

EFEITOS DE DOIS PROTOCOLOS DE JEJUM INTERMITENTE SOBRE A MASSA MUSCULAR DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO

Kelly Guimarães Barros (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Eduardo de Oliveira dos Santos, Cecília Edna Mareze da Costa (coorientador), Fernanda Losi Alves de Almeida (Orientador) e-mail: flaalmeida@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Ciências Biológicas/Morfologia

Palavras-chave: alimentação com restrição de tempo, treinamento de força, músculo estriado esquelético

Resumo:

O objetivo desse estudo foi investigar os efeitos de dois protocolos de jejum intermitente (JI) de 12 horas sobre a massa muscular de ratos submetidos ao exercício resistido (ER). Ratos Wistar com 60 dias de idade foram divididos nos grupos SC: sedentários com alimentação *ad libitum*, SJ1: sedentários em jejum noturno (das 21h às 9h), SJ2: sedentários em jejum diurno (das 9h às 21h), TC: treinados com alimentação *ad libitum*, TJ1: treinados com jejum noturno (das 21h às 9h), TJ2: treinados com jejum diurno (das 9h às 21h). O protocolo de ER foi de subida em escada três dias por semana durante 9 semanas. Em cada sessão de treinamento, o animal subiu de quatro a oito vezes a escada carregando uma carga de 50, 75, 90 e 100% da capacidade máxima determinada na primeira sessão. Ao término do experimento, foram obtidos cortes histológicos de amostras dos músculos sóleo, gastrocnêmio e bíceps braquial. Esses cortes foram corados com hematoxilina e eosina para avaliação da morfologia e determinação do menor diâmetro das fibras musculares. A morfologia das fibras foi semelhante entre os grupos experimentais. O JI de 12 horas não promoveu atrofia muscular. Entre os animais sedentários, o peso do músculo gastrocnêmio foi maior no grupo SJ1 em relação ao controle SC. O diâmetro das fibras do músculo gastrocnêmio foi maior no grupo SJ2 em relação ao controle SC. A associação entre o JI e ER não influenciou no peso dos músculos avaliados e no diâmetro das fibras.

Introdução

O jejum intermitente (JI) é uma forma de restrição calórica difundida mundialmente e que pode ser realizado por motivos de saúde, religiosos e culturais. É realizado voluntariamente e consiste na abstenção de alimentos por um determinado período de tempo, desde horas ou dias. Dentre os protocolos de JI, destaca-se a alimentação com restrição de tempo (TRF, do inglês: *time-restricted feeding*) que envolve uma rotina alimentar diária, com um número de horas designados ao jejum e as horas restantes com alimentação *ad libitum*. Estudos que utilizam jejum diário

de 12 a 21 horas em roedores mostram melhora em parâmetros sanguíneos e redução de peso corporal (PATTERSON; SEARS, 2017).

Apesar dos bons resultados na perda de peso corporal, o JI pode causar perda de massa corporal magra. Assim, o exercício resistido (ER) torna-se uma estratégia que pode atenuar essa perda da massa muscular e até resultar no seu aumento durante a restrição energética. O ER estimula o aumento da massa magra, promovendo melhorias na força e na potência muscular. Entretanto, o ER de forma isolada não promove, clinicamente, perda de peso significativa. Essa perda de peso torna-se maior quando se associa o JI ao exercício físico, além de preservar a massa muscular durante o jejum (KEENAN et al, 2020). Assim, a proposta desse estudo foi investigar os efeitos de dois diferentes protocolos de JI de 12 horas sobre a massa muscular de ratos Wistar machos submetidos ao ER.

Materiais e Métodos

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob parecer nº4431100321. Foram utilizados 48 ratos Wistar machos, com 60 dias de idade, mantidos em condições padrão de biotério. Os animais foram distribuídos em seis grupos (n = 8 animais por grupo): SC: sedentários com alimentação *ad libitum*, SJ1: sedentários submetidos ao jejum de 12 horas das 21 horas às 9 horas, SJ2: sedentários submetidos ao jejum de 12 horas das 9 horas às 21 horas, TC: treinados com alimentação *ad libitum*, TJ1: treinados submetidos ao jejum de 12 horas das 21 horas às 9 horas e TJ2: treinados submetidos ao jejum de 12 horas das 9 horas às 21 horas.

Os animais dos grupos SC e TC receberam ração padrão balanceada *ad libitum*, enquanto os demais grupos receberam a mesma ração, porém, realizando JI de 12 horas, de segunda à sexta-feira, e alimentação sem restrição aos sábados e domingos, durante nove semanas.

O protocolo de treinamento resistido foi o de subida em escada, três vezes por semana por nove semanas, totalizando 27 sessões de treinamento. A primeira sessão de treino consistiu de quatro a oito subidas na escada. Em cada sessão, foi fixada uma carga na cauda do animal, cujo peso correspondeu a 75% do peso corporal, com incremento de 30g a cada subida. A carga mais alta foi determinada pela capacidade de o animal subir toda escada, sendo considerada a capacidade máxima para a sessão de treinamento em andamento. As sessões subsequentes consistiram em quatro a oito subidas de escada, sendo as quatro primeiras com carga equivalente a 50%, 75%, 90% e 100% da capacidade máxima do animal determinada no treino anterior, com intervalo de 60 segundos entre elas. Nas escaladas posteriores, foram adicionadas cargas de 30g a cada subida, com um intervalo de 120 segundos entre elas, até que uma nova carga máxima para esta sessão fosse estabelecida.

Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por sobrecarga anestésica e os músculos sóleo, gastrocnêmio e bíceps braquial foram coletados e pesados. Amostras musculares foram fixadas em formol 10% tamponado durante 24 horas, desidratadas em bateria de etanol de concentrações crescentes, diafanizadas em

xilol e embebidas em parafina. Cortes histológicos transversais das amostras (8 μm de espessura) foram obtidos em micrótomo e corados com hematoxilina e eosina (HE) para avaliação da morfologia geral e determinação do menor diâmetro das fibras musculares. Os resultados da morfometria das fibras foram expressos como média do diâmetro por grupo experimental. A análise estatística dos dados foi realizada no programa *GraphPad Prisma v.7.05*, utilizando ANOVA *two-way* e pós-teste de Bonferroni após confirmação da distribuição normal dos dados. O valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados e Discussão

A análise dos cortes histológicos das amostras dos músculos gastrocnêmio, bíceps e sóleo mostrou que a morfologia das fibras musculares foi semelhante entre todos os grupos. Observou-se fibras acidófilas de formato poligonal separadas pelo endomísio e organizadas em fascículos delimitados pelo perimísio.

Entre os animais sedentários (grupos SC, SJ1 e SJ2), o peso relativo (g/100 g de peso corporal) do músculo gastrocnêmio foi maior no grupo SJ1 quando comparado ao seu controle (SC). Considerando que, nesse mesmo estudo, não foi observada diferença no peso corporal desses animais, o maior peso observado nesse músculo pode não ser específico do aumento da produção de proteínas contráteis, mas de outros componentes que não foram avaliados (SCHIAFFINO et al., 2013).

Para o peso relativo (g/100 g de peso corporal) dos músculos sóleo e bíceps, não foi observada diferença entre os grupos de animais sedentários (SC, SJ1 e SJ2). Dessa forma, embora a atrofia muscular esteja associada ao jejum (ATTWATERS; HUGHES, 2022), o tempo e período de JI, utilizados nesse estudo, não promoveram perda de massa dos músculos sóleo e bíceps nos grupos de animais sedentários.

Entre os animais treinados (grupos TC, TJ1 e TJ2), não foi observada diferença no peso relativo dos músculos gastrocnêmio, bíceps e sóleo. A manutenção do peso desses músculos pode estar relacionada com os resultados da análise da progressão de cargas ao longo das semanas de treinamento, a qual não mostrou diferenças no desempenho físico (carga máxima sustentada) dos animais treinados (TJ1 e TJ2). É bem estabelecido que os estímulos mecânicos, como a progressão de carga no ER, são os responsáveis por promover a hipertrofia muscular (ATTWATERS; HUGHES, 2022) que não foi observada nesse estudo.

A análise morfométrica mostrou que o diâmetro das fibras dos músculos sóleo e bíceps não foi afetado pelo JI, nos animais sedentários (SC, SJ1 e SJ2), e pelo JI associado ao ER, nos animais treinados (TC, TJ1 e TJ2). Para o músculo gastrocnêmio, observou-se um maior diâmetro das fibras no grupo SJ2 em comparação ao seu controle (SC). Nos animais treinados, o diâmetro das fibras do músculo gastrocnêmio foi semelhante entre os grupos TC, TJ1 e TJ2. Os animais do grupo SJ2 realizaram jejum no período diurno, ou seja, sincronizado com o ciclo biológico da espécie. No entanto, o consumo alimentar dos animais do grupo SJ2 não diferiu do seu respectivo controle (SC). Assim, o maior diâmetro das fibras musculares no grupo SJ2 pode estar associado a um mecanismo de crescimento compensatório das fibras musculares em resposta ao jejum, processo bem documentado na literatura (HORNICK et al., 2000). Quando o animal em jejum é

realimentado, a secreção de insulina é acentuadamente aumentada e as concentrações plasmáticas do hormônio do crescimento (GH) permanecem altas. Esta situação provavelmente permite que mais nutrientes sejam utilizados para os processos de crescimento (HORNICK et al., 2000). No entanto, o aumento do diâmetro das fibras do músculo gastrocnêmio dos animais do grupo SJ2 não refletiu no aumento no peso do músculo desses animais.

Conclusões

Nesse estudo, o jejum de 12 horas não promoveu atrofia muscular. Entre os animais sedentários, o peso do músculo gastrocnêmio foi maior no grupo SJ1 em relação ao seu controle (SC), o que pode não ser específico do aumento da produção de proteínas contráteis. O diâmetro das fibras do músculo gastrocnêmio foi maior no grupo SJ2 em relação ao controle SC, o que pode estar associado a um mecanismo de crescimento compensatório das fibras musculares em resposta ao jejum. A associação entre o JI e ER nos animais treinados não influenciou no peso dos músculos avaliados e no diâmetro das fibras.

Agradecimentos

Agradeço ao programa PIBIC/CNPq-FA-UEM pela bolsa concedida

Referências

ATTWATERS, M.; HUGHES, S.M. Cellular and molecular pathways controlling muscle size in response to exercise. **The FEBS Journal**, v. 289, p. 1428–1456, 2022.

HORNICK, J. L.; VAN-EENAEMEA, C.; GE´RARDA, O.; DUFRASNEB, I.; ISTASSEA, L. Mechanisms of reduced and compensatory growth. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 19, p. 121–132, 2000.

KEENAN, S., COOKE, M.B., BELSKI, R. The effects of intermittent fasting combined with resistance training on lean body mass: a systematic review of human studies. **Nutrients**, v. 12, p. 2349, 2020.

PATTERSON, R.E; SEARS, D.D. Metabolic effects of intermittent fasting. **Annual Review of Nutrition**, v. 37, p. 371-393, 2017.

SCHIAFFINO, S.; DYAR, K. A.; CICILIOT, S.; BLAAUW, B.; SANDRI, M. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. **The FEBS Journal**, v. 280, p. 4294-4314, 2013.