UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Dominique Hellen Silva da Costa

JEJUM INTERMITENTE E COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE E MEMÓRIA: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS *WISTAR* JOVENS

RECIFE
2023

DOMINIQUE HELLEN SILVA DA COSTA

JEJUM INTERMITENTE E COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE E MEMÓRIA: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS *WISTAR* JOVENS

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção de grau de Nutricionista.
Área de concentração: Bases experimentais da Nutrição

Orientador(a): Prof Dra. Ana Paula Rocha de Melo
Coorientador(a): Prof Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes

Recife-PE
2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Costa, Dominique Hellen Silva da.
Jejum intermitente e comportamento de ansiedade e memória: um estudo experimental em ratos Wistar jovens / Dominique Hellen Silva da Costa. - Recife, 2023.
63 : il.

Orientador(a): Ana Paula Rocha de Melo
Cooorientador(a): Rubem Carlos Araújo Guedes
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Nutrição - Bacharelado, 2023.
Inclui referências, anexos.

1. Nutrição experimental. 2. Jejum intermitente. 3. Ansiedade. 4. Memória. 5. Ratos Wistar. I. Melo, Ana Paula Rocha de. (Orientação). II. Guedes, Rubem Carlos Araújo. (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

DOMINIQUE HELLEN SILVA DA COSTA

JEJUM INTERMITENTE E COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE E MEMÓRIA: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS *WISTAR* JOVENS

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção de grau de Nutricionista.

Área de concentração: Bases experimentais da Nutrição.

Aprovado em: 20/04/2023.

BANCA EXAMINADORA

_____

Profª. Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes (Coorientador)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

_____

Profª. Dra. Gisélia de Santana Muniz (Examinador Um)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

_____

Profª. Dra. Maria Surama Pereira da Silva (Examinador Dois)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

AGRADECIMENTOS

Por muito tempo tenho procurado as palavras certas para iniciar essa pequena, mas tão significativa parte do meu trabalho. Confesso que cheguei à conclusão de que nenhuma frase consegue expressar com exatidão a minha gratidão ao meu Criador que "Soli Deo Gloria". Portanto, que o meu Deus tenha preeminência em todas as minhas conquistas e a Ele seja a minha gratidão eterna por ser tudo em mim.

Sou grata pela família que me foi concedida, do seio que sempre me ofereceu apoio em meus estudos e em minha vida comum. Obrigada Rivaldo e Margareth por toda instrução que recebi, vocês são exemplos de amor, humildade e caráter, espero retribuir com excelência o esforço de vocês. Às minhas tias Mônica, Mariana, Rosália e Rosineide, ofereço a minha gratidão, vocês sempre acreditaram em mim e não mediram esforços para me ajudar em minhas necessidades. Minha gratidão ao meu companheiro Gabriel, por partilhar a vida comigo e ser meu suporte, amigo, conselheiro e alegria nesses últimos anos; te amo muito, querido. Agradeço a João e Clarissa, vocês são bençãos de Deus em minha vida.

Agradeço também aos meus avós Lourdes, Antônio e Maria, que me ensinaram que valia a pena trilhar esse caminho mesmo com toda a dureza da vida, me sinto honrada em ainda tê-los perto de mim. Ao meu querido, eterno, amável, justo, honesto e honrado avô Milton, dedico esse trabalho. O seu exemplo, disposição e amor por mim me tornaram a pessoa que sou hoje. Espero que a sua Domi te dê muito orgulho; você será para sempre o amor da minha vida, mesmo que não esteja mais aqui.

Sou grata ao Prof. Rubem, que tem toda a minha admiração. Obrigada por aceitar o meu projeto e contribuir significativamente para realizá-lo. Agradeço à Profª Ana Paula pela paciência, ensino e disposição em me ajudar, você foi essencial! Agradeço aos meus professores do curso por todo o conhecimento passado sem medirem esforços e por serem exemplos de profissionais da Nutrição. Agradeço também à Amanda, por dividir as alegrias e dificuldades desse projeto comigo, por todo o apoio e instrução que me ofereceu.

Quero agradecer aos meus amigos da graduação Mari, Ilana, Mabe, Thiago, Fabi, Ethel, Gerlane, Thayna, Thais e tantos outros, por todo apoio durante a graduação, pelos choros partilhados em momentos difíceis, pelas palavras de motivação que sempre recebi e por acreditarem em mim como profissional e pessoa. Meus agradecimentos às minhas amigas tão queridas do curso técnico, Eliz e Beatriz, por todo o incentivo que me deram e pelas risadas garantidas quando as encontro.

Por fim, agradeço aos que me apresentaram e ainda apresentam em suas orações, que o Senhor os abençoe e os bendiga. Soli Deo Gloria!

RESUMO

O Jejum Intermitente (JI) é uma estratégia milenar de caráter religioso e científico, que consiste em períodos intercalados de ingestão *Ad Libitum* e momentos de privação alimentar, e tem ganhado a atenção acadêmica devido aos seus possíveis efeitos sobre a perda ponderal e otimização metabólica. No entanto, pouco tem sido estudado sobre seus efeitos no sistema nervoso central. Acredita-se que o JI possa contribuir para a potencialização de parâmetros cognitivos e comportamentais, de modo a favorecer a síntese de proteínas neuroprotetoras e melhorar os mecanismos envolvidos nos processos de ansiedade e memória. Este estudo propôs investigar os impactos do JI sobre os comportamentos de ansiedade e memória de 37 ratos animais (ratos *Wistar*). Os animais foram divididos em grupo Controle (*Ad Libitum*), grupo JI 24h e grupo JI 16h, sendo os dois últimos grupos citados submetidos ao jejum em dias alternados, com duração de 24h/dia e 16h/dia, respectivamente. O JI teve início após o desmame, quando os animais tinham idade aproximada de 24 dias e durou até o 80° dia de vida dos ratos, com aferição do consumo e peso corporal a cada 2-3 dias, do início ao fim do jejum. Os testes de Campo Aberto, Reconhecimento de objetos e Labirinto em Cruz Elevado foram realizados quando os ratos tinham idade aproximada de 85 dias. No que se refere ao consumo de ração e ganho de peso, ambos os grupos apresentaram resultados semelhantes. Foram observadas diferenças significativas no número de entradas no centro e tempo gasto no centro, no teste de Campo Aberto pelos grupos submetidos ao JI em comparação ao grupo Controle, sendo demonstrada maior existência do comportamento de ansiedade nos animais com privação alimentar. De modo semelhante, no teste do Labirinto em Cruz Elevado, foi constatado menor número de entradas e menor tempo gasto nos braços abertos nos animais participantes do JI, indicando maior presença do comportamento ansioso. Nos testes referentes à memória, os animais do grupo jejum sinalizaram menor frequência de índices de discriminação positivos, sugerindo que esses animais manifestaram menos capacidade de memorização, quando comparados aos dos grupos controle. Os resultados indicam que o JI não somente propiciou maior incidência do comportamento de ansiedade e menor capacidade de memorização, como também não foi eficiente na diminuição significativa do consumo de ração a longo prazo e peso corporal, contrastando com os possíveis efeitos apontados na literatura, para animais adultos.

Palavras-chave: Jejum intermitente; comportamento; ganho ponderal; ansiedade; memória.

ABSTRACT

Intermittent Fasting (IF) is an ancient strategy of a religious and scientific nature, which consists of interspersed periods of *Ad Libitum* intake and moments of food deprivation, and has gained academic attention due to its possible effects on weight loss and metabolic optimization. However, little has been studied about its effects on the central nervous system. It is believed that IF can contribute to the enhancement of cognitive and behavioral parameters, in order to favor the synthesis of neuroprotective proteins and improve the mechanisms involved in anxiety and memory processes. This study proposed to investigate the impacts of IF on the anxiety and memory behaviors of 37 animal rats (Wistar rats). The animals were divided into a Control group (Ad Libitum), IF 24h group and IF 16h group, with the last two groups mentioned being submitted to fasting on alternate days, lasting 24h/day and 16h/day, respectively. The IF began after weaning, when the animals were approximately 24 days old, and lasted until the 80th day of life of the rats, with measurement of consumption and body weight every 2-3 days, from the beginning to the end of the fasting period. The Open Field, Object Recognition and Elevated Cross Maze tests were performed when the rats were approximately 85 days old. With regard to feed intake and weight gain, both groups showed similar results. Significant differences were observed in the number of entrances to the center and time spent in the center, in the Open Field test by the groups submitted to IF compared to the Control group, demonstrating a greater existence of anxiety behavior in animals with food deprivation. Similarly, in the Elevated Cross Maze test, a smaller number of entries and less time spent in the open arms were observed in the animals participating in the IF, indicating a greater presence of anxious behavior. In tests related to memory, animals in the fasting group showed a lower frequency of positive discrimination indices, suggesting that these animals showed less memory capacity when compared to those in the control groups. The results indicate that the IF not only provided a higher incidence of anxiety behavior and lower memory capacity, but it was also not efficient in significantly reducing long-term feed intake and body weight, contrasting with the possible effects pointed out in the literature, for adult animals.

Keywords: Intermittent fasting; behavior; weight gain; anxiety; memory.

LISTA DE ABREVIAÇÕES

JI	Jejum Intermitente
PND	Dia pós-natal
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DCNTs	Doenças crônicas não transmissíveis
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
CA	Campo Aberto

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	11
2	**REVISÃO DE LITERATURA**	13
2.1	**Ansiedade e memória: estudos experimentais**	13
2.2	**Jejum intermitente: religião, ciência e saúde**	17
2.3	**O papel do jejum intermitente em modular a ansiedade e memória**	22
3	**OBJETIVOS**	25
3.1	**Objetivo geral**	25
3.2	**Objetivos específicos**	25
4	**METODOLOGIA**	25
4.1	**Grupos experimentais**	25
4.2	**Testes comportamentais**	27
4.2.1	CAMPO ABERTO	27
4.2.2	LABIRINTO EM CRUZ ELEVADORECONHECIMENTO DE OBJETOS: NOVA FORMA E NOVA POSIÇÃO ESPACIAL	28
4.2.3	RECONHECIMENTO DE OBJETOS: NOVA FORMA E NOVA POSIÇÃO ESPACIAL	30
4.3	**Estatísticas**	32
5	**RESULTADOS**	32
5.1	**Consumo alimentar e ganho de peso médios**	32
5.2	**Comportamento de ansiedade**	34
5.3	**Comportamento de memória**	39

6 DISCUSSÃO 40

7 CONCLUSÃO 45

REFERÊNCIAS 46

ANEXO A 63

1 INTRODUÇÃO

A ansiedade é um mecanismo adaptativo dos mamíferos que provoca no indivíduo um estado de excitação e vigilância. A ansiedade é gerada a partir da interação entre redes cerebrais, envolvendo regiões neurais específicas, a fim de contribuir para a manutenção da cautela e propiciar a convivência com ameaças subsequentes (ZHANG et al., 2021). Sabe-se que a etiologia da ansiedade é multifatorial e pode ser originada por fatores ambientais e componentes genéticos. Estudos apontam que regiões neurais como o núcleo do leito da estria terminal, a amígdala, o hipocampo e suas ligações com o córtex pré-frontal e ínsula estão diretamente associadas ao desenvolvimento da ansiedade e dos seus transtornos (ROBINSON et al., 2019).

O excesso de ansiedade é diagnosticado como uma desordem psiquiátrica que ganhou notoriedade na sociedade contemporânea devido ao crescimento do número de pessoas portadoras de transtornos de ansiedade e as suas consequências. Nos dias atuais, a ansiedade como transtorno pode ser classificada em: Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG), Transtorno de Pânico (TP), Transtorno de Ansiedade Social (TAS), Agorafobia e Fobia Específica (FE) (MUFFORD et al., 2021). O TAG é apontado como o transtorno mais prevalente na população mundial, sendo associado à diminuição da produtividade em ambiente laboral, ao aumento do uso dos serviços de saúde, à comorbidade significativa e prejuízos causados por incapacidade (MOHAMMADI et al., 2020).

O crescimento do número de pessoas ansiosas é observado frequentemente após situações problemáticas que desestabilizam a saúde da população e indicam risco de morte iminente, como foi considerado após o surto de gripe aviária na França, Ebola em Serra Leoa e COVID-19 em todo o mundo (SEPÚLVEDA-LOYOLA et al., 2020). Durante a pandemia de Coronavírus (COVID-19), foi observado um aumento na prevalência da ansiedade em todo o mundo. Uma revisão sistemática identificou que 31,9% da população asiática e europeia apresentavam ansiedade, chegando próximo ao percentual de pessoas com depressão, conhecida como a doença do século, sendo as mulheres mais propensas ao quadro ansioso (SALARI et al., 2020). De acordo com a pesquisa realizada por Barros e colaboradores (2020), aproximadamente 50% dos adultos brasileiros experimentaram uma sensação de ansiedade frequente no ano de 2020, sendo em sua maioria mulheres.

A memória por sua vez, também está relacionada com estruturas encefálicas que apresentam associação com a ansiedade, sendo elas vitais para a sua efetividade e consolidação (ROESLER et al., 2021, p. 107490). A memorização capacita os indivíduos a se guiarem de forma adaptativa por meio de experiências anteriores, de modo que sejam priorizadas as

informações mais relevantes para a manutenção da sobrevivência e obtenção de resultados positivos (COWAN et al., 2021). Entretanto, esse mecanismo cerebral é comprometido nos portadores de doenças neurodegenerativas, e, como consequência, surgem o esquecimento e a despersonalização do indivíduo como ser pensante, sociável, comunicativo e sensível. Miller (2021) caracteriza a memória como um evento de aprendizado que altera o sistema nervoso de um animal de forma que, posteriormente, quando submetido a estímulos semelhantes aos outrora aprendidos, seu comportamento apresentaria dessemelhança ao de outro animal que não experimentou o evento de aprendizado; logo, compreende-se que existe uma relação muito estreita entre aprendizagem e memória.

Os processos de aprendizagem e memória têm sido apontados pelos estudiosos como meios imprescindíveis para a potencialização de habilidades individuais, definição de personalidade e prevenção de psicopatologias. Bessières e colaboradores (2020) afirmam que apesar de todos os indivíduos terem vivenciado o aprendizado geral sobre pessoas, acontecimentos, espaço e tempo, as experiências específicas e individuais a que são submetidos durante a infância, contribuem para a expressão das habilidades individuais de aprendizagem e memória. Ademais, a memória é apontada como um recurso essencial para a formação do caráter humano, contribuindo significativamente com a sua capacidade de forjar um senso de identidade e de torná-los seres pensantes, sociáveis, comunicativos, sensíveis, dotados de competências funcionais, aptos a tomar decisões, traçar planejamentos e resolver problemas.

Assim como a ansiedade, a memória é fortemente influenciada pelo estresse. Os estudos revelam que eventos estressantes induzem alterações fisiológicas que levam à elevação dos níveis de adrenalina, noradrenalina e cortisol na corrente sanguínea, por meio da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Com o aumento do glicocorticóide produzido pela glândula adrenal, o hipocampo e a amígdala são diretamente afetados, resultando em prejuízos aos processos de memória e emocionais (KLIER; BURATTO, 2020).

Todavia, Raffington e colaboradores (2020) relatam que os impactos do estresse na memória podem ser positivos ou negativos, a depender do tempo entre o início do estresse e da codificação da memória (obtenção das informações). Sendo assim, a memorização pode ser estimulada se o atraso entre o começo do episódio estressor e a codificação for curto, caso contrário, a memorização é prejudicada.

Contudo, embora haja larga discussão na literatura sobre o papel de agentes estressores em viabilizar o estímulo à ansiedade e danificar o estabelecimento eficaz da memória e a capacidade de memorização, algumas estratégias alimentares e de estilo de vida como o Jejum Intermitente (JI), podem influenciar ansiedade e memória em camundongos adultos, de modo

a auxiliar seu controle e prevenção (SHOJAIE; GHANBARI; SHOJAIE, 2017; ANDIKA et al., 2021; BERTHELOT et al., 2021).

O JI consiste em momentos de revezamento entre ingestão alimentar e jejum de diversos tipos (ZANG; HE; XUE, 2022). Usualmente, são utilizados padrões de JI com 24 ou 16 horas, ou jejum em dois dias da semana, intercalados com dias de alimentação à vontade ou com recomendações calóricas específicas, sendo considerada uma estratégia alimentar exitosa no tratamento de algumas doenças crônicas e que pode ser integrada ao estilo de vida (MORALES-SUAREZ-VARELA et al., 2021).

Apesar dos estudos recentes apontarem o JI como uma abordagem terapêutica não farmacológica útil no controle de diversas doenças, as pesquisas com evidências a longo prazo são limitadas (LIU; LIU; HEILBRONN, 2020). São igualmente limitados os estudos envolvendo o uso do JI durante o desenvolvimento do sistema nervoso central. No entanto, espera-se que investigações possam ser desenvolvidas para apoiar os resultados atualmente obtidos, confirmando que o JI pode ser um grande aliado na melhora dos comportamentos de ansiedade e memória.

Sendo assim, o presente estudo busca elucidar a relação entre o JI e seus possíveis efeitos sobre o comportamento de ansiedade e memória, a partir de uma abordagem experimental em ratos albinos em desenvolvimento, tendo em vista a considerável contribuição que a experimentação animal proporciona ao desenvolvimento de terapias eficazes ao tratamento humano.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Comportamento de ansiedade e memória: estudos experimentais

A experimentação ou pesquisa animal surgiu nas regiões do Egito e Grécia antiga como um meio para explicar e reproduzir fenômenos fisiológicos e comportamentais similares aos vivenciados pelos seres humanos, mas que não poderiam ser testados em humanos devido à proibição da violação do corpo humano. As pesquisas contemporâneas envolvendo animais passam por uma rígida análise dos Comitês de Ética e contribuem significativamente para o avanço da ciência e desenvolvimento de terapias que visam otimizar a saúde humana (PETETTA; CICCOCIOPPO, 2020).

No Brasil, o órgão que dispõe sobre a regulamentação das unidades de ensino e estabelece critérios e procedimentos necessários para o uso da pesquisa animal é chamado de Conselho Nacional de Controle e de Experimentação Animal (CONCEA), definido pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações, de acordo com o Decreto 10.139, de 28 de dezembro de 2019. O desenvolvimento de pesquisas ligadas ao estudo do comportamento animal e humano tem sido bastante ampliado ao longo dos anos, a fim de elucidar os mecanismos participantes das demandas comportamentais.

Os testes comportamentais são de grande significância para o entendimento da fisiopatologia de vários transtornos neuropsiquiátricos como os distúrbios de ansiedade (ACIKGOZ; DALKIRAN; DAYI, 2022). Entende-se que a ansiedade contribui para a reprodução de padrões comportamentais específicos, de modo a caracterizar uma população ou indivíduo como portador de sintomas ansiosos.

Estudos realizados com humanos identificaram que pessoas muito ansiosas apresentam comportamentos alimentares restritivos e emocionais, preocupação excessiva, distúrbios de sono, irritabilidade, dificuldade de concentração e cansaço precoce, desencadeados por uma série de fatores das esferas físicas, psicológicas ou fisiológicas. Isto pode colocar em risco a sua sobrevivência (KALKAN UĞURLU et al., 2020; ALNEYADI et al., 2021).

De modo correspondente, quando submetidos a testes experimentais que objetivam avaliar padrões comportamentais semelhantes à ansiedade, animais de laboratório (ratos) tendem a apresentar comportamentos do tipo autolimpeza, evitação dos braços abertos no Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e “reação de congelamento” (LEÓN-RODRÍGUEZ et al., 2022; ZHVANIA et al., 2022).

Os inúmeros estudos dedicados à memória animal têm avaliado o tipo e a influência que certas variáveis exercem sobre este campo da cognição. Sendo assim, faz-se necessário compreender o seu funcionamento, que diz respeito à aquisição, armazenamento e recuperação de informações. Sabe-se que há uma associação direta entre memória e aprendizagem, tendo em vista que o que é aprendido é comumente armazenado para posterior utilização (LEBOIS et al., 2020).

A memória episódica, por exemplo, que compreende a aptidão do animal em lembrar de episódios vivenciados, foi avaliada por Crystal (2021). De acordo com Chao e colaboradores (2020), esse tipo de memória está presente em roedores, visto que eles estabelecem uma associação entre a memória e a experiência de um acontecimento ou objeto, em um lugar e momento específico. Contudo, a vinculação entre memórias de uma mesma

janela temporal pode ser prejudicada por algumas interferências, como demonstrado por SHEN et al. (2022), que observaram uma diminuição da associação entre memórias, diminuição esta que foi ocasionada pela expressão tardia de um receptor imunológico contido numa área hipocampal denominada CA1.

A aptidão de recuperação de informações sobre a disposição e organização de ambientes internos ou externos, e que possibilita a navegação dentro dos espaços é denominada de memória espacial (BALCEREK; WŁODKOWSKA; CZAJKOWSKI, 2021). Esse tipo de memória é conduzido por um sistema de estruturas cerebrais que envolve o hipocampo, o córtex pré-frontal e uma região da parte média do tálamo, denominada de núcleo reuniens (GRIFFIN, 2021). Alemohammad e colaboradores (2022) sugerem que a dieta pode ser capaz de modular a memória espacial, como já observado em alguns estudos de experimentação animal; contudo, mais pesquisas são necessárias para explicar os resultados.

A memória de trabalho remete à uma rede que preserva representações mentais provisoriamente para o seu uso em pensamentos e ações (FORSBERG; GUITARD; COWAN, 2020). Kofler et al. (2020) referem-se à memória de trabalho como o manejo ativo das informações referentes à memória de curto prazo com funções interligadas do córtex pré-frontal que guiam o comportamento através da atualização, processamento e manipulação momentânea de informações intrínsecas.

Quanto à duração, a memória pode ser dividida em memória de curto prazo e memória de longo prazo. A primeira, diz respeito à capacidade reduzida de armazenamento de poucas informações em um curto período de tempo (SCHWORER et al., 2022). A segunda, por sua vez, refere-se ao armazenamento permanente e ilimitado de informações (LOAIZA; DOHERTY; HOWLETT, 2020). Ambas, podem estar relacionadas com os processos que envolvem as memórias episódicas, de trabalho e espaciais (COTTON; RICKER, 2022; LIU et al., 2021; YANG et al., 2022).

Sabe-se que existem métodos que colaboram para a otimização da memória de modelos animais, como é o caso do exercício físico (FERNANDES et al., 2020). Além disso, mecanismos de estimulação cerebral podem ser eficazes na manutenção da memória, como a estimulação elétrica e magnética transcranianas, e a estimulação acústica (MALKANI; ZEE, 2020).

Diversas investigações experimentais são feitas por meio da análise comportamental, objetivando a reprodução de padrões comportamentais ansiosos semelhantes entre humanos e animais. Vários estudos buscam explicar as relações entre o comportamento ansioso de ratos e certas variáveis ambientais. Nakagawa e colaboradores (2020) avaliaram parâmetros ansiosos

em ratos aclimatados ao calor e sua associação com diferentes temperaturas. Zhou e colaboradores (2022) observaram a diminuição da ansiedade por meio da eletroacupuntura. Foudah e colaboradores (2022) analisaram a capacidade de um fitoterápico em melhorar a ansiedade. Hallem e colaboradores (2019) implementaram uma dieta rica em gordura e obtiveram redução da ansiedade em ratos.

Sabe-se que o mecanismo de desenvolvimento da ansiedade em ratos é ainda muito questionado e discutido. Scholl e colaboradores (2019) apontam que comportamentos semelhantes à ansiedade em ratos podem sofrer influência do sexo, do tipo do teste empregado e das alterações hormonais no ciclo estral das fêmeas.

De modo semelhante, a lactação desfavorável, ou seja, a lactação em ninhadas grandes também pode incentivar a maior incidência do comportamento ansioso, como atestaram Benevides e colaboradores (2020). Ademais, outro estudo descreve que a ansiedade é mais observada em ratos adolescentes precoces e tardios, com idade pós-natal entre 38 e 50 dias, do que em ratos adultos com idade pós-natal entre 88 e 98 dias (BISHNOI; OSSENKOPP; KAVALIERS, 2020).

A etiologia da ansiedade estudada em experimentos envolvendo animais pode ser diversa assim como em humanos. O perfil comportamental ansioso dos animais pode ser modificado durante as janelas temporais de desenvolvimento que ocorrem na adolescência, através da administração de opióides. Os dados de Khani et al. (2022), apresentam a indução do comportamento do tipo ansiedade em ratos Wistar machos adolescentes (PND 31-40), a partir de exposição prolongada à morfina.

A oxandrolona, um esteróide sintético derivado da testosterona, pode estimular a ansiedade, tanto se administrada em doses terapêuticas, como se administrada em doses excessivas, como observado por Bernardina et al. (2021) em seu estudo com animais experimentais. Alguns compostos orgânicos como o ácido 3-nitropropiônico são indicados como possíveis agentes desencadeadores da ansiedade em um modelo de ratos machos e fêmeas com doença de Huntington, como constatado por Khodagholi e colaboradores (2020). Diante disso, percebe-se a necessidade de se entender os principais fatores causais que propiciam o desenvolvimento do comportamento ansioso, a fim de que um melhor tratamento possa ser aplicado.

Os métodos que envolvem o manuseio da alimentação também podem auxiliar no desenvolvimento cognitivo e na saúde cerebral, de modo que, se um organismo for submetido à privação alimentar ou desnutrição, o indivíduo pode apresentar déficits cognitivos (ROBERTS et al., 2020). No entanto, a privação do consumo alimentar em determinados

períodos, como é o caso do JI, utilizada como técnica por profissionais competentes e de maneira intencional, parece induzir, em organismos adultos, respostas benéficas à manutenção e promoção da saúde.

2.2 Jejum Intermitente: religião, ciência e saúde

A busca pela prática do JI como estratégia alimentar alcança curvas crescentes e intenta a padronização de metodologias seguras e eficazes. Sendo assim, o JI apresenta algumas categorizações: jejum religioso; jejum em dias alternados; jejum modificado em dias alternados; jejum duas vezes a cada semana, sendo também chamado de dieta 5:2; jejum periódico modificado; alimentação com restrição de tempo (DOTE-MONTERO; SANCHEZ-DELGADO; RAVUSSIN, 2022).

Embora muitas culturas tenham se utilizado do jejum com um significado religioso, nos últimos anos, o jejum intermitente se apresenta como uma estratégia alimentar direcionada inicialmente à perda ponderal e otimização da saúde metabólica, que consiste na alternância entre períodos de jejum e períodos de ingestão alimentar (HODDY et al., 2020).

Muitos povos e sociedades antigas fizeram o uso do jejum com um significado majoritariamente religioso, que simboliza autodisciplina, gratidão e que também é visto como uma forma de sacrifício (VENETSANOPOULOU; VOULGARI; DROSOS, 2019). A primeira prática do jejum registrada pelos cristãos é documentada no livro de Êxodo, quando o profeta Moisés recebeu de Deus os 10 Mandamentos: “ E esteve ali com o Senhor quarenta dias e quarenta noites; não comeu pão, nem bebeu água, e escreveu nas tábuas as palavras da aliança, os dez mandamentos” (BÍBLIA, Êxodo, 34, 28).

O jejum cristão ortodoxo praticado na Grécia, alterna entre dieta mista e dieta vegetariana com frutos do mar, e são retirados da alimentação os laticínios, as carnes e os ovos por um período de 180 a 200 dias no ano, enquanto o consumo de leguminosas e cereais aumentam (KOKKINOPOULOU et al., 2022).

Os achados clínicos resultantes do jejum da Igreja Cristã Ortodoxa (ICO) estão relacionados à melhora do desempenho cognitivo e graus mais baixos de ansiedade e depressão em pessoas com idade entre os 40 e 55 anos (SPANAKI et al., 2021). Acredita-se que o exercício do jejum cristão ortodoxo, por proibir o consumo de determinados alimentos, contribua para a existência de deficiências nutricionais, principalmente de fontes proteicas. Todavia, uma revisão de literatura constatou que além dos praticantes não apresentarem deficiência de aminoácidos essenciais, eles possuíam perfis lipídicos mais saudáveis, melhor

controle da pressão arterial e redução de medidas antropométricas excessivas e IMC (KOKKINOPOULOU; KAFATOS, 2021).

De modo semelhante, o islamismo dedica o nono mês do seu calendário, o Ramadã, à realização do jejum, que é obrigatório para os mulçumanos saudáveis, exceto mulheres grávidas e lactantes. Esse jejum é praticado durante o período entre o amanhecer e o pôr do sol, podendo durar aproximadamente 20 horas por dia (MAHMOOD et al., 2020). O Ramadã está registrado no Alcorão e faz parte dos cinco pilares do Islã, com duração de 29 a 30 dias (OOSTERWIJK et al., 2021). De acordo com o Alcorão, o Ramadã é dedicado à evolução e purificação espiritual, permitindo a distinção entre o bem e o mal.

As repercussões positivas do jejum islâmico sinalizam a melhora das concentrações de hormônios regulatórios intestinais que agem no ajuste da ingestão alimentar e no gasto energético como o peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1), o peptídeo YY (PYY), a colecistoquinina (CCK) e a leptina em homens com obesidade (ZOUHAL et al., 2020). Além disso, as repercussões causadas pelo jejum do Ramadã ao nível intestinal, não atua somente na otimização dos peptídeos, mas também contribui para o desenvolvimento de cepas bacterianas benéficas, para a diversidade da microbiota intestinal e diminuição do estado inflamatório (MOUSAVI et al., 2022).

O jejum em dias alternados intercala um dia de consumo com outro de restrição de alimentos e está registrado em bibliografias como um importante regulador do metabolismo glicídico secundário à melhora da resistência à insulina, por meio do aperfeiçoamento da saúde intestinal (GAO et al., 2022). Basílio e colaboradores (2020) referenciam o JI em dias alternados como uma intervenção não farmacológica que não só melhora a tolerância à glicose, como também atenua as modificações morfológicas cardíacas geradas pelo exercício físico, que podem provocar disfunções.

O desempenho do JI em dias alternados não consiste somente em minimizar aspectos negativos relacionados ao exercício físico, como também parece potencializar aspectos positivos, como foi relatado por Ezpeleta et al. (2023) que analisaram a redução da esteatose hepática e a melhora de parâmetros glicídicos, todavia, os efeitos não foram os mesmos quando o jejum foi aplicado isoladamente.

A dieta 5:2 consiste na interrupção da alimentação em dois dias na semana e consumo regular dos alimentos nos demais cinco dias da semana, com suas vantagens equivalentes à restrição alimentar diária como apontado por Templeman et al. (2019). Um estudo de coorte retrospectivo concluiu que a redução do peso corporal com a aplicação da dieta 5:2 é mais eficaz a curto prazo do que a restrição calórica diária em adultos com sobrepeso ou obesidade (KANG

et al., 2022). Contudo, o jejum duas vezes por semana pode ocasionar algumas modificações quanto à qualidade dos alimentos consumidos, como o aumento do consumo de proteínas e sódio, consumo de micronutrientes abaixo das recomendações e diminuição da ingestão de alimentos fontes de fibras e carboidratos (SCHOLTENS et al., 2020).

Apesar da perda ponderal provocada pelo JI em dois dias da semana, a composição corporal parece não ser afetada, não havendo modificações nas massas gorda e livre de gordura (WITJAKSONO; PRAFIANTINI; RAHMAWATI, 2022). Outros desfechos são relatados com a utilização da dieta 5:2 em pessoas com esteatose hepática, como a melhora da rigidez do fígado, redução dos níveis de LDL-colesterol, eficácia na redução da esteatose e maior tolerância (HOLMER et al., 2021).

A alimentação com restrição de tempo diz respeito ao protocolo de JI que restringe o consumo de alimentos a uma quantidade determinada de horas chamada de janela de alimentação e outro intervalo de tempo entre 12 a 18 horas dedicado ao jejum (HEPLER et al., 2022; LEE et al., 2020). Assim como outro modelos de JI, a limitação da oferta de alimentos a 10 horas pode estar associada ao enriquecimento de um estilo de vida saudável, com evidências que apontam para a melhora de parâmetros cardiometabólicos em pessoas que já possuem um certo grau de comprometimento fisiológico, como é o caso dos portadores de síndrome metabólica (WILKINSON et al., 2020).

O aproveitamento do JI com alimentação restrita ao tempo em pessoas que estão desreguladas metabolicamente é bastante discutido na literatura. Li e colaboradores (2021) demonstram a eficiência deste tipo de JI em promover redução do peso corporal, melhora de índices ligados ao metabolismo glicídico e de irregularidades do ciclo menstrual em mulheres com Síndrome do Ovário Policístico (SOP). A utilização desse tipo de estratégia alimentar não traz repercussões somente na remediação de distúrbios metabólicos e endócrinos, mas também na prevenção dos mesmos (MANOOGIAN et al., 2021).

A eficácia do JI em estimular a perda ponderal é largamente evidenciada na literatura. Os benefícios da prática do jejum podem ser aliados na terapia da obesidade e na melhora do controle glicêmico (WELTON et al, 2020). Freire (2020) descreve o sucesso do JI em promover perda de peso a curto prazo, contudo, a longo prazo equipara-se às demais dietas que favorecem a diminuição do peso corporal, e que deve ser utilizado com precaução a fim de moderar os seus efeitos adversos. Ademais, as principais formas de aplicação do JI produzem perda de peso de leve a moderada, sendo a perda mais observada em períodos curtos (VARADY et al., 2022).

O crescimento dos eventos cardiovasculares tem aguçado a elaboração de métodos terapêuticos que possam prevenir o acontecimento de problemas que comprometam a saúde cardiovascular. Diante disso, alguns pesquisadores chegaram à conclusão de que o JI pode desenvolver um papel cardioprotetor importantíssimo, por atuar na diminuição do estresse oxidativo, otimização da cetogênese e ritmos circadianos (DONG et al., 2020). Além disso, os benefícios cardiometabólicos descritos na literatura giram em torno da diminuição da resistência à insulina e pressão arterial, melhora da perda de peso e controle do colesterol (VARADY et al., 2021).

Apesar da grande resistência dos indivíduos portadores de câncer em entender o manejo da alimentação como parte do tratamento da doença, devido à dificuldade de adesão à dietoterapia e ao medo de se promover ou exacerbar a caquexia, a busca pelo aconselhamento de profissionais sobre o JI como uma alternativa que possa produzir efeitos anticarcinogênicos aumentou pelos pacientes com câncer (CLIFTON et al., 2021). Um estudo intervencional multicêntrico destacou a função do jejum repetido de curto prazo em atenuar os efeitos colaterais do procedimento quimioterápico, além de melhorar a qualidade de vida e retardar a progressão do tumor, com seus resultados possivelmente atribuídos à restrição de carboidratos refinados e proteína animal (KOPPOLD-LIEBSCHER et al., 2020).

Muitas pesquisas se dedicam à análise dos impactos do JI sobre a saúde metabólica e o tratamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs). Os efeitos do JI podem se assemelhar aos efeitos da restrição calórica sobre alguns parâmetros glicêmicos, como a Hemoglobina glicada (HbA1c) e glicose plasmática em jejum: ambos promovem o controle dessas variáveis (WANG et al., 2021).

Nowosad e colaboradores (2021), encontraram resultados positivos no controle glicêmico resultantes de vários tipos de jejum, visto que eles possibilitaram a redução da glicemia em jejum, HbA1c, insulina de jejum e índice HOMA-IR referente à resistência à insulina. Todavia, apesar da eficácia e segurança do JI, a adesão à terapia prolongada parece incerta e o risco de hipoglicemia pode ser um efeito adverso indesejado advindo da prática, principalmente nos usuários de insulina e sulfoniluréias (RAJPAL; ISMAIL-BEIGI, 2020).

Durante a pandemia de COVID-19, diversas estratégias terapêuticas foram estudadas objetivando a melhora da saúde dos enfermos e das consequências produzidas pelo vírus. À vista disso, um estudo analisou a relação entre o jejum periódico anterior à doença com a gravidade da COVID-19 e observou desfechos que direcionam para uma associação positiva entre a prática do jejum e o menor risco de hospitalização e maior sobrevida dos pacientes (HORNE et al., 2022). A indução da cetogênese e o aumento dos ácidos graxos circulantes,

mais especificamente o ácido linoleico, que possui a capacidade de ligar-se à proteína Spike do SARS-CoV-2 são apontados como os mecanismos que favorecem a diminuição da gravidade da doença (TOELZER et al., 2020).

A influência do JI sobre a disposição hormonal tem ganhado notoriedade no meio científico. A hipótese de que o jejum pode melhorar desequilíbrios hormonais em mulheres com síndrome dos ovários policísticos é apresentada por Cienfuegos et al. (2022), a partir da percepção de que o jejum pode reduzir os marcadores androgênicos e atuar no tratamento do hiperandrogenismo feminino. Embora haja evidências que favorecem a utilização do JI no controle hormonal, é válido ressaltar que pelo efeito regulador exercido pelo jejum sobre os níveis e frequências das secreções hormonais, faz-se necessária a ponderação dos prejuízos e vantagens concernentes à sua prática (KIM et al., 2021).

A população microbiana intestinal exerce um papel valioso na manutenção da saúde dos indivíduos. Pesquisas elucidam alguns meios pelos quais o JI possa modificar a composição e a diversidade da microbiota intestinal de pessoas doentes e sadias, sendo eles atribuídos principalmente à melhora do metabolismo glicídico e lipídico, e diminuição das citocinas inflamatórias (GUO et al., 2020). Ademais, o JI permite uma continuidade da interação entre os nutrientes a serem digeridos e o microbioma intestinal, adaptando as respostas imunes do intestino no decurso das DCNTs (MATÍAS-PÉREZ; HERNÁNDEZ-BAUTISTA; GARCÍA-MONTALVO, 2022).

Estudos ligados à epigenética humana referem o JI como um estímulo ambiental atuante na modulação dos genes. Ng e colaboradores (2022) inferem que em três meses o JI foi responsável por modular a trimetilação da Histona H3K9 (H3K9me 3) no cerebelo de camundongos adultos, de modo a propiciar diversas mudanças transcriptômicas envolvidas nas mudanças metabólicas ao longo do jejum, com uma parte das alterações mantidas em até três meses após a realimentação.

Assim como outras funções, a cognição parece ser beneficiada pela contenção calórica provocada pelo JI (MIDIKOGLU et al., 2020; RUBOVITCH et al., 2019). Os efeitos do JI sobre a cognição podem se estender às esferas cognitivas voltadas ao comportamento, como a depressão e a memória, de modo que diversas pesquisas estão sendo dedicadas a verificação de prováveis relações entre o JI e os demais âmbitos comportamentais como a ansiedade (WAHL et al., 2019; AL-OZAIRI et al., 2019). Apesar de muitos artigos discutirem a otimização da função cognitiva com o exercício do JI, Benau e colaboradores (2021) apontam a heterogeneidade e limitação dos resultados.

2.3 O papel do jejum intermitente em modular a ansiedade e memória

O JI tem ganhado notoriedade devido aos seus efeitos sob a função cognitiva, principalmente em doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer, e transtornos comportamentais como os de humor e ansiedade. A restrição calórica parece contribuir para que as cetonas liberadas no jejum, além de atuarem como fontes de energia, participem também da regulação de fatores de transcrição em neurônios, contribuindo para a melhoria da biogênese mitocondrial, plasticidade sináptica e resistência ao estresse ocorrido nas células nervosas em modelos animais (GUDDEN et al., 2021).

Um estudo realizado com animais observou que o JI poderia ser capaz de desacelerar o declínio cognitivo e o acúmulo de placas beta-amilóides, apontadas como as principais responsáveis para o desenvolvimento da doença de Alzheimer, quando acumuladas (ZHANG et al., 2017). O BDNF é um polipeptídeo responsável por desempenhar funções no aprendizado e na memória, e que também está diretamente ligado com as emoções. Ele é largamente produzido em regiões neurais ligadas às emoções e humor, como a amígdala, o hipocampo e o córtex cerebral. O BDNF foi encontrado em níveis elevados em camundongos submetidos a JI de 9 horas, indicando efeitos positivos nos parâmetros supracitados (CUI et al., 2017).

A memória de longo prazo está intimamente ligada à consolidação e evocação das memórias de caráter definitivo, bem como é capaz de armazenar uma quantidade ilimitada de informações (LIU et al., 2022). Experimentos recentes sugerem que o JI é superior à restrição calórica em aprimorar a memória, como também em consolidar as memórias de longo prazo de camundongos fêmeas adultas após 3 meses de JI (DIAS et al., 2021). Entretanto, Asghari hanjani e colaboradores (2022) demonstram que tanto a restrição calórica como o JI são eficientes em atividades de aprendizado e memória, embora os resultados positivos sobre a memória tenham sido observados apenas no JI diurno em comparação ao noturno.

Dentre as consequências advindas do processo de envelhecimento está o aumento do risco para doenças neurodegenerativas, que pode ser acelerado pelo alto consumo de calorias. Diante disso, uma revisão de literatura observou o bom desempenho do JI em regular positivamente o BDNF, de modo a contribuir para a otimização da plasticidade sináptica e memória, mesmo em indivíduos com idade avançada, como foi averiguado em modelos animais (SEIDLER; BARROW, 2022).

A alimentação é um dos principais pilares para a promoção de efeitos protetores ou deletérios à memória. Hazzaa et al. (2020) observaram que uma dieta rica em gordura alterou o desempenho da memória de ratos de forma negativa, diminuindo também a espessura das

camadas celulares do hipocampo e das células granulares piramidais, contudo, estas repercussões negativas puderam ser revertidas com a utilização do JI de modo curativo, que também foi indicado como uma estratégia alimentar profilática de caráter neuroprotetor. Ademais, Park e colaboradores (2021) observaram que ratos Sprague-Dawley com doença de Alzheimer, tiveram o comprometimento da memória suprimido pelo JI, principalmente quando associado à dieta hiperproteica.

As regiões cerebrais envolvidas com o processamento e consolidação da memória parecem sofrer adaptações quando o organismo vivencia períodos de jejum. A capacidade do JI em provocar mudanças adaptativas no hipocampo foi analisada por Liu et al. (2019), que constataram os ajustes sofridos pelas redes neuronais do hipocampo, resultando no aumento do tônus gabaérgico responsável pela desaceleração da atividade cerebral e promoção de sensações contrárias à ansiedade. O aumento do tônus gabaérgico provoca a redução do comportamento ansioso e o seu mecanismo neuroprotetor favorece a formação de novas memórias dependentes do hipocampo.

As doenças crônicas não transmissíveis como o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), são apontadas como fator importante para o desenvolvimento de demências e fatores associados. Um estudo conduzido por Elesawy et al. (2021), constatou que modelos de ratos Wistar com DM2 apresentaram aumento significativo dos comportamentos semelhantes à ansiedade e depressão, todavia, foram atenuados com a utilização de um protocolo de JI de 16 horas, sugerindo que ao aumentar os níveis de BDNF, a estratégia alimentar atua proporcionando um efeito neuroprotetor e possivelmente prevenindo doenças neurodegenerativas e também psiquiátricas.

Os déficits cognitivos decorrentes de doenças ou procedimentos cirúrgicos podem afetar significativamente a qualidade de vida do indivíduo trazendo inúmeros prejuízos à autonomia e manutenção de relações interpessoais, bem como desfavorecendo a realização de determinadas cirurgias que apresentem o dano à cognição como efeito adverso. À vista disso, Hu et al. (2018) ao analisarem a implementação do JI em um modelo de rato com demência vascular, comprovaram a melhora da atividade cognitiva e a preservação da proteína de densidade pós-sináptica (PSD-95) que participa do processo de estruturação e funcionamento das sinapses, proporcionadas pela utilização do JI no período pós-operatório.

Ademais, destaca-se o papel importante do JI em aliviar doenças neurovasculares, atenuar a gravidade de lesões em massas cerebrais responsáveis pelo transporte de sinais às regiões subcorticais e reduzir a morte celular do hipocampo, favorecendo a manutenção de funções vitais ao Sistema Nervoso Central (SNC) como a memória (RAJEEV et al., 2022).

O mecanismo inflamatório ocasionado pela hipoperfusão cerebral é visto como um importante fator de risco para o desenvolvimento de disfunções neurológicas que estão intimamente ligadas ao prejuízo da memória e seus componentes. A ativação das vias inflamatórias e seus constituintes contribuem, de certo modo, para o dano cognitivo. Apesar disso, o uso do JI de 16 horas pode culminar na diminuição da ativação de complexos proteicos inflamatórios. Estes estimulam a apoptose de células cerebrais, de maneira a atenuar a resposta inflamatória e minimizar a morte celular em eventos de hipoperfusão cerebral prolongada, como detectado por Poh et al. (2021) em modelos experimentais.

Inúmeras pesquisas são dedicadas à análise da associação entre doenças, distúrbios comportamentais e a implementação do jejum, como a realizada por Zhang e colaboradores (2020) que detectaram efeitos positivos no comportamento do tipo ansiedade em camundongos com colite, quando submetidos ao jejum e restrição calórica intermitente.

Carteri e colaboradores (2021) destacam o JI como uma estratégia alimentar importante para a terapia de comportamentos ansiosos, ao obterem resultados benéficos que sugerem diminuição do comportamento semelhante à ansiedade em camundongos adultos a partir da instauração de um protocolo de 24 horas de restrição alimentar. Embora diversas investigações apontem efeitos notavelmente importantes em auxiliar no controle do comportamento ansioso, Fernández-Rodríguez e colaboradores (2022) analisaram que o JI não influencia e não modifica os escores relacionados à ansiedade ou humor em humanos.

Há uma diversidade de estudos direcionados à inspeção das consequências do JI, sendo muitos deles evidenciando os benefícios advindos da prática. Contudo, uma investigação comparou os níveis de ansiedade de estudantes antes do JI do Ramadã e uma semana após o jejum por meio de um questionário, levando à apuração de níveis aumentados de ansiedade nos estudantes no fim da primeira semana de jejum (GUELDICH et al., 2019).

De modo semelhante, Yang e colaboradores (2021) verificaram que a aplicação de um esquema de jejum que consistia em 3 dias de consumo basal, 10 dias de jejum completo com ingesta de água em livre demanda, 4 dias de restrição calórica e 5 dias de períodos de recuperação propiciou a exacerbação da ansiedade auto avaliada em homens, principalmente durante o sexto dia de jejum completo.

A combinação do JI com outras estratégias de estilo de vida como o exercício físico (EF) pode ser capaz de produzir efeitos ansiolíticos em ratos, como apontado por Soares e colaboradores (2021) e por Vitor-de-Lima e colaboradores (2023). Contudo, o estudo transversal aplicado por Akbari e colaboradores (2022), durante o Ramadã, destaca que os participantes ativos do JI, mesmo com redução dos níveis de EF, demonstraram melhor controle

psicológico e emocional, bem como foi observada melhoria significativa nos resultados direcionados à ansiedade dos participantes que jejuaram durante todo o Ramadã, se comparados aos que não jejuaram.

De modo concordante, Wolf e colaboradores (2021), observaram que o EF, sem a prática do JI, também é capaz de melhorar a saúde mental, depressão e ansiedade. O desvio do metabolismo da glicose provocados pelo JI, por meio da sua destituição como combustível principal para o cérebro, resulta no aumento dos níveis de BDNF, propiciando à cognição um mecanismo neuroprotetor, de modo a cooperar para a potencialização da plasticidade neuronal, da capacidade de memorização e dos meios de aprendizado (GIBBONS et al., 2023).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral: Analisar os efeitos de diferentes protocolos de JI sobre a ansiedade e a efetividade da memória em ratos jovens.

3.2 Objetivos específicos:

- Verificar o peso corporal e consumo dos animais submetidos aos protocolos de jejum;
- Comparar os impactos dos dois tipos de JI no comportamento animal;
- Analisar possíveis alterações comportamentais relacionadas à ansiedade e memória;
- Avaliar a eficácia do JI em alterar os parâmetros analisados.

4 METODOLOGIA

4.1 Grupo de animais experimentais

A pesquisa foi previamente aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências (CB) da Universidade Federal de Pernambuco (Processo número 006/2021) **anexo A**. Foram utilizados 37 ratos, sendo machos e fêmeas (em números aproximadamente iguais) da linhagem *Wistar*, provenientes do biotério do Departamento de Nutrição da UFPE (COLETTIS et al., 2022). Os animais foram mantidos em sala climatizada com temperatura de 23 ± 1° C, com ciclo claro-escuro de 12-12 horas e livre acesso à água. A

ração comercial padrão para roedores (“*Novilab”,* Brasil com 23% de proteína) foi distribuída conforme os requerimentos do experimento (COSTA-BEBER et al., 2023).

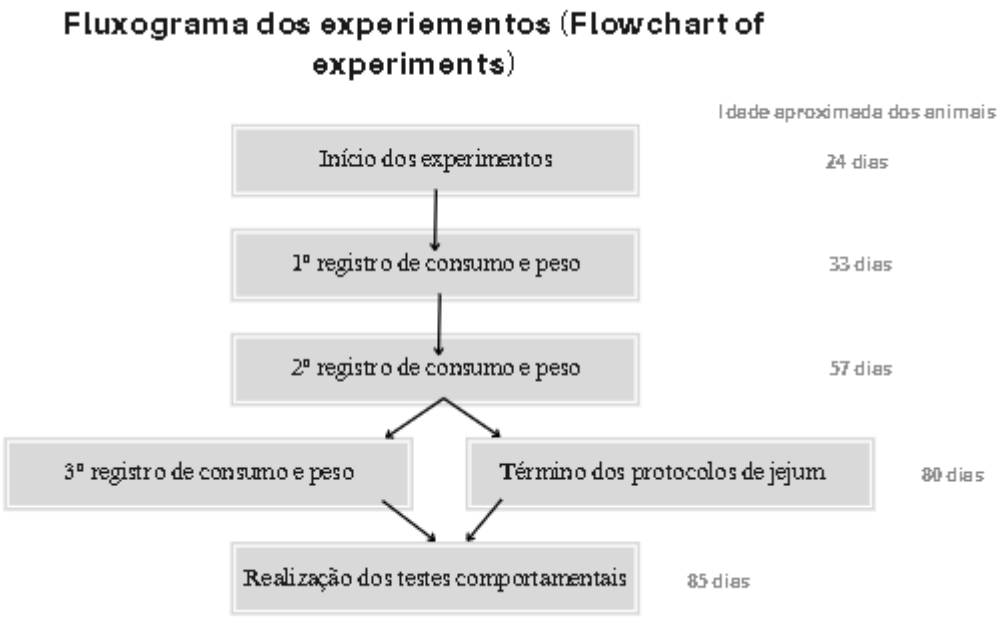
Foram formados três grupos experimentais: um sendo o Grupo Controle (com água e ração *Ad Libitum*), outro sendo o grupo JI de 24 horas (24 horas sem ração) e outro sendo o grupo JI de 16 horas (16 horas sem ração). Os três grupos foram denominados da seguinte forma: (1) Controle, (2) JI 24h e (3) JI 16h. Nos grupos JI 24h e JI 16h, foram intercalados os dias de alimentação e de jejum, exceto aos domingos, uma vez que aos sábados os animais receberam dieta em quantidade suficiente para permitir o consumo *Ad Libitum* nos dois dias. O início dos experimentos se deu após o desmame dos animais, com idade média de 24 dias, a fim de evitar alterações comportamentais que possam interferir no estudo (ZHANG et al., 2019).

O grupo Controle foi composto por 15 ratos, sendo 8 fêmeas e 7 machos. O grupo recebeu alimentação e água *Ad Libitum* em todos os dias do experimento. A composição do grupo JI 24h se deu por 14 animais, sendo 8 fêmeas e 6 machos. O grupo tinha a ração retirada totalmente às 8:00h desde o dia inicial dos experimentos e após 24 horas de jejum, a ração voltava a ser ofertada *Ad Libitum*. O processo de jejum se repetia em três dias semanais não consecutivos. O grupo JI 16h foi formado por 8 animais, sendo 4 fêmeas e 4 machos. A ração era retirada completamente às 16:00h e após 16 horas de jejum retornava para o consumo *Ad Libitum* dos animais. Assim como no grupo JI 24h, o jejum era repetido em três dias semanais não sucessivos.

No período de 2 a 3 dias, a partir do dia inicial do experimento, todos os animais tinham o peso corporal e o consumo alimentar aferidos, todavia, as análises de consumo e peso foram realizadas apenas em 3 dias específicos, no trigésimo terceiro, quinquagésimo sétimo e octogésimo dia de via aproximado dos animais, de modo que não houvesse alteração dos resultados. Os protocolos de JI tiveram duração de 56 dias, com finalização no 80° dia de vida dos animais.

Os testes comportamentais foram realizados durante o proestro das fêmeas, detectado a partir do esfregaço da mucosa vaginal e análise microscópica feitos no dia anterior ao teste (BLUME et al., 2019). O proestro, conhecido como a fase folicular, é apontado como a fase em que as alterações comportamentais são significativamente menores, de modo que não possam interferir nos resultados (GUILLÉN-RUIZ et al., 2021). Ao final dos experimentos, no momento de realização dos testes, os animais tinham idade aproximada de 85 dias (Figura 1).

FIGURA 1 – Fluxograma dos experimentos



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

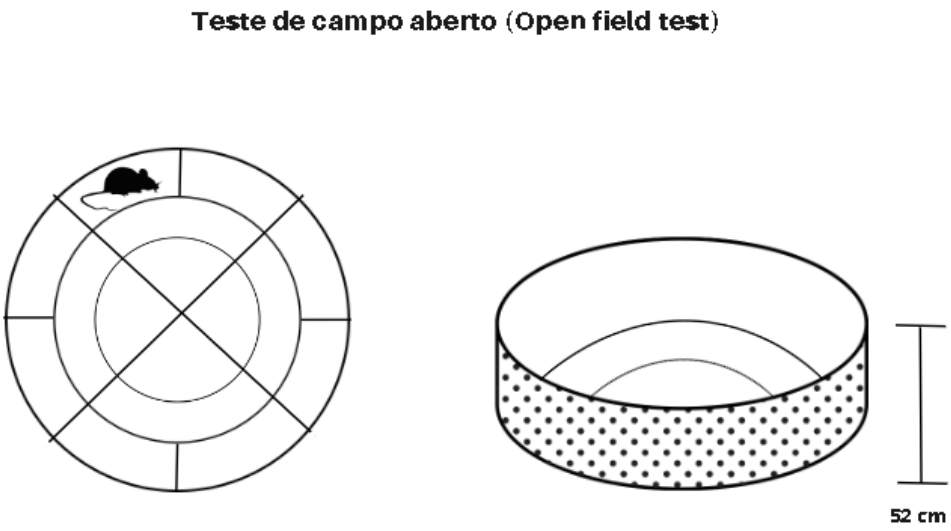
4.2 Testes comportamentais

4.2.1 CAMPO ABERTO

O teste é proposto para análise do comportamento relacionado ao medo, à capacidade exploratória e de locomoção do animal, além de ser utilizado na investigação de comportamentos de ansiedade (SCOUTEN; GROTELUESCHEN; BEATTY, 1975; YANG; SHIEH, 2020; KNIGHT et al., 2021). O campo utilizado no teste possui 89 cm de diâmetro e 52 cm de altura, e após a finalização de cada teste, era limpo com uma solução de álcool a 70% em água (ANTIORIO et al., 2022).

Antes da realização do teste, os animais passaram por um tempo de 20 minutos para habituação ao ambiente de experimentos. Posteriormente, o animal foi colocado no campo durante cinco minutos e o seu comportamento foi registrado por uma vídeo-câmera. Em seguida, os vídeos com duração de 5 minutos foram analisados pelo programa “Any-Maze”(R) (Stoelting, USA), o qual mensurou o tempo gasto na área central do campo, o tempo gasto na área periférica do campo, o tempo de imobilidade e a distância percorrida pelo animal (Figura 2).

FIGURA 2 - Campo Aberto



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

.

4.2.2 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

A sistematização da sua utilização se deu por volta da década de 80, em estudos realizados com camundongos (BRIDGES, 1984; HIMANSHU et al., 2020; PELLOW et al., 1985). A partir daí, a técnica vem sendo amplamente empregada e aperfeiçoada, como modelo experimental para o estudo de doenças neuropsiquiátricas, geralmente relacionadas à ansiedade (YOSHIZAK; ASAI; HARA, 2020).

O aparelho é dividido em cinco áreas: dois braços abertos (sem paredes laterais), dois braços fechados (com paredes laterais de 50 cm de altura) e uma área central (10x10 cm). Cada braço do labirinto possui 49 cm de comprimento e 10 cm de largura, e estão organizados perpendicularmente, com a plataforma central unindo-os (Figura 5). A avaliação final baseia-se no comportamento de aversão-afeição pelos braços abertos ou fechados do labirinto, respectivamente.

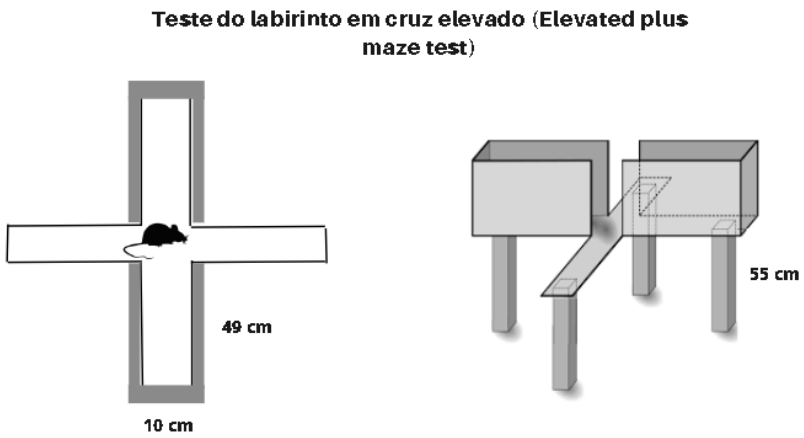
O emprego do labirinto em cruz elevado é fundamental na demonstração dos efeitos de fármacos ansiolíticos, expressos, principalmente, pela mais frequente, e mais demorada exploração dos braços abertos, os quais, instintivamente, seriam evitados por roedores muito ansiosos (PANAYOTIS et al., 2021).

Para a realização do teste, a sala de experimentos possuía atenuação de ruídos, com luminosidade semelhante ao ciclo claro do biotério, a fim de evitar que o animal esteja sob estresse e o consequente comprometimento do resultado do teste (SHOJI; MIYAKAWA, 2021). Inicialmente, o animal foi conduzido à sala, onde passou pelo processo de aclimatação durante 20 minutos, segundo protocolo pré-estabelecido pelo Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT).

O teste é iniciado colocando-se o animal na plataforma central do labirinto, com a parte cefálica voltada para os braços abertos do aparelho, que por sua vez está elevado a 55 cm do solo. Foram quantificados os comportamentos de aversão ou preferência pelos braços abertos ou fechados do labirinto, respectivamente, como também parâmetros que avaliam a capacidade exploratória do animal como distância e tempo de imobilidade durante 5 minutos. Antes de cada animal ser introduzido, o labirinto foi limpo com uma solução de álcool a 70%, em água (LI et al., 2021).

Durante a realização do teste, uma vídeo-câmera filmou toda a sessão de 5 minutos e, com o auxílio do programa "Any-Maze"(R) (Stoelting, USA) quantificou o tempo total em que o animal permaneceu no labirinto, bem como o seu tempo de permanência nos braços fechados e nos braços abertos, e o número de entradas do animal em cada braço. A partir dessas medidas, foram analisados o comportamento de ansiedade e a atividade de locomoção.

FIGURA 5 - Labirinto em cruz elevado



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

4.2.3 RECONHECIMENTO DE OBJETOS: NOVA FORMA E NOVA POSIÇÃO ESPACIAL

O teste de reconhecimento de objetos também é realizado no aparelho de campo aberto. Esse teste possui uma importante significância na demonstração da capacidade de memorização do animal, baseando-se no reconhecimento da localização dos objetos e de suas formas, sendo largamente utilizado no campo da experimentação animal (ROTHBLAT; HAYES, 1987; LISSNER et al., 2021). O teste é dividido em duas etapas (isto é, duas sessões): a familiarização e a etapa de reconhecimento. A etapa de familiarização consiste na apresentação dos objetos ao animal, numa primeira sessão de 5 minutos, onde são dispostos dois objetos contendo formas idênticas, numa posição previamente escolhida (BRUIJNZEEL et al., 2019).

Num primeiro momento, antes dos testes, os animais passaram pelo processo de ambientação durante 20 minutos na sala de testes, com atenuação de ruídos. Em seguida, para a primeira sessão do teste envolvendo a nova forma dos objetos, os animais foram colocados individualmente (um por vez) no campo para a realização da etapa de familiarização. No decorrer desta etapa, o animal esteve em contato com dois objetos com formatos idênticos, durante 5 minutos.

Ao término dos 5 minutos, o animal era retirado do campo. Passados 40 minutos era recolocado no campo onde permanecia por 5 minutos (segunda sessão do teste). Nesta segunda sessão, um dos objetos fora substituído por outro de forma distinta (Figura 3). A avaliação da capacidade de memorização do animal se deu pela medida do maior tempo de exploração que o animal gastou no novo objeto com forma diferente (WU et al., 2020).

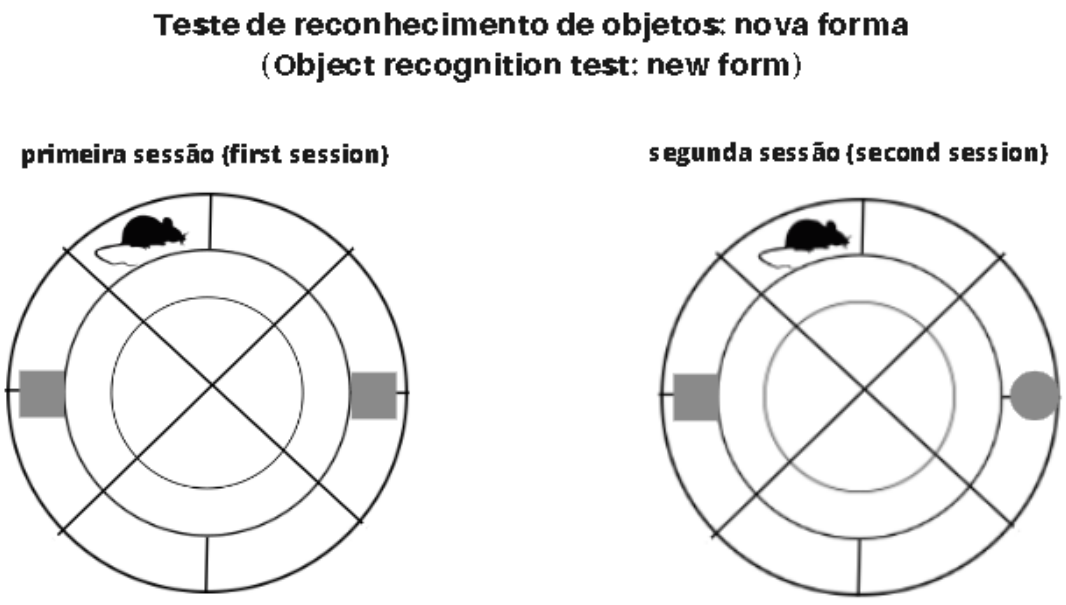
Em outro momento (outro dia) foi realizado o teste de reconhecimento de uma nova posição espacial, que consiste na mudança da posição de um dos objetos do campo (SHIMODA et al., 2021). Nesse teste, o animal foi submetido à aclimatação por 20 minutos na sala de experimentos com atenuação de ruídos. O teste teve início (primeira sessão) após a introdução do animal no campo contendo dois objetos idênticos, numa posição pré-definida. Esses objetos eram explorados pelos animais durante 5 minutos. Passados os 5 minutos, o animal era retirado do campo durante 40 minutos, e depois retornava (segunda sessão) para a etapa de reconhecimento da nova posição espacial. Nessa segunda sessão, com duração de 5 minutos, um dos objetos tinha o seu lugar modificado (Figura 4).

Uma vídeo-câmera filmou as sessões de cinco minutos que em seguidas foram analisadas pelo programa “Any-Maze” (R) (Stoelting, USA). A filmagem das sessões permitiu a análise do tempo gasto na exploração dos objetos modificados e dos não modificados, o tempo

de imobilidade e a distância percorrida durante o experimento. A exploração do objeto foi definida como o contato entre o corpo do animal ou vibrissas + órgãos olfativos e o objeto. Com base no tempo gasto pelo animal para explorar cada objeto, foi calculado o "índice de discriminação", definido pela fórmula: ID = TN-TF/TN+TF, em que ID significa índice de discriminação; TN e TF significam, respectivamente, o tempo que o animal gastou explorando o objeto novo e o familiar.

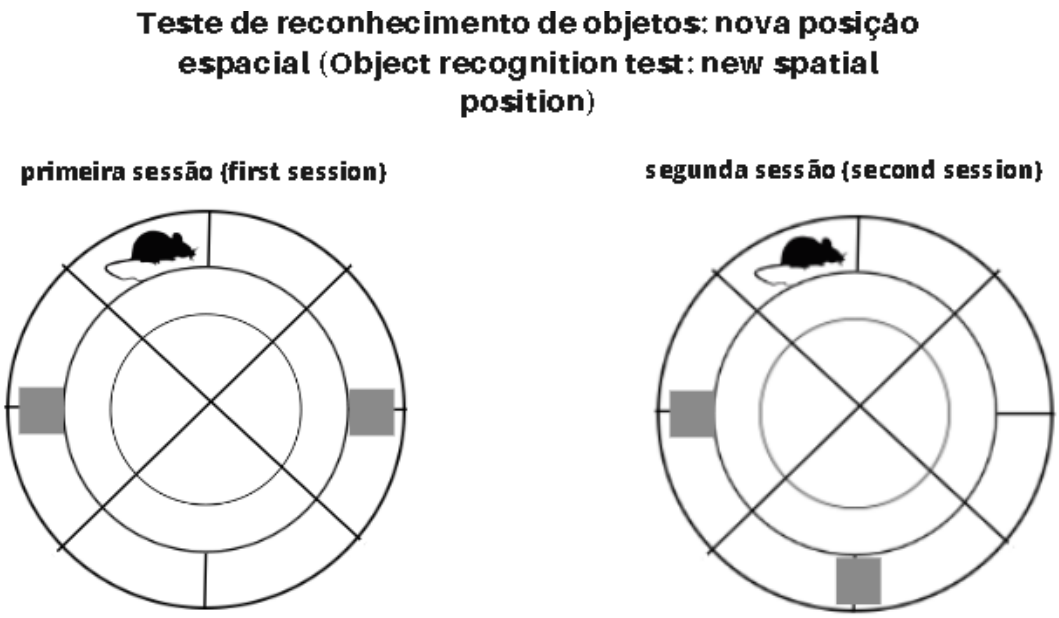
O ID é interpretado da seguinte maneira: se o número resultante for próximo de 0, significa que o animal gastou tempos semelhantes na exploração de ambos os objetos; se o número resultante for próximo de 1, significa que o animal gastou mais tempo na exploração do objeto novo; se o número resultante for negativo, significa que o animal gastou mais tempo na exploração do objeto antigo. Sendo assim, quanto mais tempo o animal gasta na exploração do objeto antigo, menos demonstra a capacidade de memorização.

FIGURA 3 - Teste de reconhecimento de objetos: nova forma



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 4 - Teste de reconhecimento de objetos: nova posição espacial



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

4.3 Estatísticas

Os dados dos testes comportamentais foram comparados entre os grupos Controle, JI 24h e JI 16h, usando a Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguida, quando indicado, pelo teste paramétrico de Holm-Sidak. As diferenças foram consideradas como significativas quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

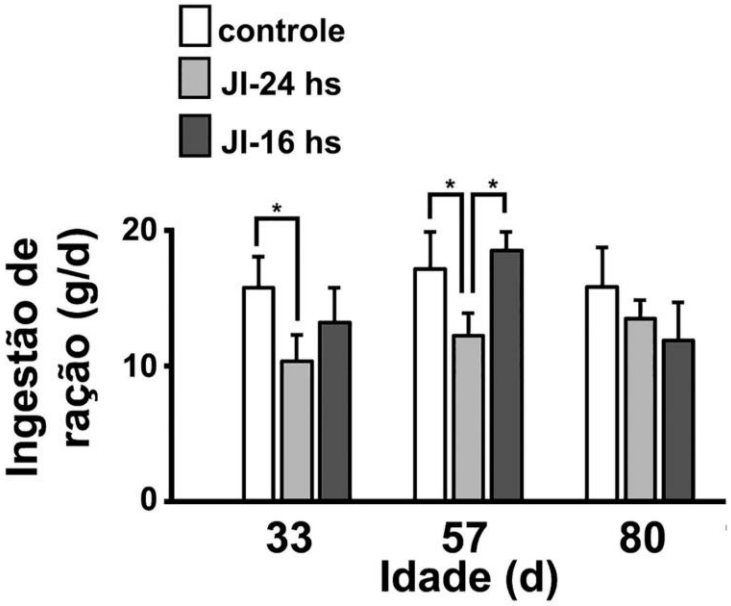
5.1 Consumo alimentar e ganho de peso médios

No trigésimo terceiro dia de idade aproximada dos animais, foram observadas diferenças significativas no consumo alimentar entre os grupos Controle e JI 24h. Neste mesmo momento, no que diz respeito ao grupo JI 16h, não houve diferença considerável em comparação ao grupo JI 24h e ao grupo Controle (Figura 6). Entretanto, quando os animais tinham idade aproximada de 57 dias, a ingestão do grupo JI 16h passou a diferir

significativamente do grupo JI 24h, de modo que o grupo com mais tempo de restrição alimentar apresentou ingestão menor. Contudo, no octogésimo dia de vida dos animais, todos os grupos apresentaram consumo alimentar semelhantes, não divergindo de modo considerável.

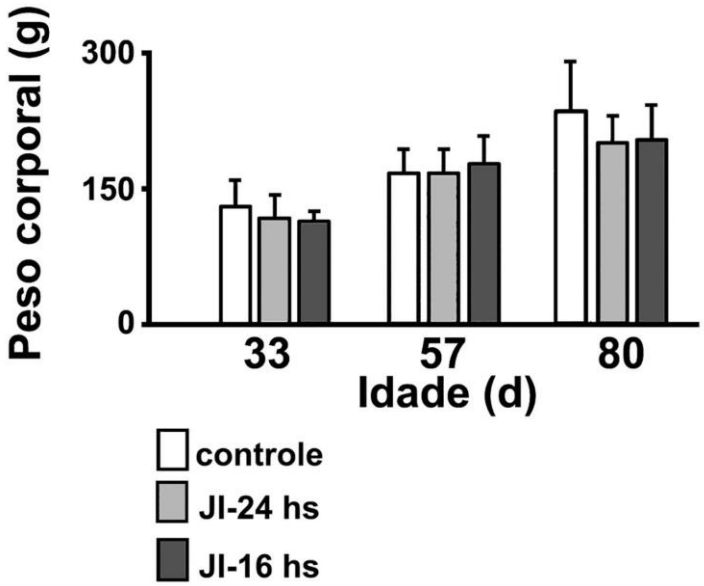
Além disso, apesar do jejum, o peso diminuído dos animais submetidos à restrição alimentar nos grupos JI 24h e JI 16h, não diferiu, de maneira significativa, entre si ou em comparação ao grupo Controle (Figura 7).

FIGURA 6 - Consumo de ração por animal (g). As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 7 - Peso corporal (g). As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). As diferenças não são significantes (p > 0,05).

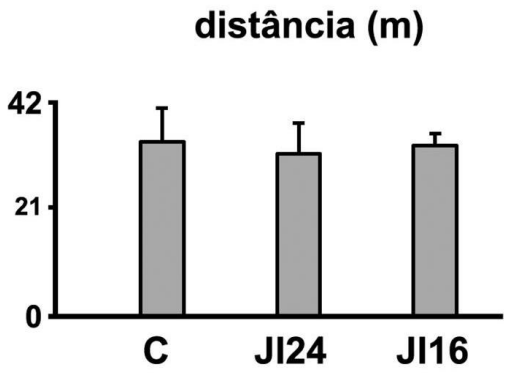


Fonte: elaborada pelo autor (2023)

5.2 Comportamento de ansiedade

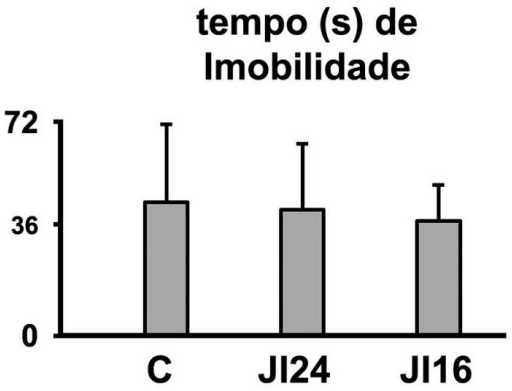
No campo aberto, a distância percorrida pelo animal durante o teste (Figura 8) e o tempo de imobilidade (Figura 9), foram semelhantes entre os grupos. Contudo, o número de entradas no centro (Figura 10) e o tempo gasto no centro (Figura 11), nos grupos que participaram do JI, foram inferiores aos do grupo Controle.

FIGURA 8 - Distância (m) percorrida pelos animais durante os 5 minutos do teste. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). As diferenças não são significantes (p > 0,05).



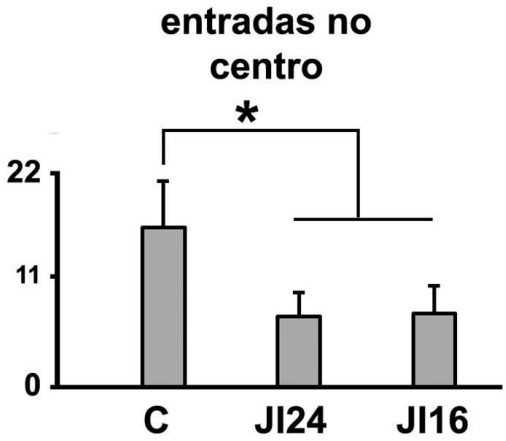
Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 9 - Tempo (s) de imobilidade. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). As diferenças não são significantes (p > 0,05).



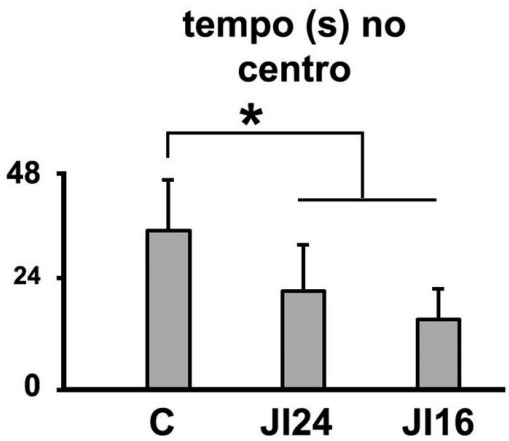
Fonte: elaborada pelo autor (2023).

FIGURA 10 - N° de entradas no centro do campo aberto. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

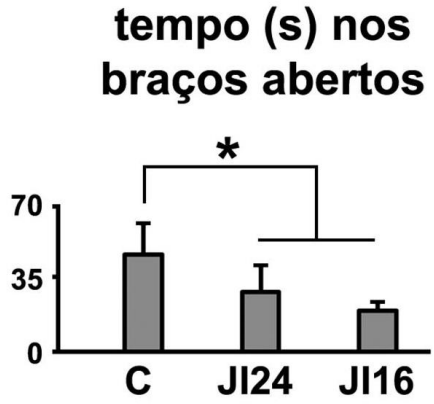
FIGURA 11 - Tempo (s) gasto no centro. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

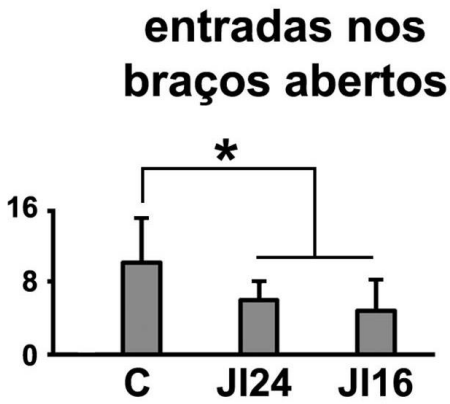
No tocante aos índices do LCE, foi observada diferença significativa no tempo gasto nos braços abertos e no número de entradas nos braços abertos entre os grupos Controle e dois grupos de jejum, sendo verificado menor tempo gasto (Figura 12) e menor número de entradas (Figura 13) nos grupos JI 24h e JI 16h. As demais variáveis como a distância percorrida pelo animal (Figura 14) e tempo de imobilidade (Figura 15) não revelaram diferença de modo significativo.

FIGURA 12 - Tempo (s) gasto nos braços abertos do LCE. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



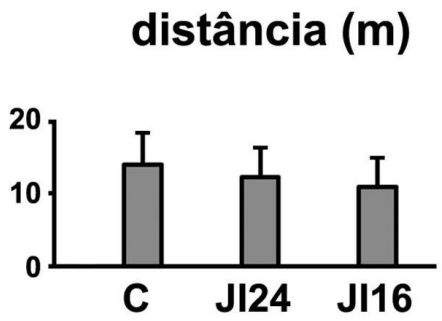
Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 13 - N° de entradas nos braços abertos do LCE. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



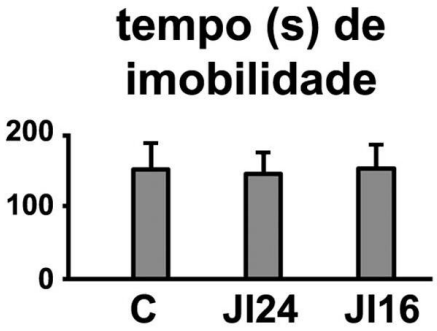
Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 14 - Distância (m) percorrida pelos animais no LCE. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). As diferenças não são significantes (p > 0,05).



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 15 - Tempo (s) de imobilidade no LCE. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). As diferenças não são significantes (p > 0,05).



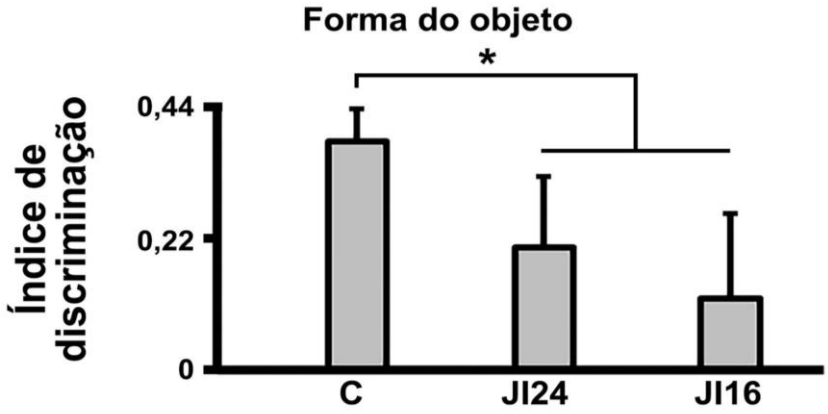
Fonte: elaborada pelo autor (2023)

Em todos os testes referentes ao comportamento de ansiedade, os resultados apresentados entre os grupos JI 24h e JI 16h foram semelhantes.

5.3 Comportamento de memória

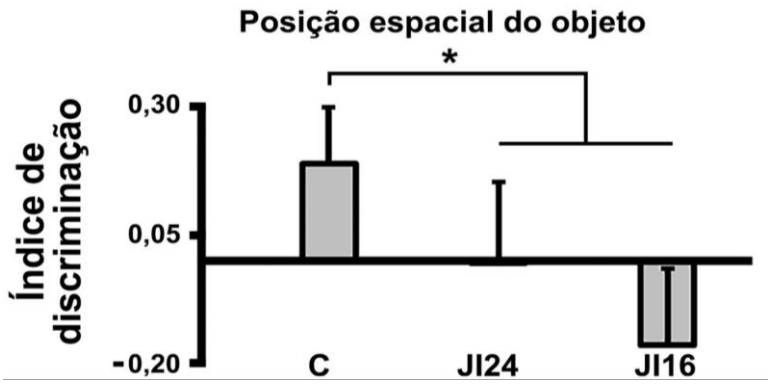
Os testes de reconhecimento de objetos de nova forma (Figura 16) e nova posição espacial (Figura 17) refletiram diferença significativa em seus índices de discriminação. Os resultados demonstraram que os grupos com JI apresentaram menores índices de discriminação, indicando menor capacidade de memorização demonstrada por esses animais.

FIGURA 16 - Índice de discriminação do teste de reconhecimento de objetos: nova forma. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

FIGURA 17 - Índice de discriminação do teste de reconhecimento de objetos: nova posição espacial. As colunas representam as médias dos valores e as barras representam DP (Desvio Padrão) de cada grupo. Grupo C - Controle (n = 15); Grupo JI24 - JI 24h (n = 14); Grupo JI16 - JI 16h (n = 8). * p < 0,05.



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Em todos os testes comportamentais direcionados à análise da memória, os resultados apresentados entre os grupos JI 24h e JI 16h foram semelhantes.

6 DISCUSSÃO

Espera-se que a aplicação do JI contribua para a diminuição expressiva do consumo alimentar, visto que limita os períodos de ingestão. Os nossos achados demonstram disparidades importantes no consumo alimentar dos grupos nos dois primeiros momentos de análise (dia de 33 e 57 de idades aproximadas), e no último momento de análise do consumo (dia 80 de idade aproximada), os dois grupos de jejum apresentaram consumos inferiores ao grupo Controle, ainda que não seja verificada diferença significativa nesse último momento. Esse fato está desalinhado com a descoberta de Spezani et al. (2020), que de modo contrário, não identificou variações no consumo de ração de camundongos machos com 56 dias de idade submetidos ao JI em dias alternados por mais de 4 semanas, sugerindo que o desfecho do jejum pode depender da idade de início dos protocolos.

A indiferença entre o consumo de ração dos animais apresentada por algumas investigações preconiza que durante os períodos *Ad Libitum*, os grupos de JI consomem a ração em quantidades maiores que o grupo Controle, ou seja, apresentam hiperfagia. Entende-se que a ingesta alimentar nos dias de restrição alimentar é compensada nos dias de alimentação à vontade, e há equivalência entre os dados obtidos. Investigações recentes concluíram que o JI associado à dieta pobre em carboidratos pode aumentar a compulsão alimentar e os transtornos alimentares, levando os indivíduos à preocupação excessiva com a comida (COLOMBAROLLI; OLIVEIRA; CORDÁS, 2022; SCHUELER et al., 2023). Contudo, para que se observe uma possível adaptação dos grupos de jejum ao consumo de ração e hiperfagia, seria necessário prolongar a nossa pesquisa por mais dias.

Ademais, indigita-se que a hiperfagia induzida pelo JI é consequência de alterações em hormônios responsáveis pelo mecanismo de fome e saciedade, como a leptina. Uma revisão sistemática e meta-análise observou redução significativa nos níveis de leptina como efeito do Ramadã, com diminuição maior em indivíduos de peso normal, se comparados aos com sobrepeso e obesidade (GAEINI; MIRMIRAN; BAHADORAN, 2021).

A utilização de protocolos de JI e sua relação com a perda de peso ou o ganho de peso diminuído são bastante discutidos nos estudos experimentais, uma vez que se espera que a restrição alimentar provoque mobilização das reservas energéticas e indução da cetose,

otimizando a perda ponderal, e a ingestão alimentar limitada à uma janela de tempo contribua para o ganho ponderal reduzido. Entretanto, as pesquisas realizadas em humanos são restritas e as investigações que envolvem animais possuem dados controversos, principalmente a longo prazo (WEI et al., 2022).

Foi observada uma diferença insignificante referente ao peso corporal entre os grupos, ainda que os grupos participantes do jejum apresentaram ganho inferior, sendo mais evidenciado no grupo sujeito ao tempo maior de restrição (JI 24h). Esses resultados contrastam com o estudo de Liu e colaboradores (2021) que demonstraram diferenças consideráveis na redução do ganho de peso, sendo de 50 a 64% menor em um grupo de camundongos machos, submetidos ao jejum em dias alternados de 15 ciclos, a partir do quadragésimo segundo dia de vida. A desarmonia entre os estudos pode sugerir que a espécie (camundongo versus rato), o sexo, a idade de início do jejum e a quantidade de ciclos de restrição alimentar interferem no peso corporal.

Contudo, no que concerne ao tempo de jejum em dias alternados e à idade dos animais, Badreh e colaboradores (2020) constatam que o JI em dias alternados durante 3 meses, em ratos machos, foi capaz de atenuar o ganho de peso em ratos adultos jovens (3 meses), de meia-idade (12 meses) e velhos (22 meses). Todavia, o jejum feito em apenas um dia da semana diminuiu o ganho ponderal somente nos ratos jovens. Entende-se, portanto, que o resultado supracitado reafirma a hipótese de que a quantidade de episódios de JI pode corroborar com os efeitos no ganho ponderal.

O sexo dos animais pode ser um fator importante no desfecho dos resultados, mas não limita as evidências referentes ao fracasso do JI em reduzir o ganho de peso e melhorar a composição corporal. Kim e colaboradores (2019) revelaram a ineficácia do JI em reduzir o ganho de peso e o tecido gorduroso, em camundongos machos deficientes em leptina, sujeitos ao JI, na proporção de dois dias *Ad Libitum* para dois dias de jejum, durante 16 semanas. Um estudo realizado por Munhoz et al. (2020), insinua que apesar de ratas apresentarem consumo alimentar e ganho de peso reduzidos, a composição corporal pode ser irregular, com aumento das reservas de gordura e diminuição da massa muscular, não sendo um resultado que indica otimização da saúde.

De maneira dissimilar ao nosso estudo, uma investigação conduzida por Moraes et al. (2017), concluiu que um JI de 18 horas por 6 semanas promoveu reduções significativas no peso corporal de ratos com 20 semanas de idade, quando comparados ao grupo Controle. Todavia, apesar do peso diminuído, os ratos não apresentaram ingesta alimentar reduzida, indicando uma provável hiperfagia a fim de compensar os períodos de restrição alimentar, ainda

que haja diferença no peso corporal. Com base nisso, entende-se que apesar dos nossos resultados apontarem significância no primeiro período de análise do consumo entre os grupos Controle e JI 24h, e no segundo período de análise entre os grupos Controle e JI 24h, e JI 24h comparado ao grupo JI 16h, ao final do nosso experimento, os animais do grupo JI 24h possivelmente desenvolveram uma resposta adaptativa ao JI com a indução do comportamento de hiperfagia, contribuindo para a similaridade entre a ingesta alimentar de todos os grupos.

Acredita-se que na busca pela homeostase, as adaptações provocadas pelo jejum possam incentivar a diminuição do apetite. Contudo, um estudo conduzido por Kalam e colaboradores (2021) com indivíduos adultos obesos, concluiu que o JI em dias alternados associado a uma dieta hiperproteica, hipoglicídica e normolipídica num período de 6 meses, não afetou significativamente a fome e a saciedade subjetivas dos participantes, sem relação de ambos com a ingestão calórica e com o peso corporal.

Ainda que algumas análises literárias apontem o JI em dias alternados como uma estratégia eficaz na redução do peso corporal e na estimulação da saciedade precoce, os indícios sugerem que a confiança de evidência são baixas ou muito baixas devido à subjetividade das variáveis. Deste modo, mais estudos que elucidem a perda ponderal e o comportamento do apetite dos animais são necessários, de maneira que haja certeza de evidência, levando em consideração o cuidado no manejo da conduta alimentar (KUCUK; BERG, 2022).

No que diz respeito aos dados relativos ao comportamento de ansiedade, não foram verificadas discrepâncias consideráveis entre a distância percorrida e o tempo de imobilidade apresentados pelos grupos Controle, JI 24h e JI 16h no teste de CA, sugerindo que ambos os grupos demonstraram a mesma locomoção e capacidade exploratória. Contudo, houve diferenças significativas nos fatores relacionados ao comportamento de ansiedade entre os grupos sujeitos ao JI e o grupo Controle. A análise do número de entradas no centro e do tempo gasto no centro revelou mais evidência da ansiedade nos grupos de jejum, uma vez que os valores diminuídos nas duas variáveis supracitadas, demonstram que os animais ansiosos, como instinto de sobrevivência, sentem-se mais inseguros e tendem a percorrer as áreas mais periféricas a fim de evitarem possíveis ameaças nas áreas centrais.

De modo semelhante, a ansiedade nos grupos de JI também foi comprovada pelo teste do LCE, com a constatação do menor número de entradas nos braços abertos e menor tempo gasto nesses braços. Assim como no teste de CA, a redução dessas variáveis indica que os animais dos grupos de jejum esquivam-se dos braços abertos, revelando o comportamento

de ansiedade. Apesar disso, a distância e o tempo de imobilidade foram correspondentes entre todos os grupos.

A utilização do teste de CA e do LCE para avaliar comportamentos ansiosos em ratos submetidos ao JI também foi apontada por Carteri e colaboradores (2021), com a aplicação do JI de 10 ciclos de restrição alimentar em ratos machos adultos. Todavia, os resultados encontrados diferiram dos achados do presente estudo, por meio da não observância de diferenças significativas no tempo gasto na área central do campo, revelando que o JI não induziu ansiedade nos animais. Além disso, no teste do LCE, foram demonstradas diferenças significativas entre o grupo *Ad Libitum* e o grupo que participou do jejum, sendo examinado o maior tempo gasto nos braços abertos pelo grupo JI, diferindo dos resultados encontrados nas nossas investigações. A idade de início do jejum e o número de ciclos de JI podem ter contribuído para o contraste com o nosso estudo.

Outro estudo demonstrou que o JI não foi eficaz em reduzir a ansiedade em ratos machos saudáveis com idades entre 7 e 8 semanas, não sendo observadas diferenças significativas no número de entradas dos braços abertos no teste do LCE. Porém, em ratos de mesma idade com colite induzida, o JI atuou na prevenção do comportamento ansioso culminando no maior percentual de entradas nos braços abertos (ZHANG et al., 2020). Sendo assim, entende-se que existem mecanismos no processo saúde-doença que podem afetar os efeitos do JI no comportamento de ansiedade, como também notado por Elesawy et al. (2021) em um modelo de ratos com DM2.

No tocante à memória, foi verificado que os animais integrantes dos grupos de jejum manifestaram desempenhos inferiores comparados ao grupo Controle nos dois testes de memória. A maior presença de índices de discriminação negativos implica que os animais do JI 24h e JI 16h gastaram mais tempo explorando o objeto de forma antiga e de posição antiga do que o objeto de nova forma e nova posição espacial, sustentando a hipótese de que não houve parcialidade nos resultados do JI referente ao tempo de restrição alimentar. Os índices negativos foram mais presentes no teste de reconhecimento de nova posição espacial (Figura 17), demonstrando que os animais apresentaram mais dificuldade em identificar a mudança de posição do objeto.

Embora tenhamos constatado menor capacidade de memorização em ratos saudáveis submetidos ao JI, o resultado do nosso experimento pode apresentar divergências de outros dados na literatura pelo fato de que assim como a ansiedade, os efeitos do JI podem diferir entre animais saudáveis e animais com algum distúrbio metabólico. Hazzaa et al. (2020) perceberam benefícios em utilizar o JI como medida profilática e curativa sob a memorização

de ratos com prováveis distúrbios metabólicos induzidos por uma dieta rica em gordura. Os diferentes desfechos no resultado evidenciam a necessidade de compreensão da utilização do jejum na memória e seus produtos em indivíduos com estados nutricional e de saúde distintos.

Cogita-se a possibilidade do JI otimizar a memória utilizando como principal mecanismo a restrição calórica, independente da faixa etária do grupo analisado. Com base nisso, Parikh et al. (2016) observou que a restrição calórica pode promover desfechos distintos a depender da idade dos animais estudados, visto que em testes de memória e aprendizado, camundongos jovens apresentaram resultados semelhantes aos do grupo sem restrição calórica. Entretanto, os camundongos idosos com restrição calórica revelaram melhores respostas significativas nos testes de memória. Deste modo, propõe-se que assim como os efeitos da restrição calórica, o JI pode otimizar ou não as habilidades de memória dos animais, consoante à faixa etária dos grupos estudados no período de início do jejum, sendo a melhora observada de modo significativo nos participantes mais velhos (SINGH et al., 2011).

Os resultados encontrados indicam que o JI pode implicar em conclusões distintas na cognição a depender da duração dos ciclos de jejum e idade dos animais no início dos protocolos, com efeitos positivos mais evidenciados em protocolos com mais ciclos de JI e em ratos mais velhos (ELESAWY et al., 2021; WANG; ZUO, 2013; TOLEDO et al., 2020).

Ademais, cogita-se que o estresse crônico provocado pelo JI pode ter sido um fator importante na indução do comportamento ansioso e menor capacidade de memorização. Apesar de Seidler e colaboradores (2022) levantarem a hipótese de que o estresse provocado pelo JI gera uma resposta adaptativa benéfica que otimiza a saúde cerebral e processos de ansiedade e memória, as repercussões do nosso estudo apontam para outra direção, indicando que assim como outros tipos de estresse produzidos no organismo, a restrição alimentar do JI contribui para o déficit de memória e o incentivo do comportamento de ansiedade (NASCIMENTO et al., 2022; JURUENA et al., 2020).

Ainda que Fernández-Rodriguéz e colaboradores (2022) não tenham encontrado mais incidência do comportamento ansioso, como observado em nossas investigações, a sua pesquisa concluiu que, o JI não alterou o comportamento de ansiedade dos indivíduos analisados, de modo que não proporcionou melhora da ansiedade ou do humor. Assim como o presente estudo, os seus resultados concordam com o fato de que o JI pode apresentar impactos distintos sobre a atividade comportamental de humanos e animais, não sendo somente uma estratégia alimentar benéfica.

Além disso, apesar de não quantificarmos em nosso estudo os níveis de BDNF no hipotálamo, entende-se que a diminuição desse fator neurotrófico está relacionada tanto à

indução do comportamento de hiperfagia e ansiedade como também ao prejuízo do comportamento de memória. Embora a literatura aponte o JI como uma estratégia que estimula o aumento dos níveis de BDNF a curto prazo, a longo prazo as evidências são escassas, e os nossos achados podem sugerir que períodos de jejum mais prolongados podem contribuir para a promoção de efeitos contrários ao esperado (WU; XU, 2022).

7 CONCLUSÃO

Os resultados alcançados em nossa investigação denotam as divergências da utilização e eficácia do JI em modificar os parâmetros analisados. Apesar de ser apontado como uma potencial estratégia alimentar atuante na melhora cognitiva, os nossos achados sugerem um novo viés investigativo por meio dos dados obtidos, sendo indicativos de que o jejum pode promover efeitos não desejados sobre a ansiedade e memória, ao menos em animais em desenvolvimento.

Embora seja empregado cientificamente e na prática clínica com o objetivo de promover perda ponderal e redução do consumo alimentar, assim como em alguns experimentos contidos na literatura, o nosso estudo indigita que o JI possa corroborar para o estímulo à hiperfagia durantes os períodos *Ad Libitum* como uma resposta adaptativa ao momentos de privação alimentar, de modo a não proporcionar diferenças significativas a longo prazo em estimular os déficits de peso e ingestão.

A aplicação do JI têm propiciado desfechos dissimilares no campo científico em relação ao comportamento de ansiedade e memória animal. As repercussões positivas são mais observadas em animais com faixa etária superior, não sendo constatadas em ratos em desenvolvimento como ratificado em nossos experimentos. Ademais, as conclusões a curto prazo apresentam muitos contrastes e variações entre os estudos, já a longo prazo, não existem dados suficientes que amparem e acusem vantagens no uso do JI.

REFERÊNCIAS

ACIKGOZ, Burcu; DALKIRAN, Bahar; DAYI, Ayfer. An overview of the currency and usefulness of behavioral tests used from past to present to assess anxiety, social behavior and depression in rats and mice. **Behavioral Processes**, v. 200, p. 104670, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35667641/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

AKBARI, Hesam Addin; YOOSEFI, Mohammad; POURABBAS, Maryam; et al. Association of Ramadan Participation with Psychological Parameters: A Cross-Sectional Study during the COVID-19 Pandemic in Iran. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 9, p. 2346, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35566470/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

ALEMOHAMMAD, Seyyed Mohammad Amin; NOORI, Seyed Mohammad Reza; SAMARBAFZADEH, Ehsan; et al. The role of the gut microbiota and nutrition on spatial learning and spatial memory: a mini review based on animal studies. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 2, p. 1551–1563, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35028854/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

AL-OZAIRI, Ebaa; ALAWADHI, Manar M.; AL-OZAIRI, Abdulla; et al. A prospective study of the effect of fasting during the month of Ramadan on depression and diabetes distress in people with type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 153, p. 145–149, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31108138/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

ALNEYADI, M.; DRISSI, N.; ALMEQBAALI, M.; et al. Biofeedback-Based Connected Mental Health Interventions for Anxiety: Systematic Literature Review. **JMIR MHealth and UHealth**, v. 9, n. 4, p. 26038, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33792548/>. Acesso em: 18 dez. 2022.

ANDIKA, Faris Rizky; YOON, Jin-Hui; KIM, Gaon Sandy; et al. Intermittent Fasting Alleviates Cognitive Impairments and Hippocampal Neuronal Loss but Enhances Astrocytosis in Mice with Subcortical Vascular Dementia. **The Journal of Nutrition**, v. 151, n. 3, p. 722–730, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33484139/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

ANTIORIO, Ana TFB; ALEMÁN-LAPORTE, Jilma; ZANATTO, Dennis A; et al. Mouse Behavior in the Open-field Test after Meloxicam Administration. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 61, n. 3, p. 270–274, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35101160/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

ASGHARI HANJANI, Nazanin; ZAMANINOUR, Negar; ATHARI NIK AZAM, Somayeh; et al. The Effect of Calorie Restriction and Intermittent Fasting on Impaired Cognitive Function in High-Fat Diet-Induced Obesity Started Post-Weaning in Male Wistar Rat. **Medical Journal of The Islamic Republic of Iran**, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35999941/>. Acesso em: 11 jan. 2023.

BADREH, Firuzeh; JOUKAR, Siyavash; BADAVI, Mohammad; et al. The Effects of Age and Fasting Models on Blood Pressure, Insulin/Glucose Profile, and Expression of Longevity Proteins in Male Rats. **Rejuvenation Research**, v. 23, n. 3, p. 224–236, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31373257/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

BALCEREK, Edyta; WŁODKOWSKA, Urszula; CZAJKOWSKI, Rafał. Retrosplenial cortex in spatial memory: focus on immediate early genes mapping. **Molecular Brain**, v. 14, n. 1, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34863215/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

BARROS, M. B. A.; LIMA, M.G.; MALTA, D. C.; et al. Report on sadness/depression, nervousness/anxiety and sleep problems in the Brazilian adult population during the COVID-19 pandemic. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, n. 4, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32844918/>. Acesso em: 29 nov. 2022.

BASILIO, Priscilla Gois; OLIVEIRA, Ana Priscila Cayres de; CASTRO, Ana Carolini Ferreira de; et al. Dieta Intermitente Atenua a Remodelação Cardíaca Causada pelo Exercício Físico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 2, p. 184–193, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32876182/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

BENAU, Erik M.; MAKARA, Amanda; ORLOFF, Natalia C.; et al. How Does Fasting Affect Cognition? An Updated Systematic Review (2013–2020). **Current Nutrition Reports**, v. 10, n. 4, p. 376–390, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34595721/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

BENEVIDES, Regina de Deus Lira; DE-LIMA, Suênia Marcele Vitor; CHAGAS, Camila Lima; et al. Lactation in large litters influences anxiety, memory, and spreading depression in adult male rats that were chronically subjected to a non-convulsive pilocarpine dose. **Nutritional Neuroscience**, v. 25, n. 4, p. 846–856, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32912080/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

BERNARDINA, Nara Rubia D.; LIMA, Randriely Merscher Sobreira de; RONCHI, Silas N.; et al. Oxandrolone treatment in juvenile rats induced anxiety-like behavior in young adult animals. **Neuroscience Letters**, v. 761, p. 136104, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34256105/>. Acesso em: 13 jan. 2023.

BERTHELOT, Elisa; ETCHECOPAR-ETCHART, Damien; THELLIER, Dimitri; et al. Fasting Interventions for Stress, Anxiety and Depressive Symptoms: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3947, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34836202/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

BESSIÈRES, B.; TRAVAGLIA, A.; et al. Early life experiences selectively mature learning and memory abilities. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6994621/>. Acesso em: 30 nov. 2022.

BÍBLIA, A. T. Êxodo. In BÍBLIA. Português. **Bíblia de Estudo de Genebra:** Antigo e Novo Testamentos. Tradução de João Ferreira de Almeida. São Paulo: Sociedade Bíblica do Brasil, 2009. p. 138. Acesso em: 10 mar. 2023.

BISHNOI, Indra R.; OSSENKOPP, Klaus-Peter; KAVALIERS, Martin. Sex and age differences in locomotor and anxiety-like behaviors in rats: From adolescence to adulthood. **Developmental Psychobiology**, v. 63, n. 3, p. 496–511, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33047845/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

BLUME, Shannon R.; PADIVAL, Mallika; URBAN, Janice H.; et al. Disruptive effects of repeated stress on basolateral amygdala neurons and fear behavior across the estrous cycle in

rats. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31444385/>. Acesso em: 18 fev. 2023.

BRIDGES, ROBERT S. A Quantitative Analysis of the Roles of Dosage, Sequence, and Duration of Estradiol and Progesterone Exposure in the Regulation of Maternal Behavior in the Rat. **Endocrinology**, v. 114, n. 3, p. 930–940, 1984. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6697968/>. Acesso em: 16 fev. 2023.

BRUIJNZEEL, Adriaan W.; KNIGHT, Parker; PANUNZIO, Stefany; et al. Effects in rats of adolescent exposure to cannabis smoke or THC on emotional behavior and cognitive function in adulthood. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 9, p. 2773–2784, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6752736/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

CARTERI, Randhall B; MENEGASSI, Lizia Nardi; FELDMANN, Marceli; et al. Intermittent fasting promotes anxiolytic-like effects unrelated to synaptic mitochondrial function and BDNF support. **Behavioral Brain Research**, v. 404, p. 113163, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33549686/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

CHAO, Owen Y.; DE SOUZA SILVA, Maria A.; YANG, Yi-Mei; et al. The medial prefrontal cortex - hippocampus circuit that integrates information of object, place and time to construct episodic memory in rodents: Behavioral, anatomical and neurochemical properties. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 113, p. 373–407, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32298711/>. Acesso em: 1 fev. 2023.

CIENFUEGOS, Sofia; CORAPI, Sarah; GABEL, Kelsey; et al. Effect of Intermittent Fasting on Reproductive Hormone Levels in Females and Males: A Review of Human Trials. **Nutrients**, v. 14, n. 11, p. 2343, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35684143/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

CLIFTON, Katherine K.; MA, Cynthia X.; FONTANA, Luigi; et al. Intermittent fasting in the prevention and treatment of cancer. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 6, p. 527–546, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34383300/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

COLETTIS, Natalia Claudia; HABIF, Martín; OBERHOLZER, María Victoria; et al. Differences in learning and memory between middle-aged female and male rats. **Learning & Memory**, v. 29, n. 5, p. 120–125, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35428728/>. Acesso em: 18 fev. 2023.

COLOMBAROLLI, Maíra Stivaleti; OLIVEIRA, Jônatas de; CORDÁS, Táki Athanássios. Craving for carbs: food craving and disordered eating in low-carb dieters and its association with intermittent fasting. **Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity**, v. 27, n. 8, p. 3109–3117, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35999438/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

COSTA-BEBER, Lílian Corrêa; GOETTEMS-FIORIN, Pauline Brendler; DOS SANTOS, Jaíne Borges; et al. Air pollution combined with high-fat feeding aggravates metabolic and cardiovascular diseases: A dangerous, oxidative, and immune-inflammatory association. **Life Sciences**, p. 121468, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36736766/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

COTTON, Kelly; RICKER, Timothy J. Examining the relationship between working memory consolidation and long-term consolidation. **Psychonomic Bulletin & Review**, v. 29, n. 5, p. 1625–1648, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35357669/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

COWAN, E. T.; SCHAPIRO, A. C.; et al. Memory consolidation as an adaptive process. **Psychonomic Bulletin & Review**, v. 28, n. 6, p. 1796–1810, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34327677/>. Acesso em: 30 nov. 2022.

CRYSTAL, Jonathon D. Evaluating evidence from animal models of episodic memory. **Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition**, v. 47, n. 3, p. 337–356, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34618532/>. Acesso em: 1 fev. 2023.

CUI, Ranji; FAN, Jie; GE, Tongtong; et al. The mechanism of acute fasting-induced antidepressant-like effects in mice. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 22, n. 1, p. 223–229, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742683/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

DIAS, Gisele Pereira; MURPHY, Tytus; STANGL, Doris; et al. Intermittent fasting enhances long-term memory consolidation, adult hippocampal neurogenesis, and expression of longevity gene Klotho. **Molecular Psychiatry**, v. 26, n. 11, p. 6365–6379, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34031536/>. Acesso em: 11 jan. 2023.

DONG, Tiffany A.; SANDESARA, Pratik B.; DHINDSA, Devinder S.; et al. Intermittent Fasting: A Heart Healthy Dietary Pattern? **The American Journal of Medicine**, v. 133, n. 8, p. 901–907, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32330491/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

DOTE-MONTERO, Manuel; SANCHEZ-DELGADO, Guillermo; RAVUSSIN, Eric. Effects of Intermittent Fasting on Cardiometabolic Health: An Energy Metabolism Perspective. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 489, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35276847/>. Acesso em: 30 jan. 2023.

ELESAWY, Basem H.; RAAFAT, Bassem M.; MUQBALI, Aya Al; et al. The Impact of Intermittent Fasting on Brain-Derived Neurotrophic Factor, Neurotrophin 3, and Rat Behavior in a Rat Model of Type 2 Diabetes Mellitus. **Brain Sciences**, v. 11, n. 2, p. 242, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33671898/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

EZPELETA, Mark; GABEL, Kelsey; CIENFUEGOS, Sofia; et al. Effect of alternate day fasting combined with aerobic exercise on non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. **Cell Metabolism**, v. 35, n. 1, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36549296/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

FERNANDES, Matheus Santos de Sousa; ORDÔNIO, Tayrine Figueira; SANTOS, Gabriela Carvalho Jurema; et al. Effects of Physical Exercise on Neuroplasticity and Brain Function: A Systematic Review in Human and Animal Studies. **Neural Plasticity**, v. 2020, p. 1–21, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33414823/>. Acesso em: 1 fev. 2023.

FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, Rubén; MARTÍNEZ-VIZCAÍNO, Vicente; MESAS, Arthur E; et al. Does intermittent fasting impact mental disorders? A systematic review with meta-analysis. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–16, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35713641/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

FORSBERG, Alicia; GUITARD, Dominic; COWAN, Nelson. Working memory limits severely constrain long-term retention. **Psychonomic Bulletin & Review**, v. 28, n. 2, p. 537–547, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33269464/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

FOUDAH, Ahmed I; ALQARNI, Mohammed H; ALAM, Aftab; et al. Rutin Improves Anxiety and Reserpine-Induced Depression in Rats. **Molecules**, v. 27, n. 21, p. 7313, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36364141/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

FREIRE, Rachel. Scientific evidence of diets for weight loss: Different macronutrient composition, intermittent fasting, and popular diets. **Nutrition**, v. 69, p. 110549, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31525701/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

GAEINI, Zahra; MIRMIRAN, Parvin; BAHADORAN, Zahra. Effects of Ramadan intermittent fasting on leptin and adiponectin: a systematic review and meta-analysis. **Hormones**, v. 20, n. 2, p. 237–246, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33786736/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

GAO, Jianwei; XU, Chuanhui; ZHANG, Mengdi; et al. Functional fiber enhances the effect of every-other-day fasting on insulin sensitivity by regulating the gut microecosystem. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 110, p. 109122, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35977666/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

GIBBONS, Travis D.; COTTER, James D.; AINSLIE, Philip N.; et al. Fasting for 20 h does not affect exercise-induced increases in circulating BDNF in humans. **The Journal of Physiology**, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36631068/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

GRIFFIN, Amy L. The nucleus reuniens orchestrates prefrontal-hippocampal synchrony during spatial working memory. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 128, p. 415–420, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34217746/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

GUDDEN, Jip; ARIAS VASQUEZ, Alejandro; BLOEMENDAAL, Mirjam. The Effects of Intermittent Fasting on Brain and Cognitive Function. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 3166, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34579042/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

GUELDICH, Helmy; ZGHAL, Firas; BORJI, Rihab; et al. The effects of Ramadan intermittent fasting on the underlying mechanisms of force production capacity during maximal isometric voluntary contraction. **Chronobiology International**, v. 36, n. 5, p. 698–708, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30889992/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

GUILLÉN-RUIZ, Gabriel; CUETO-ESCOBEDO, Jonathan; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, Fabiola; et al. Estrous cycle modulates the anxiogenic effects of caffeine in the elevated plus maze and light/dark box in female rats. **Behavioral Brain Research**, v. 413, p. 113469, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34280462/>. Acesso em: 18 fev. 2023.

GUO, Yi; LUO, Shiyun; YE, Yongxin; et al. Intermittent Fasting Improves Cardiometabolic Risk Factors and Alters Gut Microbiota in Metabolic Syndrome Patients. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 106, n. 1, p. 64–79, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33017844/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

HALEEM, Darakhshan Jabeen; MAHMOOD, Khalid. Brain serotonin in high-fat diet-induced weight gain, anxiety and spatial memory in rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 24, n. 3, p. 226–235, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31116091/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

HAZZAA, Suzan M.; ELDAIM, Mabrouk A. Abd; FOUDA, Amira A.; et al. Intermittent Fasting Ameliorated High-Fat Diet-Induced Memory Impairment in Rats via Reducing Oxidative Stress and Glial Fibrillary Acidic Protein Expression in Brain. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 10, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33375195/>. Acesso em: 11 jan. 2023.

HEPLER, Chelsea; WEIDEMANN, Benjamin J.; WALDECK, Nathan J.; et al. Time-restricted feeding mitigates obesity through adipocyte thermogenesis. **Science**, v. 378, n. 6617, p. 276–284, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36264811/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

HIMANSHU; DHARMILA; SARKAR, Deepa; et al. A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**, v. 18, n. 3, p. 341–351, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32702213/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

HODDY, Kristin K.; MARLATT, Kara L.; ÇETINKAYA, Hatice; et al. Intermittent Fasting and Metabolic Health: From Religious Fast to Time-Restricted Feeding. **Obesity**, v. 28, n. S1, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32700827/>. Acesso em: 26 jan. 2023.

HOLMER, Magnus; LINDQVIST, Catarina; PETERSSON, Sven; et al. Treatment of NAFLD with intermittent calorie restriction or low-carb high-fat diet – a randomised controlled trial. **JHEP Reports**, v. 3, n. 3, p. 100256, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33898960/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

HORNE, Benjamin D; MAY, Heidi T; MUHLESTEIN, Joseph B; et al. Association of periodic fasting with lower severity of COVID-19 outcomes in the SARS-CoV-2 prevaccine era: an observational cohort from the INSPIRE registry. **BMJ Nutrition, Prevention & Health**, v. 5, n. 2, p. 145–153, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36619318/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

HU, Yuan; ZHANG, Miao; CHEN, Yunyun; et al. Postoperative intermittent fasting prevents hippocampal oxidative stress and memory deficits in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. **European Journal of Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 423–432, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29327228/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

JURUENA, Mario F.; EROR, Filip; CLEARE, Anthony J.; et al. The Role of Early Life Stress in HPA Axis and Anxiety. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 141–153, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32002927/>. Acesso em: 5 mar. 2023.

KALAM, Faiza; GABEL, Kelsey; CIENFUEGOS, Sofia; et al. Changes in subjective measures of appetite during 6 months of alternate day fasting with a low carbohydrate diet. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 41, p. 417–422, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33487299/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

KALKAN UĞURLU, Y.; MATARACI DEĞIRMENCI, D.; DURGUN, H.; et al. The examination of the relationship between nursing students' depression, anxiety and stress levels and restrictive, emotional, and external eating behaviors in COVID-19 social isolation process. **Perspectives in Psychiatric Care**, v. 57, n. 2, p. 507–516, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7753737/>. Acesso em: 17 dez. 2022.

KANG, Junren; SHI, Xiaodong; FU, Ji; et al. Effects of an Intermittent Fasting 5:2 Plus Program on Body Weight in Chinese Adults with Overweight or Obesity: A Pilot Study. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4734, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36432420/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

KHANI, Fatemeh; POURMOTABBED, Ali; HOSSEINMARDI, Narges; et al. Development of anxiety-like behaviors during adolescence: Persistent effects of adolescent morphine exposure in male rats. **Developmental Psychobiology**, v. 64, n. 7, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36282759/>. Acesso em: 13 jan. 2023.

KHODAGHOLI, Fariba; MALEKI, Ali; MOTAMEDI, Fereshteh; et al. Oxytocin Prevents the Development of 3-NP-Induced Anxiety and Depression in Male and Female Rats: Possible Interaction of OXTR and mGluR2. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 42, n. 4, p. 1105–1123, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33201416/>. Acesso em: 13 jan. 2023.

KIM, Bo Hye; JOO, Yena; KIM, Min-Seon; et al. Effects of Intermittent Fasting on the Circulating Levels and Circadian Rhythms of Hormones. **Endocrinology and Metabolism**, v. 36, n. 4, p. 745–756, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34474513/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

KIM, Yun Hye; LEE, Ju Hee; YEUNG, Joanna Lan-Hing; et al. Thermogenesis-independent metabolic benefits conferred by isocaloric intermittent fasting in ob/ob mice. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30792482/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

KLIER, C.; BURATTO, L. G. Stress and long-term memory retrieval: a systematic review. **Trends in Psychiatry and Psychotherapy**, v. 42, n. 3, p. 284–291, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7879075/>. Acesso em: 30 nov. 2022.

KNIGHT, Parker; CHELLIAN, Ranjithkumar; WILSON, Ryann; et al. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 204, p. 173168, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33684454/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

KOFLER, Michael J.; SINGH, Leah J.; SOTO, Elia F.; et al. Working memory and short-term memory deficits in ADHD: A bifactor modeling approach. **Neuropsychology**, v. 34, n. 6, p.

686–698, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32437194/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

KOKKINOPOULOU, A.; KAFATOS, A. Impact of Christian Orthodox Church dietary recommendations on metabolic syndrome risk factors: a scoping review. **Nutrition Research Reviews**, v. 35, n. 2, p. 221–235, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34108056/>. Acesso em: 29 jan. 2023.

KOKKINOPOULOU, Anna; PAGKALOS, Ioannis; HASSAPIDOU, Maria; et al. Dietary Patterns in Adults Following the Christian Orthodox Fasting Regime in Greece. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35321286/>. Acesso em: 29 jan. 2023.

KOPPOLD-LIEBSCHER, Daniela; KESSLER, Christian S.; STECKHAN, Nico; et al. Short-term fasting accompanying chemotherapy as a supportive therapy in gynecological cancer: protocol for a multicenter randomized controlled clinical trial. **Trials**, v. 21, n. 1, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33059765/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

KUCUK, Bahar; BERG, Rigmor C. Alternate day fasting on subjective feelings of appetite and body weight for adults with overweight or obesity: a systematic review. **Journal of Nutritional Science**, v. 11, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36405095/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

LEBOIS, Lauren A.M.; WILSON-MENDENHALL, Christine D.; SIMMONS, W. Kyle; et al. Learning situated emotions. **Neuropsychologia**, v. 145, p. 106637, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29330097/>. Acesso em: 2 fev. 2023.

LEE, Stephanie A.; SYPNIEWSKI, Caroline; BENSADON, Benjamin A.; et al. Determinants of Adherence in Time-Restricted Feeding in Older Adults: Lessons from a Pilot Study. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 874, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32213965/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

LEÓN-RODRÍGUEZ, Ana; FERNÁNDEZ-ARJONA, María del Mar; GRONDONA, Jesús M.; et al. Anxiety-like behavior and microglial activation in the amygdala after acute neuroinflammation induced by microbial neuraminidase. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35803999/>. Acesso em: 18 dez. 2022.

LI, Chunzhu; XING, Chuan; ZHANG, Jiaqi; et al. Eight-hour time-restricted feeding improves endocrine and metabolic profiles in women with anovulatory polycystic ovary syndrome. **Journal of Translational Medicine**, v. 19, n. 1, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33849562/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

LI, Liaoliao; WANG, Zhi; ZUO, Zhiyi. Chronic Intermittent Fasting Improves Cognitive Functions and Brain Structures in Mice. **PLOS ONE**, v. 8, n. 6, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23755298/>. Acesso em: 5 mar. 2023.

LI, Shuoshuo; LIAO, Yajin; DONG, Yuan; et al. Microglial deletion and inhibition alleviate behavior of post-traumatic stress disorder in mice. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7786489/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

LISSNER, Lílian Juliana; WARTCHOW, Krista Minéia; TONIAZZO, Ana Paula; et al. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 210, p. 173273, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34536480/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

LIU, Baiwei; LI, Xinyu; THEEUWES, Jan; et al. Long-term memory retrieval bypasses working memory. **NeuroImage**, v. 261, p. 119513, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35882271/>. Acesso em: 11 jan. 2023.

LIU, Kai; LIU, Bo; HEILBRONN, Leonie K. Intermittent fasting: What questions should we be asking? **Physiology & Behavior**, v. 218, p. 112827, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32014525/>. Acesso em: 2 fev. 2023.

LIU, Jing; ZHANG, Hui; YU, Tao; et al. Transformative neural representations support long-term episodic memory. **Science Advances**, v. 7, n. 41, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34623910/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

LIU, Jingliang; ZHONG, Yifan; LUO, Xin M.; et al. Intermittent Fasting Reshapes the Gut Microbiota and Metabolome and Reduces Weight Gain More Effectively Than Melatonin in Mice. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34901130/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

LIU, Yong; CHENG, Aiwu; LI, Yu-Jiao; et al. SIRT3 mediates hippocampal synaptic adaptations to intermittent fasting and ameliorates deficits in APP mutant mice. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31015456/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

LOAIZA, Vanessa M.; DOHERTY, Charlotte; HOWLETT, Paul. The long-term consequences of retrieval demands during working memory. **Memory & Cognition**, v. 49, n. 1, p. 112–126, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32856223/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

MAHMOOD, Ammad; ABBASI, Hina Naz; GHOURI, Nazim; et al. Managing epilepsy in Ramadan: Guidance for healthcare providers and patients. **Epilepsy & Behavior**, v. 111, p. 107117, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32599428/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

MALKANI, Roneil G.; ZEE, Phyllis C. Brain Stimulation for Improving Sleep and Memory. **Sleep Medicine Clinics**, v. 15, n. 1, p. 101–115, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32005347/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

MANOOGIAN, Emily N C; CHOW, Lisa S; TAUB, Pam R; et al. Time-restricted Eating for the Prevention and Management of Metabolic Diseases. **Endocrine Reviews**, v. 43, n. 2, p. 405–436, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34550357/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

MATÍAS-PÉREZ, D.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, E.; GARCÍA-MONTALVO, I. A. Intermittent fasting may optimize intestinal microbiota, adipocyte status and metabolic health.

Asia Pacific journal of clinical nutrition, v. 31, n. 1, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35357099/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

MILLER, Ralph R. Failures of memory and the fate of forgotten memories. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 181, p. 107426, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33794376/>. Acesso em: 30 nov. 2022.

MINDIKOGLU, Ayse L.; ABDULSADA, Mustafa M.; JAIN, Antrix; et al. Intermittent fasting from dawn to sunset for 30 consecutive days is associated with anticancer proteomic signature and upregulates key regulatory proteins of glucose and lipid metabolism, circadian clock, DNA repair, cytoskeleton remodeling, immune system and cognitive function in healthy subjects. **Journal of Proteomics**, v. 217, p. 103645, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31927066/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

MOHAMMADI, M. R.; POURDEHGHAN, P.; MOSTAFAVI, S. A.; et al. Generalized anxiety disorder: Prevalence, predictors, and comorbidity in children and adolescents. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 73, p. 102234, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32470794/>. Acesso em: 28 nov. 2022.

MORAES, Ruan Carlos Macedo de; PORTARI, Guilherme Vannucchi; FERRAZ, Alex Soares Marreiros; et al. Effects of intermittent fasting and chronic swimming exercise on body composition and lipid metabolism. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42, n. 12, p. 1341–1346, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28825965/>. Acesso em: 8 mar. 2023.

MORALES-SUAREZ-VARELA, María; COLLADO SÁNCHEZ, Ester; PERAITA-COSTA, Isabel; et al. Intermittent Fasting and the Possible Benefits in Obesity, Diabetes, and Multiple Sclerosis: A Systematic Review of Randomized Clinical Trials. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 3179, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34579056/>. Acesso em: 2 fev. 2023.

MOUSAVI, Seyedeh Neda; RAYYANI, Elham; HESHMATI, Javad; et al. Effects of Ramadan and Non-ramadan Intermittent Fasting on Gut Microbiome. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35392284/>. Acesso em: 30 jan. 2023.

MUFFORD, M. S.; VAN DER MEER, D.; et al. A review of systems biology research of anxiety disorders. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 43, n. 4, p. 414–423, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8352731/>. Acesso em: 28 nov. 2022.

MUNHOZ, Ana Cláudia; VILAS-BOAS, Eloisa Aparecida; PANVELOSKI-COSTA, Ana Carolina; et al. Intermittent Fasting for Twelve Weeks Leads to Increases in Fat Mass and Hyperinsulinemia in Young Female Wistar Rats. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1029, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32283715/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

NAKAGAWA, Hikaru; MATSUNAGA, Daisuke; ISHIWATA, Takayuki. Effect of heat acclimation on anxiety-like behavior of rats in an open field. **Journal of Thermal Biology**, v. 87, p. 102458, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31999599/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

NASCIMENTO, Ezequiel B.; DIERSCHNABEL, Aline Lima; LIMA, Ramón Hypolito; et al. Stress-related impairment of fear memory acquisition and disruption of risk assessment

behavior in female but not in male mice. **Behavioural Processes**, v. 199, p. 104660, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35550163/>. Acesso em: 5 mar. 2023.

NG, Gavin Yong-Quan; SHENG, Dominic Paul Lee Kok; BAE, Han-Gyu; et al. Integrative epigenomic and transcriptomic analyses reveal metabolic switching by intermittent fasting in brain. **GeroScience**, v. 44, n. 4, p. 2171–2194, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35357643/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

NOWOSAD, Karolina; SUJKA, Monika. Effect of Various Types of Intermittent Fasting (IF) on Weight Loss and Improvement of Diabetic Parameters in Human. **Current Nutrition Reports**, v. 10, n. 2, p. 146–154, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33826120/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

OOSTERWIJK, Violet N. L.; MOLENAAR, Joyce M.; VAN BILSEN, Lily A.; et al. Ramadan Fasting during Pregnancy and Health Outcomes in Offspring: A Systematic Review. **Nutrients**, v. 13, n. 10, p. 3450, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34684451/>. Acesso em: 29 jan. 2023.

PANAYOTIS, Nicolas; FREUND, Philip A.; MARVALDI, Letizia; et al. β-sitosterol reduces anxiety and synergizes with established anxiolytic drugs in mice. **Cell Reports Medicine**, v. 2, n. 5, p. 100281, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34095883/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

PARIKH, Ishita; GUO, Janet; CHUANG, Kai-Hsiang; et al. Caloric restriction preserves memory and reduces anxiety of aging mice with early enhancement of neurovascular functions. **Aging**, v. 8, n. 11, p. 2814–2826, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5191872/>. Acesso em: 5 mar. 2023.

PELLOW, Sharon; CHOPIN, Philippe; FILE, Sandra E.; et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n. 3, p. 149–167, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2864480/>. Acesso em: 2 maio 2023.

PETETTA, Francesca; CICCOCIOPPO, Roberto. Public perception of laboratory animal testing: Historical, philosophical, and ethical view. **Addiction Biology**, v. 26, n. 6, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9252265/>. Acesso em: 18 dez. 2022.

PARK, Sunmin; SHIN, Bae Kun. Intermittent fasting with a high-protein diet mitigated osteoarthritis symptoms by increasing lean body mass and reducing inflammation in osteoarthritic rats with Alzheimer's disease-like dementia. **British Journal of Nutrition**, v. 127, n. 1, p. 55–67, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33750486/>. Acesso em: 13 jan. 2023.

POH, Luting; RAJEEV, Vismitha; SELVARAJI, Sharmelee; et al. Intermittent fasting attenuates inflammasome-associated apoptotic and pyroptotic death in the brain following chronic hypoperfusion. **Neurochemistry International**, v. 148, p. 105109, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34174333/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

RAFFINGTON, L.; FALCK, J.; et al. Effects of stress on 6- and 7-year-old children's emotional memory differs by gender. **Journal of Experimental Child Psychology**, v. 199, p. 104924, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32707294/>. Acesso em: 30 nov. 2022.

RAJEEV, Vismitha; FANN, David Y.; DINH, Quynh Nhu; et al. Intermittent Fasting Attenuates Hallmark Vascular and Neuronal Pathologies in a Mouse Model of Vascular Cognitive Impairment. **International Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 16, p. 6052–6067, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36439869/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

RAJPAL, Aman; ISMAIL-BEIGI, Faramarz. Intermittent fasting and "metabolic switch": Effects on metabolic syndrome, prediabetes and type 2 diabetes. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 22, n. 9, p. 1496–1510, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32372521/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

ROBERTS, Susan B; FRANCESCHINI, Maria A; SILVER, Rachel E; et al. Effects of food supplementation on cognitive function, cerebral blood flow, and nutritional status in young children at risk of undernutrition: randomized controlled trial. **BMJ**, p. 2397, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32699176/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

ROBINSON, O. J.; PIKE, A.C.; et al. The translational neural circuitry of anxiety. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31256001/>. Acesso em: 29 nov. 2022.

ROESLER, R.; PARENT, M. B.; et al. Amygdala-hippocampal interactions in synaptic plasticity and memory formation. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 184, p. 107490, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34302951/>. Acesso em: 29 nov. 2022.

ROTHBLAT, L. A.; HAYES, L. L. Short-term object recognition memory in the rat: non matching with trial-unique junk stimuli. **Behavioral neuroscience**, v. 101, n. 4, 1987. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3651236/>. Acesso em: 16 fev. 2023.

RUBOVITCH, V.; PHARAYRA, A.; HAR-EVEN, M.; et al. Dietary Energy Restriction Ameliorates Cognitive Impairment in a Mouse Model of Traumatic Brain Injury. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 67, n. 4, p. 613–621, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30734244/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

SALARI, N.; HOSSEINIAN-FAR, A., et al. Prevalence of stress, anxiety, depression among the general population during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. **Globalization and Health,** v. 16, n. 1, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7338126/#CR37>. Acesso em: 01 dez. 2022.

SCHOLL, Jamie L.; AFZAL, Anum; FOX, Laura C.; et al. Sex differences in anxiety-like behaviors in rats. **Physiology & Behavior**, v. 211, p. 112670, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31487491/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

SCHOLTENS, E.L.; KREBS, J.D.; CORLEY, B.T.; et al. Intermittent fasting 5:2 diet: What is the macronutrient and micronutrient intake and composition? **Clinical Nutrition**, v. 39, n. 11,

p. 3354–3360, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32199696/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

SCHUELER, Jordan; PHILIP, Samantha R.; VITUS, Darya; et al. Group differences in binge eating, impulsivity, and intuitive and mindful eating among intermittent fasters and non-fasters. **Appetite**, v. 182, p. 106416, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36526039/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

SCHWORER, Emily K.; VOTH, Kellie; HOFFMAN, Emily K.; et al. Short-term memory outcome measures: Psychometric evaluation and performance in youth with Down syndrome. **Research in Developmental Disabilities**, v. 120, p. 104147, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34922089/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

SCOUTEN, Charles W.; GROTELUESCHEN, Linda K.; BEATTY, William W. Androgens and the organization of sex differences in active avoidance behavior in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 88, n. 1, p. 264–270, 1975. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1120803/>. Acesso em: 16 fev. 2023.

SEIDLER, Karin ; BARROW, Michelle. Intermittent fasting and cognitive performance – Targeting BDNF as potential strategy to optimise brain health. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 65, p. 100971, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34929259/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

SEPÚLVEDA-LOYOLA, W.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, I.; et al. Impact of Social Isolation Due to COVID-19 on Health in Older People: Mental and Physical Effects and Recommendations. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 24, n. 9, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33155618/>. Acesso em: 01 dez. 2022.

SHEN, Yang; ZHOU, Miou; CAI, Denise; et al. CCR5 closes the temporal window for memory linking. **Nature**, v. 606, n. 7912, p. 146–152, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35614219/>. Acesso em: 1 fev. 2023.

SHIMODA, Shota; OZAWA, Takaaki; ICHITANI, Yukio; et al. Long-term associative memory in rats: Effects of familiarization period in object-place-context recognition test. **PLOS ONE**, v. 16, n. 7, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34329332/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

SHOJAIE, Marjan; GHANBARI, Farzane; SHOJAIE, Nasrin. Intermittent fasting could ameliorate cognitive function against distress by regulation of inflammatory response pathway. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 6, p. 697–701, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28970945/>. Acesso em: 2 fev. 2023.

SHOJI, Hirotaka; MIYAKAWA, Tsuyoshi. Effects of test experience, closed-arm wall color, and illumination level on behavior and plasma corticosterone response in an elevated plus maze in male C57BL/6J mice: a challenge against conventional interpretation of the test. **Molecular Brain**, v. 14, n. 1, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7885464/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

SINGH, Rumani; LAKHANPAL, Dinesh; KUMAR, Sushil; et al. Late-onset intermittent fasting dietary restriction as a potential intervention to retard age-associated brain function

impairments in male rats. **AGE**, v. 34, n. 4, p. 917–933, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3682068/>. Acesso em: 5 mar. 2023.

SOARES, Naís Lira; DORAND, Victor Augusto Mathias; CAVALCANTE, Hassler Clementino; et al. Does intermittent fasting associated with aerobic training influence parameters related to the gut-brain axis of Wistar rats? **Journal of Affective Disorders**, v. 293, p. 176–185, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34214787/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

SPANAKI, Cleanthe; RODOPAIOS, Nikolaos E.; KOULOURI, Alexandra; et al. The Christian Orthodox Church Fasting Diet Is Associated with Lower Levels of Depression and Anxiety and a Better Cognitive Performance in Middle Life. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 627, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7919284/>. Acesso em: 29 jan. 2023.

SPEZANI, Renata; DA SILVA, Renata Ribeiro; MARTINS, Fabiane Ferreira; et al. Intermittent fasting, adipokines, insulin sensitivity, and hypothalamic neuropeptides in a dietary overload with high-fat or high-fructose diet in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 83, p. 108419, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32580132/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

TEMPLEMAN, Iain; GONZALEZ, Javier T.; THOMPSON, Dylan; et al. The role of intermittent fasting and meal timing in weight management and metabolic health. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 79, n. 1, p. 76–87, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31023390/>. Acesso em: 30 jan. 2023.

TOELZER, Christine; GUPTA, Kapil; YADAV, Sathish K. N.; et al. Free fatty acid binding pocket in the locked structure of SARS-CoV-2 spike protein. **Science**, v. 370, n. 6517, p. 725–730, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8050947/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

TOLEDO, Françoise Wilhelmi de; GRUNDLER, Franziska; SIRTORI, Cesare R.; et al. Unravelling the health effects of fasting: a long road from obesity treatment to healthy life span increase and improved cognition. **Annals of Medicine**, v. 52, n. 5, p. 147–161, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7877980/>. Acesso em: 5 mar. 2023.

VARADY, Krista A.; CIENFUEGOS, Sofia; EZPELETA, Mark; et al. Cardiometabolic Benefits of Intermittent Fasting. **Annual Review of Nutrition**, v. 41, n. 1, p. 333–361, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34633860/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

VARADY, Krista A.; CIENFUEGOS, Sofia; EZPELETA, Mark; et al. Clinical application of intermittent fasting for weight loss: progress and future directions. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 18, n. 5, p. 309–321, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35194176/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

VENETSANOPOULOU, Aliki I.; VOULGARI, Paraskevi V.; DROSOS, Alexandros A. Fasting mimicking diets: A literature review of their impact on inflammatory arthritis. **Mediterranean Journal of Rheumatology**, v. 30, n. 4, p. 201, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32467870/>. Acesso em: 29 jan. 2023.

VITOR-DE-LIMA, Suenia Marcele; OLIVEIRA, Maria Luísa Figueira de; TAVARES, Izaura de Souza; et al. Maternal voluntary physical exercise in the adult rat: evidence of exercise-associated differences in maternal food intake, and in brain effects on the progeny. **Nutritional Neuroscience**, p. 1–12, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36633889/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

WAHL, Devin; GOKARN, Rahul; MITCHELL, Sarah J.; et al. Central nervous system SIRT1 expression is required for cued and contextual fear conditioning memory responses in aging mice. **Nutrition and Healthy Aging**, v. 5, n. 2, p. 111–117, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31763496/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

WANG, Xue; LI, Qifei; LIU, Yan; et al. Intermittent fasting versus continuous energy-restricted diet for patients with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome for glycemic control: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 179, p. 109003, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34391831/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

WEI, Xueting; COOPER, Ashley; LEE, Irene; et al. Intermittent Energy Restriction for Weight Loss: A Systematic Review of Cardiometabolic, Inflammatory and Appetite Outcomes. **Biological Research For Nursing**, v. 24, n. 3, p. 410–428, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35531785/>. Acesso em: 20 fev. 2023.

WELTON, Stephanie; MINTY, Robert; O'DRISCOLL, Teresa; et al. Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. **Canadian family physician**, v. 66, n. 2, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32060194/>. Acesso em: 28 jan. 2023.

WILKINSON, Michael J.; MANOOGIAN, Emily N.C.; ZADOURIAN, Adena; et al. Ten-Hour Time-Restricted Eating Reduces Weight, Blood Pressure, and Atherogenic Lipids in Patients with Metabolic Syndrome. **Cell Metabolism**, v. 31, n. 1, p. 92-104, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31813824/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

WITJAKSONO, Fiastuti; PRAFIANTINI, Erfi; RAHMAWATI, Anni. Effect of intermittent fasting 5:2 on body composition and nutritional intake among employees with obesity in Jakarta: a randomized clinical trial. **BMC Research Notes**, v. 15, n. 1, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36224641/>. Acesso em: 31 jan. 2023.

WOLF, Sebastian; SEIFFER, Britta; ZEIBIG, Johanna-Marie; et al. Is Physical Activity Associated with Less Depression and Anxiety During the COVID-19 Pandemic? A Rapid Systematic Review. **Sports Medicine**, v. 51, n. 8, p. 1771–1783, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8060908/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

WU, CHONGYUN; YANG, LUODAN; LI, YONG; et al. Effects of Exercise Training on Anxious–Depressive-like Behavior in Alzheimer Rat. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 52, n. 7, p. 1456–1469, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32028456/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

WU, Shaw-wen; XU, Baoji. Rapid and Lasting Effects of Activating BDNF-Expressing PVH Neurons on Energy Balance. **Eneuro**, v. 9, n. 2, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35338053/>. Acesso em: 8 mar. 2023.

YANG, Chao; MA, Qianying; ZHANG, Hongyu; et al. Ten days of complete fasting affected subjective sensations but not cognitive abilities in healthy adults. **European Journal of Nutrition**, v. 60, n. 5, p. 2747–2758, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33389084/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

YANG, Qinghu; SONG, Da; XIE, Zhen; et al. Optogenetic stimulation of CA3 pyramidal neurons restores synaptic deficits to improve spatial short-term memory in APP/PS1 mice. **Progress in Neurobiology**, v. 209, p. 102209, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34953962/>. Acesso em: 4 fev. 2023.

YANG, Shu-Chuan; SHIEH, Kun-Ruey. Formosan wood mice (Apodemus semotus) exhibit more exploratory behaviors and central dopaminergic activities than C57BL/6 mice in the open field test. **Chinese Journal of Physiology**, v. 63, n. 1, p. 27, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32056984/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

YOSHIZAKI, Kaichi; ASAI, Masato; HARA, Taichi. High-Fat Diet Enhances Working Memory in the Y-Maze Test in Male C57BL/6J Mice with Less Anxiety in the Elevated Plus Maze Test. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 2036, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32659954/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

ZANG, Bo-Ying; HE, Li-Xia; XUE, Ling. Intermittent Fasting: Potential Bridge of Obesity and Diabetes to Health? **Nutrients**, v. 14, n. 5, p. 981, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35267959/>. Acesso em: 2 fev. 2023.

ZHANG, Guang-Wei; SHEN, Li; TAO, Can; et al. Medial preoptic area antagonistically mediates stress-induced anxiety and parental behavior. **Nature Neuroscience**, v. 24, n. 4, p. 516–528, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33526942/>. Acesso em: 14 dez. 2022.

ZHANG, Jingzhu; ZHAN, Zhipeng; LI, Xinhui; et al. Intermittent Fasting Protects against Alzheimer's Disease Possible through Restoring Aquaporin-4 Polarity. Frontiers in Molecular **Neuroscience**, v. 10, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5712566/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

ZHANG, Wenjie; ZHANG, Yueling; ZHENG, Yuanjia; et al. Progress in Research on Brain Development and Function of Mice During Weaning. **Current Protein & Peptide Science**, v. 20, n. 7, p. 705–712, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30678620/>. Acesso em: 10 fev. 2023.

ZHANG, Xin; ZOU, Qianhui; ZHAO, Beita; et al. Effects of alternate-day fasting, time-restricted fasting and intermittent energy restriction DSS-induced on colitis and behavioral disorders. **Redox Biology**, v. 32, p. 101535, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32305005/>. Acesso em: 9 jan. 2023.

ZHOU, Feini; JIANG, Hao; KONG, Ning; et al. Electroacupuncture Attenuated Anxiety and Depression-Like Behavior via Inhibition of Hippocampal Inflammatory Response and Metabolic Disorders in TNBS-Induced IBD Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1–19, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35087621/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

ZHVANIA, Mzia; JAPARIDZE, Nadezhda; TIZABI, Yousef; et al. Anxiety and ultrastructural consequences of chronic mild stress in rats. **Neuroscience Letters**, v. 771, p. 136390, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34896437/>. Acesso em: 6 jan. 2023.

ZOUHAL, Hassane; BAGHERI, Reza; TRIKI, Raoua; et al. Effects of Ramadan Intermittent Fasting on Gut Hormones and Body Composition in Males with Obesity. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 15, p. 5600, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32756479/>. Acesso em: 29 jan. 2023.

ANEXO A - Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UFPE (Processo n°: 006/2021)

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 02 de julho de 2021

Ofício nº 38/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Prof. Rubem Carlos Araújo Guedes
Centro de Ciencias da Saúde
Deparatamento de Nutrição
processo **nº006/2021**

Certificamos que a proposta intitulada "**Jejum intermitente e exercício físico: correlação dos efeitos sobre a microbiota intestinal, o comportamento de ansiedade e a depressão alastrante cortical em ratos".** registrado com o **nº006/2021** sob a responsabilidade da **Prof. Rubem Carlos Araújo Guedes** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/06/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	02/08/2021 a 27/09/2023
Espécie/linhagem/raça	*Rattus novergicus albinus*, linhagem *Wistar (Ratos heterogenico)*
Nº de animais	92
Peso/Idade	filhotes: idade 80-90 dias, 250-300g; adultos: idade 120 dias, 320-370g.
Sexo	(44) machos + (48) fêmeas
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Nutrição

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691