

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

DÉBORA DE CÁSSIA DA SILVA

**EFEITOS DO ÓLEO DE COCO E DO EXERCÍCIO EM
ESTEIRA SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E
METABÓLICOS DE RATOS *WISTAR* JOVENS SUBMETIDOS
A ESTRESSE DE CONTENÇÃO**

RECIFE
2017

DÉBORA DE CÁSSIA DA SILVA

**EFEITOS DO ÓLEO DE COCO E DO EXERCÍCIO EM ESTEIRA SOBRE
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E METABÓLICOS DE RATOS *WISTAR*
JOVENS SUBMETIDOS A ESTRESSE DE CONTENÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição, área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Ângela Amâncio dos Santos

Coorientadora: Profa. Dra. Luciana Maria Silva de Seixas Maia

Colaboradora: Profa. Dra. Manuella Batista-de-Oliveira Hornsby

RECIFE

2017

Catalogação na fonte
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4-1662

S586e Silva, Débora de Cássia da.
Efeitos do óleo de coco e do exercício em esteira sobre parâmetros comportamentais e metabólicos de ratos Wistar jovens submetidos a estresse de contenção / Débora de Cássia da Silva. – 2017.
71 folhas : il. ;30 cm.

Orientadora: Ângela Amâncio dos Santos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2017.
Inclui referências e anexos.

1. Óleo de Palmeira. 2. Exercício. 3. Ratos Wistar. 4. Memória Episódica. 5. Ansiedade. I. Santos, Ângela Amâncio dos. (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2017-137)

DÉBORA DE CÁSSIA DA SILVA

**EFEITOS DO ÓLEO DE COCO E DO EXERCÍCIO EM ESTEIRA SOBRE
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E METABÓLICOS DE RATOS *WISTAR*
JOVENS SUBMETIDOS A ESTRESSE DE CONTENÇÃO**

Dissertação aprovada em 20 de fevereiro de 2017.

Profa. Dra. Elizabeth do Nascimento
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Raquel da Silva Aragão
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira
Universidade Federal de Pernambuco

RECIFE
2017

*Dedico este trabalho aos meus pais
Maria do Carmo e Degival, meus
maiores incentivadores, pelo carinho,
dedicação e exemplo de vida. Vivemos
esta jornada juntos, portanto, a
conquista não é só minha, é nossa.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, meu PAI ETERNO, por ter me concedido o privilégio de realizar este curso, por me abençoar e guiar cada passo meu em tudo que eu faço. Sem o consentimento divino nada disso seria possível.

A **Jesus Cristo e à minha Mãe Rainha**, pela iluminação e proteção em todos os momentos da minha vida.

Aos **meus pais, minha avó Maria, demais familiares e amigos** pelas orações e palavras de incentivo nos momentos difíceis, pelo carinho e apoio incondicional. Agradeço pela satisfação que demonstram a cada conquista minha.

Às minhas orientadoras, professoras **Ângela Amâncio e Luciana Maia** e à nossa colaboradora que foi a responsável por iniciar o projeto que resultou nesta dissertação, professora **Manuella B. O. Hornsby**. Agradeço a todas pelos ensinamentos, pela dedicação e pela presteza no auxílio às atividades desenvolvidas ao longo das etapas de realização deste trabalho.

À minha companheira de batalha e amiga **Maryane Tavares**. Deus é perfeito e sabe todas as coisas ao nos colocar para trabalhar juntas e compartilhar momentos de alegria e dificuldade, nos apoiando e sempre confiantes de que tudo daria certo.

Às nossas estagiárias dedicadas, **Camila Karina e Camila Vilela**, que tanto contribuíram para a realização das atividades durante o período experimental.

Às nossas companheiras de grupo de pesquisa, as queridas **Laís Costa, Patrícia Fortes e Janatar Stella**, pelo auxílio e ensinamentos necessários para a realização dos experimentos. Com elas aprendi a importância de ser solidária com os que compartilham as mesmas experiências que as nossas.

Ao professor **Rubem Guedes e ao grupo do LAFINNT**, pelo apoio não só em relação à infraestrutura que foi fundamental para a realização deste trabalho, mas

também pela gentiliza, assistência prestada e pelo aprendizado a mim proporcionado durante nossa convivência.

Ao colaborador professor **Eduardo Lira e sua equipe**, pela parceria nas atividades desenvolvidas.

Aos meus companheiros de curso de mestrado, em especial aos amigos tão queridos que tive o prazer de conhecer através do curso **Helânia Dantas, Evane Moisés, Letícia Dinegri, Maryane Tavares, Camila Chagas e Regina Benevides**. Sem eles a jornada não seria a mesma, cheia de bom humor e apoio.

Ao **Programa de Pós-graduação em Nutrição da UFPE** e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq**, pela colaboração e auxílio durante esses dois anos de curso.

Ao veterinário do Departamento de Nutrição/UFPE, Dr. **Edeones França**, pelo suporte técnico durante os experimentos, pelo cuidado e criação dos animais e dedicação à sua profissão. Agradeço também aos funcionários dedicados à manutenção do biotério.

À **equipe do Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética – LNED** pela cedência do espaço físico e de materiais necessários para o desenvolvimento da pesquisa, e pela gentileza com a qual sempre nos trataram.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

**“TUDO POSSO NAQUELE QUE ME
FORTALECE.” (Filipenses 4,13)**

RESUMO

A ingestão nutricional durante a lactação exerce um papel relevante no desenvolvimento cerebral. Exercício, condições ambientais estressantes e o consumo de fontes lipídicas alternativas que podem afetar a função cerebral alertam para a necessidade de entender melhor seus mecanismos subjacentes. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da suplementação com óleo de coco (OC) durante a lactação – associado ou não ao exercício em esteira – sobre parâmetros comportamentais e metabólicos em ratos *Wistar* estressados. Dois grupos ($n = 24$) foram suplementados com OC (10 mL/kg/dia) ou solução veículo (V, água destilada e Cremophor® 0,009%) do 15º dia ao 45º dia de vida pós-natal. Os grupos foram subdivididos em sedentários (S) ou exercitados (Ex): OC&S ($n = 12$), OC&Ex ($n = 12$), V&S ($n = 12$), V&Ex ($n = 12$). Durante as quatro semanas de suplementação com OC, os grupos Ex foram submetidos a 30 min/dia (5 vezes por semana) de exercício em esteira e tiveram seus desempenhos mensurados a cada sessão de treino. A velocidade na esteira iniciou com 5m/min na primeira semana e foi aumentada gradualmente para 10 m/min, 15 m/min e 20 m/min nas três semanas seguintes. Ratos S foram colocados na esteira pelo mesmo período, porém a esteira permanecia desligada. Entre 46 e 54 dias de vida pós-natal, todos os ratos foram estressados através de contenção (20 min/dia), exceto nos dias de vida pós-natal 51 e 52. Ao final deste período, Teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE), Teste de Campo Aberto (TCA), Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO), murinometria e perfil lipídico foram analisados. Evolução ponderal, desempenho do exercício, murinometria e perfil lipídico não apresentaram diferenças significantes ($p > 0,05$). No LCE, o OC reduziu o índice de exploração dos braços abertos ($p = 0,02$). No TCA, o OC também induziu uma menor proporção de tempo na área central (OC&S versus OC&Ex, $p = 0,0075$). No TRO, todos os grupos realizaram o teste de maneira eficaz, uma vez que os ratos reconheceram o novo cenário ($p = 0,0001$, índice de discriminação maior que 60%). Suplementação com OC iniciada no período crítico de desenvolvimento encefálico exerceu um comportamento relacionado à ansiedade. O exercício modificou o desempenho dos ratos do grupo OC no TCA. Os dados contribuem para a compreensão dos efeitos do OC e Ex no estado nutricional, na memória e no comportamento semelhante à ansiedade, ressaltando a necessidade de compreender melhor como o consumo de OC, exercício e estresse durante o período crítico de desenvolvimento, podem afetar o funcionamento corporal e cerebral.

Palavras-chave: Óleo de coco. Exercício físico. Ratos *Wistar*. Memória episódica. Ansiedade.

ABSTRACT

Nutritional intake during lactation plays a relevant role in the brain development. Exercise, stressful environment and the consumption of alternative lipid sources that may affect brain function highlight the need to better understand their underlying mechanisms. The aim of this study was to investigate the effects of coconut oil (CO) supplementation during lactation - associated or not to treadmill exercise - on behavioral and metabolic parameters in stressed Wistar rats. Two groups ($n = 24$) were supplemented with CO (10 mL/kg/day) or vehicle solution (V, distilled water and Cremophor® 0.009%) from 15 to 45 days of postnatal life. The groups were subdivided into sedentary (S) or exercised (Ex): CO&S ($n = 12$), CO&Ex ($n = 12$), V&S ($n = 12$), V&Ex ($n = 12$). During the four weeks of supplementation, the Ex groups were subjected to 30 min/day (5 times a week) of treadmill exercise and their performances were measured at each session. The treadmill running speed started at 5 m/min in the first week and it was gradually increased to 10 m/min, 15 m/min and 20 m/min in the following three weeks. S rats were placed on the treadmill for the same period, but the treadmill remained off. Between 46 and 54 days of postnatal life, all rats were stressed by restraint (20 min/day), except on postnatal days 51 and 52. At the end of this period, the Elevated Plus Maze (EPM), Open Field Test (OFT), Object Recognition Test (ORT), murinometric data and lipid profile were analyzed. No significant differences were observed in body weight, exercise performance, murinometric data and lipid profile ($p > 0.05$). In EPM, CO reduced the exploration index of the opened arms ($p = 0.02$). In OFT, CO also induced a lower proportion of time in the central area (CO&S versus CO&Ex, $p = 0.0075$). At ORT, all groups performed the test effectively, since rats recognized the novel scenario ($p = 0.0001$, object discrimination indexes were greater than 60%). Supplementation with CO initiated in the critical period of brain development led to an anxiety-related behavior. Exercise modified the performance of CO rats in the OFT. Data contribute to the understanding of the CO and Ex effects on nutritional state, memory and anxiety-like behavior, highlighting the need to better understand how CO consumption, exercise and stress during the critical period of development may affect body and brain function.

Keywords: Coconut oil. Physical exercise. Wistar rats. Episodic memory. Anxiety.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho Experimental	35
Figura 2 – Animal posicionado dentro do contensor	38
Figura 3 – Esquema do protocolo de estresse de contenção.....	38
Figura 4 – Pesos corporais dos grupos experimentais	45
Figura 5 – Avaliação murinométrica dos animais jovens estressados, realizada entre 60 e 63 dias de vida pós-natal	46
Figura 6 – Perfil lipídico de animais aos 60-63 dias de vida.....	47
Figura 7 – Desempenho físico dos ratos durante o treino em esteira.....	48
Figura 8 – Desempenho dos ratos no teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	49
Figura 9 – Teste de Campo Aberto (TCA) de animais suplementados ou não com óleo de coco extravirgem no início da vida e submetidos a estresse de contenção	50
Figura 10 – Desempenho dos animais jovens estressados através de contenção no Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO), de acordo com a forma e a localização espacial (primeiro dia e segundo dia da tarefa, respectivamente).....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros do treinamento físico.....	36
Tabela 2 – Medida de treinabilidade para avaliação do desempenho do rato na esteira.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
AGCM	ácidos graxos de cadeia média
AGMI	ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	ácidos graxos poli-insaturados
AGS	ácidos graxos saturados
ANOVA	Análise de Variância
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro (<i>brain-derived neurotrophic factor</i>)
CA	circunferência abdominal
CA1	corno de Ammon (região 1)
CFA	comprimento focinho-ânus
cm	centímetros
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CRH	hormônio liberador de corticotrofina (<i>corticotropin-releasing hormone</i>)
CT	circunferência torácica
DHA	ácido docosahexaenoico (<i>docosahexaenoic acid</i>)
dL	decilitro
EPA	ácido eicosapentaenoico (<i>eicosapentaenoic acid</i>)
EPM	erro padrão da média
Ex	exercitado(s) em esteira
g	gramas
GABA_A	receptor ácido gama-aminobutírico-A
HPA	hipotálamo-pituitária-adrenal
HDL	lipoproteína de alta densidade (<i>high-density lipoprotein</i>)
IMC	Índice de Massa Corporal
kg	quilograma
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LDL	lipoproteína de baixa densidade (<i>low-density lipoprotein</i>)
OC	óleo de coco
m	metros
mL	mililitros
mg	miligramas
min	minuto(s)
mm	milímetros
p.	página
rpm	rotações por minuto
s	segundos
S	sedentário(s)
TCA	Teste de Campo Aberto
TCM	triglicerídeos de cadeia média
TG	triglicerídeos
TRO	Teste de Reconhecimento de Objetos
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
USA	Estados Unidos da América (<i>United States of America</i>)
V	solução veículo (água destilada e Cremophor® 0,009%)
VEGF	fator de crescimento do endotélio vascular (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
VLDL	lipoproteína de muito baixa densidade (<i>very-low-density lipoprotein</i>)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Óleo de coco e seus componentes: implicações sobre metabolismo, memória e ansiedade.....	17
2.2 Efeitos do exercício físico em esteira sobre metabolismo, memória e ansiedade.....	22
2.3 Repercussões do estresse crônico através de contenção em estudos experimentais	25
2.4 Utilização de modelos experimentais para avaliação de parâmetros comportamentais	29
3. HIPÓTESES	32
4. OBJETIVOS.....	33
4.1 Objetivo geral	33
4.2 Objetivos específicos.....	33
5. MÉTODOS	34
5.1 Aspectos éticos e delineamento experimental	34
5.2 Acompanhamento da evolução ponderal	36
5.3 Procedimentos gerais para o treinamento físico	36
5.4 Protocolo de estresse induzido	37
5.5 Análise comportamental.....	39
5.5.1 Labirinto em Cruz Elevado (LCE).....	39
5.5.2 Teste de Campo Aberto (TCA).....	40
5.5.3 Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO)	41
5.6 Avaliação murinométrica.....	42
5.7 Determinação do perfil lipídico	42
5.8 Eutanásia	43
5.9 Análise estatística	43
6. RESULTADOS	45
6.1 Evolução ponderal, dados murinométricos e perfil lipídico.....	45
6.2 Desempenho físico na esteira	48
6.3 Avaliação comportamental.....	49
6.3.1 Testes de Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e Campo Aberto (TCA).....	49
6.3.2 Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO)	51
7. DISCUSSÃO	53
8. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS.....	59
ANEXO A – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE	71

1. INTRODUÇÃO

Durante as fases iniciais da vida ocorrem períodos críticos no desenvolvimento cerebral, caracterizados pelo pico de atividade de determinados eventos fisiológicos cerebrais (neurogênese, gliogênese, mielinização, migração e diferenciação celulares) e maior rapidez na progressão destes eventos (MORGANE et al., 1993). Nesse momento, o sistema nervoso encontra-se mais suscetível a demandas ambientais, como a nutrição (DOBBING, 1968; MORGANE et al., 1993). É possível comparar a sequência na ocorrência destes eventos entre espécies, embora o desenvolvimento de regiões cerebrais em roedores acontece em dias *versus* semanas e meses em humanos (RICE e BARONE JUNIOR, 2000).

Períodos críticos do desenvolvimento cerebral em humanos têm início na fase pré-natal, no último trimestre gestacional, e perduram até os dois primeiros anos de vida pós-natal (SMART e DOBBING, 1971). No rato albino, modelo animal mais utilizado para estudos experimentais na área, tais períodos ocorrem durante a gestação, estendendo-se ao longo das três semanas correspondentes à lactação (MORGANE et al., 1993). Embora em roedores, o desenvolvimento neural seja mais considerável na fase pós-natal (RICE e BARONE JUNIOR, 2000). Ademais, outro período considerado crítico, neste caso para a maturação cerebral, é a adolescência, pois é caracterizada por modificações neuroanatômicas (WILLING e JURASKA, 2015). Episódios ocorridos em fases iniciais da vida podem levar a alterações, se não permanentes, pelo menos duradouras (HERNÁNDEZ et al., 2008; BATISTA-DE-OLIVEIRA et al., 2012; KOROSI et al., 2012; WILLING e JURASKA, 2015).

A nutrição exerce um grande impacto no desenvolvimento das estruturas e funções cerebrais (SCHWEIGERT; SOUZA; PERRY, 2009). Assim, uma nutrição adequada no início da vida de mamíferos é considerada fundamental para assegurar o desenvolvimento normal do cérebro (ROCHA-DE-MELO et al., 2006). Neste contexto, é crescente o interesse em estudar os efeitos da suplementação com fontes lipídicas sobre a estrutura e função cerebral, bem como, sobre processos metabólicos, considerando que o sistema nervoso é rico em lipídios que desempenham funções importantes como componentes estruturais das membranas, na mielinização e na sinalização; e a nutrição é capaz de promover alterações na

composição de ácidos graxos das membranas cerebrais (BOURRE, 1982). Além disso, os lipídios servem como fontes de armazenamento de energia corporal (FAHY et al., 2011).

Adicionalmente, o exercício físico é outro fator ambiental que parece promover efeitos benéficos sobre sistemas orgânicos e tem sido investigado pela comunidade científica (SCOPEL et al., 2006; BAPTISTA et al., 2008; SALIM et al., 2010; CAMERON et al.; 2012; ALVES et al., 2015; KIM et al., 2015; MOTAGHINEJAD et al., 2015; RESENDE et al., 2016). Evidências sugerem que a atividade física, realizada no início da vida, atua como um fator benéfico para o sistema nervoso diante de distúrbios nutricionais, como os induzidos por dietas restritas em calorias (DE SANTANA MUNIZ et al., 2013). A prática de exercício físico pode influenciar a plasticidade e a função cerebral em condições homeostáticas ou não (RACHETTI et al., 2013), bem como pode induzir modificações neuroplásticas na formação hipocampal durante a adolescência (DA SILVA et al., 2010) e desempenhar efeitos metabólicos importantes em estágios iniciais da vida (PAES; MARINS; ANDREAZZI, 2015).

Em contrapartida, o estresse é considerado um fator ambiental que pode exercer efeitos deletérios sobre respostas orgânicas (MARGIS et al., 2003; FERRAZ et al., 2011; SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012; GIBNEY et al., 2014; LEE e NOH, 2015). Os sistemas neuroendócrino, cardiovascular, imunitário e gastrointestinal são os principais alvos relacionados a alterações funcionais consequentes à exposição ao estresse (BRUDER-NASCIMENTO et al., 2015). Dentre indivíduos expostos a estresse psicológico na infância, há um aumento da morbidade e mortalidade por doenças crônicas relacionadas ao processo de envelhecimento (MILLER; CHEN; PARKER, 2011). Em modelos animais, manipulações realizadas no início de vida têm demonstrado a indução de modificações persistentes nos aspectos da função cerebral, inclusive resiliência para insultos subsequentes como o estresse (SINGH-TAYLOR et al., 2015).

Logo, torna-se interessante investigar alternativas que minimizem os efeitos prejudiciais do estresse no início da vida, tais como o uso de produtos com propriedades funcionais e a prática de exercício físico. Um produto natural que vem sendo estudado nos últimos anos é o óleo de coco (OC) (NEVIN e RAJAMOHAN, 2004; ASSUNÇÃO et al., 2009; BORBA et al., 2010; IPPAGUNTA et al., 2011; LIAU et al., 2011; ALVES et al., 2015; CARDOSO et al., 2015; RESENDE et al., 2016).

Este óleo apresenta ácidos graxos saturados (AGS), sendo o ácido láurico o de maior quantidade, e outros ácidos graxos de cadeia média (AGCM) em sua composição (ORSAVOVA et al., 2015). O OC apresenta também compostos antioxidantes, como polifenóis e vitamina E (ARUNIMA e RAJAMOHAN, 2013).

A gordura do coco quando suplementada em dieta consumida por ratas *Wistar* durante a gestação e a lactação, influenciou respostas comportamentais e hormonais na prole adulta, inclusive no grupo de animais que sofreu um tipo de estresse pré-natal (BORSONELO; SUCHECKI; GALDURÓZ, 2011). Além disso, a suplementação com OC virgem apresentou potencial antiestresse, antioxidante e hipolipemiante em camundongos jovens submetidos a estresse (YEAP et al., 2015). Em paralelo, a relação entre OC e memória tem sido alvo de interesse devido à provável contribuição dos corpos cetônicos, produzidos a partir dos AGCM, na melhora de determinadas condições clínicas que comprometem a memória e a cognição (HENDERSON e POIRIER, 2011; DOTY, 2012, FERNANDO et al., 2015).

Em relação ao exercício físico, quando realizado regularmente, este pode exercer efeitos ansiolítico e antioxidante, melhorando danos oxidativos orgânicos induzidos por estresse (ÇAKIR et al., 2010). Além disso, o exercício físico está relacionado à promoção de bem-estar psicológico (SALMON, 2001), melhora no desempenho da memória (DIEDERICH et al., 2017), bem como pode promover alterações benéficas no perfil lipídico (GOUTIANOS et al., 2015). Portanto, de acordo com dados da literatura, ações fisiológicas exercidas pelo exercício físico podem atuar de maneira sinérgica a ações atribuídas ao referido óleo.

Neste contexto, o exercício físico, quando associado ao consumo de óleo de coco, trata-se de uma estratégia natural e na maioria das vezes acessível, uma vez que o coco é um alimento produzido em larga escala em nossa região. Embora estudos demonstrem que OC e exercício sejam benéficos a diversos aspectos fisiológicos em fases distintas de vida, os mecanismos subjacentes são pouco conhecidos. Dessa forma, este estudo experimental busca esclarecimentos acerca da suplementação com OC associada ao exercício físico em esteira, realizados no início da vida, na prevenção/minimização de efeitos deletérios do estresse sobre ansiedade, memória episódica, murinometria e perfil lipídico em ratos *Wistar* jovens. Este trabalho pode oferecer subsídios para estudos futuros a partir dos resultados obtidos aqui.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Óleo de coco e seus componentes: implicações sobre metabolismo, memória e ansiedade

O coco (*Cocos nucifera* Linn: Arecaceae) é um fruto de uma árvore cultivada principalmente em regiões tropicais e subtropicais, que além do seu valor nutricional possui diversas propriedades medicinais: antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiparasitário, antidermatófita, antioxidante, anti-inflamatório, hipoglicemiante, hepatoprotetor e imunoestimulante (DEBMANDAL e MANDAL, 2011; LIMA et al., 2015). O OC virgem e o extravirgem são obtidos da polpa do coco fresco, através de processamento úmido, com temperatura controlada e sem qualquer refinamento, diferente do processamento tradicional para a obtenção do óleo a partir da polpa seca (copra) e sem controle da temperatura (DOTY, 2012; ARUNIMA e RAJAMOHAN, 2013). O método de extração dos óleos virgem e extravirgem promove odor e sabor característicos, além de manter ou aumentar os componentes biologicamente ativos disponíveis no produto final (DOTY, 2012; ARUNIMA e RAJAMOHAN, 2013).

Em relação à composição lipídica do OC, 92% correspondem aos AGS, e o maior conteúdo é de ácido láurico (C12:0), cerca de 48%, embora outros ASG estejam presentes em menores proporções, tais como os ácidos caproico (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0), mirístico (C14:0) e esteárico (C18:0) (ORSAVOVA et al., 2015). Por fim, fazem parte da sua composição os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI) da família ômega-6, em proporções inferiores comparados aos saturados, correspondendo a 6,2% e 1,6%, respectivamente (ORSAVOVA et al., 2015).

Dentre os nutrientes, os lipídios são considerados um dos mais importantes para os seres humanos (ORSAVOVA et al., 2015). Estes consistem de ácidos graxos classificados segundo o comprimento e o número de duplas ligações da cadeia de carbono; e de acordo com a configuração das duplas ligações. Os ácidos graxos podem ser divididos AGS e insaturados (AGMI e AGPI e *trans*), além do colesterol (SANTOS et al., 2013). A maioria dos lipídios, exceto os esteróis, possuem

cadeias laterais hidrofóbicas e grupos com cabeças polares em sua composição (MURO; ATILLA-GOKCUMEN; EGGERT, 2014).

Os lipídios são biomoléculas orgânicas compostas, insolúveis em água, e que apresentam uma série de funções no organismo: armazenamento de energia corporal, componentes estruturais de membranas celulares, mediadores em vias de sinalização (FAHY et al., 2011), constituintes importantes de compartimentos celulares (membrana nuclear, retículo endoplasmático, aparelho de Golgi e vesículas como endossomos e lisossomos); e assim como as proteínas, os lipídios podem exercer funções estruturais (estabilização de diferentes curvaturas de membranas) ou de sinalização (MURO; ATILLA-GOKCUMEN; EGGERT, 2014), além de desempenharem outras funções especializadas, como mediadores de inflamação (KIM et al., 2015; NOBRE et al., 2016; YUM; NA; SURH, 2016).

Diante do exposto, um papel relevante para funcionamento do organismo é desempenhado pelos lipídios dietéticos. Entretanto, evidências têm demonstrado a relação entre o consumo de gordura saturada, gordura hidrogenada (*trans*) e colesterol com efeitos prejudiciais ao cérebro e declínio cognitivo (FREEMAN et al., 2011), prejuízos na morfologia hipocampal e na memória (GRANHOLM et al., 2008), além de desequilíbrio deletério de frações lipídicas sanguíneas, podendo resultar em aumento no risco de desenvolvimento de doença cardiovascular (GRANHOLM et al., 2008; FREEMAN et al., 2011; SANTOS et al., 2013).

O consumo de dieta com elevados teores de gordura pode promover expressão exagerada de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo, que pode acarretar em deterioração da memória espacial de ratos jovens (BOITARD et al., 2014). Além disso, quando este tipo de dieta associado a consumo excessivo de carboidratos, pode levar à obesidade e a outros sintomas característicos de síndrome metabólica em ratos (CAMERON et al. 2012). Em síntese, os prejuízos acarretados pela ingestão excessiva de certos lipídios dietéticos contribuem para disfunções orgânicas.

Em contrapartida, estudos relatam efeitos benéficos relacionados ao tipo de gordura saturada e aos compostos antioxidantes presentes no OC virgem e extravirgem. Segundo Marten, Pfeuffer e Schrezenmeir (2006), os efeitos sobre composição corporal associados ao óleo de coco podem ser atribuídos aos AGCM, pois ácidos graxos que possuem 6 a 10 carbonos em sua cadeia – ácido graxo com 12 carbonos na cadeia por vezes é incluso nesta categoria – apresentam habilidade

em reduzir peso corporal e, particularmente, gordura corporal (MARTEN; PFEUFFER; SCHREZENMEIR, 2006). Se administrado em quantidades moderadas, os AGCM são mais eficazes em reduzir níveis de lipídios durante o jejum do que AGMI ou AGPI (MARTEN; PFEUFFER; SCHREZENMEIR, 2006). Os AGCM são facilmente absorvidos pelo intestino e ao se movem rapidamente para o fígado, fornecem energia para o organismo e apenas uma pequena parte se torna gordura de armazenamento corporal (DOTY, 2012). Desta maneira, AGCM são considerados uma excelente fonte de energia para o desempenho físico (ALVES et al., 2015).

Estudo realizado por Borba et al. (2010) mostrou que dieta cuja fonte de gordura era OC reduziu o peso corporal em ratos, comparada à dieta padrão com óleo de soja, ambos nas mesmas quantidades em cada tipo de dieta. É importante ressaltar que dieta composta apenas por OC é deficiente em ácidos graxos essenciais (ácidos alfa-linoleico e alfa-linolênico) e tal deficiência pode acarretar prejuízos a sistemas orgânicos, em particular ao sistema nervoso (BORBA et al., 2010). Quando associado a ácido linoléico conjugado, que se refere a uma mistura de isômeros do ácido linoleico (C18:2 n-6), o OC apresenta efeito redutor da gordura corporal e aumento na taxa de lipólise em roedores (IPPAGUNTA et al., 2011).

O metabolismo hepático dos AGCM pode originar cetonas ou corpos cetônicos (ácidos orgânicos de cadeia curta: beta(β)-hidroxibutirato e acetoacetato, além da acetona que é produto da degradação do acetoacetato) em situações de baixa disponibilidade de carboidratos (HENDERSON e POIRIER, 2011; FERNANDO et al., 2015). Os corpos cetônicos são capazes de ultrapassar a barreira hematoencefálica e quando absorvidos pelas células nervosas, convertem-se em acetilcoenzima A, que entra na mitocôndria e participa das reações de produção de energia, tornando-se uma fonte energética alternativa para o cérebro na deficiência de glicose (FERNANDO et al., 2015).

Em estudo recente, Wang e Mitchell (2016) investigaram as consequências da ingestão, por ratos *Wistar* idosos, de dietas formuladas com triglicerídeos de cadeia média (TCM) compostos por AGCM de 8 ou 10 carbonos. Resultados demonstraram que o grupo que consumiu dieta composta por TCM (C10:0) apresentou melhora na memória avaliada através do teste de reconhecimento da identidade de objetos e ambas as dietas reduziram o peso corporal e melhoraram o desempenho dos animais no teste de reconhecimento social, em comparação à dieta controle (óleo de girassol). Os tratamentos com triglicerídeos de 8 e 10 carbonos tiveram efeitos

ligeiramente distintos na estabilidade sináptica, síntese proteíca e comportamento que podem ser independentes do nível cerebral de cetonas (WANG e MITCHELL, 2016).

Em paralelo, a comunidade científica tem mostrado interesse em investigar o papel dos AG sobre ansiedade. Estudos prévios demonstraram que a administração de uma mistura contendo oito ácidos graxos diferentes (ácidos C12:0 láurico, C14:0 mirístico, C16:0 palmítico, C16:1 palmitoleico, C18:0 esteárico, C18:1 *cis* oleico, C18:1 *trans* elaídico e C18:2 linoleico), identificados no fluido amniótico humano, colostrum e leite; produz efeito do tipo ansiolítico, em ratos *Wistar*, comparado a drogas ansiolíticas (RODRÍGUEZ-LANDA et al., 2013; CONTRERAS et al., 2014). O potencial ansiolítico desta mistura estaria relacionado a efeitos exercidos sobre os canais de cloreto do receptor ácido gama-aminobutírico-A (GABA_A) que participam nas ações de substâncias ansiolíticas (RODRÍGUEZ-LANDA et al., 2013; CONTRERAS et al., 2014). Muitos dos AG presentes na mistura são componentes dos óleos de coco virgem e extravirgem, sugerindo que estes óleos poderiam desempenhar efeito semelhante.

Além dos AGCM, o óleo de coco apresenta em sua composição compostos antioxidantes, tais como polifenóis e vitamina E (ARUNIMA e RAJAMOHAN, 2013). Os polifenóis e a vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis) encontram-se em quantidades superiores no OC virgem em comparação a outros óleos (copra, oliva e girassol). Estes compostos contribuem para o aumento dos níveis de atividade de enzimas antioxidantes, melhorando o estado antioxidante e, consequentemente, atuando na prevenção de oxidação lipídica e proteica (ARUNIMA e RAJAMOHAN, 2013). Os principais ácidos fenólicos encontrados no óleo de coco são: ácido p-cumárico, ácido vanílico, ácido protocatecuico, ácido ferúlico, ácido siríngico, ácido cafeico e catequina (MARINA; MAN; AMIN, 2009).

Em relação aos polifenóis presentes no OC, o ácido ferúlico, que representa um destes compostos, pode exercer atividade antioxidante, anti-inflamatória e prevenir a agregação do peptídeo beta-amiloide (A β), envolvido na patogênese de distúrbios de memória e formação de placa amiloide, características principais da doença de Alzheimer (FERNANDO et al., 2015). O ácido p-cumárico é outro composto antioxidante presente no OC (FERNANDO et al., 2015). Devido à sua composição em AGCM e antioxidantes, o OC tem sido investigado como alternativa

na prevenção e no tratamento de doenças neurodegenerativas, agregando-lhe caráter terapêutico (DOTY, 2012; FERNANDO et al., 2015).

O potencial antioxidante do OC virgem e as repercussões benéficas sobre perfil lipídico sanguíneo foram relatados previamente por Nevin e Rajamohan (2004). Diante do exposto, é referido na literatura que ações benéficas promovidas pelo OC são atribuídas a sua composição de ácidos graxos saturados de cadeia média (AGCM) e de polifenóis, inclusive como um óleo funcional antiestresse e antioxidante (YEAP et al., 2015).

Estudos com seres humanos têm investigado prioritariamente a influência da ingestão de OC sobre parâmetros metabólicos (ASSUNÇÃO et al., 2009; LIAU et al., 2011; CARDOSO et al., 2015). A suplementação com 30 mL/dia de OC virgem está relacionada à diminuição da circunferência de cintura, sem promover alterações no perfil lipídico em adultos jovens (LIAU et al., 2011). Ademais, Assunção et al. (2009) observaram aumento dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol) e redução da circunferência de cintura em mulheres adultas após o tratamento com 30 mL/dia de OC, associado a dieta hipocalórica e exercício físico, durante 12 semanas. Quando administrado em quantidades menores (13 mL/dia), o OC extravirgem também foi capaz de promover reduções na circunferência da cintura e no peso corporal, e aumento das concentrações séricas de HDL-colesterol em indivíduos com idade mais avançada e portadores de doenças cardiovasculares com comorbidades associadas (CARDOSO et al., 2015).

O papel do OC e seus componentes sobre memória e cognição é alvo de investigação conforme mencionado anteriormente. Trabalho recente demonstrou que idosos com doença de Alzheimer, suplementados com 40 mL/dia de OC extravirgem durante 21 dias, apresentaram melhora cognitiva dependente do sexo, da presença ou ausência de diabetes e do grau de demência (YANG et al., 2015). Em síntese, tais resultados sugerem que o OC, em humanos, pode exercer ações metabólicas benéficas sob condições fisiológicas e efeito terapêutico sob condições patológicas. Entretanto, são necessárias mais informações acerca das ações do OC sobre parâmetros comportamentais de maneira ampla.

Além do OC e seus componentes, outro fator que demonstra potencialidades semelhantes, exercendo ações benéficas sobre metabolismo e determinadas funções cerebrais relacionadas ao comportamento, é o exercício físico.

2.2 Efeitos do exercício físico em esteira sobre metabolismo, memória e ansiedade

Os termos atividade física, exercício físico e aptidão física são comumente utilizados como sinônimos, entretanto apresentam conceitos diferentes. A atividade física é qualquer movimento corporal que os músculos esqueléticos realizam, resultando em gasto energético, tais como, exercícios de condicionamento e atividades ocupacionais, esportivas, domésticas ou outras (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985). O exercício físico é um componente da atividade física que costuma ser planejado e realizado de maneira estruturada e repetitiva, cujo objetivo final ou intermediário é o progresso ou manutenção da aptidão física (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985). Por sua vez, a aptidão física envolve uma série de atributos que podem ser medidos através de testes específicos e que são relacionados à saúde ou à habilidade (CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985).

Pesquisas que envolvem exercício físico geralmente são conduzidas utilizando modelos experimentais, especialmente ratos, devido a características como: tamanho, fácil manipulação e apresentação de boas respostas ao exercício (GOBATTO et al., 2001). Em estudos com modelos animais, os protocolos de exercício devem ser reproduzíveis no que diz respeito a situações que ocorrem com seres humanos (CONTARTEZE et al., 2008). Dentre os tipos de exercício mais utilizados nos estudos experimentais, a corrida em esteira se destaca, pois quando usada para ratos, a intensidade do exercício é determinada e pode ser aumentada pelo simples ajuste da velocidade (CONTARTEZE et al., 2008). Trata-se de uma modalidade de exercício involuntário, pois o animal é compelido a correr. Além disso, envolve certo grau de estresse inerente (MELLO et al., 2008).

A corrida em esteira motorizada está associada ao aumento da taxa metabólica e do consumo máximo de oxigênio, induzindo um estresse metabólico no animal decorrente da resposta à maior demanda de oxigênio para o trabalho da musculatura esquelética (BAPTISTA et al., 2008). De acordo com Baptista et al. (2008), alguns parâmetros são associados a adaptações ao exercício: perfil lipídico, peroxidação lipídica e modulação do sistema serotoninérgico periférico. Exercício em esteira realizado por ratos está relacionado a: (1) aumento do HDL-colesterol; (2) menores concentrações plasmáticas de malondialdeído, indicador de peroxidação

lipídica na circulação, sugerindo o papel deste tipo de exercício sobre o equilíbrio oxidativo e; (3) incremento no teor de serotonina plasmática e plaquetária, uma importante mediadora da resposta cardiovascular (BAPTISTA et al., 2008).

Diante de um modelo de síndrome metabólica induzida por dieta com teores elevados de carboidratos e gordura, o exercício em esteira realizado por ratos, foi capaz de reduzir massa corporal, circunferência abdominal (CA), concentrações de lipídios no plasma, e de exercer outros efeitos metabólicos (CAMERON et al., 2012). Além de promover respostas metabólicas importantes, exercício em esteira praticado sob intensidade moderada parece possuir propriedade neuroprotetora, reduzindo dano em células hipocampais de ratos, induzido por modelo de isquemia *in vitro* (SCOPEL et al., 2006).

O hipocampo parece ser uma região cerebral particularmente beneficiada pela prática de exercício, inclusive durante a adolescência, como relatado por Uysal et al. (2015). Exercício em esteira realizado por ratos jovens está relacionado a aumentos nos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) e fator de crescimento do endotélio vascular (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) no hipocampo e córtex pré-frontal (UYDAL et al., 2015). O BDNF tem sido considerado um importante regulador da sinaptogênese, bem como de mecanismos de plasticidade sináptica subjacentes à capacidade de aprendizagem e função da memória (CUNHA; BRAMBILLA; THOMAS, 2010). A família VEGF e seus receptores são reguladores essenciais da angiogênese e permeabilidade vascular (TAKAHASHI e SHIBUYA, 2005).

A relação entre exercício em esteira e memória foi investigada por Mello et al. (2008). Nesse estudo, o exercício crônico realizado por ratos *Wistar* facilitou uma medida importante da aprendizagem espacial no labirinto aquático de Morris (latência de escape), mas não outras medidas. Mello et al. (2008) sugeriram cautela ao interpretar os efeitos do exercício forçado sobre funções cognitivas, considerando a influência do estresse inerente ao exercício sobre uma parte destes efeitos.

Além de exercer ações benéficas sobre metabolismo e função cerebral, a prática regular de exercícios físicos aeróbicos tem sido relacionada à promoção de potencial ansiolítico e parece proteger o organismo contra ações deletérias do estresse sobre a saúde física e mental (SALMON, 2001). Exercício moderado em esteira se mostrou capaz de reduzir o estresse oxidativo em regiões cerebrais implicadas na resposta à ansiedade, atuando na prevenção de comportamento

semelhante à ansiedade em ratos (SALIM et al., 2010). Exercício moderado em esteira produziu redução de peso e efeitos benéficos em comportamentos semelhantes à ansiedade e à depressão, bem como minimizou prejuízos na memória e cognição, em modelo animal de transtorno de estresse pós-traumático (PATKI et al., 2014) e no tratamento com Metilfenidato, um estimulante neural cujo uso crônico pode causar danos em áreas cerebrais (MOTAGHINEJAD et al., 2015). Entretanto, os resultados do efeito ansiolítico do exercício em esteira são controversos (UYSAL et al., 2015). Entretanto, os resultados do efeito ansiolítico do exercício em esteira são controversos (UYSAL et al., 2015).

Em síntese, o exercício físico praticado em esteira parece atuar como um agente não farmacológico que exerce efeitos benéficos sobre funções metabólicas e cerebrais, refletidos na melhora de determinadas condições associadas a estas funções (SCOPEL et al., 2006; BAPTISTA et al., 2008; SALIM et al., 2010; CAMERON et al., 2012; PATKI et al., 2014). Dados da literatura têm reforçado a importância da prática de atividade física e do treinamento físico na melhora de ansiedade, depressão e estresse psicológico (LAVIE et al., 2011).

A respeito do estresse, é importante salientar que este faz parte da vida cotidiana. Tanto o estresse, quanto os hormônios associados a ele, podem produzir efeitos adaptativos em regiões cerebrais ao longo do ciclo da vida (MCEWEN, 2007). O estresse agudo pode ter efeitos benéficos, caracterizados, por exemplo, como melhora da memória (DE QUERVAIN; SCHWABE; ROOZENDAAL, 2017). Entretanto, o estresse crônico está mais relacionado com efeitos nocivos levando ao desenvolvimento de distúrbios emocionais e fisiológicos (FERRAZ et al., 2011; SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012; ZHANG e ROSENKRANZ, 2013).

2.3 Repercussões do estresse crônico através da contenção em estudos experimentais

De acordo com Hans Selye (1976, p. 53, tradução nossa), “estresse é a resposta não específica do corpo a qualquer demanda”. Este mesmo autor conceitua um estressor como “um agente que produz estresse a qualquer tempo” e a síndrome geral de adaptação (SGA) como “a representação do desenvolvimento cronológico da resposta aos estressores quando sua ação é prolongada. Consiste em três fases: a reação de alarme, o estágio de resistência e o estágio de exaustão” (SELYE, 1976, p. 53, tradução nossa).

O estresse parece ser apontado como elemento “pivot” relacionado a prejuízos na qualidade de vida, aumentando a incidência de distúrbios de origem nutricional e/ou neurofisiológica, refletindo negativamente na qualidade de vida e, em alguns casos, até na longevidade. Desta maneira, é importante analisar efeitos do estresse, em termos de alterações comportamentais e fisiológicas, que possam indicar ações prejudiciais ao estado de bem-estar individual (VON BORELL, 2001).

A resposta ao estresse é selecionada a partir dos componentes cognitivo (depende do tipo de percepção à situação ou ao estímulo, como ameaçadores ou não ameaçadores), comportamental (enfrentamento, evitação ou passividade) e fisiológico (MARGIS et al., 2003). As respostas neurofisiológicas a um agente estressor iniciam-se com a ativação do sistema nervoso simpático, que promove um rápido aumento das catecolaminas circulantes. A sequência de eventos envolve a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e o aumento da liberação, pelo hipotálamo, do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Este leva à secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) da pituitária anterior, que por sua vez, estimula a secreção de glicocorticoides pelas adrenais (MARGIS et al., 2003; FERRAZ et al., 2011). O hipotálamo e o tronco cerebral são considerados essenciais para respostas autonômicas e neuroendócrinas a estressores (MCEWEN, 2007).

Eventos ocorridos no início da vida influenciam padrões de emotividade e de responsividade ao estresse ao longo da vida e alteraram o ritmo de envelhecimento cerebral e corporal (MCEWEN, 2007). O estresse é capaz de induzir o remodelamento estrutural no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal, promovendo alterações de respostas comportamentais e fisiológicas (MCEWEN, 2007). Além

disso, a exposição ao estresse induz a geração exacerbada de radicais livres de oxigênio (SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012). Caso a resposta ao estresse promova uma ativação fisiológica frequente e duradoura ou intensa, pode ocasionar o desenvolvimento de transtornos psicofisiológicos que predispõem o surgimento de transtornos mentais como ansiedade, dentre outros (MARGIS et al., 2003).

Segundo Buynitsky e Mostofsky (2009), estresse psicológico inclui uma resposta emocional e/ou perceptual a um estímulo, ao passo que estresse oxidativo envolve dano biológico tecidual. Os métodos de estresse físico podem incluir falta de comida e água, manipulação, procedimentos cirúrgicos (BUYNITSKY e MOSTOFSKY, 2009) e exercício físico. Exercício agudo de natação, em ratos *Wistar* adultos, foi capaz de alterar respostas no eixo HPA, aumentando as concentrações séricas de ACTH e corticosterona (CONTARTEZE et al., 2008). Níveis de corticosterona também foram aumentados quando animais foram submetidos à corrida em esteira, sendo as diferenças mais evidentes com o incremento da intensidade do exercício, ou seja, 25% acima do máximo estado estável do lactato (CONTARTEZE et al., 2008).

Modelos animais de estresse são comumente utilizados, pois a extração para seres humanos parece razoável e representativa quanto aos efeitos do estresse encontrados em outras espécies (BUYNITSKY e MOSTOFSKY, 2009). O estresse através de contenção/restrição é o modelo animal preferido, pois é um procedimento considerado simples, indolor, não provoca debilidade duradoura, e embora seja um procedimento físico, constitui um importante modelo de estresse psiquiátrico (BUYNITSKY e MOSTOFSKY, 2009). Vale ressaltar que há casos nos quais a contenção e a imobilização não produzem resposta ao estresse, pois um pico pode ser alcançado e o animal se adapta, cessando ou atenuando a resposta ao estresse, e isto pode ocorrer devido intensidade e duração insuficientes da contenção (BUYNITSKY e MOSTOFSKY, 2009).

Diversos estudos, utilizando modelos experimentais, têm investigado as repercussões do estresse de contenção sobre aspectos comportamentais e fisiológicos. Exposição prolongada a estresse de contenção – 6 horas por dia durante 28 dias – tem sido relacionada ao desenvolvimento de comportamentos semelhantes à depressão e à ansiedade em ratos (CHIBA et al., 2012). Um protocolo de estresse de contenção crônica de 2 horas diárias por 7 dias

consecutivos, também está associado a comportamento semelhante à ansiedade em ratos (LEE e NOH, 2015). É postulado que o estresse crônico tem um papel significante em distúrbios como ansiedade e depressão e que tais distúrbios estão relacionados a alterações funcionais da amígdala e do córtex pré-frontal (ZHANG e ROSENKRANZ, 2013).

No estudo de Gibney et al. (2014), um modelo de estresse repetitivo através de contenção se mostrou capaz de provocar um aumento no tempo de imobilidade durante o teste de natação forçada, um indicativo de comportamento semelhante à depressão em roedores. Esta imobilidade foi seguida por elevação nos níveis circulantes de corticoesterona, expressão e ativação hepática da enzima triptofano 2,3-dioxigenase, bem como, do aumento em sua expressão no córtex cerebral.

Aumento nas concentrações plasmáticas de corticosterona e no tempo de imobilidade no teste de natação forçada, efeito ansiogênico, além de função cognitiva prejudicada, induzidos pela contenção crônica de ratos (20 minutos/dia, do 90º ao 134º dia de vida pós-natal), foram relatados por Ferraz et al. (2011). O estudo investigou a influência da suplementação com óleo de peixe, que contém AGPI da família ômega-3: ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA), promovida na fase inicial do desenvolvimento cerebral e continuada durante o protocolo de contenção. Dados do estudo de Ferraz et al. (2011) mostraram que a suplementação com AGPI da família ômega-3 foi capaz de modular os efeitos relacionados ao estresse supracitados.

No que diz respeito ao papel do estresse crônico de contenção sobre o metabolismo, é referido na literatura que este modelo pode promover alterações no ganho de peso corporal de ratos (CHIBA et al., 2012; SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012; GIBNEY et al., 2014), além de efeitos sobre o perfil lipídico, dos ratos estressados, caracterizados por aumento nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol total, além de alterações nas lipoproteínas de alta, baixa e muito baixa densidade (HDL, LDL e VLDL, respectivamente) (SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012). No referido estudo, alterações lipêmicas ocorreram independente da coexposição a um campo magnético estático, que também foi investigado. Uma resposta neuronal simpática aumentada, decorrente do estresse, estaria envolvida na alteração nos lipídios sanguíneos e o aumento do LDL plasmático poderia ocorrer devido a defeito do seu

receptor hepático em consequência de falha na sua produção ou função (SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012).

Percebe-se então que estudos experimentais que utilizaram a contenção crônica demonstram que a exposição a este modelo de estresse induzido pode acarretar alterações com implicações psicológicas e fisiológicas. Ao medir o nível de estresse, o ideal é utilizar métodos que não causem distúrbio ao animal, e sempre que possível, não invasivos, além disso, recomenda-se usar mais de um tipo de medida, como por exemplo, avaliação de alterações comportamentais e indicadores bioquímicos (RIVERA, 2002).

2.4 Utilização de modelos experimentais para avaliação de parâmetros comportamentais

Vários modelos animais foram desenvolvidos e padronizados para o estudo experimental da ansiedade em humanos ao longo das últimas décadas (CRUZ e LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012). Embora seja difícil assegurar que animais não humanos possam desenvolver as mesmas sensações subjetivas de ansiedade que seres humanos, de fato, é possível que haja uma ampla correspondência entre as espécies no que diz respeito a mecanismos neurais e funções comportamentais subjacentes a essa emoção. Quando se trata de mamíferos, como ratos e camundongos, a correspondência é ainda maior (CRUZ e LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012).

Ao se comparar modelos utilizados para avaliação de funções psicológicas, existem mais modelos animais de ansiedade do que para qualquer outra função psicológica estudada experimentalmente em humanos (CRUZ et al., 1997). Entre os modelos mais importantes indicados neste contexto está o teste de labirinto em cruz elevado (LCE), largamente utilizado na pesquisa da ansiedade em ratos e camundongos, cujo aparato consiste em dois braços abertos e dois braços envolvidos por paredes laterais, dispostos perpendicularmente uns aos outros, formando uma cruz, e elevados alguns centímetros do solo (CRUZ e LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012). Outro modelo para o estudo da ansiedade é o teste de campo aberto (TCA), realizado em uma arena circular ou quadrada circundada por paredes, cujo assoalho é demarcado com pequenos quadrados, o que permite quantificar a atividade locomotora e dividir as zonas central e periférica (CRUZ e LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012).

O LCE derivou dos experimentos realizados no laboratório de Montgomery nos anos 50 com um labirinto em formato de Y e elevado. Nesses trabalhos, o comportamento mais predominante foi a exploração dos espaços fechados em detrimento dos abertos (MORATO, 2006). A premissa é de que a novidade (ambiente novo) provocaria um aumento do impulso exploratório e do medo, causando um conflito entre explorar e se proteger (MORATO, 2006). O estudo inicial utilizando o LCE, semelhante ao que existe atualmente, foi realizado por Handley e Mithani (1984), que demonstraram que um labirinto em formato de X e elevado do solo apresentava uma sensibilidade tanto a drogas ansiolíticas, refletida por uma

maior atividade nos braços abertos, quanto a drogas ansiogênicas, refletida por uma menor atividade nos braços abertos. Logo, este poderia ser considerado um modelo válido de comportamento motivado pelo medo.

Após sofrer modificações, que concederam ao LCE o formato atual, este foi validado comportamentalmente, fisiologicamente e farmacologicamente para ratos por Pellow et al. (1985). O teste consiste em analisar a frequência de entradas e o tempo despendido em cada tipo de braço, além de outros comportamentos: deslocamento, congelamento (“freezing”), farejar, levantar-se, “head dippings” e retorno aos braços fechados (RODGERS et al., 1997). O animal explora os dois tipos de braço, porém entra mais e permanece mais tempo nos braços fechados, sendo um comportamento mais típico. Considera-se como níveis elevados de ansiedade, as menores porcentagens de entradas e de tempo gasto nos braços abertos do aparato (HANDLEY e MITHANI, 1984; PELLOW et al., 1985; PELLOW e FILE, 1986).

Diversos fatores parecem influenciar a atividade do animal no LCE: Condições de habitação, níveis de iluminação, variações do ciclo circadiano, manipulação prévia ou exposição ao estresse, familiaridade com o labirinto (CAMPOS et al., 2013). A reexposição ao LCE promove redução do comportamento exploratório no braço aberto e a presença do experimentador na mesma sala também pode interferir nos resultados do teste (CAMPOS et al., 2013).

O campo aberto foi desenvolvido por Hall (1934) que sugeriu que a defecação é considerada, no campo aberto, um indicador do seu estado emocional, e é ocasionada pela ativação do sistema nervoso autônomo devido à exposição a um ambiente novo. O teste consiste em colocar o animal na arena por um determinado período de tempo, enquanto seu comportamento é observado (HALL, 1934).

No TCA, o animal pode ter o comportamento alterado por mudanças no tamanho da arena ou pela iluminação do ambiente, e a demarcação do piso da arena é necessária para permitir a quantificação da atividade do animal (LISTER, 1990). Medidas como defecação e locomoção são índices considerados úteis na avaliação do TCA, logo, sugere-se que o aumento da atividade locomotora refletiria na diminuição da ansiedade (LISTER, 1990). Porém, tanto a defecação quanto a locomoção podem ser influenciadas pela adoção de certos tratamentos, como por exemplo, os que alteram a motilidade intestinal e estimulantes motores não

ansiolíticos, respectivamente, o que torna estes índices questionáveis para avaliação do comportamento semelhante à ansiedade em roedores (LISTER, 1990).

Outras condutas do animal no campo aberto, como os baixos níveis de exploração e o aumento do “freezing” também estão relacionados a comportamento semelhante à ansiedade. Ao passo que maior atividade exploratória, como por exemplo, maior tempo despendido na área central do aparato e o comportamento de “levantar” do animal, são características associadas a níveis reduzidos de ansiedade (WALSH e CUMMINS, 1976; ROYCE, 1977).

O desempenho comportamental também pode ser analisado através da memória episódica por meio do teste de reconhecimento de objetos (TRO) de acordo com a identidade ou localização espacial do objeto, com base na curiosidade natural que roedores apresentam ao explorar o que é considerado novidade (AKKERMAN et al., 2012). A TRO é comprovadamente um teste de avaliação das funções de memória em animais e possui várias características que a torna adequada para estudar a neurobiologia da memória (ENNACEUR e DELACOUR, 1988).

3. HIPÓTESES

- Os animais suplementados com o OC no início da vida apresentam um melhor desempenho físico, avaliado através de medida de treinabilidade, durante o exercício na esteira.
- A suplementação com o OC, realizada no início da vida em animais posteriormente submetidos a estresse de contenção, provoca: efeito ansiolítico, melhora da memória para o reconhecimento de objetos, redução de parâmetros murinométricos e manutenção de índices lipêmicos adequados.
- A prática do exercício físico potencializa todos os efeitos supracitados em ratos suplementados com OC.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral:

Investigar a influência da suplementação com OC associada ou não ao exercício físico em esteira no início da vida, em ratos jovens submetidos posteriormente ao estresse de contenção, sobre parâmetros comportamentais e metabólicos.

4.2 Objetivos específicos:

- Monitorar a evolução ponderal ao longo do período de experimentação.
- Avaliar o desempenho físico dos animais suplementados com OC ou solução veículo, no início da vida, durante a prática de exercício em esteira.
- Analisar locomoção, ansiedade e memória em ratos suplementados com OC, exercitados ou não no início da vida, e posteriormente submetidos ao estresse de contenção.
- Averiguar se a suplementação com OC realizada no início da vida modifica murinometria e perfil lipídico pós-estresse de contenção e se tal efeito é otimizado pela prática do exercício físico em esteira.

5. MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos e delineamento experimental

Os procedimentos experimentais aqui descritos receberam parecer favorável da Comissão de Ética no Uso de Animais – Centro de Biociências/UFPE (Processo nº 23076.048534/2015-23, vide Anexo A) e foram realizados no período entre 6 horas e 14 horas. Condições de habitação e procedimentos experimentais estiveram em conformidade com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008; e seguem as diretrizes nacionais (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA) e as normas internacionais para o uso e bem-estar de animais, estabelecidas pelo *National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals* (Bethesda, Maryland, USA).

No presente estudo foram utilizados 48 ratos machos da linhagem *Wistar*, provenientes de 10 ninhadas, advindos da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. O número de ratos neonatos foi reduzido para 9 filhotes por ninhada e apenas os filhotes machos de cada ninhada foram aleatoriamente distribuídos nos seguintes grupos experimentais: suplementados, via gavagem, com óleo de coco (OC/n = 24) ou solução veículo (V/n= 24).

A solução veículo foi preparada utilizando somente água destilada e Cremophor 0,009% (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Missouri, USA) ao passo que, a solução de óleo de coco foi preparada a partir de amostra comercializada de óleo de coco extravirgem (COPRA®, Maceió, Alagoas, Brasil) contendo os seguintes ácidos graxos saturados em %/100g: C 6:0 capróico (0,38), C 8:0 caprílico (5,56), C 10:0 cáprico (4,99), C 12:0 láurico (45,78), C 14:0 mirístico (18,56), C 16:0 palmítico (8,85), C 18:0 esteárico (3,39); e ácidos graxos insaturados: C 18:1 Ômega 9 – oleico (5,65) e C 18:2 Ômega 6 – linoleico (0,94). O óleo foi diluído na solução veículo a 50% (1:1). A dose de óleo de coco estabelecida foi baseada na literatura (ZAKARIA et al., 2011; ALVES et al., 2015; YEAP et al., 2015). O volume final administrado para todos os animais foi 20 mL/kg/dia.

Em cada grupo suplementado com OC ou com solução veículo, havia 2 subgrupos: exercitados em esteira durante o período da gavagem e sedentários. A gavagem e o exercício em esteira foram realizados entre o 15º dia e o 45º dia de

vida pós-natal, durante um período de 4 semanas – de segunda a sexta-feira (DA SILVA PEDROZA et al., 2015). Ao final deste período foram realizados os demais procedimentos e análises conforme o desenho experimental (Figura 1).

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos no biotério localizado nas dependências do Departamento de Nutrição. Estes ficaram alojados em caixas para gaiola de prolipropileno (com tampa em arame inox, nas dimensões de 51 cm x 35.5 cm x 18.5 cm, além de comedouro e bebedouro), forradas com maravalha esterilizada, que eram trocadas duas vezes por semana ou conforme a necessidade. As condições ambientais eram controladas: temperatura de $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade em torno de 50% a 60% e um ciclo claro/escuro de 12h/12h com luzes acesas às 06h00. Tanto as mães como seus filhotes receberam água filtrada e ração padrão para roedores com 23% de proteína (“Presence”, Purina®, Paulinia, São Paulo, Brasil) *ad libitum*. Após o desmame (21 dias pós-natal), os filhotes machos foram alojados de 2 a 4 por gaiola e permaneceram sob as mesmas condições supracitadas.

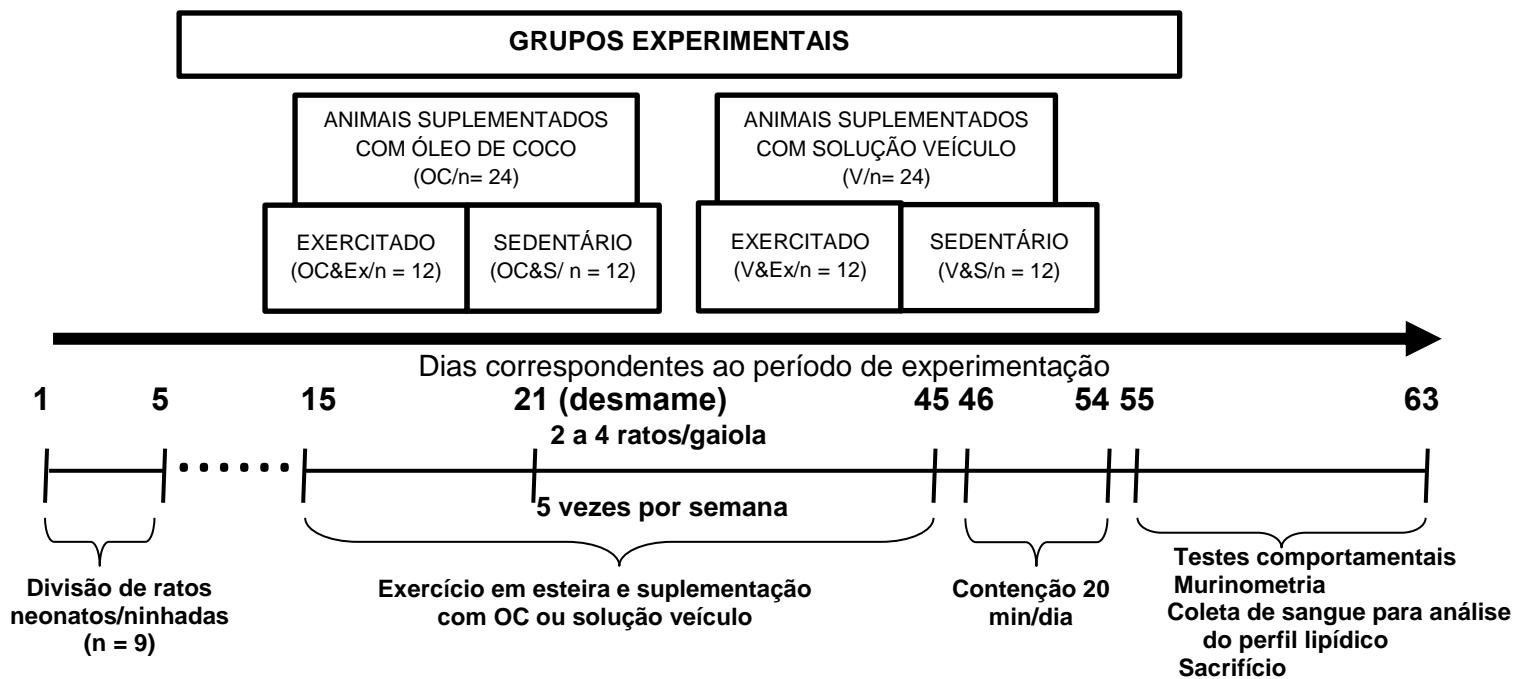


Figura 1 – Desenho Experimental. Sequência de procedimentos realizados com ratos jovens da linhagem Wistar. Os filhotes foram distribuídos aleatoriamente em grupos suplementados via gavagem, com óleo de coco extravirgem (10 mL/kg/dia) ou solução veículo (20 mL/kg/dia, Cremophor 0,009% - Sigma®); e seus respectivos subgrupos (exercitado em esteira e sedentário). Ao término do período de gavagem e exercício em esteira, os animais foram submetidos a estresse por meio de contenção, e posteriormente foi realizada a coleta e análise de dados, conforme descrito acima. Todos os procedimentos experimentais relatados foram realizados das 6 às 14 horas.

5.2 Acompanhamento da evolução ponderal

O peso corporal dos animais foi mensurado a partir do 15º dia de vida pós-natal até o final do experimento - por volta de 60 a 63 dias de vida - com o auxílio de uma balança eletrônica (Filizola MF-3/1, Indústrias Filizola S.A. São Paulo, Brasil) presente no biotério. Embora os animais tenham sido pesados regularmente para o cálculo do volume a ser administrado via gavagem, para acompanhamento da evolução ponderal durante o período experimental, o peso corporal aferido no início de cada semana foi avaliado, sendo que para a primeira semana de intervenção foi considerado o 15º dia de vida pós-natal.

5.3 Procedimentos gerais para o treinamento físico

Os ratos foram submetidos ao exercício físico caracterizado pela corrida em esteira motorizada para ratos (Insight EP-131, 0º de inclinação, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). Foram seguidos os parâmetros para o exercício moderado conforme descritos previamente na literatura (SCOPEL et al., 2006; BATISTA-DE-OLIVEIRA et al., 2012), realizados pelos grupos OC&Ex e V&Ex e são descritos na Tabela 1. Os animais sedentários (grupos OC&S e V&S) foram colocados na esteira pelo mesmo tempo de sessão de treino e de período do treinamento, em dias e semanas, entretanto, a esteira permaneceu desligada.

Tabela 1 – Parâmetros do treinamento físico.

Parâmetros do exercício	1 ^a semana	2 ^a semana	3 ^a semana	4 ^a semana
Número de sessões por semana	5	5	5	5
Velocidade empregada	5m/min	10m/min	15m/min	20m/min
Tempo empregado	30min/dia	30min/dia	30min/dia	30min/dia

Fonte: Adaptado de Batista-de-Oliveira et al. (2012).

Para mensuração do desempenho físico dos animais durante o exercício na esteira, foi utilizada uma escala de 1 a 5 conforme descrito na tabela a seguir. Os animais dos grupos OC e V foram avaliados individualmente e diariamente quanto ao seu desempenho físico. No final de cada semana de treino foi calculada uma média representativa da semana de cada animal, e caso o valor obtido não fosse um número inteiro, foi arredondado.

Tabela 2 – Medida de treinabilidade para avaliação do desempenho do rato na esteira.

Classificação	Desempenho
1	O rato se recusou a correr.
2	Corredor abaixo da média - esporádico, para e vai, sentido errado.
3	Corredor na média
4	Corredor acima da média - consistente, ocasionalmente caiu para trás na esteira.
5	Bom corredor - permaneceu, consistentemente, na frente da esteira.

Fonte: Rachetti et al. (2013).

5.4 Protocolo de estresse induzido

Entre 46 e 54 dias de vida pós-natal (exceto nos dias 51 e 52), quarenta e oito ratos foram submetidos à ação de um agente estressor que consistiu em um protocolo de estresse crônico, por meio de contenção repetida, descrito previamente por Zhang e Rosenkranz (2013). Para promover o estresse, os animais foram removidos de suas gaiolas e colocados em um sistema de contenção de hemicilindro durante 20 minutos por sessão. A contenção foi realizada em tubo de acrílico cristal de 4 mm, com dimensões internas em mm (A x L x C): 45 x 52 x 205 para ratos de 0 a 350g. O contensor apresentava 10 furos laterais de 9,5 mm para permitir a ventilação e evitar o superaquecimento (Insight® Equipamentos Científicos LTDA - Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

O animal foi mantido dentro do tubo em uma posição ereta com uma leve compressão do corpo, mas mantendo movimento, embora restrito, da cabeça e dos membros (Figura 2). O período de experimentação para o estresse crônico induzido foi de 9 dias, durante esse período, a contenção foi realizada em uma sessão por dia em 7 dos 9 dias conforme o esquema a seguir (Figura 3). No estudo de Zhang e Rosenkranz (2013), este modelo foi considerado efetivo, pois foi capaz de promover aumento do comportamento semelhante à ansiedade em ratos adolescentes e adultos, embora não tenha prejudicado a atividade locomotora dos animais, avaliados no LCE no dia seguinte ao término do período de contenção. Realizou-se tal modelo de exposição ao estresse com o intuito de reduzir a habituação à contenção, que de outra maneira poderia ser eminente (KANT et al., 1985; STAMP e HERBERT, 1999 apud ZHANG e ROSENKRANZ, 2013).



Figura 2 – Animal posicionado dentro do contensor conforme descrito anteriormente.

Fonte: autor

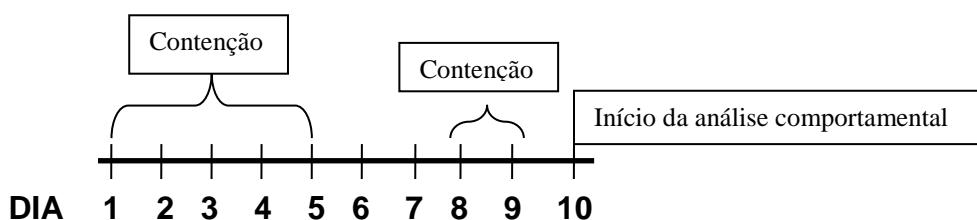


Figura 3 – Esquema do protocolo de estresse de contenção. Os ratos foram contidos por 5 dias consecutivos, com 2 dias de intervalo (sem manipulação), seguidos de 2 dias de contenção. Este modelo reduz a habituação ao estresse de contenção.

Fonte: Zhang e Rosenkranz, 2013.

5.5 Análise comportamental

Em seguida, ao final do período de contenção, os ratos realizaram testes para avaliação da locomoção, ansiedade e memória, a partir do 55º dia de vida pós-natal, conforme descrito a seguir. Nos dias dos testes comportamentais, os ratos foram transportados do biotério até a sala experimental, um ambiente com condições de habitação semelhantes às do biotério, e permaneceram dentro das gaiolas por um período de 30 a 60 minutos antes do início do teste para adaptação ao novo ambiente.

Os testes para análise comportamental descritos são: labirinto em cruz elevado (LCE), campo aberto (TCA) e teste de reconhecimento de objetos (TRO) realizado no campo aberto. A luminosidade no local em que os aparelhos foram montados seguiu a metodologia descrita por Viana et al. (2013). As sessões de cada teste foram filmadas com o auxílio de uma câmera de vídeo (Lifecam Cinema HD 720P H5D-00013, Microsoft®) instalada no teto, localizada acima do aparelho. Os vídeos gerados foram salvos em pastas no computador para análises posteriores. Ademais, dados referentes à sessão de cada animal foram registrados em planilhas específicas para cada teste.

Entre as sessões, quando havia a presença de produtos de excreção do animal no campo aberto ou no LCE, estes foram contabilizados e recolhidos com o auxílio de papel. Além disso, o LCE, o campo aberto, e os objetos utilizados na TRO foram higienizados com álcool a 70%, visando à eliminação de pistas olfativas que pudessem influenciar a sessão seguinte.

Os parâmetros comportamentais foram avaliados com o auxílio do programa *ANY-maze Video Tracking System* versão 4.99m (ANY-maze™- Stoelting Co., Wood Dale, Illinois, USA) , que se trata de um sistema de monitoramento em vídeo desenhado para automatizar testes comportamentais avaliados através do registro dos rastros dos animais em movimento no decorrer do experimento. Alguns aparelhos podem utilizar o *Video Tracking* para monitoramento dos animais, tais como o campo aberto e o labirinto em cruz elevado.

5.5.1 Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O teste de LCE foi realizado no dia seguinte ao término da contenção. O aparato para a realização do teste consistiu em um labirinto em madeira na forma de cruz formado por quatro braços – dois braços fechados por paredes (45 cm de altura) e dois abertos (perpendiculares aos primeiros) medindo 49 cm de comprimento por 10 cm de largura, e elevados a 55 cm elevado do solo. O aparato conta também com uma área central de 10x10 cm conectada aos braços abertos e fechados. Após o tempo de adaptação, o animal foi colocado cuidadosamente no centro do aparato, com o focinho voltado para um dos braços abertos, onde foi permitida a exploração livre por 5 minutos.

As seguintes categorias comportamentais foram analisadas:

- Índice de discriminação/exploração (%) nos braços abertos, nos braços fechados e na área central. Foi calculado baseado na razão entre o tempo de permanência no local do aparato e o tempo total de exploração.
- Distância percorrida no aparato (metros).

5.5.2 Teste de Campo Aberto (TCA)

O TCA foi realizado considerando um intervalo de 48 horas em relação à realização do teste de LCE. O aparato para a execução do TCA consistiu em uma arena, também conhecida como campo aberto (89 cm de diâmetro e 52 cm de altura), cujas paredes de madeira formam um círculo e a superfície é demarcada por quadrantes e dividida em zonas central e periférica. No momento do teste, cada animal foi posicionado na zonal central do campo aberto e registrou-se a exploração ao longo de um período de 5 minutos.

Este procedimento caracteriza-se como um tipo de teste que avalia atividade locomotora e ansiedade (WANG e MITCHELL, 2016). Durante o período de exploração no campo aberto, os seguintes critérios foram avaliados:

- Distância percorrida (metros);
- Tempo de imobilidade (segundos);
- Número de linhas cruzadas;
- Tempo na zona central (segundos);
- Tempo na zona periférica (segundos).

5.5.3 Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO)

O TRO foi iniciado no dia seguinte ao teste do campo aberto, utilizando o mesmo período de adaptação e aparato do teste anterior, e realizado em dois dias consecutivos. No presente teste, as diferenças, entre os grupos, foram avaliadas em relação à capacidade de identificação de objetos com base na sua forma (primeiro dia) e localização espacial (segundo dia) na arena (campo aberto).

Essas metodologias foram descritas previamente por Ennaceur e Delacour (1988) e Dere, Huston e Silva (2005). Na primeira sessão de cada uma das duas tarefas, dois objetos exatamente iguais (A e B) foram posicionados paralelamente no campo aberto e, posteriormente, os animais foram colocados, por vez, no centro do aparato e exploraram o ambiente durante 5 minutos. Na segunda sessão, 50 minutos após, avaliou-se o reconhecimento das características de forma e a localização espacial dos objetos.

Para avaliar a discriminação quanto à identidade dos objetos na segunda sessão, os animais foram recolocados no campo aberto com o mesmo objeto A (conhecido), entretanto, o objeto B foi substituído por outro objeto C (desconhecido), com os mesmos tamanhos, cores e odores do objeto A, porém, com uma diferença em relação à sua forma. O animal demonstra que pode diferenciar as formas quando, na segunda sessão, diante de um objeto conhecido (da sessão anterior, ou seja, “familiar”) e de outro com característica de novidade (forma diferente), passa mais tempo explorando o objeto “novo” (desconhecido).

A avaliação da distinção de localização espacial foi realizada após 50 minutos da primeira sessão, como descrita anteriormente, e foi realizada no dia seguinte à discriminação das formas. Consiste em recolocar os animais no campo aberto na presença dos mesmos objetos (A e B), porém, neste segundo momento, a posição de A se manteve enquanto que a localização de B se modificou. O animal distinguia uma posição desconhecida, quando ele gastava mais tempo explorando o objeto que foi deslocado da posição que estava na primeira sessão.

A exploração se caracterizou pelo fato de o animal farejar os objetos e tocá-los com o focinho e as patas anteriores (MELLO et al., 2008; RACHETTI et al., 2013). Enquanto que subir nos objetos ou movê-los não foram considerados exploração (MELLO et al., 2008). Para analisar o comportamento no reconhecimento

de objetos, os tempos de exploração no objeto familiar e no objeto com característica de novidade (quanto à identidade ou à localização) foram contabilizados. Posteriormente foi determinado o índice de discriminação (%), que corresponde à relação entre o tempo gasto na exploração dos objetos familiar ou com característica de novidade e o tempo total de exploração do animal (AKKERMAN et al., 2012).

5.6 Avaliação murinométrica

Ao final da análise comportamental, os animais foram pesados e tiveram os comprimentos da ponta do focinho até o ânus (CFA) e da cauda aferidos, utilizando uma trena antropométrica, para análise dos parâmetros murinométricos conforme descrito a seguir:

- Índice de Massa Corporal (IMC): peso corporal (g)/ CFA² (cm²) (NOVELLI et al., 2007).
- Índice de Lee, calculado pela raiz cúbica do peso corporal (g) dividido pelo CFA (cm) [³✓Peso (g)/CFA(cm)] (NOVELLI et al., 2007).

O Índice de Lee pode ser usado como um indicador de excesso de gordura corporal quando os valores são superiores a 0,3 g/cm (BERNARDIS e PATTERSON, 1968). Sobre o IMC para ratos normais, consideram-se valores que variam de 0,45 ± 0,02 a 0,68 ± 0,05 g/cm² (NOVELLI et al., 2007).

Além dos parâmetros descritos anteriormente, os animais tiveram aferidas a circunferência abdominal (CA), imediatamente acima das patas posteriores, além da circunferência torácica (CT), imediatamente abaixo das patas anteriores, utilizando a mesma trena antropométrica. Posteriormente, foi calculada a relação CA/CT (cm) (NOVELLI et al., 2007) cujo valor de referência normal para ratos com 60 dias de vida pós-natal é de 1,1 ± 0,03 (NOVELLI et al., 2007).

5.7 Determinação do perfil lipídico

Para análise do perfil lipídico, foi definida uma amostra composta por 6 ou 7 animais de cada grupo experimental. Os animais, previamente submetidos a um jejum de 8 a 12 horas, foram anestesiados, por via intraperitoneal, com uma solução

de 63,5 mg/kg de Ketamina (Quetamina *Injetável Vetenil®*, Louveira, São Paulo, Brasil) e 9 mg/kg de Xilazina (Dopaser®, Hertape S.A., Juatuba, Minas Gerais, Brasil). As doses referidas foram baseadas na literatura (CREAL, 2013). Com os animais em anestesia profunda o sangue foi coletado através de punção cardíaca.

As amostras de sangue coletadas (cerca de 3 mL) foram colocadas em tubos de ensaio de 10 mL com a identificação do animal, em seguida, foram centrifugadas a 4.000 rpm por 20 minutos. O soro foi coletado com auxílio de uma pipeta e depositado em tubos eppendorfs, com a identificação do animal, e foi armazenado a -20 °C até o dia da dosagem das frações lipídicas.

Os conteúdos séricos de colesterol total, triglicerídeos (TG) e lipoproteína de alta densidade – HDL-colesterol foram dosados, seguindo as recomendações do kit comercial correspondente (Labtest®, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil).

Os níveis da lipoproteína de muito baixa densidade – VLDL-colesterol foram calculados através da equação TG/5, a partir da fórmula de Friedewald, Levy e Fredrickson (1972). O conteúdo dos lipídios séricos supracitados foram expressos em mg/dL de soro.

5.8 Eutanásia

A indução da morte de sete animais de cada grupo ocorreu quando o rato, ainda sob efeito da solução de Ketamina e Xilazina, acima referida, foi submetido a punção cardíaca para coleta de sangue, e posterior análise do perfil lipídico. A eutanásia dos demais animais realizou-se conforme o procedimento padrão do Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE, que consiste em exposição ao Dióxido de Carbono.

5.9 Análise estatística

Os dados foram analisados com auxílio dos programas “GraphPad Prism 6.0” (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA) e “Microsoft Excel 97 – 2003” (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). O teste estatístico indicado foi escolhido após análise com teste de normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov).

A análise dos dados de distribuição paramétrica referentes à evolução ponderal, à murinometria, ao perfil lipídico e aos testes comportamentais (LCE, TCA e TRO) foi realizada com Análise de Variância (ANOVA) de duas vias, com os fatores suplementação (OC e veículo) e condição de exercício (exercitado e sedentário), seguida de teste “post hoc” de múltiplas comparações de Tukey, quando indicado. O teste *t* de *Student* foi utilizado para comparar veículo e OC exercitados no desempenho de esteira. Os dados estão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$ para todas as análises.

6. RESULTADOS

6.1 Evolução ponderal, dados murinométricos e perfil lipídico

Os pesos corporais dos grupos experimentais não apresentaram diferenças significantes em nenhum momento do período experimental, e as variáveis murinométricas avaliadas também não diferiram entre os grupos ($p > 0,05$). Dados da evolução ponderal e da murinometria são expostos nas figuras 4 e 5, respectivamente.



Figura 4 – Pesos corporais dos grupos experimentais. Do 15º ao 45º dias de vida, os ratos foram suplementados com OC ou V, sendo subdivididos em exercitados (Ex, $n = 24$) e sedentários (S, $n = 24$). Entre os dias pós-natal 46 e 54 todos os animais foram estressados através de contenção, exceto nos dias 51 e 52. Os dados são expressos em média \pm EPM. Não houve diferenças ponderais entre os grupos durante o período de experimentação (ANOVA duas vias, $p > 0,05$). OC = óleo de coco extravirgem. V = solução veículo (água destilada e Cremophor 0,009%).

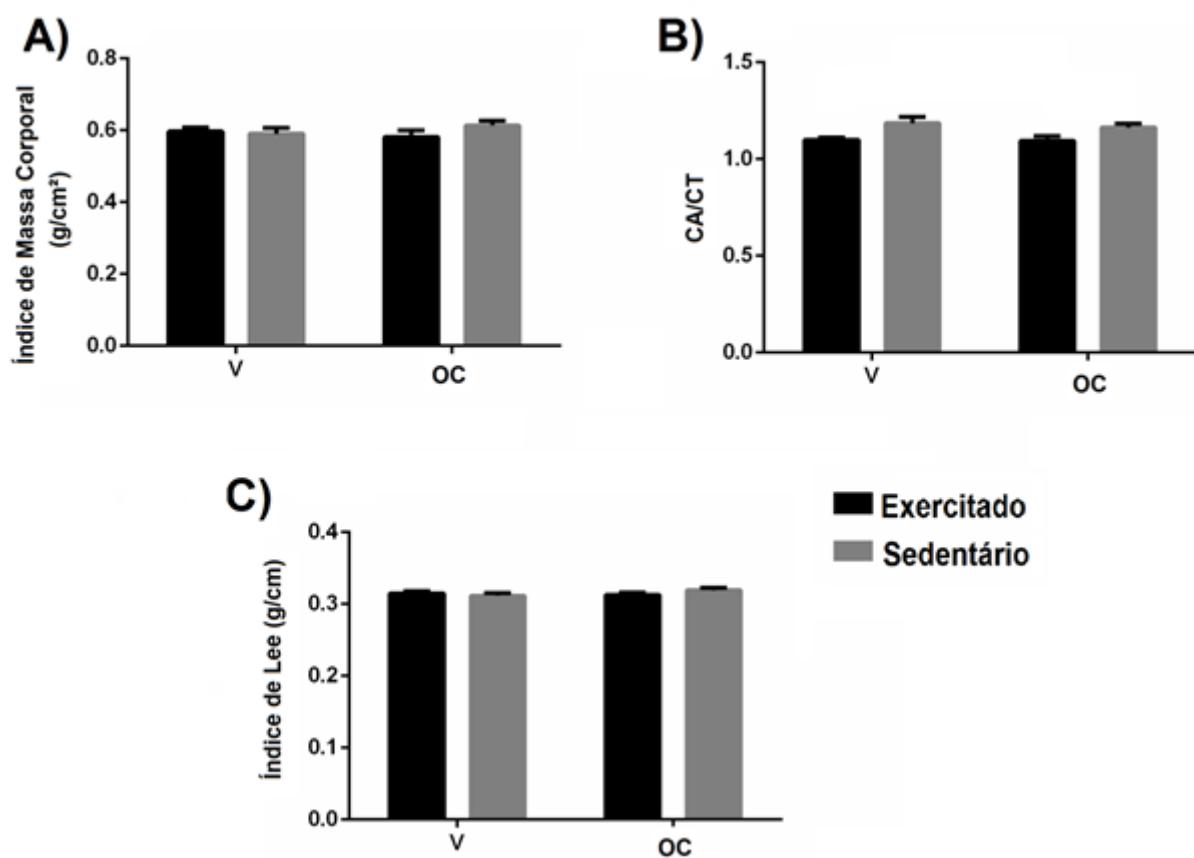


Figura 5 - Avaliação murinométrica dos animais jovens estressados, realizada entre 60 e 63 dias de vida pós-natal. Os animais foram amamentados em ninhadas com 9 filhotes/mãe e aleatoriamente distribuídos conforme a suplementação e a prática de exercício físico realizados entre o 15º e o 45º dias de vida. Entre os dias pós-natal 46 e 54 todos os animais foram estressados através de contenção, exceto nos dias 51 e 52. A) Índice de Massa Corporal. B) Razão entre as circunferências abdominal e torácica. C) Índice de Lee. Os dados são apresentados em média \pm EPM e não houve diferenças significativas nas variáveis avaliadas (ANOVA duas vias, $p > 0,05$). V = suplementação com solução veículo (água destilada e Cremophor 0,009%). OC = suplementação com óleo de coco extravirgem.

No que diz respeito ao perfil lipídico, ANOVA (duas vias, $p > 0,05$) não encontrou diferenças significativas em nenhum dos parâmetros avaliados (colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos, VLDL-colesterol). Dados ilustrados na figura 6.

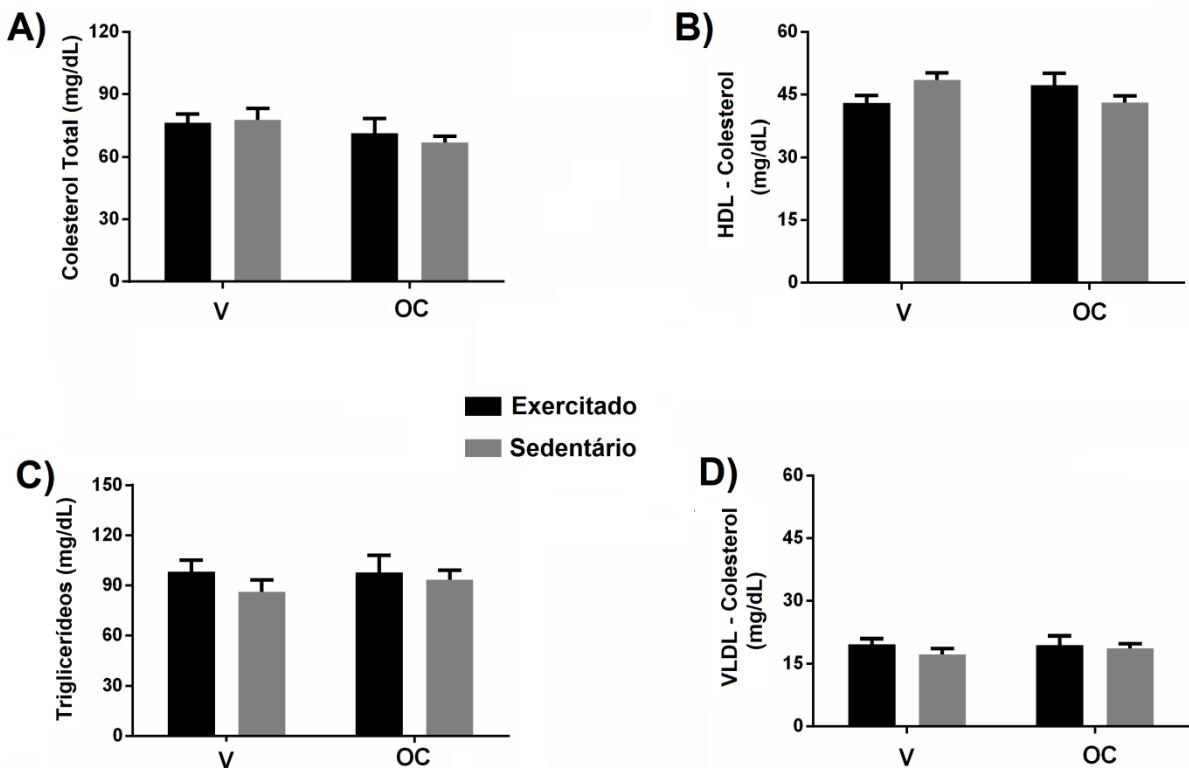


Figura 6 – Perfil lipídico de animais aos 60-63 dias de vida. Ratos previamente distribuídos aleatoriamente conforme o tipo de suplementação e prática ou não de exercício no início da vida, posteriormente estressados por contenção entre os dias pós-natal 46 e 54, exceto nos dias 51 e 52. A) Colesterol Total. B) HDL-colesterol = lipoproteína de alta densidade. C) Triglicerídeos. D) VLDL-colesterol = lipoproteína de muito baixa densidade, obtida através da fórmula: Triglicerídeos/5. Os dados são apresentados em média \pm EPM, n = 5 a 7. Não foram observadas diferenças significativas (ANOVA de duas vias, $p > 0,05$). V = suplementado com solução veículo (Cremophor 0,009%). OC = suplementado com óleo de coco extravirgem.

6.2 Desempenho físico na esteira

Durante as quatro semanas de realização do exercício moderado na esteira, o desempenho dos animais exercitados dos grupos suplementados com solução veículo e OC (V&Ex e OC&Ex, respectivamente) foi avaliado. A suplementação com OC não influenciou esta variável, tendo em vista que não foram observadas diferenças significativas, em relação ao grupo veículo (teste *t* de Student, $p > 0,05$), inclusive nas médias gerais correspondentes a todo o período de treinamento (V&Ex, $2,50 \pm 0,18$, OC&Ex, $2,60 \pm 0,13$, $p = 0,64$). Dados correspondentes ao desempenho semanal dos animais são ilustrados na figura 7.

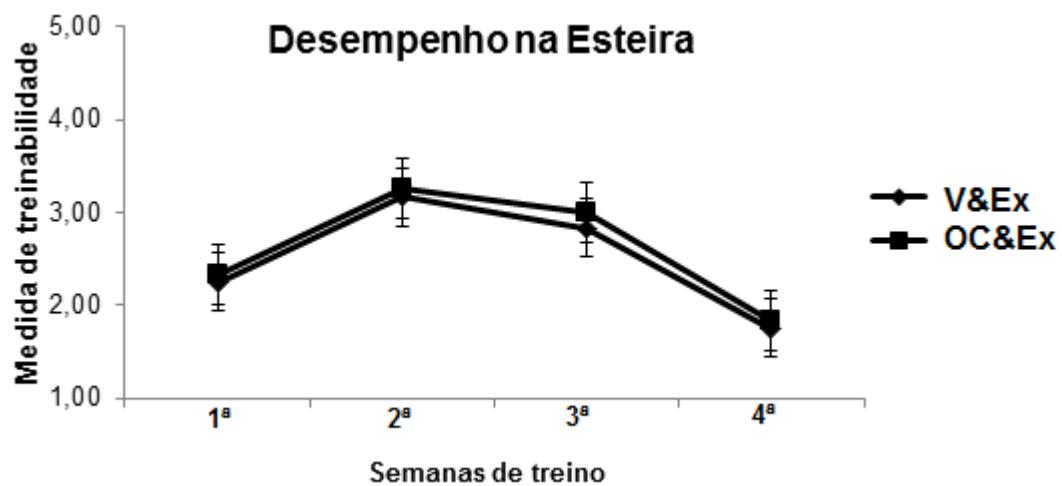
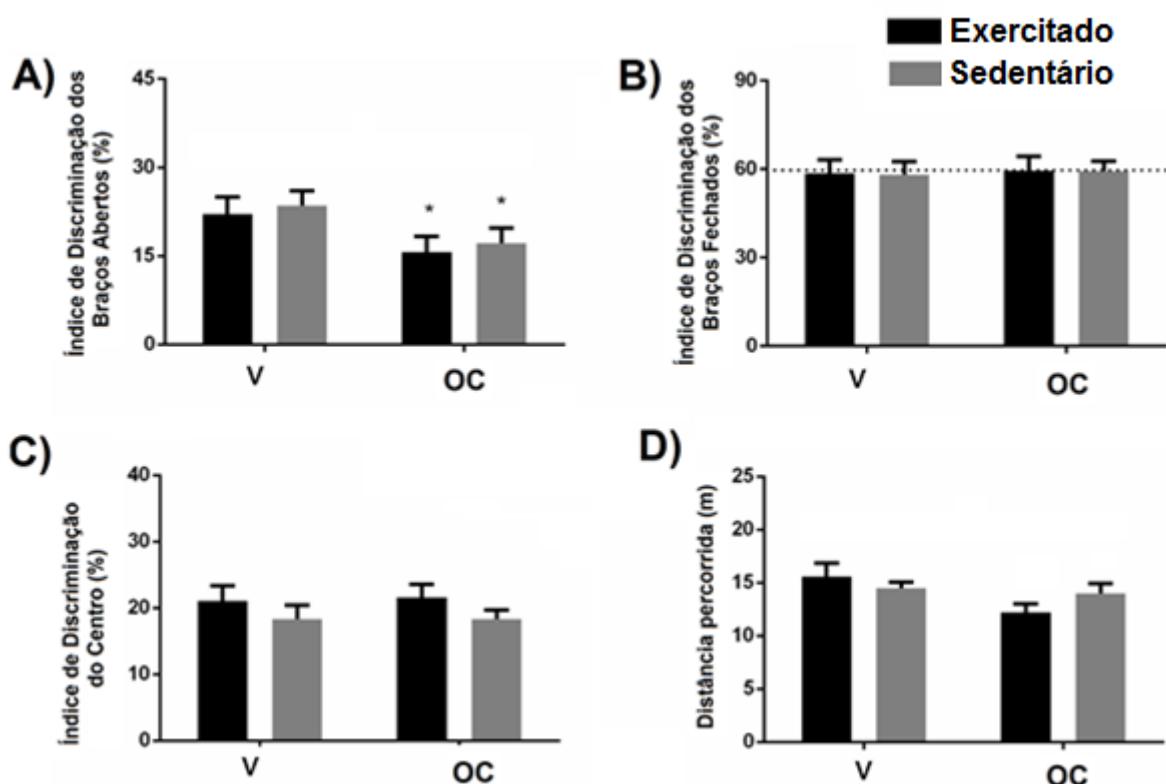


Figura 7 – Desempenho físico dos ratos durante o treino em esteira. Animais suplementados, com óleo de coco extravirgem (OC) ou solução veículo (V, água destilada e Cremophor 0,009%) fizeram exercício durante 30 minutos de segunda à sexta-feira (do 15º ao 45º dias de vida), cuja velocidade aumentou gradualmente em 5 m/min por semana de treino. O desempenho dos ratos foi avaliado de acordo com os seguintes parâmetros: 1 = se recusou a correr, 2 = corredor abaixo da média, 3 = corredor na média, 4 = corredor acima da média, 5 = bom corredor. Dados expressos em média \pm EPM, $n = 12$ por grupo. Não houve diferenças significativas (teste *t* de Student, $p > 0,05$). Ex = exercitado em esteira. m/min = metros por minuto.

6.3 Avaliação comportamental

6.3.1 Testes de Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e Campo Aberto (TCA)

No LCE, de acordo com a ANOVA duas vias, o fator suplementação exerceu um efeito significante sobre o índice de discriminação dos braços abertos [$F(1,34) = 5,56, p = 0,02$]. Os animais que receberam OC apresentaram um percentual menor de tempo de permanência nos braços abertos do LCE, quando comparados aos grupos suplementados com solução veículo (V&Ex, $22,10 \pm 2,93\%$; V&S, $23,55 \pm 2,48\%$; OC&Ex, $15,71 \pm 2,61\%$; OC&S, $17,18 \pm 2,55\%$), entretanto não foi possível apontar diferenças específicas intergrupos, visto que o teste “post hoc” de múltiplas comparações de Tukey não encontrou diferença significante. É importante ressaltar que nos demais aspectos avaliados não houve diferenças ($p > 0,05$). Esses dados estão ilustrados na figura 8.



No que diz respeito ao desempenho dos animais no TCA, no tempo de permanência na área central, o exercício foi o fator que exerceu diferença [$F(1,34) = 8,086, p = 0,0075$] no grupo tratado com OC. O teste de Tukey mostrou que o grupo OC&Ex permaneceu mais tempo na área central do campo aberto quando comparado ao grupo OC&S ($27,04 \pm 4,03$ s e $15,36 \pm 2,54$ s, respectivamente). Nas demais variáveis avaliadas não houve diferenças ($p > 0,05$). Esses dados estão descritos na figura a seguir.

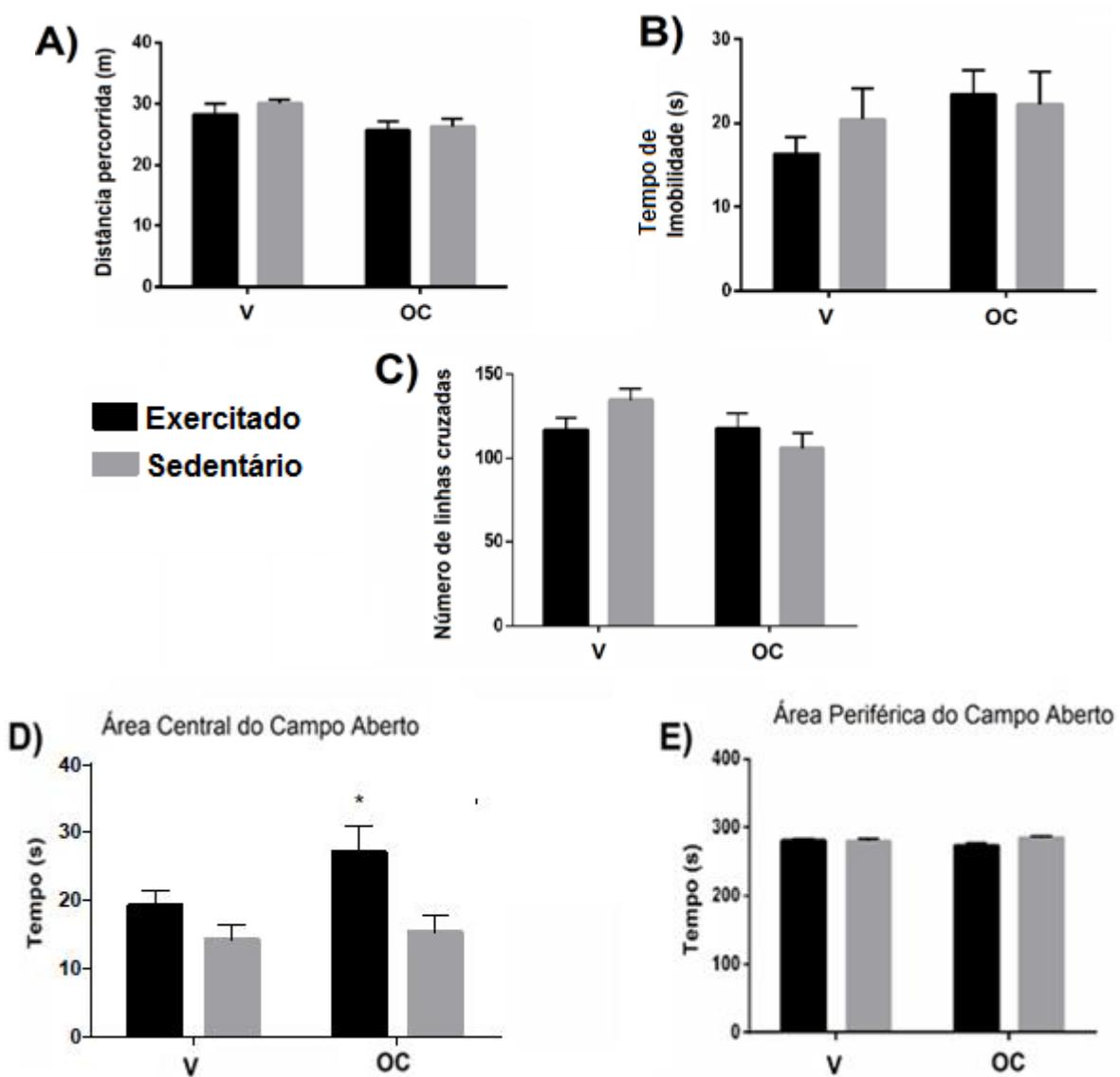


Figura 9 – Teste de Campo Aberto (TCA) de animais suplementados ou não com óleo de coco extravirgem no início da vida e submetidos a estresse de contenção. Segundo teste comportamental realizado. Dados estão em média \pm EPM. * indica diferença significativa referente ao fator exercício [$F(1,34) = 8,086, p = 0,0075$] no grupo tratado com OC em comparação ao grupo OC sedentário, segundo ANOVA de duas vias, seguida do teste “post hoc” de Tukey. V = suplementação com solução veículo (água destilada e Cremophor 0,009%). OC = suplementação com óleo de coco extravirgem. m = metros. s = segundos.

6.3.2 Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO)

ANOVA de duas vias não encontrou diferenças entre os grupos experimentais ($p > 0,05$) nas duas tarefas realizadas. Por outro lado, ANOVA de duas vias seguida de Teste de Tukey encontrou diferenças intragrupo. A suplementação com OC, associada ou não ao exercício, não influenciou de maneira significativa o desempenho dos animais para o reconhecimento da identidade, quando comparados aos respectivos grupos controles. Resultados do TRO (identidade do objeto) demonstraram que em relação ao tempo total de exploração nos objetos, os animais passaram mais tempo explorando o objeto novo [$F(1,64) = 647,70, p < 0,0001$]. Nesta avaliação, o índice de discriminação (%) do objeto novo foi significativamente maior que o índice de discriminação do familiar (V&S, $73,96 \pm 2,45\%$ versus $26,04 \pm 2,45\%$; V&Ex, $79,57 \pm 2,48\%$ versus $20,43 \pm 2,48\%$; OC&S, $73,00 \pm 2,49\%$ versus $27,00 \pm 2,49\%$; OC&Ex, $72,39 \pm 3,44\%$ versus $27,61 \pm 3,44\%$).

De forma semelhante à discriminação da identidade do objeto, a comparação intragrupo com os dados obtidos do teste para reconhecimento da localização espacial mostrou que os índices de discriminação para o objeto deslocado foram significativamente maiores do que os índices de discriminação do objeto estacionário [$F(1,68) = 317,60, p < 0,0001$]. Semelhante ao que foi observado no teste de formas, os ratos apresentaram um percentual de discriminação da nova localização espacial acima de 60% (V&S, $64,76 \pm 3,21\%$ versus $35,24 \pm 3,21\%$; V&Ex, $68,09 \pm 2,60\%$ versus $31,92 \pm 2,60\%$; OC&S, $72,80 \pm 1,95\%$ versus $27,20 \pm 1,95\%$; OC&Ex, $67,53 \pm 3,55\%$ versus $32,47 \pm 3,55\%$). Dados estão mostrados na figura 10 a seguir.

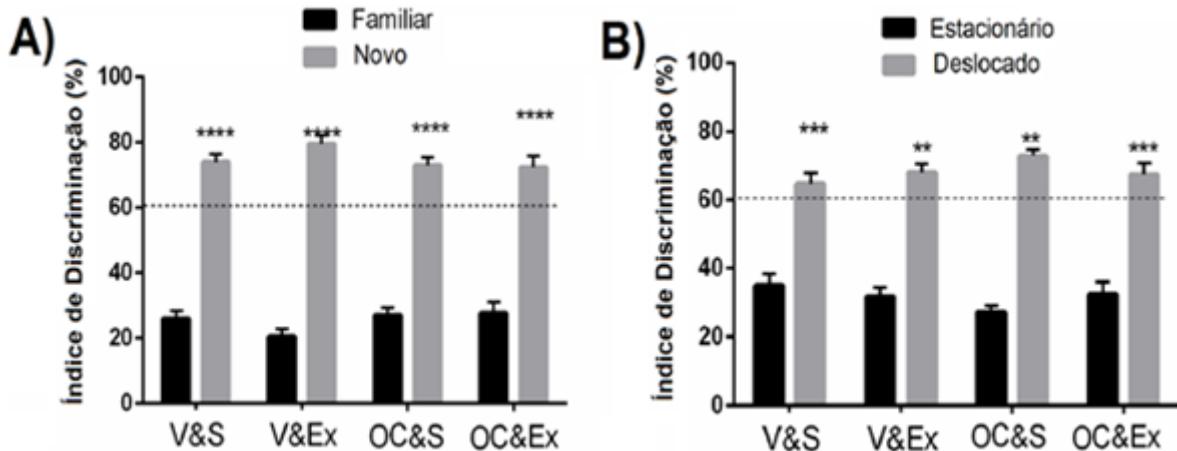


Figura 10 – Desempenho dos animais jovens estressados através de contenção no Teste de Reconhecimento de Objetos (TRO), de acordo com a forma e a localização espacial (primeiro dia e segundo dia da tarefa, respectivamente). Descrição dos dados em média \pm EPM. A) Índice de Discriminação (%) quanto à identidade do objeto, cujo percentual de tempo de exploração no objeto novo foi maior do que no familiar [$F(1,64) = 647,60, p < 0,0001$]. B) Índice de Discriminação (%) para localização espacial, cujo percentual de tempo de exploração no objeto deslocado foi maior do que no estacionário [$F(1,68) = 317,60, p < 0,0001$]. Não há diferenças intergrupos para as duas tarefas ($p > 0,05$). ANOVA de duas vias, seguida de teste “post hoc” de Tukey. V = suplementação com solução veículo (água destilada e Cremophor 0,009%). OC = suplementação com óleo de coco extravirgem. S = sedentário. Ex = exercitado em esteira.

A realização deste trabalho proporcionou a elaboração de um artigo científico original, com base nos resultados obtidos. O artigo será submetido à revista internacional *Nutritional Neuroscience*, e foi redigido e configurado conforme as normas da revista. Esta revista explora a área representada pela interface entre Nutrição, Dieta, Neurofisiologia, Neuropsicofarmacologia e Neurologia, sendo classificada como A2, na área de Nutrição, de acordo com a classificação de periódicos 2015, disponível na plataforma Sucupira da CAPES. Possui um fator de impacto 2.616.

7. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou, pela primeira vez na literatura, o impacto da suplementação de OC, e sua associação com o exercício físico em esteira iniciada no período crítico de desenvolvimento cerebral, sobre parâmetros comportamentais e metabólicos em ratos *Wistar* jovens submetidos a estresse por meio de contenção.

Durante o período de experimentação, o acompanhamento da evolução ponderal dos nossos animais foi importante para determinar se a ingestão do OC e a corrida em esteira influenciariam o peso corporal, fato não observado. Entretanto, estudo recente mostrou que dose de OC semelhante à do presente estudo e/ou a prática de natação, ambos realizados durante 4 semanas, acarretaram em diminuição no ganho de peso de ratos adultos hipertensos (ALVES et al., 2015). Tal fato pode ser explicado considerando que a velocidade de ganho de peso, e consequentemente a evolução ponderal, diminui à medida que o animal aumenta de idade (NERY et al., 2011). Portanto, a diferença entre as faixas etárias pode ter influenciado respostas distintas. Além disso, a contradição nos leva a crer que a dose de OC bem como o protocolo de exercício precisam ser mais amplamente testados.

Para complementar a análise dos efeitos da suplementação com OC e do exercício físico sobre crescimento corporal, além do peso, este estudo realizou a avaliação murinométrica. OC e exercício em esteira associados não alteraram o IMC, o Índice de Lee e a razão CA/CT. Resende et al. (2016) ratificam nossos achados, uma vez que esses autores encontraram efeitos semelhantes da suplementação (OC 3 mL/kg/dia, via gavagem) durante 28 dias, associada ao exercício físico forçado, sobre composição corporal de ratas *Wistar* adultas. Tal associação não alterou de maneira significativa os parâmetros murinométricos avaliados: massa corporal e o Índice de Lee. Logo, pode-se inferir que, mesmo diante de um protocolo de exercício e uma dose de OC distintos, parece que o OC não provoca alterações murinométricas em animais jovens.

Outro resultado interessante da relação OC&Ex está na avaliação do perfil lipídico. Embora o OC seja rico em gordura saturada, pois é essencialmente composto por AGCM, nenhum dos parâmetros bioquímicos analisados foram modificados de forma significativa. Estudos prévios demonstraram potencial benéfico tanto do OC (NEVIN e RAJAMOHAN, 2004; CARDOSO et al., 2015; YEAP et al.,

2015), quanto do exercício físico (BAPTISTA et al., 2008; CAMERON et al., 2012; GOUTIANOS et al., 2015) sobre lipídios sanguíneos. Diante dos trabalhos referidos, esperava-se que nossas condições experimentais pudessem otimizar o perfil lipídico dos nossos animais de maneira sinérgica, ou seja, reduzir os níveis de colesterol total, triglicerídeos e VLDL-colesterol, bem como, aumentar os níveis de HDL-colesterol. Entretanto, é importante considerar a influência do estresse de contenção, ao qual nossos animais foram submetidos. O estresse de contenção pode acarretar efeitos metabólicos adversos, inclusive dislipidemia (SHANMUGAPRIYA; SARUMATHI; SARAVANAN, 2012; MATSUURA et al., 2015). Assim, é possível sugerir que o nosso protocolo de estresse pode ter se contraposto aos efeitos do exercício em esteira e do OC.

Uma abordagem inovadora do presente estudo foi a classificação do desempenho dos animais ao longo de nosso protocolo de corrida. Optamos por selecionar os nossos animais aleatoriamente, considerando que em uma mesma população há indivíduos mais ou menos ativos, e assim avaliar o desempenho relacionado à suplementação com OC. Utilizamos como referência uma escala de mensuração 1 a 5, descrita previamente (DA SILVA et al., 2010; RACHETTI et al., 2013). Em geral, essa escala é utilizada para selecionar previamente os animais a compor os grupos exercitados.

Nossos achados mostraram que a suplementação não influenciou o desempenho dos nossos animais, visto que os grupos tratados com OC (rico em AGCM) e veículo não apresentaram diferenças significativas quanto ao desempenho durante a corrida em nenhuma das semanas de treino. Corroborando com nosso resultado, no estudo realizado Murray et al. (2011) ratos *Wistar* exercitados em esteira, e alimentados com dieta à base de TCM, não apresentaram melhora ou piora no desempenho do exercício (avaliado através das médias de distância percorrida) em comparação à dieta padrão. Neste contexto, a relação entre fonte de gordura, dose, via de administração e desempenho físico precisa ser melhor investigada.

Além dos parâmetros citados anteriormente, este estudo apresentou – de maneira pioneira – uma relação entre OC e exercício sobre ansiedade e memória. Nossos resultados indicam que os animais suplementados com OC apresentaram uma tendência a comportamento semelhante à ansiedade durante execução das tarefas estudadas. Tal comportamento caracterizou-se por um menor percentual de

tempo nos braços abertos do LCE, dos animais tratados com OC, independente da prática do exercício em esteira. Este é provavelmente o modelo animal mais utilizado na prática atual para o estudo da ansiedade (CAMPOS et al., 2013). O protocolo de exercício desenvolvido no presente estudo não influenciou de maneira significativa o comportamento avaliado através do teste de LCE. Nossos dados corroboram com os achados de Burghardt et al. (2004) onde 8 semanas de corrida em esteira não foram capazes de alterar o comportamento de ratos em nenhum dos testes realizados, inclusive no LCE. É importante ressaltar que o protocolo do estresse crônico de contenção do presente estudo pode ter intensificado o comportamento ansioso dos animais no LCE, dificultando a ação do OC&Ex sobre o comportamento do animal.

No TCA, outra tarefa comportamental associada ao estudo de respostas semelhantes à ansiedade (HALL, 1934; LISTER, 1990), o grupo OC&S permaneceu menos tempo no centro do campo aberto em comparação ao grupo OC&Ex. Tal comportamento é considerado ansiogênico, pois ratos que exploram mais a área central demonstram comportamento ansiolítico basal (PATKI et al., 2014). Neste teste, o exercício em esteira mostrou um potencial benéfico no comportamento dos ratos suplementados com OC, caracterizado pelo aumento do tempo de permanência na área central do aparato. Parece que o nosso protocolo de exercício foi capaz de reverter o efeito ansiogênico associado à suplementação com OC. Outras variáveis analisadas no TCA não foram influenciadas pelo OC.

Estudos prévios mostraram que uma mistura contendo ácidos graxos distintos (ácidos C12:0 láurico, C14:0 mirístico, C16:0 palmítico, C16:1 palmitoleico, C18:0 esteárico, C18:1 *cis* oleico, C18:1 *trans* elaídico e C18:2 linoleico), muitos destes presentes do OC, promoveu efeito ansiolítico em ratos *Wistar*, comparado a drogas ansiolíticas (RODRÍGUEZ-LANDA et al., 2013; CONTRERAS et al., 2014). Porém as quantidades de ácidos graxos necessárias para exercer tal efeito foram baseadas em suas concentrações no fluido amniótico humano.

Sugerimos que no presente estudo o comportamento ansiogênico observado nos grupos suplementados com OC pode ser causado pela maior disponibilidade do óleo, e consequentemente de seus componentes, na dose aqui utilizada, ou mesmo pelo desbalanço nutricional que esta suplementação possa ter ocasionado. Por exemplo, caso a concentração de ácido mirístico esteja duas vezes maior do que a encontrada no fluido amniótico humano parece haver uma redução na atividade de ratos em TCA (CONTRERAS et al., 2014). Embora, a literatura descreva tais

achados, a escassez de informações alerta a necessidade de mais investigações sobre a associação entre OC, desequilíbrio nutricional e comportamento para ratificar uma conclusão sobre seus efeitos e suas relações com a ansiedade.

Para complementar as análises comportamentais, os animais foram avaliados nos testes de reconhecimento de objetos. Esses testes avaliam o componente de memória episódica, que se refere à recordação consciente de onde e quando um determinado evento ou uma única experiência passada (o quê) aconteceu (DERE; HUSTON; SILVA, 2005). Déficits de memória episódica são identificados em diversas doenças neuropsiquiátricas, inclusive na doença de Alzheimer, daí a necessidade de utilizar modelos animais de memória do tipo episódica com o intuito de conceber tratamentos adequados (DERE; HUSTON; SILVA, 2005). O estudo desse componente é relevante para compreender mecanismos subjacentes ao registro desse tipo de memória. Trabalhos prévios mostraram que alternativas como o OC e o exercício físico podem promover efeitos benéficos sobre memória e cognição, através de mecanismos próprios.

O OC parece desempenhar um papel importante devido a seus componentes. Os AGCM podem atuar na melhora da memória através da produção de corpos cetônicos, uma fonte alternativa de energia para o cérebro em situações de privação de glicose (HENDERSON; POIRIER, 2011; DOTY, 2012; FERNANDO et al., 2015) e pela ativação direta da cetogênese em astrócitos observada *in vitro* (NONAKA et al., 2016). Embora, a melhora do desempenho cognitivo relacionada aos AGCM possa ocorrer independente da produção de cetona (WANG e MITCHELL, 2016). Além dos AGCM, os polifenóis presentes no óleo de coco podem exercer atividade anti-inflamatória e prevenir a agregação do peptídeo beta-amiloide (A β), implicado nos distúrbios de memória e doença de Alzheimer (FERNANDO et al., 2015). Entretanto, mais estudos que investiguem os efeitos do OC em fases da vida distintas, inclusive em condições fisiológicas, são necessários para esclarecer melhor seu papel sobre memória e cognição.

Quanto ao exercício físico, seus benefícios sobre o cérebro, e em particular sobre o hipocampo, centro principal para a aprendizagem e memória, são bem relatados na literatura (DA SILVA et al., 2010; RACHETTI et al., 2013; KIM et al., 2015). Corrida em esteira realizada regularmente melhora o aprendizado e a memória em ratos adolescentes. O treino por 30 minutos à velocidade de 8 m/min (5 vezes por semana, durante 6 semanas) está relacionado ao aumento da densidade

neuronal na região CA1 do hipocampo, no giro denteadoo e no córtex pré-frontal; além de aumento nos níveis de VEGF e BDNF hipocampais em ratos jovens. Logo, o hipocampo adolescente é beneficiado pelo exercício regular (UYBAL et al., 2015).

Em contrapartida, o estresse de contenção pode promover disfunção cognitiva (FERRAZ et al., 2011) e prejudicar o desempenho de animais no TRO (VARGAS-LÓPEZ et al., 2015). Nosso estudo mostrou que em ratos estressados, não houve melhora significativa do desempenho dos animais nas tarefas relacionada a OC&Ex. Entretanto, a literatura indica que o exercício em esteira realizado por ratos *Wistar* durante 21 dias (1 h/dia por 6 dias consecutivos à velocidade de 20-21 m/min, 0º de inclinação) antes da submissão ao estresse de contenção (6 horas diárias durante 21 dias), teve efeito significativo na melhora dos déficits de memória de curto e médio prazo, em relação ao grupo que não foi exercitado (RADAHMADI et al., 2015). Portanto, corrida em esteira antes do estresse crônico demonstrou efeito preventivo sobre prejuízo de memória induzido pelo estresse (RADAHMADI et al., 2015). Porém nosso experimento utilizou outro teste para avaliar a memória e um protocolo de estresse distinto, o que pode diferenciar nossos resultados dos anteriormente citados.

Ao comparar a relação intragruo, através do índice de discriminação, demonstramos que a memória foi preservada em todos os grupos nas tarefas. Os diferentes grupos exploraram mais o objeto com característica de novidade (novo *versus* familiar; deslocado *versus* estacionário) durante o tempo total de exploração nas tarefas. Esses resultados ratificam a preferência do animal em explorar o que é novidade no ambiente (ENNACEUR e DELACOUR, 1988; DERE; HUSTON; SILVA, 2005; AKKERMANN et al., 2012).

Diante do exposto, conclui-se que a manipulação nutricional, bem como o exercício, de acordo com: tipo, frequência, intensidade e duração; e o estresse, podem promover resultados distintos sobre aspectos metabólicos, composição corporal, comportamento relacionado à ansiedade e memória. Assim, conclui-se que são necessárias investigações mais aprofundadas utilizando fontes lipídicas alternativas, como o OC, associadas a exercício físico em diferentes fases da vida para esclarecer melhor esta questão.

8. CONCLUSÃO

Em conjunto, este trabalho sugere que em ratos jovens estressados após o período correspondente à suplementação e à prática ou não de exercício em esteira: (1) o OC não promoveu melhora no desempenho físico durante a corrida em esteira; (2) a suplementação com OC extravirgem durante período crítico de desenvolvimento encefálico parece provocar efeito ansiogênico; (3) A memória de todos os grupos foi preservada independente do tratamento; (4) parâmetros murinométricos e bioquímicos não foram alterados devido ao tratamento com OC e à prática de exercício em esteira. O presente estudo alerta para alterações ambientais (tais como: suplementação nutricional, exercício físico e estresse) em fases de desenvolvimento crítico do organismo sugerindo efeitos para a juventude. Diante do referido, a necessidade de compreender melhor ações do consumo de OC, tipo de exercício (duração, frequência, intensidade) e fases da vida devem ser objetos de investigações futuras.

REFERÊNCIAS

AKKERMAN, S.; PRICKAERTS, J.; STEINBUSCH, H. W. M.; BLOKLAND, A. Object recognition testing: statistical considerations. **Behavioral Brain Research**. v. 232, n. 2, p. 317-22, 2012.

ALVES, N. F. B.; PORPINO, S.K.P.; MONTEIRO, M. M. O.; GOMES, E. R. M.; BRAGA, V. A. Coconut oil supplementation and physical exercise improves baroreflex sensitivity and oxidative stress in hypertensive rats. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, 40, p. 393–400, 2015.

ARUNIMA, S.; RAJAMOHAN, T. Effect of virgin coconut oil enriched diet on the antioxidant status and paraoxonase 1 activity in ameliorating the oxidative stress in rats – a comparative study, **Food Funct.**, 4, p. 1402–1409, 2013.

ASSUNÇÃO, M.L.; FERREIRA, H.S.; DOS SANTOS, A.F.; CABRAL JR, C. R.; FLORÊNCIO, T. M. M. T. Effects of Dietary Coconut Oil on the Biochemical and Anthropometric Profiles of Women Presenting Abdominal Obesity. **Lipids**, 44, p.593–601, 2009.

BAPTISTA, S.; PILOTO, N.; REIS, F.; TEIXEIRA-DE-LEMOS, E.; GARRIDO, A.P.; DIAS, A et al. Treadmill running and swimming imposes distinct cardiovascular physiological adaptations in the rat: focus on serotonergic and sympathetic nervous systems modulation. **Acta Physiol Hung.**, v. 95, n. 4, p. 365-81, Dec. 2008.

BATISTA-DE-OLIVEIRA, M.; LOPES A. A.; MENDES-DA-SILVA R. F.; GUEDES R. C. Aging-dependent brain electrophysiological effects in rats after distinct lactation conditions, and treadmill exercise: a spreading depression analysis. **Exp Gerontol.**, v. 47, n. 6, p. 452-7, June, 2012.

BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D. Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **J. Endocrinol.**, v. 40, n. 4, p. 527-528, 1968.

BOITARD, C.; CAVAROC, A.; SAUVANT, J.; AUBERT, A.; CASTANON, N.; LAYÉ, S et al. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. **Brain Behav. Immun.**, 40, p. 9–17, 2014.

BORBA, J. M. C.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; DOS SANTOS, Â. A.; ANDRADE DA COSTA, B. L. D. S.; DA SILVA, R. P.; PASSOS, P. P.; GUEDES, R. C. A. Essential fatty acid deficiency reduces cortical spreading depression propagation in rats: a two-generation study. **Nutritional neuroscience**, v. 13, n. 3, p. 144-150, 2010.

BORSONELO, E.C.; SUCHECKI, D.; GALDURÓZ, J.C.F. Effect of fish oil and coconut fat supplementation on depressive-type behavior and corticosterone levels of prenatally stressed male rats. **Brain Research**, 1385, p. 144 – 150, 2011.

BOURRE, J. M. Biochemistry of brain lipids (especially fatty acids). In situ synthesis and exogenous origin during development. Various aspects of nutritional effects. **Reproduction, nutrition, développement**, v. 22, n. 1B, p. 179, 1982.

BRUDER-NASCIMENTO, T.; SILVA, S. T.; BOER, P. A.; CORDELLINI, S. Effects of exercise training on stress-induced vascular reactivity alterations: role of nitric oxide and prostanoids. **Brazilian journal of physical therapy**, v. 19, n. 3, p. 177-185, 2015.

BURGHARDT, P. R.; FULK, L. J.; HAND, G. A.; WILSON, M. A. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. **Brain research**, v. 1019, n. 1, p. 84-96, 2004.

BUYNITSKY, T.; MOSTOFSKY, D. I. Restraint stress in biobehavioral research: recent developments. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 7, p. 1089-1098, 2009.

CAMERON, I.; ALAM, M. A.; WANG, J.; BROWN, L. Endurance exercise in a rat model of metabolic syndrome. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 90, n. 11, p. 1490-1497, 2012.

CAMPOS, A. C.; FOGAÇA, M. V.; AGUIAR, D. C.; GUIMARAES, F. S. Animal models of anxiety disorders and stress. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo , v. 35, supl. 2, p.101-111, 2013.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Rep.**, v. 100, n.2, p. 126-31, 1985.

CARDOSO, D. A.; MOREIRA, A. S.; DE OLIVEIRA, G. M.; LUIZ, R. R.; ROSA, G. A coconut extra virgin oil-rich diet increases HDL cholesterol and decreases waist

circumference and body mass in coronary artery disease patients. **Nutr Hosp**, v. 32, n. 5, p. 2144-2152, 2015.

ÇAKIR, B.; KASIMAY, Ö.; KOLGAZI, M.; ERSOY, Y.; ERCAN, F.; YEĞEN, B. Ç. Stress-induced multiple organ damage in rats is ameliorated by the antioxidant and anxiolytic effects of regular exercise. **Cell biochemistry and function**, v. 28, n. 6, p. 469-479, 2010.

CHIBA, S.; NUMAKAWA, T.; NINOMIYA, M.; RICHARDS, M. C.; WAKABAYASHI, C.; KUNUGI, H. Chronic restraint stress causes anxiety-and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 39, n. 1, p. 112-119, 2012.

CONTARTEZE, R. V. L.; MANCHADO, F. D. B.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. R. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 151, n. 3, p. 415-422, 2008.

CONTRERAS, C. M.; RODRÍGUEZ-LANDA, J. F.; GARCÍA-RÍOS, R. I.; CUETO-ESCOBEDO, J.; GUILLEN-RUIZ, G.; BERNAL-MORALES, B. Myristic acid produces anxiolytic-like effects in Wistar rats in the elevated plus maze. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

CREAL - CENTRO DE REPRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO. **Procedimentos para Anestesia de Animais de Laboratório**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 2013.

CRUZ, A.P.M.; ZANGROSSI, H.; GRAEFF, F.G.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos animais de ansiedade: implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. **Psicol. Teor. Pesq.** v. 13; n. 3, p. 269-78, 1997.

CRUZ, A.P.M.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotonérgicas. In: LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; FUKUSIMA, S. (org), **Métodos em Neurociência**. São Paulo: Manole, 2012. p. 192 - 217.

CUNHA, C.; BRAMBILLA, R.; THOMAS, K. L. A simple role for BDNF in learning and memory? **Front. Mol. Neurosci.** v. 3, p. 1-14, 2010.

DA SILVA, S.G; DONÁ, F.; DA SILVA FERNANDES, M. J.; SCORZA, F. A.; CAVALHEIRO, E. A.; ARIDA, R. M. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. **Brain and Development**, v. 32, n. 2, p. 137-142, 2010.

DA SILVA PEDROZA, A. A.; LOPES, A.; DA SILVA, R. F. M.; BRAZ, G. R.; NASCIMENTO, L. P.; FERREIRA, D. S et al. Can fish oil supplementation and physical training improve oxidative metabolism in aged rat hearts? **Life sciences**, v. 137, p. 133-141, 2015.

DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 241-247, 2011.

DERE, E.; HUSTON, J. P.; SILVA, M. A. D. S. Episodic-like memory in mice: Simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. **Brain Research Protocols**, v. 16, n. 1-3, p. 10-19, 2005.

DE QUERVAIN, D.; SCHWABE, L.; ROOZENDAAL, B. Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 7-19, 2017.

DE SANTANA MUNIZ, G.; DA SILVA, A. M. A.; CAVALCANTE, T. C. F.; DA SILVA FRANÇA, A. K.; FERRAZ, K. M.; DO NASCIMENTO, E. Early physical activity minimizes the adverse effects of a low-energy diet on growth and development parameters. **Nutritional neuroscience**, v. 16, n. 3, p. 113-124, 2013.

DIEDERICH, K.; BASTL, A.; WERSCHING, H.; TEUBER, A.; STRECKER, J. K.; SCHMIDT, A et al. Effects of different exercise strategies and intensities on memory performance and neurogenesis. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 11, artigo 47, 2017.

DOBBING J. Vulnerable periods in developing brain. In: DAVISON, A. N.; DOBBING, J. (eds.) **Applied neurochemistry**. Oxford: Blackwell, 1968. p. 287-316.

DOTY, L. Coconut Oil for Alzheimer's Disease? **Clinical Practice**, v.1, n. 2, p. 12-17, 2012.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behav. Brain Res.**, 31, p.47-59, 1988.

FAHY, E.; COTTER, D.; SUD, M.; SUBRAMANIAM, S. Lipid classification, structures and tools. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1811, n. 11, p. 637-647, 2011.

FERNANDO, W. M. A. D. B.; MARTINS, I. J.; GOOZEE, K.G.; BRENNAN, C. S.; JAYASENA, V.; MARTINS, R.N. The role of dietary coconut for the prevention and treatment of Alzheimer's disease: potential mechanisms of action. **British Journal of Nutrition**, v. 114, n.1, p. 1 – 14, 2015.

FERRAZ, A. C.; DELATTRE, A. M.; ALMENDRA, R. G.; SONAGLI, M.; BORGES, C. ARAUJO, P et al. Chronic C₀-3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol. **Behavioural Brain Research**, 219, p. 116–122, 2011.

FREEMAN L. R.; HALEY-ZITLIN, V.; STEVENS, C.; GRANHOLM, A. C. Diet-induced effects on neuronal and glial elements in the middle-aged rat hippocampus. **Nutr Neurosci.**, v.14, n.1, p. 32–44, Jan.2011.

FRIEDEWALD, W. T; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. **Clin Chem.**, v.18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GIBNEY, S. M.; FAGAN, E. M.; WALDRON, A-M.; O'BYRNE, J.; CONNOR, T. J.; HARKIN, A. Inhibition of stress-induced hepatic tryptophan 2,3-dioxygenase exhibits antidepressant activity in an animal model of depressive behaviour. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, 17, p. 917–928, 2014.

GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; DE AZEVEDO, J. R. M.; DOS SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 130, n. 1, p. 21-27, 2001.

GOUTIANOS, G.; TZIOURA, A.; KYPAROS, A.; PASCHALIS, V.; MARGARITELIS, N.V.; VESKOUKIS, A.S et al. The rat adequately reflects human responses to exercise in blood biochemical profile: a comparative study. **Physiological Reports**, v. 3, n.2, Feb. 2015.

GRANHOLM, A. C.; BIMONTE-NELSON, H. A.; MOORE, A. B.; NELSON, M. E.; FREEMAN, L. R.; SAMBAMURTI, K. Effects of a saturated fat and high cholesterol diet on memory and hippocampal morphology in the middle-aged rat. **J Alzheimers Dis.**, v.14, n.2, p. 133-45, June, 2008.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **J. Comp. Psychol.** 18, p.385-403, 1934.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacology**, v. 327, n. 1, p. 1-5, 1984.

HENDERSON, S. T.; POIRIER, J. Pharmacogenetic analysis of the effects of polymorphisms in APOE, IDE and IL1B on a ketone body based therapeutic on cognition in mild to moderate Alzheimer's disease; A Randomized, double-blind, placebo-controlled study. **BMC Med Gen.**, v.12, n.137, 2011.

HERNÁNDEZ, A.; BURGOS, H.; MONDACA, M.; BARRA, R.; NÚÑEZ, H.; PÉREZ, H et al. Effect of Prenatal Protein Malnutrition on Long-Term Potentiation and BDNF Protein Expression in the Rat Entorhinal Cortex after Neocortical and Hippocampal Tetanization. **Neural Plasticity**, volume 2008, Article ID 646919, 9 pages, 2008.

IPPAGUNTA, S.; HADENFELDT, T. J.; MINER, J. L.; HARGRAVEBARNES, K. M. Dietary conjugated linoleic acid induces lipolysis in adipose tissue of coconut oil-fed mice but not soy oil-fed mice. **Lipids**, v. 46, n. 9, p. 821-830, 2011.

KIM, K.; SUNG, Y. H.; SEO, J. H.; LEE, S. W.; LIM, B. V.; LEE, C. Y. et al. Effects of treadmill exercise-intensity on short-term memory in the rats born of the lipopolysaccharide-exposed maternal rats. **Journal of exercise rehabilitation**, v. 11, n. 6, p. 296, 2015.

KOROSI, A.; NANINCK, E. F. G.; OOMEN, C. A.; SCHOUTEN, M.; KRUGERS, H.; FITZSIMONS, C et al. Early-life stress mediated modulation of adult neurogenesis and behavior. **Behavioural brain research**, v. 227, n. 2, p. 400-409, 2012.

LAVIE, C. J.; MILANI, R. V.; O'KEEFE, J. H.; LAVIE, T. J. Impact of exercise training on psychological risk factors. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 53, n. 6, p. 464-470, 2011.

LEE, H.; NOH, J. Social exclusion intensifies anxiety-like behavior in adolescent rats. **Behavioural Brain Research**, 284, p.112–117, 2015.

LIAU, K. M.; LEE, Y. Y.; CHEN, C. K.; RASOOL, A.H.G. An open-label pilot study to assess the efficacy and safety of virgin coconut oil in reducing visceral adiposity. **ISRN Pharmacology**, v. 2011, p.1-7, 2011. Article ID 949686.

LIMA, E. B. C.; SOUSA, C. N. S.; MENESSES, L. N.; XIMENES, N. C.; JÚNIOR, S.; VASCONCELOS, G. S et al. *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 11, p. 953-964, 2015.

LISTER, G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmac. Ther.** 1990; v. 46, n.3, p.321-340, 1990.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. D. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARINA, A. M.; MAN, YB Che; AMIN, I. Virgin coconut oil: emerging functional food oil. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 10, p. 481-487, 2009.

MARTEN, B.; PFEUFFER, M.; SCHREZENMEIR, J. Medium-chain triglycerides. **International Dairy Journal**, v.16, p.1374–1382, 2006.

MATSUURA, N.; NAGASAWA, K.; MINAGAWA, Y.; ITO, S.; SANO, Y.; YAMADA, Y et al. Restraint stress exacerbates cardiac and adipose tissue pathology via β adrenergic signaling in rats with metabolic syndrome. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 308, n. 10, p. H1275-H1286, 2015.

MCEWEN, B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. **Physiological reviews**, v. 87, n. 3, p. 873-904, 2007.

MELLO, P. B.; BENETTI, F.; CAMMAROTA, M.; IZQUIERDO, I. Effects of acute and chronic physical exercise and stress on different types of memory in rats. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 80, n. 2, p. 301-309, 2008.

MILLER, G. E.; CHEN, E.; PARKER, K.J. Psychological Stress in Childhood and Susceptibility to the Chronic Diseases of Aging: Moving Towards a Model of Behavioral and Biological Mechanisms. **Psychol Bull.**, v. 137, n. 6, p. 959–997, 2011.

MORATO, S. O papel da visão na aversão aos espaços abertos no labirinto em cruz elevado. **Psicol. USP**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 159-174, 2006.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LAFRANCE, R. J.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DIAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 17, p.91–128, 1993.

MOTAGHINEJAD, M.; MOTEVALIAN, M.; LARIJANI, S. F.; KHAJEHAMEDI, Z. Protective effects of forced exercise against methylphenidate-induced anxiety, depression and cognition impairment in rat. **Advanced biomedical research**, v. 4, 2015.

MURO, E.; ATILLA-GOKCUMEN, G. E.; EGGERT, U. S. Lipids in cell biology: how can we understand them better? **Molecular biology of the cell**, v. 25, n. 12, p. 1819-1823, 2014.

MURRAY, A. J.; KNIGHT, N. S.; LITTLE, S. E.; COCHLIN, L. E.; CLEMENTS, M.; CLARKE, K. Dietary long-chain, but not medium-chain, triglycerides impair exercise performance and uncouple cardiac mitochondria in rats. **Nutrition & metabolism**, v. 8, n. 1, p. 1, 2011.

NERY, C. S.; PINHEIRO, I. L.; MUNIZ, G. S.; VASCONCELOS, D. A. A.; FRANÇA, S. P.; NASCIMENTO, E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 49-55, Feb. 2011.

NEVIN, K.G.; RAJAMOHAN, T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. **Clin Biochem.**, v.37, n.9, p.830-5, 2004.

NOBRE, M. E. P.; CORREIA, A. O.; MENDONÇA, F. N. M.; UCHOA, L. R. A.; VASCONCELOS, J. T. N.; DE ARAÚJO, C. N. A. et al. Omega-3 Fatty Acids: Possible Neuroprotective Mechanisms in the Model of Global Ischemia in Rats. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2016, 2016.

NONAKA, Y.; TAKAGI, T.; INAI, M.; NISHIMURA, S.; URASHIMA, S.; HONDA, K et al. Lauric Acid Stimulates Ketone Body Production in the KT-5 Astrocyte Cell Line. **J Oleo Sci.**, v. 65, n. 8, p. 693-9, 2016.

NOVELLI, E. L. B.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; EBAID, G. M. X.; RODRIGUES, H. G.; MANI, F et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, n. 1, p. 111-9, 2007.

ORSAVOVA, J.; MISURCOVA, L.; AMBROZOVA, J. V.; VICHA, R.; MLCEK, J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake

and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. **Int. J. Mol. Sci.** 2015, 16, p.12871-12890, 2015.

PAES, S. T.; MARINS, J. B.; ANDREAZZI, A. E. Efeitos metabólicos do exercício físico na obesidade infantil: uma visão atual. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 1, p. 122-129, 2015.

PATKI, G.; LI, L.; ALLAM, F.; SOLANKI, N.; DAO, A.T.; ALKADHI, K.; SALIM, S. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. **Physiol. Behav.** v.10, n. 130, p. 47–53, May, 2014.

PELOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 24, p. 525-9, 1985.

PELOW, S.; FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 24, p. 525-529, 1986.

RACHETTI, A. L. F.; ARIDA, R. M.; PATTI, C. L.; ZANINB, K. A.; FERNADES-SANTOS, L; FRUSSA-FILHO, R et al. Fish oil supplementation and physical exercise program: Distinct effects on different memory tasks. **Behavioural Brain Research**, 237, p.283– 289, 2013.

RADAHMADI, M.; ALAEI, H.; SHARIFI, M. R.; HOSSEINI, N. Preventive and therapeutic effect of treadmill running on chronic stress-induced memory deficit in rats. **Journal of bodywork and movement therapies**, v. 19, n. 2, p. 238-245, 2015.

RESENDE, N. M.; FÉLIX, H. R.; SORÉ, M. R.; NETO, A. M. M; CAMPOS, K. E.; VOLPATO, G. T. The effects of coconut oil supplementation on the body composition and lipid profile of rats submitted to physical exercise. **An. Acad. Bras. Ciênc.** Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 933-940, June 2016.

RICE, D.; BARONE JUNIOR, S. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. **Environmental health perspectives**, v. 108, n. Suppl 3, p. 511-533, 2000.

RIVERA, E. A. B. Capítulo 29 - Estresse em animais de laboratório. In: ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S.; orgs. **Animais de Laboratório: criação e**

experimentação [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6.

ROCHA-DE-MELO, A. P.; CAVALCANTI, J. B.; BARROS, A. B; GUEDES, R. C. A. Manipulation of rat litter size during suckling influences cortical spreading depression after weaning and at adulthood. **Nutr. Neurosci.** v. 9, p. 155-160, 2006.

RODGERS, R. J.; CAO, B.-J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Braz J Med Biol Res.**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 3, p. 289-304, Mar. 1997.

RODRÍGUEZ-LANDA, J. F.; GARCÍA-RÍOS, R. I.; CUETO-ESCOBEDO, J.; BERNAL-MORALES, B.; CONTRERAS, C. M. Participation of Chloride Channels in the Anxiolytic-Like Effects of a Fatty Acid Mixture. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

ROYCE, J. T. On the construct validity of open field measures. **Psychological Bulletin**. v. 84, p. 1098-1106, 1977.

SALIM, S.; SARRAJ, N.; MANISH, T.; SAHA, K.; TEJADA-SIMON, M. V.; CHUCH, G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. **Behavioural Brain Research**, 208, p. 545-552, 2010.

SALMON, P. Effects of physical exercise on anxiety, depression, and sensitivity to stress: A unifying theory. **Clin Psychol Rev.**, v. 21, n. 1, p. 33-61, 2001.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER H. T.; MAGNONI, C. D.; CASSANI R.; LOTTENBERG A. M et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol.** 100(1Supl.3), p. 1-40, 2013.

SCOPEL, D.; FOCHESSATTO, C.; CIMAROSTI, H.; RABBO, M.; BELLO-KLEIN, A.; SALBEGO, C et al. Exercise intensity influences cell injury in rat hippocampal slices exposed to oxygen and glucose deprivation. **Brain Res. Bull.**, 71, p.155-159, 2006.

SCHWEIGERT, I. D.; SOUZA, D. O. G.; PERRY, M. L. S. Malnutrition, central nervous system maturation and neuropsychiatric diseases. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 271-281, 2009.

SELYE, H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. **Canadian Medical Association Journal**, v. 115, n. 1, p. 53 - 56, 1976.

SHANMUGAPRIYA, S.; SARUMATHI, A.; SARAVANAN, N. Study of lipid profile changes and histopathology examination of heart under immobilization stress with static magnetic field exposure in rats. **International Journal of Environmental Biology**, v.2, n. 2, p. 41-49, 2012.

SINGH-TAYLOR, A.; KOROSI, A.; MOLET, J.; GUNN, B. G.; BARAM, T. Z. Synaptic rewiring of stress-sensitive neurons by early-life experience: A mechanism for resilience? **Neurobiology of Stress** 1, p.109-115, 2015.

SMART, J. L.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of foetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Research**, v. 33, n. 2, p. 303-314, 1971.

TAKAHASHI, H.; SHIBUYA, M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. **Clinical science**, v. 109, n. 3, p. 227-241, 2005.

UYDAL, N.; KIRAY, M.; SISMAN, A. R.; CAMSARI, U.; GENCOGLU, C.; BAYKARA, B et al. Effects of voluntary and involuntary exercise on cognitive functions, and VEGF and BDNF levels in adolescent rats. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 90, n. 1, p. 55-68, 2015.

VARGAS-LÓPEZ, V.; TORRES-BERRO, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, L.; MÚNERA, A.; LAMPREA, M. R. Acute restraint stress and corticosterone transiently disrupts novelty preference in an object recognition task. **Behavioural Brain Research**, 291, p. 60–66, 2015.

VIANA, L. C.; LIMA, C. M.; OLIVEIRA, M. A.; BORGES, R. P.; CARDOSO, T. T.; ALMEIDA, I. N. F et al. Litter size, age-related memory impairments, and microglial changes in rat dentate gyrus: stereological analysis and three dimensional morphometry. **Neuroscience**, v. 238, p. 280-296, 2013.

VON BORELL, E.H. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. **J Anim Sci.**, 79 (E Suppl), p.E260–7, 2001.

WANG, D.; MITCHELL, E.S. Cognition and Synaptic-Plasticity Related Changes in Aged Rats Supplemented with 8- and 10-Carbon Medium Chain Triglycerides. **PLoS ONE**, v.11, n.8, 2016. e0160159. doi:10.1371/journal.pone.0160159.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. **Psychological Bulletin**. v. 83, p. 482-504, 1976.

WILLING, J.; JURASKA, J. M. The timing of neuronal loss across adolescence in the medial prefrontal cortex of male and female rats. **Neuroscience**, v. 301, p. 268-275, 2015.

YANG, I. H.; DE LA RUBIA ORTÍ, J. E.; SABATER, P. S.; CASTILLO, S. S.; ROCHINA, M. J.; RAMÓN, N. M et al. Aceite de coco: tratamiento alternativo no farmacológico frente a la enfermedad de Alzheimer. **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, n. n06, p. 2822-2827, 2015.

YEAP, S. W.; BEH, B. K.; ALI, N. M.; YUSOF, H. M.; HO, W. Y.; KOH, S. P et al. Antistress and antioxidant effects of virgin coconut oil *in vivo*. **Experimental and therapeutic medicine**, 9, p. 39-42, 2015.

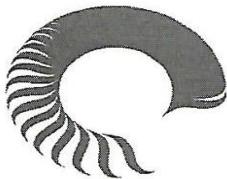
YUM, H-W.; NA, H-K.; SURH, Y-J. Anti-inflammatory effects of docosahexaenoic acid: Implications for its cancer chemopreventive potential. In: **Seminars in Cancer Biology**. Academic Press, 2016. p. 141-159.

ZAKARIA, Z. A.; ROFIEE, M. S.; SOMCHIT, M. N.; ZURAINI, A.; SULAIMAN, M. R.; TEH, L. K et al. Hepatoprotective Activity of Dried- and Fermented Processed Virgin Coconut Oil. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2011;2011:142739. doi: 10.1155/2011/142739.

ZHANG, W.; ROSENKRANZ, J. A. Repeated restraint stress enhances cue-elicited conditioned freezing and impairs acquisition of extinction in an age-dependent manner. **Behavioural Brain Research**, 248, p.12–24, July, 2013.

ANEXO

ANEXO A – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE



**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 28 de abril de 2016.

Ofício nº 28/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof.^a **Manuella Batista de Oliveira Hornsby**
Departamento de Nutrição
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.048534/2015-23

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Óleo de coco e exercício em esteira influenciam parâmetros comportamentais e metabólicos em ratos Wistar jovens estressados”**.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição – CCS/UFPE; Animais: ratos; Linhagem: Wistar; Sexo: machos; Idade: 7-60 dias; peso: 15-300g; O processo encontra-se aprovado, mas houve solicitação de mais 12 animais para continuidade do projeto. Desta forma, o nº total de animais da pesquisa é de 72 ratos.

Atenciosamente,

 Prof. Dr. Pedro V. Carelli
 Presidente da CEUA / CCB - UFPE
 UFPE SIAPE 1801584