). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ^a $p < 0.05$, comparação estatística com o grupo PS.

Tabela 2. Dados descritivos da avaliação do comportamento depressivo através do teste nado forçado, nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS

Grupos	Nado Forçado	Nado forçado Após PS
Controle	120,1 $\pm$ 9,66	--
Exercitado	131,0 $\pm$ 25,54	--
PS	137,5 $\pm$ 9,58	92,90 $\pm$ 23,53
EXPS	138,9 $\pm$ 11,81	159,8 $\pm$ 16,78 ^a

5.3.2 Labirinto em Y (Y-MAZE) quanto ao número de entradas e percentual de alternância

Antes da experimentação, os grupos Controle e Exercitado não apresentaram diferença em relação ao número de entradas no braço aberto e percentual de alternâncias (Figuras 17A e 17C).

A análise, quanto ao número de entradas no braço aberto (Y-maze), antes e após a PS e o EXPS, mostrou que a PS reduziu o número de entradas enquanto o EXPS não reduziu (Wilcoxon, $p=0,02$ e $p=0,10$ respectivamente; Figura 17 B, Tabela 3).

A análise, quanto ao percentual de alternância no Labirinto em Y-maze, antes e após a PS e o EXPS, mostrou que a PS reduziu o percentual de alternância enquanto o EXPS aumentou o percentual de alternância (Wilcoxon, $p=0,004$ e $p=0,02$, respectivamente) (Figura 17D, Tabela 3).

Figura 17. Avaliação de memória (Y-maze) nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS antes e após a PS

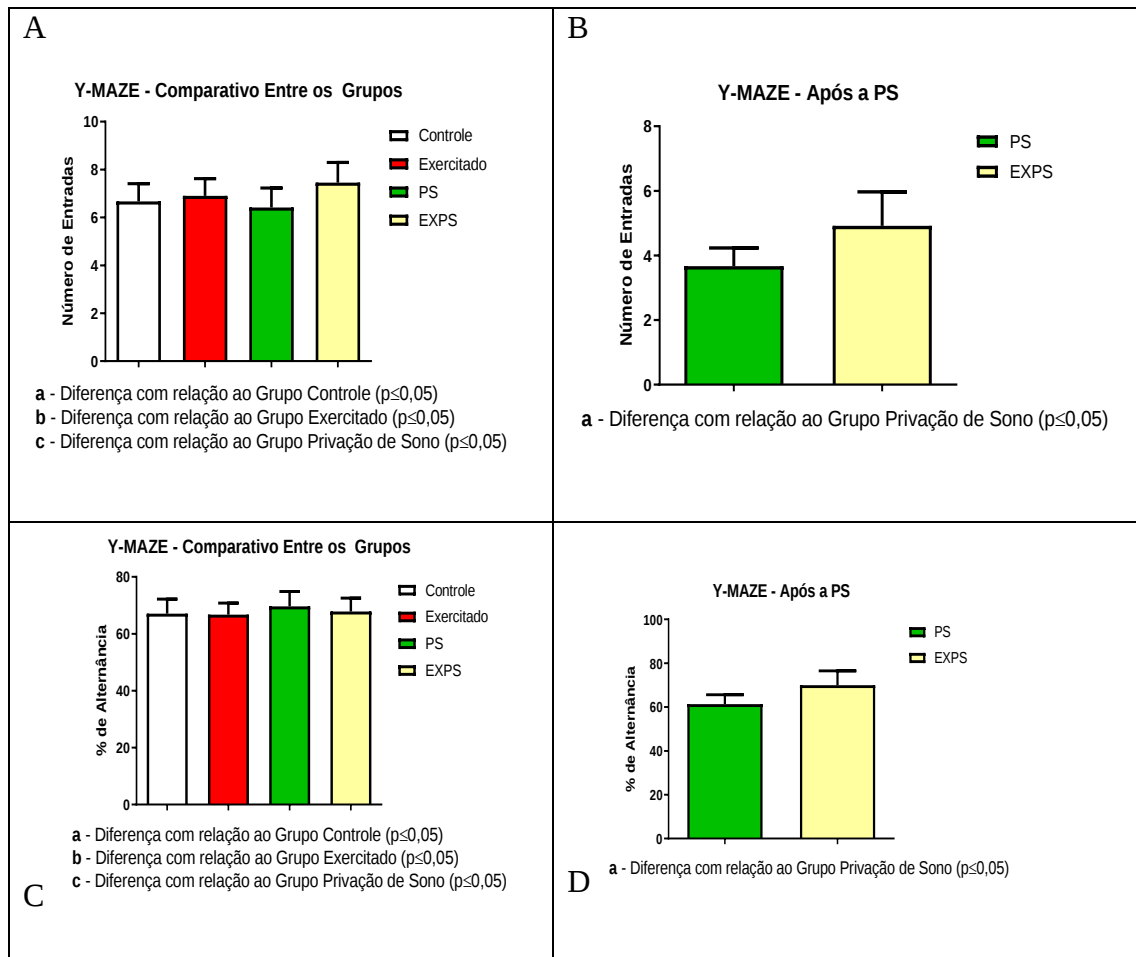


Tabela 3. Dados descritivos da avaliação da memória através do teste Labirinto em Y (Y-Maze), antes e após a PS nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS

Grupos	Y-Maze (N. de entradas)	Y-Maze - Após PS (N. de entradas)	Y-Maze (% de alternância)	Y-Maze - Após PS (% de alternância)
Controle	6,66 ± 0,74	--	67,09 ± 5,08	--
Exercitado	6,90 ± 0,72	--	66,71 ± 4,08	--
PS	6,41 ± 0,81	3,66 ± 0,56	69,65 ± 5,19	61,31 ± 4,33
EXPS	7,45 ± 0,84	4,91 ± 1,05	67,83 ± 4,70	69,98 ± 6,54

5.3.3 Labirinto em cruz elevado (LCE)

No teste LCE, antes da experimentação, não houve diferença entre os grupos Controle, Exercitados, PS e EXPS quanto ao número de entradas e o tempo no braço aberto (Figura 18A e Figura 18C). Após a PS observou-se uma tendência para uma redução do número de entradas no braço aberto (Wilcoxon, $p=0.05$, Figura 18 D). Não houve diferença no grupo EXPS (Wilcoxon, $p=0.08$) (Tabela 4). Após a PS, observou-se uma redução no tempo de permanência no braço aberto tanto no grupo PS quanto no grupo EXPS (Figura 18B e D; Tabela 4). Tais resultados foram semelhantes após a análise que considera o número de entradas (Figura 18C e Figura 18D).

Figura 18. Avaliação de ansiedade nos grupos controle, exercitado, PS e EXPS antes e após a OS (Labirinto em Cruz Elevado)

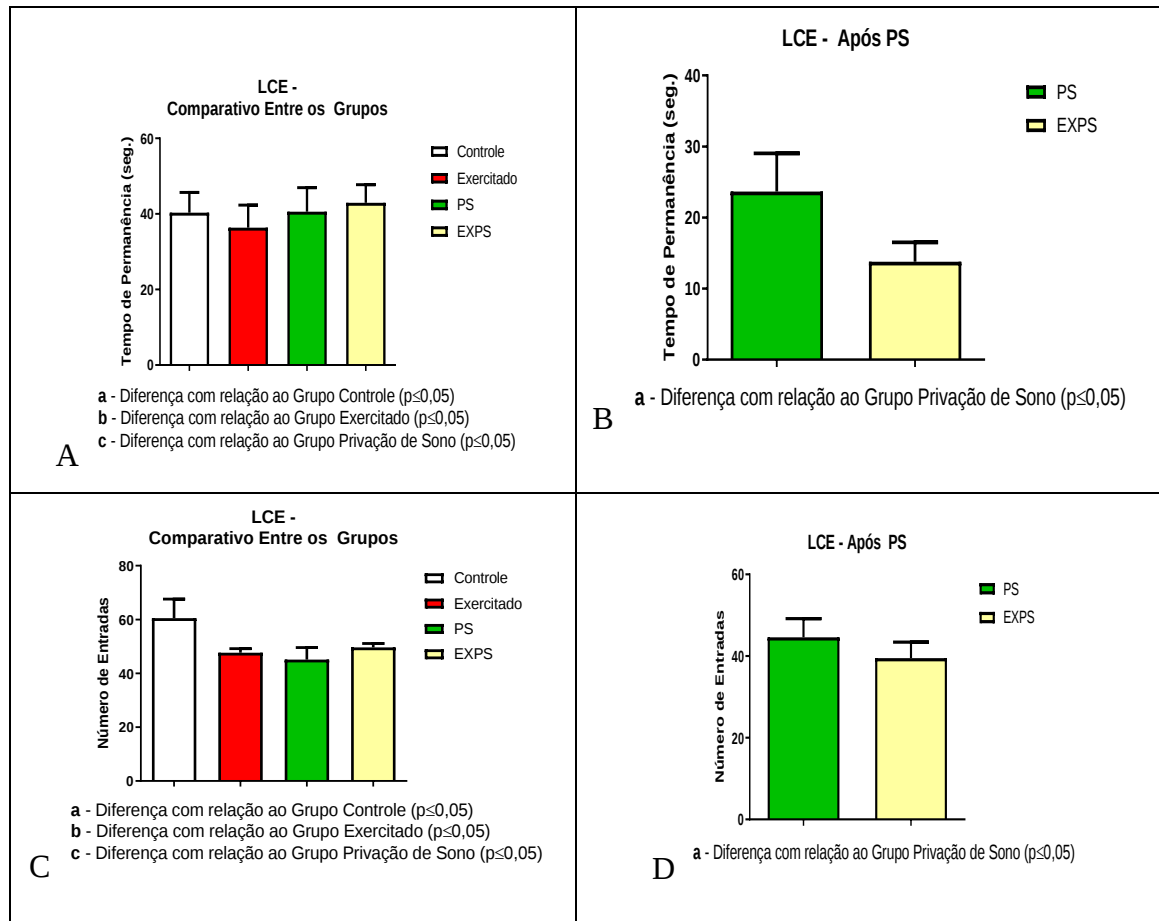


Tabela 4. Dados descritivos da ansiedade através do teste comportamental Labirinto em cruz elevado (LCE), antes e após a PS dos grupos controle, exercitado, PS e EXPS

Grupos	LCE (Tempo de permanência)	LCE - após PS (Tempo de permanência)	LCE (N.de entradas)	LCE após PS (N.de entradas)
Controle	40,33 ± 5,35	--	60,54 ± 7,05	--
Exercitado	36,36 ± 5,95	--	47,70 ± 1,50	--
PS	40,61 ± 6,35	23,66 ± 5,38	45,10 ± 4,46	44,58 ± 4,57
EXPS	42,94 ± 4,80	13,78 ± 2,74	49,62 ± 1,49	39,49 ± 3,95

7 DISCUSSÃO

Este estudo avalia os efeitos da PS e do exercício sobre o metabolismo lipídico e glicêmico. Mostra ainda, as ações do exercício e da PS, e sua combinação, sobre a metabolômica cerebral, demonstrando que ambos modificam tanto o hipocampo quanto o córtex cerebral. Foram ainda estudados padrões de comportamento envolvendo depressão, memória executiva/espacial e ansiedade. A seguir, tais achados, as implicações desses resultados e as evidências disponíveis relacionadas ao assunto serão discutidos.

Vale considerar que as fontes mais importantes de energia durante o exercício são os carboidratos e os lipídios. As fontes dos carboidratos são a glicose sanguínea, o glicogênio muscular e o glicogênio hepático (MUL et al., 2015). As taxas de oxidação do carboidrato exógeno tipicamente alcançam 1g/min durante o exercício quando ampla quantidade de glicose é disponível. A presença de fructose aumenta o pico da taxa máxima de oxidação da glicose em 46% (TROMMELEN et al., 2017).

As relações entre a glicose e seus metabólitos e as funções biológicas ainda não estão totalmente compreendidas. Por exemplo, evidência indica que o exercício intermitente de alta intensidade (EIAI) melhora a função executiva. Essa melhora é atenuada pela repetição do EIAI o que tem sido atribuído a redução dos níveis de lactato para o cérebro (HASHIMOTO et al., 2018). Tais achados mostram que o controle do metabolismo glicídico e suas funções é complexo e sujeito a influências diversas. Por exemplo, a cafeína inibe a produção de glicose enquanto que o exercício mais a cafeína combinada ao exercício restabelece a capacidade gliconeogênica do fígado (GILGLIONI et al., 2016). Todos esses achados mostram a complexidade do controle do metabolismo glicídico e lipídico, e a influência de fatores associados.

Com relação à influência do exercício no metabolismo da glicose, foi demonstrado primeiramente que, em condições basais e sem desafios adicionais, o exercício aumenta inicialmente a sensibilidade à glicose e à insulina e, após algum tempo, obtém energia dos ácidos graxos livres e reduz a atividade da glicose e da insulina. O exercício crônico revela-se assim uma ferramenta potencial para uma redução de glicose, desejável em pacientes diabéticos. Sendo ferramenta adicional para o controle da glicose (BOULE et al., 2005).

Nesse trabalho e em concordância com relatos anteriores, o exercício aumentou a glicose sérica, os níveis de lactato e triglicerídeos (HUGHSON; WEISIGER; SWANSON, 1987). Os níveis séricos de glicose e triglicerídeos foram marcadamente reduzidos pela PS e também foram reduzidos nos camundongos do grupo exercitado e submetido a PS (EXPS), reafirmando os efeitos deletérios da PS extrema (ALVARENGA et al., 2012). A privação paradoxal do sono tem sido associada a acentuada perda de peso e hipoglicemia (BRIANZA-PADILLA et al., 2016).

Os animais que se exercitaram antes da PS apresentaram níveis restaurados de triglicerídeos e colesterol no fígado, ou seja, o exercício reverteu a depleção lipídica desviada do fígado associada a PS. Tais achados confirmam que a resposta metabólica ao exercício é influenciada por condições preexistentes (HERNÁNDEZ-TORRES et al., 2009), reforçando o conceito geral de exercício como ferramenta de proteção (PERRY et al., 2007). De forma detalhada, as medidas lipídicas foram modificadas de forma variável no presente experimento. O EX aumentou os triglicerídeos séricos e, inversamente, a PS e o EXPS reduziram os triglicerídeos. Somente o exercício reduziu o colesterol LDL e a PS e EXPS aumentaram o colesterol LDL.

O exercício aumentou os níveis de colesterol VLDL e, por outro lado, os níveis de colesterol VLDL foram reduzidos em camundongos submetidos a PS e EXPS. Em suma, os resultados atuais mostram que os animais submetidos a PS e EXPS apresentaram os níveis indesejáveis de aumento do colesterol LDL e redução do colesterol VLDL. Em concordância parcial, a PS tem sido associada a HDL baixo e triglicerídeos elevados (KINUHATA et al., 2014). Curiosamente, os níveis séricos de colesterol total não foram alterados em todos os grupos.

Aceita-se que o exercício exerça efeitos agudos e crônicos nas concentrações plasmáticas de lipídios e lipoproteínas. A resposta aguda seria uma ação redutora sobre os triglicerídeos; a resposta crônica estaria ligada a redução do colesterol. No presente trabalho, o colesterol sérico permaneceu praticamente inalterado em todos os grupos. Classicamente, em estudos clínicos, o exercício aeróbico combinado com dieta de baixa caloria reduz os níveis de peso, circunferência da cintura, colesterol e triglicerídeos (PEDERSEN et al., 2019). Tais alterações precisam ser compreendidas considerando que em situações clínicas, como ocorre na PS comumente associada a apneia do sono, a redução da resistência à insulina e o sobrepeso/obesidade são de ocorrência frequente.

Recentemente, tem sido reconhecida a influência que alterações na disponibilidade de substrato têm sobre as adaptações de respostas. A disponibilidade de combustível é um regulador crucial de muitos eventos bioquímicos e de sinalização celular, cruciais para a resposta metabólica ao exercício e sua influência estimuladora no colesterol hepático e triglicerídeos (HAWLEY, 2017).

Com relação aos testes comportamentais, o exercício melhorou a memória espacial e a função executiva reveladas no teste do Y-maze. Em corroboração a esses achados, estudo anterior mostra que o exercício prolongado alivia o déficit de memória induzido pelo estresse crônico. O mesmo estudo argumenta que o aumento dos níveis de AMPK-fosforilado e BDNF no hipocampo podem justificar a melhora da memória (KIM; LEEM, 2016).

Pode-se afirmar que os efeitos da PS sobre a depressão são complexos. Por exemplo, sabe-se que, clinicamente, insônia ou a redução das horas de sono associa-se a depressão. A depressão também desencadeia a manifestação de insônia observando-se então uma relação bilateral entre insônia e redução das horas de sono e depressão (GRONEMANN et al., 2020).

Por outro lado, de forma inversa, a PS aguda melhora os sintomas depressivos, porém, sabe-se que esse efeito não é duradouro e provavelmente relaciona-se a variações de neurotransmissores (TOLLE, 1980). Foi demonstrado que a PS só ou em combinação com medicamentos consegue reverter um estado de mania para hipomania em pacientes bipolares (COLOMBO et al., 1999).

Em estudo utilizando tomografia computadorizada por emissão de fóton único ou SPECT, uma redução da ocupação dos receptores dopaminérgicos D2 nos gânglios da base foi observada nos pacientes que melhoram os sintomas depressivos após a PS. Tal achado sugere que um aumento da liberação de dopamina está envolvido no mecanismo de melhora da depressão após a PS (EBERT et al., 1994).

Tem sido largamente demonstrado que o exercício associa-se clinicamente a melhora dos sintomas depressivos e do sono (SILVESTRI et al., 2019; VIANA et al., 2019). Outros estudos mostram os efeitos benéficos do exercício físico sobre o comportamento depressivo (GROSZ; FARMER, 1972; PITTS, FERRIS; MCCLURE, JAMES, 1975).

No presente estudo, a PS isoladamente não produziu alteração no comportamento depressivo. No entanto, a avaliação do comportamento depressivo mostrou que o exercício seguido de PS aumentou a depressão. Deve ser considerado que nesse modelo de PS extrema, o exercício funcionou como estresse adicional para o animal justificando o aumento do comportamento depressivo.

Na avaliação de memória executiva, o grupo exercitado previamente a PS apresentou melhora da memória de trabalho. Muitos estudos apresentam resultados positivos em relação aos efeitos do exercício sobre a memória, associando múltiplos fatores aos processos de melhora da memória (GIBBONS et al., 2014; MOLLOY et al., 1988; XIONG et al., 2015).

Através do teste LCE, um instrumento clássico utilizado em experimentos, podemos avaliar o nível de ansiedade, e a medida utilizada para avaliação foram o tempo e número de entradas no braço aberto. No presente estudo, não houve diferença entre os grupos estudados após a PS.

O presente experimento testa os efeitos do exercício aeróbico crônico em condições básicas e em animais submetidos à PS extrema. Sabe-se que a PS extrema é uma situação com risco de vida. Apesar da PS extrema ser diferente do débito crônico do sono de quantidade variável geralmente observado em situações clínicas, este modelo é útil para examinar variações biológicas, por exemplo mudanças comportamentais e bioquímicas.

O estudo atual avaliando a metabolômica cerebral revela de forma importante que o exercício prévio recupera os níveis de metabólitos a padrões semelhantes aos do controle. Tais níveis de metabólitos que se apresentam depletados pela privação de sono, são então recuperados ou protegidos nos animais que foram previamente exercitados. Em geral, o córtex e o hipocampo apresentaram composição semelhante. No entanto, nesse trabalho, o hipocampo foi menos afetado em semelhança a estudo anterior que também avalia o efeito do exercício em um modelo de privação de sono (YOON et al., 2019).

Os principais compostos do córtex afetados pela PS foram: etanol, lactato, colina, alanina, GABA, taurina, ácido n-acetil-aspartato, creatina e mio-inositol. E os principais compostos do córtex afetados pelo exercício foram: etanol, colina, alanina, GABA, acetato e mio-inositol. Vale ressaltar que o exercício seguido de PS teve composições semelhantes ao controle, levantando a hipótese de que o exercício prévio protege o córtex das alterações causadas pela PS.

Os principais compostos do hipocampo recuperados nos animais previamente exercitados seguido de PS foram: etanol, glutamato, taurina, ácido n-acetil-aspartato, creatina e mio-inositol. Vale ressaltar que o exercício apresentou composições semelhantes ao grupo controle (QUANSAH et al., 2017; WESLEY et al., 2019).

Limitações do estudo

Como limitação do estudo deve ser considerado que esse estudo avalia um modelo animal de privação de sono e exercício e inferências extensivas a situações clínicas são

limitadas. No entanto, a vantagem do estudo em animais de experimentação consiste no acesso a estudo tecidual importante para a compreensão dos eventos associados a PS e ao EX.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, o estudo atual mostra que o exercício e a privação de sono modificam padrões de comportamento e metabólicos. O exercício, provavelmente funcionando como estresse adicional para o animal, quando combinado a privação de sono aumentou o comportamento depressivo nos animais.

Os animais submetidos a privação de sono apresentaram redução extrema dos níveis de glicogênio e lipídios no fígado assim como aumento dos níveis indesejáveis de LDL. O exercício aumentou parâmetros potencialmente benéficos como VLDL. O exercício aumentou os estoques de glicogênio, colesterol e triglicerídeos mesmo no animal privado de sono e favoreceu o estoque de colesterol e triglicerídeos no fígado favorece a sobrevivência do animal. Isso reforça a tese de que o exercício trabalha pela homeostase e de acordo com as condições prévias e basais.

REFERENCIAS

- AHMADIAN, N. et al. Tau pathology of Alzheimer disease: Possible role of sleep deprivation. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 9, n. 5, p. 307–316, 2018.
- ALÓE, F.; AZEVEDO, A. P. DE; HASAN, R. Mecanismos do ciclo sono-vigília Sleep-wake cycle mechanisms. **Rev Bras Psiquiatr.** v. 27, n. 11, p. 33–39, 2005.
- ALVARENGA, T. A. et al. Influence of food restriction on lipid profile and spontaneous glucose levels in male rats subjected to paradoxical sleep deprivation. **Clinics**, v. 67, n. 4, p. 375–380, 2012.
- ANDERSON, M. L. et al. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. Sao Paulo: UNIFESP. 2004.
- ANTUNES, H. K. M. et al. Privação de Sono e Exercício Físico Sleep Deprivation and Exercise. **Rev Bras Med Esporte**. p. 51–56, 2007.
- ARAÚJO, M. F. M. D. et al. Avaliação da qualidade do sono de estudantes universitários de Fortaleza. **Enfermagem**. v. 22, n. 2, p. 352–360, 2013.
- ASKEN, M. J.; RAHAM, D. C. Resident performance and sleep deprivation: a review. **Journal of medical education**, v. 58, p. 382–8, 1983.
- BARBOSA, P. J. B. et al. Artigo Original Influência da Cor de Pele Auto-Referida na Prevalência da Síndrome Metabólica numa População Urbana do Brasil. **SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA**, p. 34–40, 2010.
- BECCUTI, G.; PANNAIN, S. Sleep and obesity. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. p. 1–18, 2013.
- BECK, U. Hormonal secretion during sleep in man. Modification of growth hormone and prolactin secretion by interruption and selective deprivation of sleep. **International journal of neurology**, v. 15, p. 17–29, 1981.
- BELMONTE, M. A. et al. Rat Myocellular and Perimysial Intramuscular Triacylglycerol : A Histological Approach. **medicine e science in sports e exercise**, p. 60–67, 2004.
- BENEKE, R.; HUTLER, M.; LEITHAUSER, R. M. Maximal lactate-steady-state independent of performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, p. 1135–9, 2000.
- BERGER, R. J.; PHILLIPS, N. H. BEHAVIOURAL Energy conservation and sleep. **Behav Brain Res**. v. 69, p. 65–73, 1995.
- BONNET, M. H.; ARAND, D. L. Clinical effects of sleep fragmentation versus sleep deprivation. **Sleep Med Rev**, v. 7, p. 297–310, 2003.
- BOULE, N. G. et al. Effects of exercise training on glucose homeostasis. **Diabetes Care**, v. 28, n. 1, p. 108–114, 2005.
- BRAY, G. A.; KIM, K. K.; WILDING, J. P. H. Obesity : a chronic relapsing progressive disease process . A position statement of the World Obesity Federation. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 7, p. 715–723, 2017.
- BRIANZA-PADILLA, M. et al. Effects of different periods of paradoxical sleep deprivation and sleep recovery on lipid and glucose metabolism and appetite hormones in rats. **Appl**

Physiol Nutr Metab. v. 9, n. 1, p. 1–9, 2016.

BUXTON, O. M. et al. Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. **Diabetes**, v. 59, n. 9, p. 2126–2133, 2010.

CHAPADOS, N. A. et al. Effects of Exercise Training on Hepatic Microsomal Triglyceride Transfer Protein Content in Rats. **Horm Metab Res**, v. 41, p. 287–293, 2009.

CHOKROVERTY, S. Overview of sleep & sleep disorders. **Indian J Med Res.** n. February, p. 126–140, 2010.

COHEN, H. B.; DEMENT, W. C. Sleep: Changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of “paradoxical” phase. **Science**, v. 150, n. 3701, p. 1318–1319, 1965.

COLOMBO, C. et al. Rate of switch from depression into mania after therapeutic sleep deprivation in bipolar depression. **Psychiatry Research**, v. 86, n. 3, p. 267–270, 1999.

CONLEE, R. K. Muscle Glycogen and Exercise Endurance: A Twenty-Year Perspective. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 15, n. 1, p. 1–28, 1987.

CORDONE, S. et al. Sleep and β -Amyloid Deposition in Alzheimer Disease: Insights on Mechanisms and Possible Innovative Treatments. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. June, p. 1–12, 2019.

DANDA, G. J. DA N. et al. Sleep-wake cycle pattern and excessive daytime sleepiness in medical students. **J. bras. psiquiatria**, v. 54, n. 2, p. 102–106, 2005.

DANIELE, T. M. D. C. Influência do exercício físico no comportamento e alterações neuroquímicas induzidas pela privação do sono em camundongos. p. 1–158, 2017.

DAVIDSON, J. R.; MOLDOFSKY, H.; LUE, F. A. Growth Hormone and Cortisol Secretion in Relation to Sleep and Wakefulness. **J Psychiatry Neurosci Seep.** n. February 2015, 2007.

DING, G. et al. Centra Circadian Clock Regulates Energy Metabolism. In: **Neural Regulation of Metabolism, Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2018. v. 1090p. 79–103.

DISHMAN, R. K. et al. Neurobiology of Exercise. **Obesity**. 2006.

DRIVER, H. S.; TAYLOR, S. R. Exercise and sleep. **Sleep Med Rev.** v. 4, n. 4, p. 387–402, 2000.

EBERT, D. et al. Single photon emission computerized tomography assessment of cerebral dopamine D2 receptor blockade in depression before and after sleep deprivation-preliminary results. **Biological Psychiatry**, v. 35, n. 11, p. 880–885, 1994.

ENTERNMAN, C. General Procedures for Separating Lipid Components of Tissue. **ELSEVIER**, v. 267, n. 1934, p. 299–317, 1943.

FERREIRA, J. C. B. et al. Maximal lactate steady state in running mice : effect of exercise training. **Clin Exp Pharmacol Physiol.** n. July 2006, p. 760–765, 2007.

FULLER, P. M.; SAPER, C. B.; LU, J. The pontine REM switch : past and present. **J Physiol.** v. 3, p. 735–741, 2007.

GAGLIARDI, A. R. DE T. Resistência À Insulina. **Atheros**, v. 13, n. 2, p. 39–41, 2002.

GARY, K. A. et al. Total sleep deprivation and the thyroid axis: effects of sleep and waking

activity. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 67, n. 6, p. 513–519, 1996.

GIBBONS, T. E. et al. Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and β -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. **Behavioural Brain Research**, v. 272, p. 131–140, 2014.

GILGLIONI, E. H. et al. Exercise partially reverses the inhibitory effect of caffeine on liver gluconeogenesis in type 1 diabetic rats with hypoglycemia. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 103, n. 3, p. 290–299, 2016.

GRAHAM, S. F.; HOLSCHER, C.; GREEN, B. D. Metabolic signatures of human Alzheimer's disease (AD): ¹H NMR analysis of the polar metabolome of post-mortem brain tissue. **Metabolomics**, v. 10, n. 4, p. 744–753, 2014.

GRONEMANN, F. H. et al. Socio-demographic and clinical risk factors of treatment-resistant depression: A Danish population-based cohort study. **Journal of Affective Disorders**, v. 261, n. September 2019, p. 221–229, 2020.

GROSZ, H. J.; FARMER, B. B. Pitts' and McClure's Lactate-Anxiety Study Revisited*. **the British Journal of Psychiatry**, v. 120, p. 415–418, 1972.

GULYANI, S. et al. Sleep Medicine Pharmacotherapeutics Overview Today, Tomorrow, and the Future (Part 2: Hypersomnia, Parasomnia, and Movement Disorders). **Chest**. n. January, 2013.

GUYTON, A. C.; EDWARD, J. **TEXTBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY**. 11. ed. Eleventh Edition. 2005.

GUZMÁN-MARÍN, R. et al. Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. **Journal of Physiology**, v. 549, n. 2, p. 563–571, 2003.

HASHIMOTO, T. et al. Maintained exercise-enhanced brain executive function related to cerebral lactate metabolism in men. **FASEB Journal**, v. 32, n. 3, p. 1417–1427, 2018.

HAWLEY, J. A. Sending the Signal : Muscle Glycogen Availability as a Regulator of Training Adaptation. p. 43–55, 2017.

HERNÁNDEZ-TORRES, R. P. et al. Effects of single sessions of low-intensity continuous and moderate-intensity intermittent exercise on blood lipids in the same endurance runners. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 12, n. 2, p. 323–331, 2009.

HOBSON, A. J. Sleep after exercise. **Sciences-New York**, v. 162, p. 1503–1505, 1968.

HUGHSON, R. L.; WEISIGER, K. H.; SWANSON, G. D. Blood lactate concentration increases as a continuous function in progressive exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 62, n. 5, p. 1975–1981, 1987.

KIM, D. M.; LEEM, Y. H. Chronic stress-induced memory deficits are reversed by regular exercise via AMPK-mediated BDNF induction. **Neuroscience**, v. 324, p. 271–285, 2016.

KIM, K. S. et al. Smoking Induces Oropharyngeal Narrowing and Increases the Severity of Obstructive Sleep Apnea Syndrome. **J Clin Sleep Med**. v. 8, n. 4, 2012.

KIM, Y. et al. Repeated sleep restriction in rats leads to homeostatic and allostatic responses during recovery sleep. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 104, n. 25, p. 10697–10702, 2007.

KINUHATA, S. et al. Sleep duration and the risk of future lipid profile abnormalities in

- middle-aged men : the Kansai Healthcare Study. **Sleep Medicine**, v. 15, n. 11, p. 1379–1385, 2014.
- KOSTIDIS, S. et al. ¹H-NMR analysis of feces: New possibilities in the helminthes infections research. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1–8, 2017.
- KREIER, F. et al. ““ Diabetes of the elderly ”” and type 2 diabetes in younger patients : Possible role of the biological clock. **Exp Gerontol.** v. 42, p. 22–27, 2007.
- LAKKA, T. A. et al. Sedentary Lifestyle , Poor Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. **Med Sci Sports Exerc.** p. 1279–1286, 2003.
- LAMBERT, T. J.; FERNANDEZ, S. M.; FRICK, K. M. Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. **Neurobiol Learn and Mem.** v. 83, p. 206–216, 2005.
- LAMOUNIER, J. A. et al. Síndrome metabólica. **Rev Med Minas Gerais**, v. 13, n. 1, p. 29–34, 2010.
- LAVIE, P. **THE ENCHANTED WORLD OF SLEEP**. NEW HAVEN: Yale University Press. 1996.
- LEMOS, T. et al. A questionnaire study on sleep disturbances associated with Prader-Willi syndrome. **J Pediatr Endocrinol Metab**, p. 1–5, 2020.
- LENT, R. **CEM BILHÕES DE NEURÔNIOS?: conceitos fundamentais de Neurociência**. 2ª EDIÇÃO ed. Atheneu. 2010.
- LILLIOJA, S. et al. INSULIN-RESISTANCE AND INSULIN SECRETORY DYSFUNCTION AS PRECURSORS OF NON-INSULIN-DEPENDENT DIABETES-MELLITUS - PROSPECTIVE STUDIES OF PIMA-INDIANS. **NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE**, v. 329, p. 1988–1992, 1993.
- LIRA, F. S. et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. **Cell Biochem Funct.** n. May, p. 701–708, 2008.
- LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p. 180–5, 1987.
- LIU, J. et al. ¹H nuclear magnetic resonance brain metabolomics in neonatal mice after hypoxia-ischemia distinguished normothermic recovery from mild hypothermia recoveries. **Pediatric Research**, v. 74, n. 2, p. 170–179, 2013a.
- LIU, Y. et al. Association between perceived insufficient sleep , frequent mental distress , obesity and chronic diseases among US adults , 2009 behavioral risk factor surveillance system. **BMC Public Health.** p. 1–8, 2013b.
- LU, J. et al. Effect of Lesions of the Ventrolateral Preoptic Nucleus on NREM and REM Sleep. **J Neurosci.** v. 20, n. 10, p. 3830–3842, 2000.
- MACKIEWICZ, M. et al. What are microarrays teaching us about sleep?. **Trends Mol Med.** v. 15, n. 2, p. 79–87, 2010.
- MARKWALD, R. R. et al. Impact of insufficient sleep on total daily energy expenditure, food intake, and weight gain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 14, p. 5695–5700, 2013.

- MARLISS, E. B. et al. Gender differences in glucoregulatory responses to intense exercise. **J Appl Physiol**. p. 457–466, 2000.
- MIGNOT, E. Why We Sleep : The Temporal Organization The Necessity of Sleep in Mammals and Birds : REM and. v. 6, n. 4, 2008.
- MOLLOY, D. W. et al. The effects of a three-month exercise programme on neuropsychological function in elderly institutionalized women: A randomized controlled trial. **Age and Ageing**, v. 17, n. 5, p. 303–310, 1988.
- MONTGORMERY, I.; TRINDER, J.; PAXTON, SUSAN, J. Energy Expenditure and Total Sleep Time : Effect of Physical Exercise. **Sleep**, v. 5, n. 2, p. 159–168, 1982.
- MORRIS, N. R.; KERMEEN, F. D.; HOLLAND, A. E. Exercise-based rehabilitation programmes for pulmonary hypertension (Review). **Cochrane Library**, v. 2, n. 1, p. 1–67, 2017.
- MUL, J. D. et al. **Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism**. 1. ed. Elsevier Inc., 2015. v. 135
- MULLER, M. R.; GUIMARÃES, S. S. Impacto dos transtornos do sono sobre o funcionamento diário e a qualidade de vida 1 Sleep disorders impact on daily functioning. **Estudos de Psicologia, Campinas**, v. 24, n.4, n. 4, p. 519–528, 2007.
- MURILLO-RODRÍGUEZ, E.; ARIAS-CARRIÓN, O.; SANGUINO-RODRÍGUEZ, K. Mechanisms of Sleep-Wake Cycle Modulation Mechanisms of Sleep-Wake Cycle Modulation. **CNS Neurol Disord Drug Targets**. n. May 2018, 2009.
- MURILLO-RODRÍGUEZ, E.; PASTRANA-TREJO, J. C.; SALAS-CRISÓSTOMO, M. The Endocannabinoid System Modulating Levels of Consciousness, Emotions and Likely Dream Contents. **CNS Neurol Disord Drug Targets**. v. 52, n. 999, p. 370–379, 2017.
- MURPHY, P. J.; CAMPBELL, S. S. Sleep Onset Nighttime Drop in Body Temperature : A Physiological Trigger for Sleep Onset ?. **Sleep**. v. 20, n. July, p. 505–511, 1997.
- NAITOH, P. Sleep deprivation in human subjects: a reappraisal. In: **waking and sleeping**. Asklepion Edition. p. 1:53-60. 1976.
- NECKELMANN, D.; MYKLETUN, A.; DAHL, A. A. Chronic Insomnia as a Risk Factor for Developing Anxiety and Depression. **Sleep**. v. 6, 2007.
- NEDELTCHEVA, A. V. et al. Exposure to recurrent sleep restriction in the setting of high caloric intake and physical inactivity results in increased insulin resistance and reduced glucose tolerance. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 94, n. 9, p. 3242–3250, 2009.
- NEVES, G. S. M. L.; , ANDRE S. GIORELLI , PATRICIA FLORIDO, M. DA M. G. Transtornos do sono : visão geral Sleep disorders : overview. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 49, n. 2, p. 57–71, 2013.
- NUNES, G. P.; TUFIK, S. Validation of the modified multiple platform method (MPM) of paradoxical sleep deprivation in rats. In: **MEDICINA E BIOLOGIA DO SONO**. 2008. p. 419.
- OGAWA, K. et al. Resistance Exercise Training-Induced Muscle Hypertrophy Was Associated with Reduction of Inflammatory Markers in Elderly Women. **mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 1–7, 2010.

- OKUBO, N. et al. Relationship between self-reported sleep quality and metabolic syndrome in general population. **BMC Public Health**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 2014.
- PAIXÃO, E.; BRANCO, J. M.; CONTREIRAS, T. Uma observação sobre a prevalência de perturbações do sono, em portugal continental. 2006.
- PALMA, B. D. et al. Repercussões imunológicas dos distúrbios do sono : o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal como fator modulador Immune outcomes of sleep disorders : the hypothalamic- pituitary-adrenal axis as a modulatory factor. **Rev Bras Psiquiatr**. v. 29, n. 55 11, p. 33–38, 2007.
- PAN, W.; YEH, W.; WENG, L. Epidemiology of metabolic syndrome in Asia. **Asia Pac J Clin Nutr**. v. 17, n. September 2007, p. 37–42, 2008.
- PANDEY, A. et al. Linking Sleep to Hypertension : Greater Risk for Blacks. **Int J Hypertens**. v. 2013, 2013.
- PASSARELLA, S.; DUONG, M.-T. Diagnosis and treatment of insomnia. **Am J Health Syst Pharm**. v. 65, p. 927–934, 2008.
- PATTI, C. L. et al. Effects of Sleep Deprivation on Memory in Mice : Role of State-Dependent Learning. **Sleep**. v. 33, n. 12, 2010.
- PEDERSEN, L. R. et al. Effects of 1 year of exercise training versus combined exercise training and weight loss on body composition , low - grade inflammation and lipids in overweight patients with coronary artery disease : a randomized trial. **Cardiovascular Diabetology**, p. 1–13, 2019.
- PELLOW, S. et al. Validation of open " closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods**. v. 14, p. 149–167, 1985.
- PERRY, J. C. et al. Consequences of subchronic and chronic exposure to intermittent hypoxia and sleep deprivation on cardiovascular risk factors in rats. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 156, n. 3, p. 250–258, 2007.
- PETERS, E. N. et al. Effect of Night Smoking, Sleep Disturbance, and Their Co- Occurrence. **Psychol Addict Behav**. v. 25, n. 2, p. 312–319, 2013.
- PITTS, FERRIS, N. J.; MCCLURE, JAMES, N. J. LACTATE METABOLISM IN ANXIETY NEUROSIS*. **New England Journal of Medicine**, v. 277, p. 1329–1336, 1975.
- PORETSKY, L. **Principles of Diabetes Mellitus**. Springer N ed. New York: 2010.
- PORKKA-HEISKANEN, T. et al. Adenosine and sleep. **Sleep Med Rev**. v. 6, n. 4, 2002.
- PORKKA-HEISKANEN, T.; KALINCHUK, A. V. Adenosine, energy metabolism and sleep homeostasis. **Sleep Medicine Reviews**, v. 15, n. 2, p. 123–135, 2011.
- PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie**, v. 229, p. 327–36, 1977.
- QUANSAH, E. et al. 1H NMR-based metabolomics reveals neurochemical alterations in the brain of adolescent rats following acute methylphenidate administration. **Neurochemistry International**, v. 108, p. 109–120, 2017.
- QUINHONES, M. S. Sleep in normal and pathological ageing: clinical and

physiopathological aspects. **Rev Bras Neurol**, v. 47, n. 1, p. 31–42, 2011.

RANTALA, A. O. et al. Gamma-glutamyl transpeptidase and the metabolic syndrome. **Journal of Internal Medicine**, v. 248, n. 3, p. 230–238, 2000.

RAO, W. et al. Sleep quality in medical students : a comprehensive meta-analysis of observational studies. **Sleep and Breath**, p. 1–15, 2020.

REAVEN, G. M. ROLE OF INSULIN RESISTANCE IN HUMAN-DISEASE. **DIABETES**, v. 37, p. 1595–1607, 1988.

REAVEN, G. M. The metabolic syndrome : time to get off the merry-go-round ?. **J Int Med**, p. 127–136, 2010.

RECHTSCHAFFEN, A. et al. Physiological Correlates of Prolonged. **Science**, v. 221, p. 182–184, 1983.

RENNIE, K. L. et al. Association of the metabolic syndrome with both vigorous and moderate physical activity. p. 600–606, 2003.

RODRIGUES, M. H. et al. Polissonografia: aspectos técnicos e clínicos. **Revista Brasileira de Neurologia**, 2012.

RYU, S. Y.; KIM, K. S. Factors Associated with Sleep Duration in Korean Adults : Results of a 2008 Community Health Survey in Gwangju Metropolitan City , Korea. p. 1124–1131, 2011.

SALIN-PASCUAL, R. J. et al. Effects of biperiden on sleep at baseline and after 72 h of REM sleep deprivation in the cat. **Psychopharmacology**, v. 106, n. 4, p. 540–542, 1992.

SANER, N. J.; BISHOP, D. J.; BARTLETT, J. D. Is exercise a viable therapeutic intervention to mitigate mitochondrial dysfunction and insulin resistance induced by sleep loss? **Sleep Medicine Reviews**, v. 37, p. 60–68, 2018.

SARTER, M.; BODEWITZ, G.; STEPHENS, D. N. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist fl-carbolines photo cells. **Psychopharmacology**, v. 94, n. 4, p. 491–492, 1988.

SHEPHARD, R. J.; SHEK, P. N. Interactions between sleep, other body rhythms, immune responses, and exercise. **anadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie**, p. 95–116, 1997.

SILVESTRI, R. et al. Italian Association of Sleep Medicine (AIMS) position statement and guideline on the treatment of menopausal sleep disorders. **Maturitas**, v. 129, n. August, p. 30–39, 2019.

SOARES, M. V. L. et al. Tracking thermal degradation on passion fruit juice through Nuclear Magnetic Resonance and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 219, p. 1–6, 2017.

SPIEGEL, K. et al. Leptin levels are dependent on sleep duration: Relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 11, p. 5762–5771, 2004.

SPIEGEL, K.; LEPROULT, R.; CAUTER, E. VAN. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. v. 354, p. 1435–1439, 1999.

SPOSITO, A. C. et al. iV diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose

departamento de aterosclerose da sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, n. 1, 2007.

SUCHECKI, DEBORAH; D'ALMEIDA, V. Privação de Sono. In: **Medicina e Biologia do Sono**. 2008.

TAHERI, S. et al. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. **PLoS Medicine**, v. 1, n. 3, p. 210–217, 2004.

TOLLE, B. S. R. Partial Sleep Deprivation as Therapy for Depression Partial. **Arch Gen Psychiatry**, v. 37, p. 267–271, 1980.

TROMMELEN, J. et al. Fructose and sucrose intake increase exogenous carbohydrate oxidation during exercise. **Nutrients**, v. 9, n. 2, p. 1–12, 2017.

TUFIK, S (org). **MEDICINA E BIOLOGIA DO SONO**. São Paulo: Manole. 2008.p. 25-45. Tufik, S.

TUFIK, S. et al. Obstructive Sleep Apnea Syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. **Sleep Medicine**, v. 11, n. 5, p. 441–446, 2010.

TUFIK, S.; LINDSEY, C. J.; CARLINI, E. A. Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain? **Pharmacology**, v. 16, p. 98–105, 1978.

VGONTZAS, A. N. et al. Insomnia With Objective Short Sleep. **Sleep**. v. 32, n. 11, 2009.

VIANA, R. B. et al. Interval Training Improves Depressive Symptoms But Not Anxious Symptoms in Healthy Women. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, n. September, p. 1–8, 2019.

VIDIGAL, F. D. C. et al. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. **Cad saúde pública**, v. 25, n. 6, p. 1195–1202, 2013.

WASSERMAN, D. H.; VRANIC, M. Interaction Between Insulin and Counterregulatory Hormones in Control of Substrate Utilization in Health and Diabetes During Exercise. **Metabolism Reviews**. v. 1, n. 4, p. 359–384, 1986.

WESLEY, U. V. et al. Local and systemic metabolic alterations in brain, plasma, and liver of rats in response to aging and ischemic stroke, as detected by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. **Neurochemistry International**, v. 127, p. 113–124, 2019.

WISHART, D. S. et al. HMDB 3.0-The Human Metabolome Database in 2013. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. 1–7, 2013.

WU, H. et al. The role of sleep deprivation and circadian rhythm disruption as risk factors of Alzheimer's disease. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 2019.

XIONG, J. et al. Treadmill exercise improves memory of AD mice by regulation of BDNF and microglia. **Biology of Sport**, v. 32, n. 4, p. 295–300, 2015.

YAMASHITA, S. et al. Insulin resistance and body fat distribution. **Diabetes Care**, v. 19, p. 287–91, 1996.

YOON, D. W. et al. Untargeted metabolomics analysis of rat hippocampus subjected to sleep fragmentation. **Brain Research Bulletin**, v. 153, p. 74–83, 2019.

ZAGER, A. et al. Effects of acute and chronic sleep loss on immune modulation of rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.** 2007.

ZHU, B. et al. Effects of sleep restriction on metabolism-related parameters in healthy adults: A comprehensive review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Sleep Medicine Reviews**, 2019.