



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

AMANDA FERRAZ BRAZ

**JEJUM INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO: EFEITOS SOBRE O
COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE E DE MEMÓRIA E A DEPRESSÃO
ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS**

RECIFE

2024

AMANDA FERRAZ BRAZ

**JEJUM INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO: EFEITOS SOBRE O
COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE E DE MEMÓRIA E A DEPRESSÃO
ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, na área de concentração Bases Experimentais da Nutrição, como requisito para obtenção do título de Doutora em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Leonardo Torres-Leal

Linha de Pesquisa: Fisiologia e Bioquímica da Nutrição, da Atividade Física e da Imunidade

RECIFE

2024

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Kyria Macedo, CRB4 1693

B827j	Braz, Amanda Ferraz Jejum intermitente e exercício físico: efeitos sobre o comportamento de ansiedade e de memória e a depressão alastrante cortical em ratos / Amanda Ferraz Braz. – 2024. 106 f. : il., tab. Orientador: Rubem Carlos Araújo Guedes. Coorientador: Francisco Leonardo Torres Leal. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2024. Inclui referências, apêndice e anexo. 1. Jejum Intermitente. 2. Exercício Físico. 3. Comportamento. 4. Depressão Alastrante da Atividade Elétrica Cortical. 5. Sistema Nervoso Central. I. Guedes, Rubem Carlos Araújo (orientador). II. Leal, Francisco Leonardo Torres (coorientador). III. Título. 612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2024 - 131)
-------	--

AMANDA FERRAZ BRAZ

**JEJUM INTERMITENTE E EXERCÍCIO FÍSICO: EFEITOS SOBRE O
COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE E DE MEMÓRIA E A DEPRESSÃO
ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco, na área de
concentração Bases Experimentais da Nutrição, como
requisito para obtenção do título de Doutora em Nutrição.

Aprovada em: 29/02/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva Castro – PPGN – UFPE
(Examinador Interno e Presidente)

Prof^a. Dr^a. Carol Virgínia Góis Leandro – PPGN – UFPE
(Examinador Interno ao Programa)

Prof^a. Dr^a. Tassia Karin Ferreira Borba – DNut – UFPE
(Examinador Externo ao Programa)

Prof. Dr. Francisco Leonardo Torres-Leal – DBFis – UFPI
(Examinador Externo à Instituição)

Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes – DBFis – UFPI
(Examinador Externo à Instituição)

Dedico à Deus e aos meus pais, por tudo que representam para mim e aos ratinhos, que doaram suas vidas para a concretização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida e por ter permitido que eu chegasse até aqui. Não posso O ver, nem O tocar, mas O sinto fortemente todos os dias, guiando e iluminando meus caminhos. Infinitas graças por ter me concedido força e coragem para a concretização de mais uma etapa. Agradeço ainda à minha mãe do céu, a mãe de todas as mães, Maria, obrigada por me ter sempre debaixo de Vosso manto sagrado.

Aos meus pais, Fátima e Lourinaldo, por todo esforço e dedicação para me proporcionar a melhor educação possível. Obrigada por me transmitirem tanto amor e zelo e por nunca medirem forças para que eu conseguisse realizar meus sonhos. Jamais poderei retribuir à altura, mas tento sempre lhes encher de orgulho.

Ao meu orientador, professor Rubem, primeiramente, por me aceitar e acolher em seu grupo de alunos, antes mesmo de me conhecer. Obrigada pela confiança e por compreender as particularidades da minha jornada. Gratidão por todo seu auxílio e contribuição no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu co-orientador, professor Leonardo, que mais uma vez demonstrou quão grandioso é seu coração. Obrigada por entender quando eu precisei partir, mais ainda quando precisei voltar. Agradeço pelos ensinamentos, confiança, amizade e palavras de incentivo. Por ser um exemplo de professor, profissional e ser humano.

A todos os membros da banca, por aceitarem o convite de participar da avaliação desta tese e pelas valiosas contribuições durante as etapas de qualificação e defesa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pelos conhecimentos compartilhados.

A todos os meus professores, do maternal ao doutorado, não só pelos ensinamentos de fórmulas e regras, mas pelas lições para vida. Vocês são minha verdadeira inspiração e deixaram marcas eternas em meu caminho.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), por minha formação no Doutorado.

Aos funcionários do departamento de Nutrição da UFPE por toda assistência, atenção e carinho diários.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus parceiros de laboratório, em especial, às queridas Dominique Costa, Amanda Araújo e Luísa Figueira, por toda disponibilidade e colaboração. Vocês foram partes imprescindíveis desse trabalho e não me deixaram desistir. Essa conquista também é de vocês.

À minha colega de turma, Merielly Santana, por ter sido tão companheira ao longo desses quatro anos. Cada êxito era melhor e cada dificuldade ficava mais leve por tê-la ao meu lado para compartilhar.

Aos meus amigos e amigas da vida, por sempre estarem ao meu lado, como uma segunda família.

A todos, meus sinceros e carinhosos agradecimentos!

Não fui eu quem ordenou a você
Que seja forte e corajoso?
Não tenha medo
E não se sinta acovardado,
Porque Javé seu Deus,
Vai estar com você
Por onde você andar
(BÍBLIA, Js, 1, 9, 2013, p. 242).

RESUMO

Esta tese investigou os efeitos do jejum intermitente (JI), exercício físico (EF) e sua associação em parâmetros comportamentais de ansiedade e memória e na depressão alastrante cortical (DAC) em ratos. Para isso, ratos machos e fêmeas *Wistar* (n = 64, 30 machos) foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: a) controle (n = 14; 6 machos); b) jejum intermitente (n = 20; 10 machos); c) exercício físico (n = 15; 7 machos) e d) jejum + exercício (n = 15; 7 machos). O JI aconteceu por 24 ou 16 horas e o EF em esteira durante 40 minutos, ambos em três dias não consecutivos da semana por 8 semanas. Foram avaliados parâmetros de peso corporal, consumo de ração, medidas murinométricas, peso do cérebro e fígado, glicose e beta-hidroxibutirato séricos. Além disso, os animais foram submetidos a testes comportamentais de ansiedade no labirinto em cruz elevado (LCE) e no campo aberto (CA), e testes de memória espacial e de forma de objetos, bem como ao registro eletrofisiológico da DAC. O JI reduziu o número de entradas e o tempo de permanência no centro do CA e nos braços abertos do LCE. Reduziu também o índice de discriminação nos testes de memória e aumentou a velocidade da DAC. Por outro lado, o EF aumentou o número de entradas no centro do CA e desacelerou a propagação da DAC. É proposto que o JI, quando iniciado em ratos jovens, piora os comportamentos ligados à ansiedade e memória e acelera a DAC, enquanto que o EF, sozinho ou combinado, parece reverter os efeitos negativos do JI. Investigações futuras são necessárias para aprofundar a relevância dessas intervenções na saúde, principalmente em idades mais jovens.

Palavras-chave: jejum periódico; atividade física; comportamento; sistema nervoso central; atividade elétrica cerebral.

ABSTRACT

This thesis aimed to investigate the effects of intermittent fasting (IF), physical exercise (PE) and their association on behavioral parameters of anxiety and memory and cortical spreading depression (CSD) propagation in rats. Male and female Wistar rats (n = 64; 30 males) were randomly distributed into 4 groups: a) control (n = 14; 6 males); b) intermittent fasting (n = 20; 10 males); c) physical exercise (n = 15; 7 males) and d) fasting + exercise (n = 15; 7 males). IF took place for 24 or 16 hours and PE on the treadmill for 40 minutes, both on three non-consecutive days of the week for 8 weeks. Parameters of body weight, food consumption, murinometric measurements, brain and liver weight, serum glucose and beta-hydroxybutyrate were evaluated. In addition, the animals were subjected to behavioral anxiety tests in the elevated plus maze (EPM) and open field (OF), and object recognition memory (spatial position and object shape tests, as well as electrophysiological recording of CSD. IF reduced the number of entries and the time of stay in the center and in the open arms of the OF and EPM. In addition, IF reduced the discrimination index in memory tests and increased the speed of CSD. On the other hand, PE increased the number of entries into the center of the OF and slowed down the CSD propagation. It is proposed that IF, when initiated in young rats, worsens behaviors linked to anxiety and memory and accelerates CSD, while PE, alone or combined with IF, appears to reverse the negative effects of IF. Future investigations are needed to deepen the relevance of these interventions for health, especially at younger ages.

Keywords: periodic fasting; physical activity; behavior; central nervous system; brain electrical activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Efeitos neuroprotetores do exercício físico (EF).	27
Figura 2 -	Ciclo de etapas da depressão alastrante cortical (DAC).	31
Figura 3 -	Desenho experimental de acordo com o tempo em semanas decorrido do estudo.	39
Figura 4 -	Esquema representativo do aparelho campo aberto (CA).	44
Figura 5 -	Esquema representativo do labirinto em cruz elevado (LCE).	45
Figura 6 -	Representação dos testes comportamentais sugestivos de memória.	46
Figura 7 -	Esquema do registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical (DAC).	48
Figura 8 -	Peso corporal e consumo de ração relativo nas 8 semanas de experimento.	52
Figura 9 -	Efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre a atividade comportamental de ansiedade no teste do campo aberto.	55
Figura 10 -	Efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre a atividade comportamental de ansiedade no teste do labirinto em cruz elevado.	57
Figura 11 -	Efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre a atividade comportamental de memória nos testes de reconhecimento de objetos.	59
Figura 12 -	Representações qualitativas e quantitativas dos registros eletrofisiológicos da DAC.	61
Figura 13 -	Medidas murinométricas após 8 semanas de jejum e exercício.	63
Figura 14 -	Peso relativo do cérebro e do fígado após 8 semanas de jejum e exercício.	65
Figura 15 -	Níveis séricos de glicose e β -OHB (beta-hidroxibutirato) após 8 semanas de jejum intermitente e exercício físico.	66

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Diferentes protocolos de jejum intermitente.	20
Quadro 2 -	Resumo dos estudos com aplicação de jejum intermitente nos distúrbios do cérebro em animais e humanos.	22
Quadro 3 -	Principais características dos aspectos mais relevantes da DAC.	33
Quadro 4 -	Condições de interesse clínico que aumentam (facilitam) ou diminuem (dificultam) a velocidade de propagação da DAC.	35
Quadro 5 -	Cálculo do consumo médio de ração por animal.	40
Quadro 6 -	Determinação do consumo de ração relativo.	40
Quadro 7 -	Fórmula para o cálculo do índice de discriminação.	47
Quadro 8 -	Fórmulas para calcular o IMC e o índice de Lee.	49
Quadro 9 -	Determinação do peso relativo dos tecidos.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Peso corporal dos machos e fêmeas de cada grupo ao longo das 8 semanas de experimento.	53
Tabela 2 -	Consumo de ração relativo dos machos e fêmeas de cada grupo ao longo das 8 semanas de experimento.	54
Tabela 3 -	Representação dos parâmetros do teste do campo aberto – exploração para machos e fêmeas.	56
Tabela 4 -	Representação dos parâmetros do teste do labirinto em cruz elevado para machos e fêmeas.	58
Tabela 5 -	Valores de índice de discriminação dos testes de memória de reconhecimento de objetos de machos e fêmeas.	59
Tabela 6 -	Representação quantitativa dos parâmetros da DAC em machos e fêmeas de cada grupo experimental.	62
Tabela 7 -	Medidas murinométricas de machos e fêmeas de cada grupo experimental.	64
Tabela 8 -	Valores referentes aos pesos relativos do cérebro e do fígado em machos e fêmeas de cada grupo.	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag-AgCl	Prata-cloreto de prata
AKT	Proteína serina-treonina quinase
ANOVA	Análise de variância
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
β-OHB	Beta-hidroxibutirato
C	Grupo controle
CA	Campo aberto
CC	Comprimento corporal
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CR	Consumo de ração
CRr	Consumo de ração relativo
DAC	Depressão Alastrante Cortical
DPN	Dia pós-natal
ECoG	Eletrocorticograma
EF	Exercício físico
g	Grama
G	Força gravitacional
g/Kg	Grama por quilograma
GSK3	Glicogênio sintase quinase-3
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIIT	Treinamento intervalado de alta intensidade
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
ID	Índice de discriminação
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IMC	Índice de massa corporal
IRS	Substrato do receptor de insulina
JI	Jejum intermitente

JI+EF	Grupo jejum intermitente + exercício físico
KCl	Cloreto de potássio
LAFINNT	Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio
LCE	Labirinto em cruz elevado
m/min	Metro por minuto
m/s	Metro por segundo
mg/Kg	Miligrama por quilograma
min	Minuto
mm/min	Milímetro por minuto
mmol/L	Milimol por litro
mV	Milivolt
n	número
NaCl	Cloreto de sódio
PAtec	Peso absoluto dos tecidos
PC	Peso corporal
PCf	Peso corporal final
PFA	paraformaldeído
pH	Potencial hidrogeniônico
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
PRtec	Peso relativo dos tecidos
RC	Restrição calórica
RE	Teste de memória de reconhecimento espacial
RO	Teste de memória de reconhecimento de objetos
SNC	Sistema nervoso central
TAB	Tecido adiposo branco
TF	Tempo gasto em posições/objetos familiares
TN	Tempo gasto em posições/objetos novos
TrKB	Receptor de tropomiosina quinase B
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VLV	Variação lenta de voltagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	Efeitos do jejum intermitente no cérebro	19
2.2	Implicações do exercício físico no sistema nervoso central	23
2.3	JI e EF associados a ansiedade e memória	27
2.4	Características gerais da depressão alastrante cortical	30
3	HIPÓTESE	36
4	OBJETIVOS	37
4.1	Geral	37
4.2	Específicos	37
5	METODOLOGIA	38
5.1	Aspectos éticos	38
5.2	Animais	38
5.3	Desenho experimental	38
5.4	Avaliação do peso corporal	39
5.5	Avaliação do consumo de ração	39
5.6	Protocolo de jejum intermitente	40
5.7	Protocolo de exercício físico	41
5.8	Identificação do ciclo estral das ratas	42
5.9	Testes comportamentais	43
5.9.1	Testes comportamentais indicativos de ansiedade	43
5.9.2	Testes comportamentais indicativos de memória	45
5.10	Registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical	47
5.11	Parâmetros murinométricos	48
5.12	Eutanásia dos animais e obtenção dos tecidos	49
5.13	Coleta de sangue e análises bioquímicas	49
5.14	Análise estatística	50
6	RESULTADOS	51
6.1	Peso corporal e consumo de ração	51
6.2	Atividades comportamentais	54
6.2.1	Comportamento indicativo de ansiedade	54
6.2.2	Comportamento indicativo de memória	58

6.3	Parâmetros da depressão alastrante cortical	59
6.4	Medidas murinométricas	62
6.5	Peso relativo do cérebro e fígado	64
6.6	Concentrações séricas de glicose e β-hidroxibutirato	65
6.7	Artigo publicado	66
7	DISCUSSÃO	67
8	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	74
	APÊNDICE A - Artigo publicado	93
	ANEXO A - Aprovação do comitê de ética animal	106

1 INTRODUÇÃO

O jejum intermitente (JI) consiste de uma estratégia alimentar que envolve períodos de ingestão calórica severamente restrita ou inexistente, alternados com intervalos de consumo ilimitado (LIU, B. et al., 2019). Baseia-se em uma prática antiga, podendo ser voluntário ou obrigatório, utilizado para fins religiosos e de melhoria da saúde e que tem se tornado cada vez mais popular em todo o mundo (FARIS et al., 2019). O JI juntamente com a prática regular de exercício físico (EF) conferem resiliência ao induzir efeitos psicológicos e fisiológicos positivos, contribuindo com a saúde mental e física (SILVERMAN; DEUSTER, 2014).

Ciclos prolongados de JI e EF promovem uma “troca metabólica”, na qual o organismo, em geral, e o cérebro, em especial, utilizam, preferencialmente, como fonte de energia, ácidos graxos e cetonas (GRAJOWER; HORNE, 2019). Isso garante que as altas demandas energéticas do cérebro sejam supridas, mesmo em concentrações limitadas de glicose, mas também, aciona uma cascata de sinalizações que modulam proteínas neurotróficas importantes para os processos de sobrevivência e plasticidade neuronal (GIBBONS et al., 2023). Assim, JI e EF podem estar relacionados a efeitos neuroprotetores, como a melhora da função cognitiva, da aprendizagem e da retenção de memória (CUNNANE et al., 2020).

Alguns mecanismos são sugeridos estarem envolvidos nos efeitos benéficos do JI e EF sobre o cérebro, a citar: angiogênese, ação antioxidante, anti-inflamatória, formação de corpos cetônicos e de neutrofinas (RUBOVITCH et al., 2019; SUJKOWSKI et al., 2022; NASARUDDIN; HALIM; KAMARUZZAMAN, 2020). Demonstrou-se que o exercício em esteira, por exemplo, aumenta o número de sinapses, de espinhas dendríticas e do comprimento do axônio, que são fatores envolvidos no fortalecimento da plasticidade sináptica (MU et al., 2022). Além disso, o EF em animais favorece a neurogênese, aumenta a sobrevivência neuronal no hipocampo (VAN PRAAG et al., 2005) e ativa o fluxo sanguíneo no cerebelo e córtex (SWAIN et al., 2003).

O JI, por sua vez, foi capaz de melhorar a neurogênese do giro denteado, favorecendo a memória de curta duração e consolidando memórias de longo prazo em ratos (DIAS et al., 2021). Diferentes protocolos de JI atenuaram o comportamento semelhante à ansiedade em camundongos saudáveis e com colite, além de aliviarem a neuroinflamação e o estresse oxidativo (ZHANG et al., 2020). Contudo, em uma

meta-análise realizada com humanos, foi demonstrado que o JI não modificou as características relacionadas à ansiedade ou humor (FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2022), o que demonstra que os dados sobre os efeitos comportamentais do JI ainda são de certo modo controversos, demandando mais estudos a respeito.

Nesse contexto, destaca-se como um importante instrumento, para o estudo e compreensão da atividade eletrofisiológica do cérebro, o registro do fenômeno da depressão alastrante cortical (DAC). Esta pode ser entendida como uma onda de redução (depressão) da atividade neuronal espontânea, desencadeada por um estímulo elétrico, mecânico ou químico em determinado ponto do cérebro. É caracterizada por ser uma resposta reversível e que se propaga lentamente de forma concêntrica para regiões corticais mais remotas, em relação ao ponto estimulado (GONDIM-SILVA et al., 2019; MCCOMAS; UPTON, 2015).

A DAC tem sido associada a distúrbios de excitabilidade cerebral e suas enfermidades subsequentes (esclerose múltipla, epilepsia, traumatismo craniano e enxaqueca com aura). Uma vez que a atividade elétrica do cérebro controla suas principais funções, o entendimento desse fenômeno representa um instrumento importante para a compreensão do funcionamento cerebral na saúde e na doença (FRANCISCO; GUEDES, 2018; GUEDES et al., 2017; GUEDES, 2011). Dessa forma, evidencia-se a necessidade de investigar o impacto do JI e do EF sobre a atividade elétrica do SNC, especialmente por meio do registro da DAC, uma vez que diversos fatores ambientais podem consideravelmente interferir nessa resposta (ROCHA-DE-MELO et al., 2006).

Uma série de variáveis nutricionais e não-nutricionais de interesse clínico já foram identificadas como facilitadoras ou, alternativamente, obstáculos para a propagação da DAC. Contudo, identifica-se uma lacuna acerca das implicações da combinação entre a prática do jejum intermitente e do exercício físico na DAC, sobretudo em idades mais jovens. Nesse sentido, faz-se experimentalmente importante investigar tais efeitos sobre os parâmetros relacionados ao comportamento ansioso, à retenção de informações (memória) e à atividade elétrica cerebral em ratos jovens.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Efeitos do jejum intermitente no cérebro

Historicamente, o jejum foi utilizado como método de cura para doenças e fortemente defendido por diversas figuras intelectuais. A seguir, alguns destes nomes e o que escreveram sobre o assunto. Hipócrates, o pai da medicina moderna: “Comer quando você está doente é alimentar sua doença”. Plutarco, um antigo escritor grego: “Em vez de usar remédios, é melhor jejuar hoje”. Philip Paracelsus, o fundador da toxicologia: “O jejum é o maior remédio, o médico interior”. Benjamin Franklin, um dos fundadores dos Estados Unidos: “O melhor de todos os remédios é o repouso e o jejum” (VASIM; MAJEED; DEBOER, 2022; KERNDT et al., 1982). Afinal de contas, o jejum é amplamente praticado com diversas finalidades até os dias de hoje.

O jejum intermitente (JI) é uma estratégia alimentar em que períodos de rigorosa redução energética ou jejum são intercalados por consumo ilimitado de alimentos (TEMPLEMAN et al., 2018). Semelhante à restrição calórica (RC), o JI também tem como base o princípio da restrição da ingestão de alimentos, sendo este focado em “quando” comer e não no “quanto” ou “o que” comer, que é mais comum na RC (DONG et al., 2020; YOON; SONG, 2019). A adoção dessas estratégias alimentares associadas à prática regular de atividade física faz parte dos esforços na defesa de um estilo de vida mais saudável e, conseqüentemente, maior prevenção de doenças (ZUBRZYCKI et al., 2018; VERONESE; REGINSTER, 2019).

Nos últimos anos, o JI tem sido bastante estudado por contribuir para a perda de peso (JEONG et al., 2016; OOI; PAK, 2019; STOCKMAN et al., 2018) e potencialmente atuar como coadjuvante no tratamento da obesidade (BYRNE et al., 2018; JOSLIN; BELL; SWOAP, 2017). Ademais, consiste em uma prática milenar, voluntária ou obrigatória, utilizada por diversos povos ao redor do mundo para fins religiosos, espirituais, culturais e de melhora da saúde (FARIS et al., 2019; GOLBIDI et al., 2017; MANCHISHI et al., 2018; SANTOS; MACEDO, 2018). Nesse contexto, o termo jejum intermitente abrange vários protocolos de restrição alimentar baseados na frequência de consumo, que já foram descritos por diferentes autores (BROCCHI et al., 2022; GUDDEN; VASQUEZ; BLOEMENDAAL, 2021; DONG et al., 2020; WELTON et al., 2020; GRAJOWER; HORNE, 2019; YOON; SONG, 2019) e os mais comuns estão sumarizados no **Quadro 1**.

Quadro 1 - Diferentes protocolos de jejum intermitente.

Protocolo	Descrição
Alimentação com tempo limitado	As refeições são feitas por um período restrito de 6 ou 8 horas por dia seguido de 16 ou 18 horas de jejum.
Jejum em dias alternados	Jejum de 24 horas seguido de 24 horas de alimentação regular.
Dieta 5:2 ou jejum periódico	Consumo bastante restrito ou ausente em 2 dias não consecutivos da semana e alimentação livre nos outros 5 dias.
Dieta que imita o jejum (variação do protocolo 5:2)	Baixa ingestão calórica por 5 dias consecutivos praticada uma vez por mês.
Ramadã	Jejum de propósito religioso com abstenção de alimentos e líquidos do amanhecer até o pôr do sol durante o mês sagrado.

Diversos estudos apontam os benefícios do JI na regulação de parâmetros metabólicos, no controle de doenças crônicas, no aumento da longevidade e na recuperação da saúde (BAGHERNIYA et al., 2018; GANESAN; HABBOUSH; SULTAN, 2018; RYNDERS et al., 2019). Uma meta-análise (MIRMIRAN et al., 2019) envolvendo estudos com humanos demonstrou melhora nos indicadores lipídicos e lipoproteicos, especialmente o HDL, após o Ramadã. O JI também favoreceu o gasto energético, promoveu o *browning* do tecido adiposo branco (TAB) (LIU, B. et al., 2019) e melhorou marcadores de envelhecimento (STEKOVIC et al., 2019). Em modelos de animais obesos, o jejum em dias alternados assegurou perda de peso com manutenção de massa magra (GOTTHARDT et al., 2016); melhorou a tolerância à glicose e baixou os níveis de insulina circulante (JOSLIN; BELL; SWOAP, 2017), bem como retardou o aparecimento de desequilíbrios neoplásicos (CHEN et al., 2016; XIE et al., 2017).

Independente destes resultados positivos, os dados acerca do papel do JI no metabolismo permanecem controversos e os mecanismos envolvidos ainda não foram totalmente elucidados (SHIN et al., 2018; TEMPLEMAN et al., 2018). Entretanto,

algumas vias são propostas e estão sob investigação científica para explicar a relação entre o JI e a promoção da saúde, a citar: autofagia, resistência ao estresse, redução das citocinas inflamatórias, produção sistêmica de fatores neurotróficos, microbiota intestinal e mudanças no estilo de vida (BAGHERNIYA et al., 2018; BAHAMMAM; ALMENEESSIER, 2020; LESSAN; ALI, 2019; PATTERSON; SEARS, 2017).

As alterações decorrentes do JI também podem promover efeitos no cérebro. Após longos períodos de jejum, o organismo inicia uma “troca” metabólica na utilização de glicose para ácidos graxos, os quais são convertidos a corpos cetônicos, que atuam como sinalizadores e reguladores de fatores de transcrição em neurônios (GRAJOWER; HORNE, 2019). As vias anabólicas são inibidas (por exemplo, a síntese proteica) e os processos catabólicos favorecidos, aumentando a resistência ao estresse, reparo tecidual, reciclagem de moléculas danificadas (autofagia), melhorando a função mitocondrial (VASIM; MAJEED; DEBOER, 2022). Além disso, o JI enriquece a diversidade da microbiota intestinal, que por meio do eixo microbiota-intestino-cérebro, leva a alterações anatômicas e funcionais no cérebro, que podem melhorar o funcionamento cognitivo e a progressão dos distúrbios relacionados (GUDDEN; VASQUEZ; BLOEMENDAAL, 2021).

O JI tem sido associado à melhora da disfunção e degeneração celular em modelos animais de doenças neurológicas (MATTSON et al., 2018; ZHOU et al., 2019), uma vez que o jejum parece agir como um estressor metabólico que pré-condiciona os neurônios para a expressão de diversos fatores neuroprotetores importantes (FANN et al., 2017). Embora esses mecanismos não estejam totalmente estabelecidos, o JI é capaz de aumentar a resistência das células e combater a inflamação, o estresse oxidativo e a excitotoxicidade (MATTSON et al., 2018; SHOJAIE; GHANBARI; SHOJAIE, 2017). Algumas evidências pré-clínicas e clínicas sobre os efeitos do JI nos distúrbios do cérebro estão resumidas no **Quadro 2**.

Quadro 2 - Resumo dos estudos com aplicação de jejum intermitente nos distúrbios do cérebro em animais e humanos.

Referência	Distúrbios	Espécie	Tipo de JI	Duração	Achados
ZHOU et al., 2019	Doença de Parkinson	Roedores	Jejum que imita a dieta	3 ciclos de 3 dias	Maior retenção de função motora e menor perda neuronal dopaminérgica na substância negra
LIU, Y. et al., 2019	Alzheimer	Roedores	Jejum em dias alternados	1 mês	Redução da hiperexcitabilidade e recuperação da plasticidade sináptica no hipocampo
CIGNARELLA et al., 2018	Esclerose múltipla	Roedores	Jejum em dias alternados	4 semanas	Redução da inflamação, desmielinização e do dano axônico
CHOI et al., 2016	Esclerose múltipla	Humanos	Jejum que imita a dieta	1 ciclo de 7 dias	Autorrelatos reduzidos de incapacidade por esclerose múltipla
MANZANERO et al., 2014	Derrame isquêmico	Roedores	Alimentação com tempo limitado	3 meses	Aumento da neurogênese basal e atenuação da proliferação celular irregular
HARTMAN; RUBENSTEIN; KOSSOFF, 2013	Epilepsia	Humanos	Dieta 5:2	2 meses	Melhor controle de convulsões em crianças
EDDAHBY; KADRI; MOUSSAOUI, 2014	Transtorno bipolar	Humanos	Ramadã	30 dias	Recaída no transtorno bipolar
FAWZI et al., 2015	Espectro da esquizofrenia	Humanos	Ramadã	30 dias	Piora dos sintomas de esquizofrenia

Como visto acima, os resultados são conflitantes e ainda não está claro se os benefícios atribuídos ao JI sobre o cérebro, observados na maioria dos estudos com animais, são também aplicados no contexto clínico. Visto que poucas investigações com humanos demonstraram os efeitos positivos do JI, e este ainda não foi totalmente explorado em termos de seu efeito a longo prazo sobre o funcionamento cerebral (ALKURD et al., 2024). Buscar elucidar essas questões se faz necessário, uma vez que ainda não existem terapias eficazes para diversas doenças que atingem o sistema nervoso central (SNC). Embora o objetivo principal desta tese não esteja relacionado às condições patológicas, a DAC, por ser um fenômeno eletrofisiológico que se associa com a excitabilidade cerebral, possui alguns pontos semelhantes aos quadros clínicos das referidas doenças, sendo, então, interessante citar alguns estudos que avaliem a relação entre o JI e os distúrbios do cérebro.

2.2 Implicações do exercício físico no sistema nervoso central

Geralmente, os termos “atividade” e “exercício” físico são utilizados como sinônimos, entretanto, mesmo com diversos elementos em comum, descrevem conceitos distintos. Atividade física refere-se a qualquer movimento corporal produzido por meio da musculatura esquelética que resulta em gasto energético. Ademais, representa um fenômeno complexo que envolve atividades livres como: caminhar, correr, pedalar, dançar, subir escadas, realizar afazeres domésticos etc. (CARVALHO et al., 2021). Exercício físico (EF) corresponde a uma subcategoria de atividade física, definido como um conjunto de movimentos planejados, estruturados, repetitivos e com objetivos determinados, por exemplo: manter ou melhorar a aptidão física, o desempenho ou a saúde (MATTOS et al., 2020; CASPERSEN; POWELL; CHRISTENSON, 1985).

Dentre os tipos de exercício físico, pode-se destacar duas categorias básicas: aeróbicos e anaeróbicos, que são diferenciados pelo metabolismo energético utilizado preferencialmente no momento da prática dos movimentos. No exercício aeróbico, o oxigênio é a fonte para a utilização dos substratos, que produzirão a energia necessária para os músculos em atividade. É um exercício contínuo, de longa duração, de baixa/moderada intensidade e estimula os sistemas cardiorrespiratório, vascular e metabólico. São exemplos desse tipo: corrida, ciclismo e natação (DOMICIANO; ARAÚJO; MACHADO, 2010). O exercício anaeróbico é definido como

um exercício de força, de alta intensidade e curta duração, independente de oxigênio para o uso de energia, no qual a fadiga muscular surge mais rapidamente devido ao acúmulo de ácido láctico. Como exemplo pode-se citar, o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) e a musculação (PATEL et al., 2017).

Para o estudo das repercussões fisiológicas do EF em modelos animais, é possível utilizar dois tipos de protocolos: voluntário e forçado (KREGEL et al., 2006). O EF voluntário permite que o animal corra livremente em uma roda, sem alterar o ritmo circadiano, em um ambiente menos estressante, com menor interferência do pesquisador e sem estímulos aversivos que forcem o movimento (GOH; LADIGES, 2016). Esse protocolo é semelhante ao padrão natural realizado pelos humanos e tem sido utilizado para estudar os efeitos sobre o comportamento e as respostas adaptativas ao exercício (MANZANARES, BRITO-DA-SILVA, GANDRA, 2019). O EF forçado é bastante aplicado nas pesquisas, uma vez que permite a padronização de variáveis como intensidade, frequência e duração. Os mais usados incluem: subir escada, corrida em esteira e natação em tanques (SEGABINAZI et al., 2019; KREGEL et al., 2006). Uma limitação importante desse modelo consiste na necessidade de os animais realizarem um período de familiarização, com ou sem estímulos aversivos, que pode constituir fonte de estresse (CONTARTEZE et al., 2008).

A literatura científica tem extensivamente demonstrado a correlação positiva entre um estilo de vida fisicamente mais ativo e os benefícios à saúde. A prática de EF consiste em uma estratégia não-farmacológica eficiente para a melhora de diversas doenças crônicas e de alguns indicadores de saúde mental (emoção, personalidade, processo cognitivo e depressão) (SHANG; XIE; YANG, 2021; SCHEFFER; LATINI, 2020). Apesar das inúmeras evidências a respeito da importância do EF, uma parcela grande da população ainda não aderiu à essa prática, o que deixa os profissionais de saúde preocupados com a inatividade física, tornando imprescindível a inclusão dessa ferramenta aos planos de prevenção e tratamento de doenças (COLLADO-MATEO et al., 2021; GRASDALSMOEN et al., 2020).

Em modelos animais e em seres humanos, o EF pode promover adaptações fisiológicas benéficas à saúde, reduzindo o risco de mortalidade por condições patológicas como, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, síndrome metabólica e osteoporose (LARSEN; MATCHKOV, 2016; LEMES et al., 2018; KELLEY et al., 2018). Ademais, o EF promove alterações na fisiologia, imunidade e metabolismo do hospedeiro, que podem modular a função gastrointestinal e prevenir patologias

associadas: câncer de cólon, colelitíase, diverticulite, doença inflamatória intestinal e constipação (YANG et al., 2021; LIRA et al., 2019). Isso ocorre devido à ação do EF em estimular um estado anti-inflamatório, ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), reforçar a função neuromuscular, aumentar a biossíntese mitocondrial e modificar a microbiota intestinal (CERDÁ et al., 2016).

O EF também pode exercer efeito plástico sobre o SNC e, independentemente da modalidade, induz uma ampla gama de benefícios à saúde do cérebro. Após o EF, processos de neurogênese, complexidade dendrítica e vascularização (angiogênese) cerebral encontram-se aumentados, bem como maior produção de fatores neurotróficos, promoção da sobrevivência neuronal e otimização das respostas neuroendócrinas ao estresse (MAHALAKSHMI et al., 2020; ROCHA et al., 2014). Estudos com animais demonstraram que a corrida em esteira inibiu significativamente a apoptose neuronal no hipocampo e induziu angiogênese proporcionando proteção contra isquemia cerebral (TANG et al., 2018; LU et al., 2017). Em humanos, houve melhora no desempenho cognitivo, na memória, redução da ansiedade, depressão, humor negativo e menor atrofia cerebral (ANDREOTTI et al., 2020; ALLARD et al., 2017; CONSORTI; MARCO; SANSEVERO, 2021).

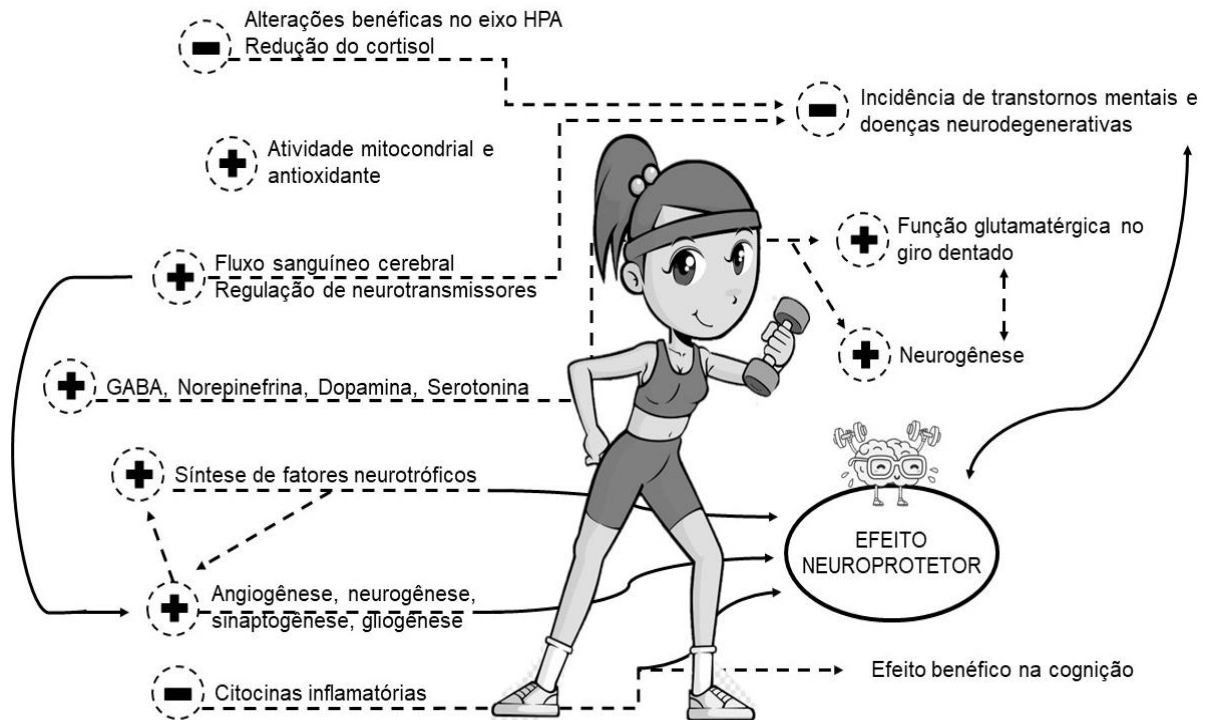
Além do já mencionado, o EF tem influência sobre a estrutura e função do SNC, conferindo benefícios de proteção contra algumas doenças psicológicas e/ou neurológicas incluindo: ansiedade (STUBBS et al., 2017), depressão (KANDOLA et al., 2019), acidente vascular cerebral (BELFIORE et al., 2018), epilepsia (DE ALMEIDA et al., 2017) e doenças de Parkinson (INTZANDT; BECK; SILVEIRA, 2018) e Alzheimer (VERONESE et al., 2018). Algumas vias são propostas para esses efeitos, por exemplo: aumento da neurogênese e do volume hipocampal (VARMA et al., 2015); maiores níveis de proteínas sinápticas (FERNANDES et al., 2016); formação de novas espinhas dendríticas (LEAL, COMPRIDO, DUARTE, 2014); aumento das subunidades dos receptores glutamatérgicos (STAPLES; SOMKUWAR; MANDYAM, 2015) e maior expressão de fatores neurotróficos como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), principalmente (ELDOMIATY et al., 2017).

Uma meta-análise evidenciou a segurança e a eficácia do EF como intervenção terapêutica adicional para a qualidade de vida, cognição e sintomas depressivos (DAUWAN et al., 2019), reforçando a ideia de que o EF não deve ser aplicado de maneira autônoma para lidar com neuropatologias, mas de forma complementar (MAHALAKSHMI et al., 2020). O EF exerce efeitos neuroprotetores

(Figura 1) sobre as células neuronais e função cerebral, os quais ocorrem por meio de alguns mecanismos de sinalização que não foram completamente elucidados até o momento, mas sabe-se que neurotrofinas (ex: BDNF) (MATTSON, 2012), hormônios (ex: irisina) (ZSUGA et al., 2016) e neurotransmissores (ex: dopamina) (LIN; KUO, 2013) são participantes diretos desses mecanismos. Outros aspectos fisiológicos afetados pelo EF incluem: neuroplasticidade, sinalização hipocampal da insulina, autofagia, respostas antioxidantes e anti-inflamatórias, sobrevivência celular e apoptose (MAHALAKSHMI et al., 2020).

O EF eleva as concentrações de serotonina e GABA no SNC, e os baixos níveis desses neurotransmissores estão relacionados aos desequilíbrios de humor (CAO et al., 2022). Logo, o EF tem sido associado às melhoras efetivas nas emoções humanas e nos comportamentos relacionados a ansiedade e depressão em ratos (LAPMANEE et al., 2017; MORGAN et al., 2018). O glutamato também é um importante neurotransmissor que exerce papel fundamental na memória e nas funções cognitivas, mas quando liberado em excesso pode levar a neurotoxicidade, e o EF parece influenciar esses dois paradigmas de atuação do glutamato (MADDOCK et al., 2016; SHEKARCHIAN; PEERI; AZARBAYJANI, 2023).

Figura 1 - Efeitos neuroprotetores do exercício físico (EF).



Os efeitos do EF no cérebro consistem na melhora da saúde cerebral e da cognição por meio da redução de fatores de risco periféricos (indiretos) para declínio cognitivo e diretamente por meio de diversas alterações neuroquímicas. Fonte: Adaptado de Vorkapic-Ferreira et al. (2017).

2.3 JI e EF associados a ansiedade e memória

A alimentação constitui um pilar importante para a promoção de efeitos protetores ou deletérios à memória. Enquanto uma dieta rica em gordura alterou negativamente o desempenho de memória e diminuiu a espessura das camadas celulares do hipocampo, o JI foi capaz de reverter essas repercussões desfavoráveis, indicando um efeito de caráter neuroprotetor (HAZZAA et al., 2020). Park e Shin (2021) observaram que ratos com demência, tiveram o comprometimento da memória suprimido pelo JI, principalmente quando associado à dieta hiperproteica. Outros estudos também demonstraram que o JI foi capaz de aprimorar a memória de curta duração, consolidar as memórias de longo prazo e melhorar o aprendizado em roedores (DIAS et al., 2021; HANJANI et al., 2022).

Diversos estudos têm demonstrado o papel do JI sobre a função cognitiva impactando, principalmente, os transtornos comportamentais de humor e ansiedade. Períodos mais longos de jejum parecem contribuir para que as cetonas liberadas, além

de serem utilizadas como fonte de energia, participem também da regulação dos fatores de transcrição em neurônios, contribuindo para a melhora da biogênese mitocondrial, regeneração de axônios desmielinizados, plasticidade sináptica e resistência ao estresse nas células nervosas (GUDDEN; VASQUEZ; BLOEMENDAAL, 2021; BAHR et al., 2020). Além disso, a supressão de respostas inflamatórias e de estresse oxidativo, e os efeitos mediadores na composição da microbiota intestinal podem ser algumas das vias associadas aos benefícios do JI sobre o comportamento (ZHANG et al., 2020).

A literatura, também, tem se dedicado à análise da associação entre a implementação do jejum e os distúrbios comportamentais. Em camundongos saudáveis e com colite, foi observado a diminuição do comportamento semelhante à ansiedade a partir da instauração de protocolos crônicos de JI (ZHANG et al., 2020; CARTER et al., 2021). Em humanos, o Ramadã proporcionou resultados positivos relacionados ao comportamento de ansiedade, bem como melhor controle psicológico e emocional (AKBARI et al., 2022). Por outro lado, Fernández-Rodríguez et al. (2022) demonstraram por meio de meta-análise, que, de maneira geral, o JI não modificou os escores relacionados à ansiedade ou humor.

A associação entre o protocolo de alimentação por tempo limitado e o EF em esteira durante 4 semanas foi proposta como estratégia importante capaz de produzir efeitos ansiolíticos em ratos (SOARES et al., 2021). Paralelamente, em humanos, o desvio do metabolismo da glicose provocados pelo JI e EF, por meio da destituição da glicose como combustível principal para o cérebro, propicia à cognição um mecanismo neuroprotetor, de modo a cooperar para a potencialização da plasticidade neuronal, da capacidade de memorização e do aprendizado (GIBBONS et al., 2023).

A otimização da qualidade de vida pode ser um dos aspectos positivos relacionados ao EF, visto que a melhora de parâmetros associados à função neuronal favorece o bem-estar (KANDOLA; STUBBS, 2020; IZQUIERDO-ALVENTOSA et al., 2020). O caráter assertivo do EF na saúde mental de crianças e adolescentes durante a pandemia de COVID-19 foi demonstrado por Okuyama et al. (2021), uma vez que a ausência de atividade física regular, decorrente do *lockdown* imposto pela pandemia, contribuiu com a piora da saúde mental desses indivíduos. Em idosos, o EF foi apontado como uma estratégia terapêutica de baixo custo, capaz de produzir efeitos ansiolíticos consideráveis, que auxiliam na melhora da aptidão física e na promoção da saúde (KAZEMINIA et al., 2020). Dessa forma, o EF consiste em uma prática que

deve ser estimulada, não só como parte de um plano terapêutico, mas também como um meio para prevenir transtornos psiquiátricos como depressão e ansiedade (WU et al., 2022).

São propostos alguns mecanismos pelos quais o EF exerce efeitos positivos no comportamento: (1) alterações na microbiota intestinal; (2) participação em processos celulares vitais, como autofagia e (3) neutralização dos efeitos tóxicos de radicais livres e mediadores inflamatórios (ALI; KUNUGI, 2020). O EF melhora a saúde do cólon, aumentando a diversidade da microbiota e o balanço entre as comunidades de bactérias benéficas e patogênicas, o que interfere na função cerebral, cognição e comportamento (GUBERT et al., 2020). Autofagia é um mecanismo de manutenção da homeostase intracelular por meio da degradação de moléculas disfuncionais, e o EF regula a expressão dos fatores de transcrição relacionados aos genes de autofagia (MEJÍAS-PEÑA et al., 2017; CHEN et al., 2023).

Além disso, promove melhoria na transmissão sináptica que reduz os sintomas de ansiedade e potencializa a ativação de vias hepáticas e cerebrais para maior tolerância ao estresse (YAN et al., 2022). O EF aeróbio regular pode também agir na liberação de serotonina, modulando a plasticidade sináptica, melhorando a dor e comportamentos de ansiedade (ZHOU et al., 2021). Exercício compulsório em esteira possibilitou melhoras neurobiológicas e comportamentais em camundongos, observadas a partir do maior número de entradas nos braços abertos no teste do labirinto em cruz elevado, indicando possíveis efeitos ansiolíticos (TAI et al., 2020).

O EF aeróbio proporcionou a reversão de efeitos deletérios à memória aversiva em ratos idosos, diminuindo marcadores inflamatórios e aumentando a acetilação de citocinas anti-inflamatórias (MAHALAKSHMI et al., 2020). De acordo com Sujkowski et al. (2022), o exercício de resistência instiga a liberação de neurotrofinas que estimulam a regeneração de nervos, a angiogênese, a autofagia e a plasticidade neuronal, contribuindo para o retardo do envelhecimento cerebral e preservação da memória. Apesar do EF ser considerado uma importante estratégia para o progresso cognitivo, Sanders et al. (2020) não encontraram resultados significativos na função cognitiva entre idosos sedentários e idosos exercitados, ambos com demência. Já em idosos cognitivamente saudáveis, o EF regular favoreceu a memória de trabalho (XIONG et al., 2021).

O sedentarismo está associado a um mau prognóstico da função cognitiva e ao declínio das aptidões ligadas à memória e aprendizagem. Boujelbane et al. (2022)

observaram que durante o Ramadã, idosos sedentários tiveram piora da aprendizagem associativa. Todavia, o grupo de idosos ativos apresentou melhoria de vários parâmetros cognitivos, demonstrando que a associação entre as práticas de JI e EF pode trazer benefícios à saúde. O EF, ainda, atenuou os efeitos deletérios sobre a regulação em subunidades sinápticas do hipocampo dorsal, função neurocognitiva e memória espacial de longo prazo, decorrentes dos processos neuroinflamatórios pós-cirúrgicos (CHEN et al., 2022; LAI et al., 2021).

Diante do exposto, pode-se observar que o papel do JI e do EF sobre os aspectos comportamentais de humor e de ansiedade, bem como funções cognitivas e de memória parece depender de condições de saúde/doença, idade, espécie etc. Daí a necessidade de mais investigações para o melhor entendimento da importância dessas estratégias no contexto da promoção de saúde e terapia de distúrbios cerebrais.

2.4 Características gerais da depressão alastrante cortical

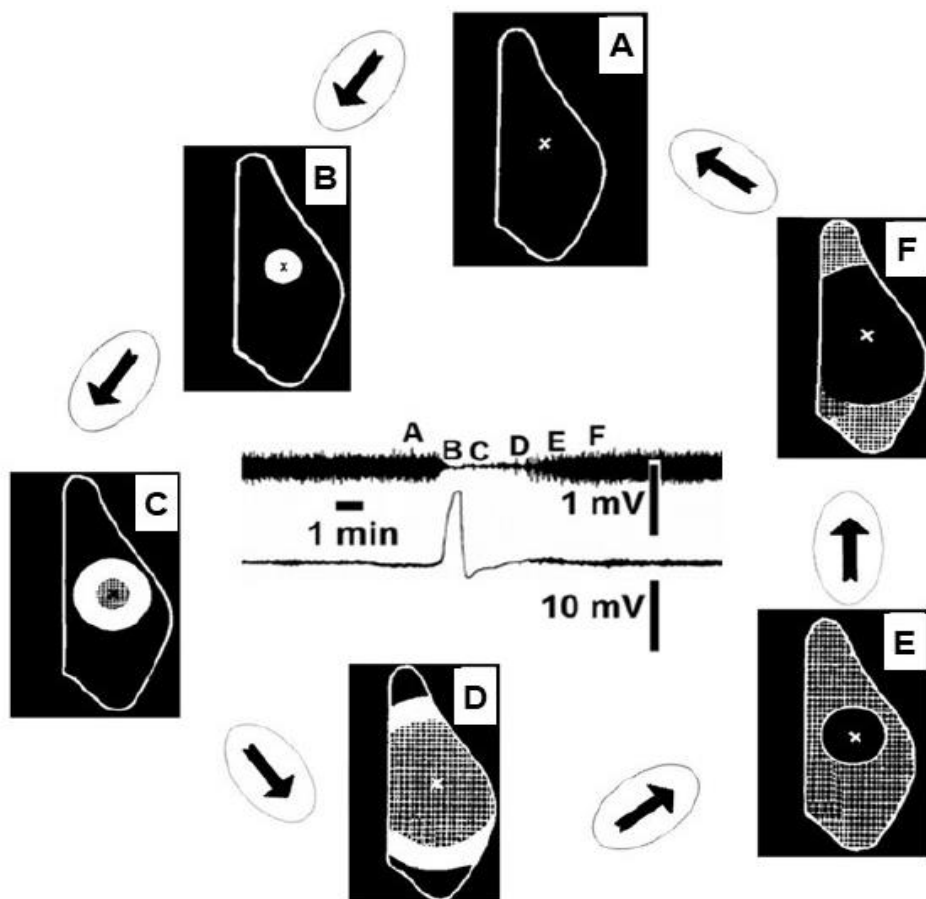
A depressão alastrante cortical (DAC) é um fenômeno eletrofisiológico que foi inicialmente descrito pelo pesquisador brasileiro Aristides A. P. Leão, enquanto realizava experimentos relacionados à atividade epiléptica em coelhos. Foi então, quando ele observou uma resposta interessante, que se caracterizava por uma redução (depressão) acentuada e duradoura da atividade elétrica espontânea do córtex cerebral (LEAO, 1944a). O professor Leão (1944b) destacou que essa resposta pode ser desencadeada por sinais elétricos, mecânicos ou químicos, em um determinado ponto de estímulo no córtex e se propaga (alastra) para regiões mais distantes na superfície cerebral.

A partir do ponto estimulado, as ondas de redução da atividade elétrica se propagam de forma concêntrica a uma velocidade consideravelmente lenta, variando de 2 a 5 mm/min (GUEDES; ABADIE-GUEDES, 2019). Esse fenômeno pode ser detectado experimentalmente pelo eletrocorticograma (ECoG) e é totalmente reversível, uma vez que a região deprimida é completamente recuperada após 5 a 10 minutos da deflagração da onda (LAURITZEN et al., 2011). A supressão elétrica cortical é, também, caracterizada por uma intensa despolarização neuronal e glial, redistribuição dos íons cerebrais, bem como alterações transitórias no fluxo

sanguíneo, taxa metabólica e de oxigenação (MATHEW; PANONNUMMAL, 2022; CHEN et al., 2020).

Simultaneamente à redução do ECoG, observa-se uma variação lenta de voltagem (VLV) com duração total de 2 a 6 minutos. A superfície do tecido sob ação da DAC, primeiro torna-se negativa por 1 a 2 minutos, atingindo valores máximos variando entre -5 e -20 milivolts. Em seguida, a região torna-se então positiva por 3 a 5 minutos, com amplitude geralmente menor que a da fase negativa (LEÃO, 1947). A VLV pode ser medida, com um amplificador acoplado a corrente-direta, a partir da referência de um ponto extra cortical que apresenta um potencial invariante, como, por exemplo, os ossos nasais (GUEDES, 2011) (**Figura 2**).

Figura 2 - Ciclo de etapas da depressão alastrante cortical (DAC).



(A) Desenho de um córtex normal e o ponto estimulado (x) de origem da DAC. (B-D) Propagação concêntrica da DAC. As áreas em branco representam as regiões inicialmente deprimidas pelo fenômeno e as áreas quadriculadas indicam as regiões refratárias, pós-DAC e antes da recuperação. (E-F) Processo de recuperação. As áreas em preto dentro do córtex mostram a recuperação que é iniciada no ponto de estímulo (E) e atinge regiões remotas (F). Por fim, todo o córtex é recuperado e retorna à condição inicial (A). No centro, estão representados o eletrocorticograma (ECoG) e a variação

lenta de voltagem (VLV) (traçados superior e inferior, respectivamente). As etapas A-F já mencionadas estão também representadas no ECoG. Legenda: min = minuto; mV = milivolts. Fonte: Adaptado de Guedes (2011).

A DAC representa um “silenciamento” da atividade elétrica do cérebro, que é causada por uma despolarização neuronal e glial disseminada (GUEDES; ABADIE-GUEDES, 2019). A despolarização é caracterizada pela falha aguda na homeostase dos íons cerebrais, especialmente potássio, cálcio, sódio e cloreto (DREIER, 2011). Durante esse fenômeno, ocorre efluxo de potássio, com a concentração extracelular aumentando de 3-5 para até 60 mmol/L, e influxo de íons cálcio (com a concentração extracelular caindo de 1.2 para 0.1-0.2 mmol/L), cloreto (de 120 para 50-70 mmol/L) e sódio (de 150 para 50-70 mmol/L) (MATHEW; PANONNUMMAL, 2022). Concomitantemente, há redução no pH extracelular de 7,3 para 6,9, e absorção de água. No caso dos neurônios, o influxo de água provoca inchaço das células e alterações dendríticas (IFTIKHAR et al., 2020).

Leão também evidenciou que a DAC é acompanhada de uma resposta vascular multifásica: com vasodilatação transitória inicial, seguida de vasoconstrição (CHARLES; BACA, 2013; LEÃO; MORISON, 1945). Essa alteração vascular pode estar relacionada ao comprometimento do metabolismo cerebral, devido à suspensão do aporte sanguíneo (oligoemia), alteração no acoplamento neuro vascular e suprimento inadequado de oxigênio (MATHEW; PANONNUMMAL, 2022). Contudo, acredita-se que a DAC esteja associada a uma série de fatores, tais como, liberação de neurotransmissores, hipóxia, hipoglicemia, isquemia, *status* nutricional, condições ambientais, dentre outros (IFTIKHAR et al., 2020; KRAMER et al., 2016).

Mesmo com os diversos esforços da comunidade científica em investigar a DAC sob condições normais e patológicas, os mecanismos exatos por trás do fenômeno permanecem não totalmente compreendidos (COZZOLINO et al., 2018). No entanto, ao longo dos anos desde a sua descoberta em 1944, já se foi possível identificar algumas características dos aspectos mais relevantes da DAC, os quais foram sumarizados por Guedes (2011), como exposto a seguir (**Quadro 3**).

Quadro 3 - Principais características dos aspectos mais relevantes da DAC.

Características da DAC
1) É um fenômeno cooperativo, que necessita de uma quantidade mínima de células para ser gerado e propagado;
2) O estímulo não precisa ser específico, qualquer variação repentina de energia pode deflagrar;
3) É totalmente reversível, a região deprimida é recuperada após 5 a 10 minutos;
4) Propaga-se igualmente de uma área sensorial para uma região motora e vice-versa;
5) Tem sido observado em todas as espécies de vertebrados estudadas até hoje, incluindo o ser humano;
6) A velocidade de propagação é lenta (mm/min), paradoxalmente, em um tecido cujo potencial de ação se propaga rapidamente (m/s);
7) Propaga-se mais facilmente em cérebros lisencéfalicos do que em girencéfalicos;
8) Não está claro se é um fenômeno essencialmente fisiológico ou se também pode ser patológico.

Fonte: Adaptado de Guedes (2011).

Alguns distúrbios na excitabilidade do cérebro e suas enfermidades subsequentes – enxaqueca com aura, esclerose múltipla, epilepsia, traumatismo craniano e derrame, estão clinicamente associados a DAC (TAMIM et al., 2021; FRANCISO; GUEDES, 2018). Acredita-se que esses eventos possuem um papel cíclico na progressão da lesão cerebral, uma vez que a lesão induz a depressão alastrante e, por outro lado, a ocorrência de DAC, especialmente nos tecidos em risco, resulta em dano cerebral adicional (CARLSON et al., 2017). Dessa forma, a busca em compreender os mecanismos envolvidos na DAC, pode também ajudar a entender a ocorrência dessas doenças neurológicas (GUEDES, 2011).

O cérebro, em condições normais, possui um certo grau de resistência à ocorrência da DAC, podendo tornar-se mais ou menos resistente à medida que a velocidade de propagação do fenômeno diminui ou aumenta, respectivamente (GUEDES et al., 2017). Logo, o cálculo da velocidade de propagação da DAC

representa uma ferramenta útil para avaliar os aspectos eletrofisiológicos da sinalização cerebral (GUEDES; ABADIE-GUEDES, 2019). Uma série de intervenções farmacológicas, ambientais, hormonais e nutricionais podem alterar essa velocidade de propagação, agindo como facilitadoras ou inibidoras do fenômeno (AMARAL-DE-BRITO et al., 2020). Algumas das condições experimentais relacionadas a suscetibilidade à DAC já investigadas estão listadas abaixo (**Quadro 4**).

Como pode ser visto na tabela subsequente, diversas condições alimentares e o exercício físico (EF) alteram a velocidade de propagação da DAC. O jejum intermitente (JI), por sua vez, embora interfira nos processos neurais (LIU, Y. et al., 2019), ainda não tinha sido investigado no contexto do fenômeno.

Quadro 4 - Condições de interesse clínico que aumentam (facilitam) ou diminuem (dificultam) a velocidade de propagação da DAC.

Condição	Efeito na DAC	Referência
Ingestão crônica de etanol	Facilitou a propagação	ABADIE-GUEDES; BEZERRA; GUEDES, 2016
Glicemia	Hiperglicemia reduziu e hipoglicemia aumentou a velocidade da DAC	XIMENES-DA-SILVA; GUEDES, 1991; COSTA-CRUZ; GUEDES, 2001
Desnutrição no início da vida	Aumentou a velocidade	GUEDES et al., 2013
Envelhecimento	Dificultou a propagação	GUEDES; AMORIM; TEODÓSIO, 1996
Anestésicos	Reduziu a velocidade	GUEDES; BARRETO, 1992
Suplementação de aminoácidos	Arginina e glutamina aumentaram; triptofano, taurina e alanina diminuíram a velocidade	MONTEIRO et al., 2011; LIMA et al., 2009; TRINDADE-FILHO; et al., 2009; FRANCISO; GUEDES, 2015
Lactação*	Condição favorável dificultou e desfavorável facilitou a DAC	ROCHA-DE-MELO et al., 2006
Exercício físico	Desacelerou a propagação	MONTEIRO et al., 2018; 2015; 2011

*Condição favorável e desfavorável de lactação representam, respectivamente, amamentação em ninhadas com pequeno e grande número de filhotes. Legenda: DAC = depressão alastrante cortical. Fonte: Adaptado de Guedes; Rocha-de-Melo; Teodósio (2004).

3 HIPÓTESE

O jejum intermitente e o exercício físico, quando iniciados em ratos jovens, são capazes de modular positivamente reações comportamentais, promovendo efeitos ansiolíticos e de melhora da retenção da memória, bem como desacelerando a propagação do fenômeno de depressão alastrante cortical.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

- Investigar os efeitos do jejum intermitente, do exercício físico e sua associação nos parâmetros comportamentais de ansiedade e memória e na atividade elétrica cerebral em ratos.

4.2 Específicos

- Investigar o impacto do jejum intermitente, exercício físico e sua combinação, no início da vida, sobre o consumo de ração e o peso corporal, como indicadores do desenvolvimento.
- Avaliar os efeitos do jejum intermitente, exercício físico e sua combinação na ansiedade e memória dos ratos;
- Estudar a atividade eletrofisiológica do cérebro em ratos submetidos a jejum intermitente, exercício físico e sua combinação, por meio do registro da depressão alastrante cortical (DAC);
- Aferir as medidas de circunferência torácica, circunferência abdominal e comprimento corporal dos animais, para a avaliação dos parâmetros murinométricos, como indicadores adicionais do desenvolvimento;
- Quantificar as concentrações séricas de glicose e beta-hidroxibutirato em ratos submetidos a jejum intermitente, exercício físico e sua combinação;
- Determinar o impacto do jejum intermitente, exercício físico e sua combinação no peso do cérebro e do fígado, como indicadores dos efeitos dessas intervenções sobre os tecidos.

5 METODOLOGIA

5.1 Aspectos éticos

Todos os procedimentos realizados seguiram os princípios éticos sugeridos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas de manejo animal na prática científica definidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sob o processo de número 006/2021 (**Anexo**), e foi desenvolvida no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT), do Departamento de Nutrição, localizado no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFPE.

5.2 Animais

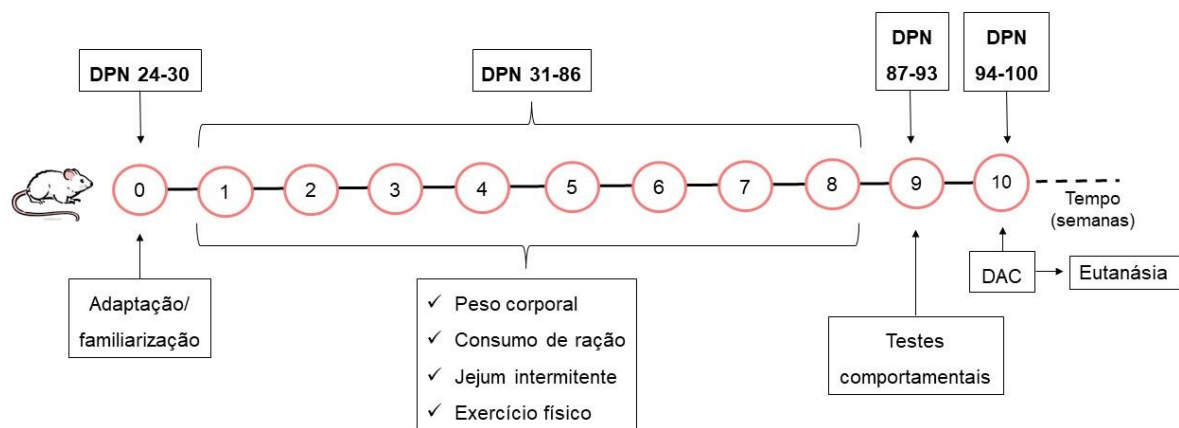
Foram utilizados 64 ratos (30 machos e 34 fêmeas), recém-desmamados, com 24 dias de vida, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem *Wistar*, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE. Os animais foram alocados em gaiolas coletivas (LIDFORS et al., 2014; SHARP et al., 2002) de polipropileno (51 cm × 35,5 cm × 18,5 cm), forradas por maravalha autoclavada, com livre acesso à água filtrada e ração padrão comercial (Nuvilab®, com 25% de proteína). Além disso, foram mantidos em ambiente com condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($50 \pm 5\%$) e iluminação (ciclo claro-escuro de 12 horas, com as luzes acesas às 06:00 horas e apagadas às 18:00 horas).

5.3 Desenho experimental

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais: a) Controle, sedentário com alimentação livre (n = 14, 6 machos); b) Jejum intermitente, sedentário (n = 20; 10 machos); c) Exercício físico, alimentação livre (n = 15; 7 machos) e d) Jejum intermitente + Exercício físico (n = 15; 7 machos). A partir do dia pós-natal (DPN) 24 os ratos foram separados por sexo e grupo experimental, contendo até 4 animais em cada gaiola. Inicialmente, passaram por um processo de familiarização aos protocolos do estudo durante 1 semana, período este no qual os

dados coletados não foram contabilizados. Após a adaptação, deu-se início ao experimento principal de jejum intermitente e exercício físico em esteira com duração total de 8 semanas (**Figura 3**). O peso corporal e o consumo de ração foram monitorados e registrados semanalmente. Após 8 semanas, os animais foram submetidos aos testes comportamentais, seguidos do registro da depressão alastrante cortical e por fim, foram eutanasiados durante o processo de perfusão sanguínea para obtenção do cérebro intacto. Cada uma dessas etapas será melhor descrita nos tópicos a seguir.

Figura 3 - Desenho experimental de acordo com o tempo em semanas decorrido do estudo.



Legenda: DPN = dia pós-natal; DAC = depressão alastrante cortical. Fonte: próprio autor.

5.4 Avaliação do peso corporal

Os animais foram pesados com auxílio de uma balança digital de precisão (CLINK, modelo Sf-400) durante três dias fixos na semana (segunda, quarta e sexta), no mesmo horário pela manhã (entre 07:00 e 08:00 horas), ao longo das 8 semanas de protocolo experimental, e também no dia em que foi realizado o registro eletrofisiológico da DAC. Para análise dos resultados foram selecionados os pesos registrados no DPN 31, DPN 38, DPN 45, DPN 52, DPN 59, DPN 66, DPN 73 e DPN 80, que representam cada semana (semanas de 1 a 8) de experimento.

5.5 Avaliação do consumo de ração

O consumo médio de ração também foi avaliado em três dias fixados na semana no mesmo horário pela manhã durante todo o período experimental. A quantidade em gramas de ração ingerida por animal foi determinada a partir da média de consumo encontrada para cada gaiola (SUN et al., 2016) que continha até 4 animais. Tanto a oferta quanto as sobras de ração foram pesadas com auxílio de uma balança digital de precisão (CLINK, modelo Sf-400) e registradas para compor o cálculo do consumo médio de ração (**Quadro 5**).

Quadro 5 - Cálculo do consumo médio de ração por animal.

$$CR (g) = \frac{\text{oferta de ração} - \text{sobra de ração}}{n \text{ de animais por gaiola}}$$

Legenda: CR = consumo médio de ração; g = gramas; n = número. Fonte: Adaptado de Sun et al. (2016).

Após a determinação do consumo médio de ração por animal, para uma melhor expressão dos resultados, foram definidos os valores relativos de consumo de ração, calculados a partir de 100g do peso corporal (**Quadro 6**).

Quadro 6 - Determinação do consumo de ração relativo.

$$CRr. (g) = \frac{CR}{PC} \times 100$$

Legenda: CRr = consumo de ração relativo; g = gramas; CR = consumo de ração; PC = peso corporal. Fonte: Adaptado de Antunes et al. (2018).

Semelhante à análise de peso corporal, os resultados para o consumo de ração foram expressos para DPN 31, DPN 38, DPN 45, DPN 52, DPN 59, DPN 66, DPN 73 e DPN 80 (semanas de 1 a 8).

5.6 Protocolo de jejum intermitente

Os animais do grupo controle e do grupo exercício físico (sem privação alimentar) tiveram acesso livre à ração padrão comercial (Nuvilab®, com 25% de proteína) durante todo o experimento (CHAMORRO et al., 2019). Baseado nos dados

disponíveis na literatura, nos aspectos logísticos do experimento e nas sugestões acolhidas no decurso do trabalho, o protocolo de jejum intermitente (JI) foi dividido em dois: I) JI de 24 horas e II) JI de 16 horas. No primeiro, o JI foi utilizado durante 24 horas em três dias não consecutivos por semana (segunda, quarta e sexta) durante 8 semanas (LIU, B. et al., 2019). A ração era completamente removida da gaiola às 08:00 horas da manhã para iniciar o dia do jejum e recolocada no mesmo horário do dia seguinte para início do dia de alimentação (LIU, Y. et al., 2019). No outro protocolo, os *pellets* de ração foram também removidos em três dias não consecutivos por semana (segunda, quarta e sexta) durante 8 semanas, mas o jejum teve duração de 16 horas, de forma que a alimentação ficou disponível no período das 08:00 às 16:00 horas (SELVARAJI et al., 2022). Na semana inicial de adaptação os animais foram submetidos aos respectivos regimes de jejum em que estavam inseridos. Ao fim das 8 semanas o jejum foi interrompido e a ração foi disponibilizada livremente. Água filtrada esteve disponível *ad libitum* durante o tempo total de experimento para todos os grupos do estudo. A ração foi pesada e o consumo monitorado obedecendo o mesmo horário para todos os animais. Para a apresentação dos resultados os protocolos de JI (24 e 16 horas) foram reunidos em um grupo só, uma vez que não houve diferenças entre eles, em qualquer um dos parâmetros avaliados neste estudo.

5.7 Protocolo de exercício físico

Os animais (com ou sem JI) foram distribuídos entre os grupos sedentários e os grupos experimentais para exercício físico. Os grupos experimentais foram submetidos ao exercício físico forçado de corrida em esteira motorizada para roedores (INSIGHT, modelo EP-131). Esta modalidade foi utilizada porque permite a padronização dos parâmetros de intensidade e frequência do exercício (SEGABINAZI et al., 2019). Inicialmente (Semana 0), os animais foram submetidos a sessões de familiarização, em que por três dias não consecutivos (terça, quinta e sábado) os ratos foram mantidos na esteira desligada por 10 minutos, para adaptação visual e olfativa, em seguida, a uma velocidade de 8 m/min os ratos permaneceram em atividade por 5 minutos, para adaptação ao som e ao movimento, de acordo com González-Chávez et al. (2019).

Na sequência, foi realizado o exercício, de intensidade moderada, em sessões de 40 minutos por dia, três vezes na semana (terça, quinta e sábado), durante 8

semanas com o seguinte protocolo adaptado de Braz et al. (2015): 5 minutos de aquecimento a uma velocidade de 12 ± 2 m/min, seguidos de 30 minutos com velocidade de 20 ± 2 m/min, e 5 minutos de resfriamento com velocidade 12 ± 2 m/min. As sessões de exercício foram realizadas sempre no mesmo horário e a esteira foi constantemente mantida sem inclinação (0°). Não foram utilizados eletrochoques para estímulo à atividade física; nos casos em que houve recusa do animal, este foi levemente tocado com um bastão de madeira e na persistência da recusa o mesmo foi excluído do estudo. Os animais dos grupos sedentários foram colocados na esteira pelo mesmo tempo que os demais, mas a esteira permaneceu desligada (TÉGLÁS et al., 2019).

5.8 Identificação do ciclo estral das ratas

Uma vez que as variações hormonais durante o ciclo estral dos roedores afetam significativamente a fisiologia cerebral e o risco de doenças, se faz importante o controle dessa variável, não só na presente tese, mas também em todo o âmbito científico, para melhorar a qualidade dos dados, promover saúde e tornar as pesquisas mais inclusivas do gênero (ROCKS; CHAM; KUNDAKOVIC, 2022; SCHELLINCK; CYR; BROWN, 2010). Por esse motivo, a fim de padronizar o ambiente fisiológico hormonal das fêmeas, antes da realização dos testes comportamentais e do registro da depressão alastrante cortical, foi necessário identificar a fase do ciclo estral das ratas.

A fase do ciclo estral foi determinada por meio da coleta de células da mucosa vaginal (pela técnica do esfregaço), segundo os protocolos adaptados de Willett et al. (2020); Scholl et al. (2019) e Ebine et al. (2016). As secreções vaginais foram coletadas utilizando haste flexível com ponta de algodão embebida em cloreto de sódio (NaCl) 0,9%. O esfregaço foi transferido para lâmina de vidro e visualizado em microscópio de luz (LEICA, modelo DMLS) para análise citológica. Três tipos celulares foram utilizados para a identificação da fase: células epiteliais (células redondas nucleadas), células cornificadas (irregulares e anucleadas) e leucócitos (pequenos e redondos).

O proestro foi caracterizado principalmente por células epiteliais nucleadas e foi o dia escolhido para a realização dos testes de comportamento e do registro eletrofisiológico (ACCIOLLY et al., 2012). De acordo com a literatura, essa fase

apresenta níveis de ansiedade reduzidos em comparação as demais fases do ciclo, sendo semelhante aos níveis encontrados para os machos; além disso, não foi observado aumento da suscetibilidade ao desenvolvimento de DAC no proestro (EBINE et al., 2016; ROCKS; CHAM; KUNDAKOVIC, 2022). Neste estudo foram utilizadas as seguintes proporções de machos:fêmeas para os grupos: controle (6:8); jejum intermitente (10:10); exercício físico (7:8) e jejum + exercício (7:8). Adicionalmente, para uma melhor compreensão dos resultados, optou-se por comparar os animais, além dos grupos experimentais, separadamente em relação ao sexo (macho/fêmea).

5.9 Testes comportamentais

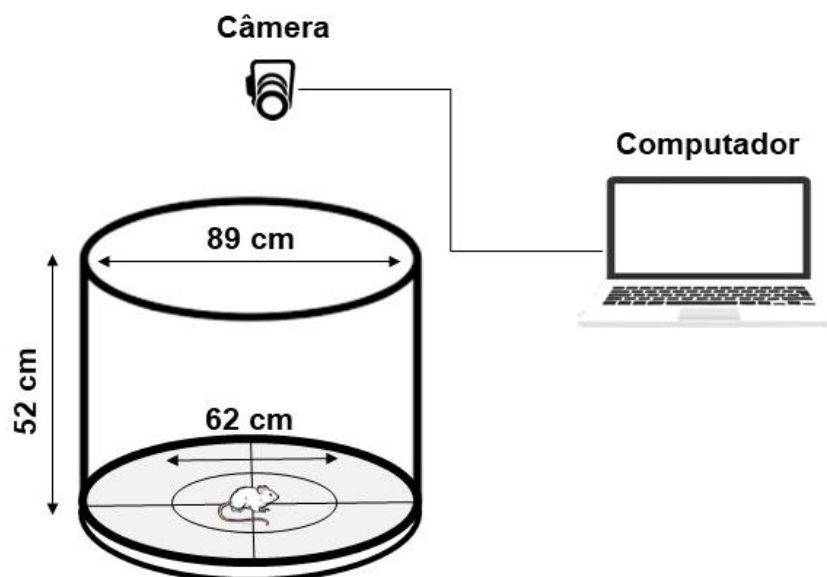
Entre o DPN87 e DPN93 todos os animais, individualmente, foram submetidos aos testes comportamentais para quantificar respostas indicativas de ansiedade e de memória. Os aparelhos utilizados foram o campo aberto (CA) e o labirinto em cruz elevado (LCE) (SCHOLL et al., 2019). Os testes foram realizados em uma sala apropriada, com atenuação de ruídos e baixa intensidade de luz, obedecendo o mesmo horário para todos os grupos (STURMAN; GERMAIN; BOHACEK, 2018). Antes do início de cada teste, os animais permaneceram na sala por 20 minutos para o processo de adaptação ao ambiente. Uma câmera digital localizada verticalmente acima dos aparelhos permitiu o registro em computador de todos os testes, que posteriormente foram analisados com auxílio do software ANYmaze® (versão 4,99 m). Entre uma sessão e outra, foi realizada a limpeza dos aparelhos (CA e LCE) com papel toalha embebido em etanol a 70%, para minimizar sinais olfativos distintos (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018). Os testes foram realizados na seguinte sequência temporal: campo aberto – exploração; memória de reconhecimento espacial (RE); memória de reconhecimento de objetos (RO) em três dias consecutivos e, após 48 horas de intervalo, labirinto em cruz elevado.

5.9.1 Testes comportamentais indicativos de ansiedade

Os testes de exploração no CA e no LCE têm por objetivo avaliar a capacidade do animal em reconhecer locais ansiogênicos a serem evitados, por exemplo, a área central do CA e os braços abertos do LCE (CALZA et al., 2010).

O aparelho de campo aberto consistiu em uma arena circular feita de madeira, com 89 cm de diâmetro, circundada por uma parede circular, também de madeira, com 52 cm de altura. O piso foi dividido em anéis por linhas circulares; em seguida, duas linhas perpendiculares formaram no piso quatro quadrantes (VIANA et al., 2013) e o centro foi definido por um círculo com 62 cm de diâmetro (**Figura 4**). Após o período de adaptação, o animal foi posicionado no centro da arena, com a cabeça direcionada sempre no mesmo sentido, e sua atividade registrada pela câmera durante 5 minutos. Os dados obtidos foram a distância total percorrida (m), o tempo de imobilidade (s), o número de entradas na zona central e o tempo de permanência (s) nessa zona (ZHANG, M. et al., 2017).

Figura 4 - Esquema representativo do aparelho campo aberto (CA).

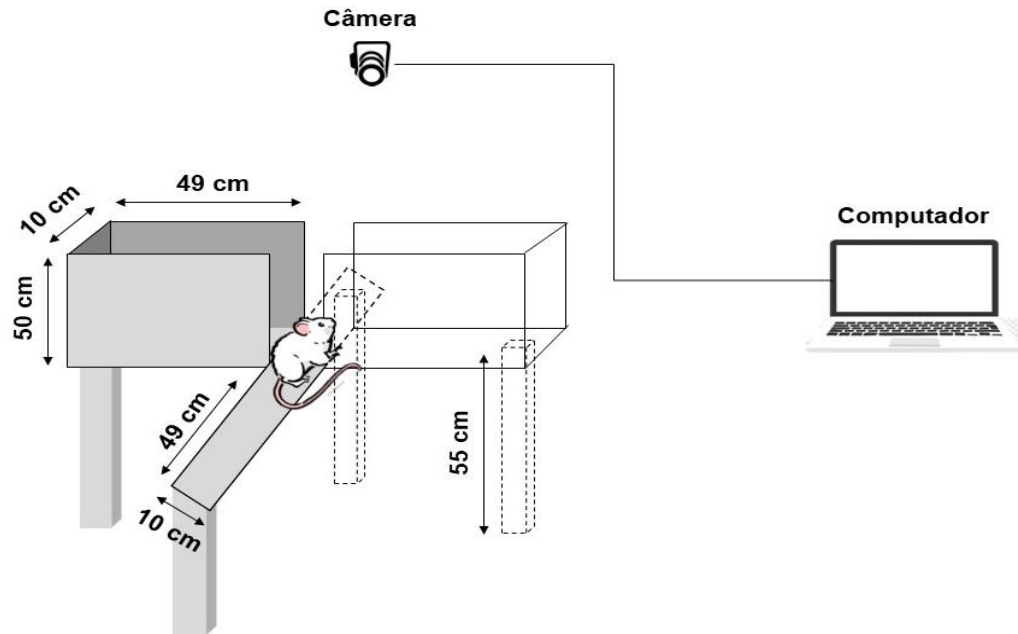


Uma câmera digital localizada verticalmente acima do aparelho permitiu o registro dos testes no computador. Legenda: cm = centímetros. Fonte: próprio autor.

O labirinto em cruz elevado consistiu em um aparelho feito de madeira envernizada, elevado a 55 cm do chão, em forma de cruz, com dois braços abertos (sem proteção lateral) e dois braços fechados (com proteção lateral), medindo 49 x 10 cm cada. Os braços abertos estavam dispostos perpendicularmente aos fechados, cujas paredes laterais mediam 50 cm de altura. Os braços eram unidos por uma plataforma central quadrada de 10 x 10 cm (**Figura 5**). Após o período de adaptação, para início do teste, o animal foi posicionado na plataforma central, com a cabeça direcionada para um dos braços abertos e pôde explorar livremente o equipamento

por 5 minutos (ZHANG, M. et al., 2017). Foram considerados os parâmetros de distância total percorrida (m), tempo de imobilidade (s), número de entradas e tempo de permanência (s) nos braços abertos (SCHOLL et al., 2019).

Figura 5 - Esquema representativo do labirinto em cruz elevado (LCE).



Plataforma elevada em forma de cruz composta de braços abertos, braços fechados e um quadrado central. Legenda: cm = centímetros. Fonte: próprio autor.

5.9.2 Testes comportamentais indicativos de memória

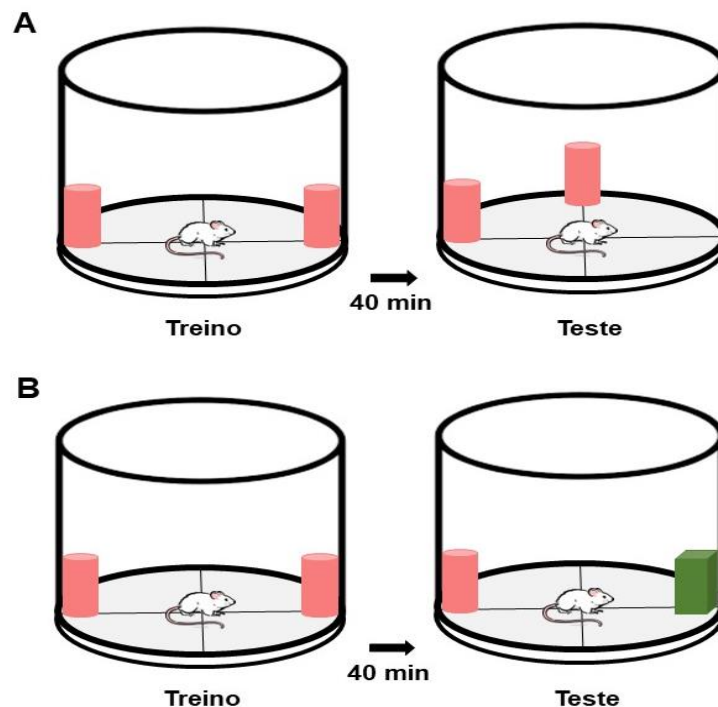
Os testes de reconhecimento de objetos têm como objetivo avaliar a capacidade do animal em identificar uma forma ou uma posição espacial desconhecida de um objeto. São baseados na tendência natural do animal em explorar a posição/forma nova em detrimento da que lhe é familiar em um contexto previamente conhecido (FRANCISCO; GUEDES, 2015). Ambos foram realizados no aparelho CA em duas sessões de 5 minutos (denominadas de sessão treino e sessão teste), separadas por um intervalo de 40 minutos (**Figura 6**). A seguir estão brevemente descritos, segundo os protocolos adaptados de Téglás et al. (2019) e Viana et al. (2013).

(1) Reconhecimento de uma posição espacial nova: Na sessão treino, dois objetos idênticos foram colocados em posições opostas no aparelho para exploração por 5 minutos. Após o intervalo de 40 minutos, o animal voltou à arena na presença

dos mesmos objetos, mas, nesta sessão teste, um dos objetos foi deslocado, adquirindo uma nova posição, perpendicular ao objeto que se manteve “fixo”.

(2) Reconhecimento de um objeto com uma forma nova: Na primeira sessão, de maneira semelhante ao teste anterior, dois objetos idênticos foram colocados na arena a distâncias iguais da parede e em posições opostas. Esses objetos tornaram-se familiares durante o período de exploração de 5 minutos. Na segunda sessão, após o intervalo, o animal foi recolocado no CA, porém um dos objetos familiares foi substituído por um objeto novo, com uma forma diferente.

Figura 6 - Representação dos testes comportamentais sugestivos de memória.



As condições da sessão treino (esquerda) e sessão teste (direita) são mostradas. **(A)** Teste de reconhecimento de uma nova posição espacial. **(B)** Teste de reconhecimento de uma nova forma. Legenda: min = minutos. Fonte: Adaptado de Viana et al. (2013).

Para minimizar a influência das preferências naturais, foram utilizados objetos feitos do mesmo material (vidro), que permite interações semelhantes, mas com forma distinta que poderia ser facilmente diferenciada. A partir dos dados obtidos para tempo de exploração nos objetos/posições novos e familiares, determinou-se o **índice de discriminação**, ou seja, a diferença entre o tempo gasto explorando posições/objetos novos e familiares, de acordo com a fórmula abaixo (**Quadro 7**).

Quadro 7 - Fórmula para o cálculo do índice de discriminação.

$$ID = \frac{(TN - TF)}{(TN + TF)}$$

Permite considerar a diferença entre o tempo gasto em posição/objeto novo e familiar. Legenda: ID = índice de discriminação; TN = tempo gasto em posições/objetos novos; TF = tempo gasto em posições/objetos familiares. Fonte: Adaptado de Antunes; Biala (2012).

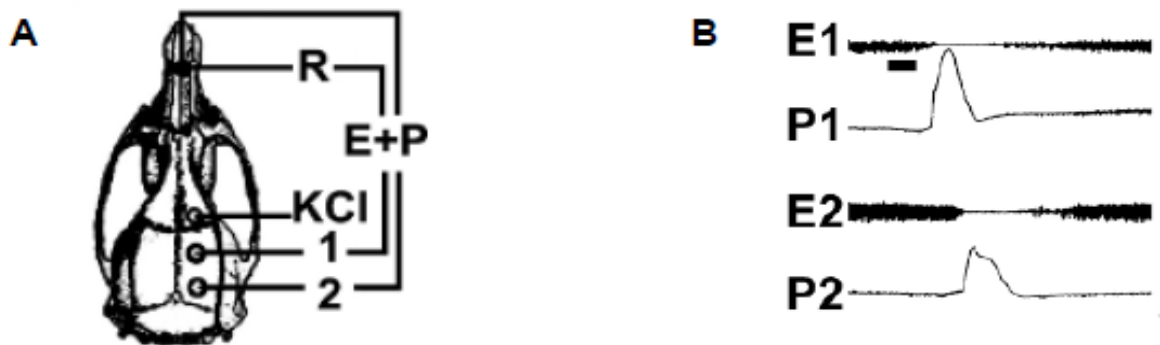
O índice de discriminação pode variar entre -1 e +1. Uma pontuação positiva indica mais tempo gasto no objeto/posição novo, pontuação negativa indica mais tempo explorando o objeto/posição familiar e zero indica ausência de preferência (ANTUNES; BIALA, 2012).

5.10 Registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical

Após os testes comportamentais, entre o DPN94 e DPN100, foi realizado o registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical (DAC). Inicialmente, os animais foram pesados e em seguida anestesiados com uma mistura de uretana/cloralose (uretana 1 g/Kg e cloralose 40 mg/Kg) por meio de injeção via intraperitoneal. Com a cabeça fixada no aparelho estereotático (INSIGHT, modelo EFF 331), foram trepanados três orifícios na porção direita do crânio, alinhados na direção ântero-posterior e paralelos à linha média. O orifício anterior (2 a 4 mm de diâmetro), posicionado no osso frontal, foi utilizado para a aplicação do estímulo que deflagrou a DAC. Esta, ao se propagar, foi registrada nos outros dois orifícios, localizados no osso parietal (**Figura 7**). A deflagração da DAC ocorreu a cada 20 minutos por estimulação química com aplicação tópica de uma bolinha de algodão (1 a 2 mm de diâmetro) embebida em cloreto de potássio (KCl) a 2% (aproximadamente 270 mM) no córtex frontal, por 1 minuto. Durante 4 horas, o eletrocorticograma (ECoG) e a variação lenta de voltagem (VLV) foram registrados em um sistema digital (BIOPAC MP150, USA) que permite visualização e armazenamento dos registros em computador (ACCIOLY; GUEDES, 2019). A temperatura retal do animal foi monitorada durante todo o registro e mantida em 37 ± 1 °C por meio de aquecedor elétrico regulável. A DAC foi registrada nos dois orifícios da região parietal, utilizando-se eletrodos do tipo “Ag-AgCl”. Um terceiro eletrodo, do mesmo tipo, foi posicionado no osso nasal e constituiu um eletrodo de referência comum para os outros dois já

mencionados. Os eletrodos consistiram em fios de prata inseridos em ponteiras plásticas de pipetas (5 cm de comprimento, 5 mm de diâmetro na abertura superior e 0,5 mm de diâmetro interno na ponta) preenchidas com solução de Ringer solidificada com adição de ágar 0,5%. A velocidade de propagação da DAC foi calculada a partir do tempo gasto para a onda percorrer a distância entre os dois eletrodos registradores, posicionados suavemente sobre a dura-máter. Também foram calculados os parâmetros de duração e amplitude da variação lenta de voltagem (BENEVIDES et al., 2020).

Figura 7 - Esquema do registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical (DAC).



(A) Representação do crânio de um rato com os três orifícios identificados. (B) Traçados do registro como é visto em computador com escala temporal de 1 minuto (abaixo do primeiro traçado). Legenda: R = local de posicionamento do eletrodo referência no osso nasal; E = eletrocorticograma e P = registro da variação lenta de potencial em dois pontos da superfície do hemisfério direito, mostrando a passagem da DAC; KCI = orifício correspondente à estimulação; 1 e 2 = locais onde são posicionados os eletrodos parietais; E1 e E2 = registro do eletrocorticograma; P1 e P2 = registro da variação lenta de voltagem nos pontos “1” e “2”, respectivamente. Fonte: Adaptado de Francisco; Guedes (2018).

5.11 Parâmetros murinométricos

Para a avaliação murinométrica dos animais foram utilizadas as medidas de peso corporal (g), circunferência torácica, circunferência abdominal e eixo longitudinal (comprimento corporal) (TAVARES et al., 2020). O eixo longitudinal (cm) foi determinado pelo comprimento naso-anal do animal, medindo-se a distância entre o focinho e a base da cauda. Para essas medidas foi utilizada fita métrica inextensível (MACEDO et al., 2021; PINI et al., 2016). O índice de massa corporal (IMC) e o índice de Lee foram calculados segundo as fórmulas abaixo (**Quadro 8**).

Quadro 8 - Fórmulas para calcular o IMC e o índice de Lee.

$$\text{IMC (g/cm}^2\text{)} = \frac{\text{PC}}{(\text{CC})^2}$$

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{PC}}}{\text{CC}}$$

Legenda: IMC = índice de massa corporal; g = gramas; cm = centímetros; PC = peso corporal em gramas; CC = comprimento corporal em centímetros. Fonte: Adaptado de Tavares et al. (2020).

5.12 Eutanásia dos animais e obtenção dos tecidos

A eutanásia foi realizada após o registro eletrofisiológico e a aferição das medidas murinométricas com os animais ainda sob efeito de anestesia, de acordo com o Guia Brasileiro de Boas Práticas para a Eutanásia em Animais do Conselho Federal de Medicina Veterinária (2013). Para tal, os animais foram submetidos à perfusão sanguínea com solução salina 0,9% seguida de paraformaldeído (PFA) 4%.

Após esse procedimento, os cérebros foram retirados mediante 2 incisões: uma anterior, no limite entre os hemisférios cerebrais e o bulbo olfatório, excluindo-o; e outra posterior, perpendicular à borda superior do cerebelo, excluindo-o. Os fígados também foram coletados e os tecidos foram pesados em uma balança analítica (SHIMADZU, modelo AUY220, com sensibilidade de até 0,1mg) e armazenados para análises posteriores. Os dados de peso dos tecidos foram expressos em valor relativo, ou seja, calculados para cada 100g de peso corporal final (obtido no dia do registro da DAC) (**Quadro 9**).

Quadro 9 - Determinação do peso relativo dos tecidos.

$$\text{PRtec. (g)} = \frac{\text{PAtec.}}{\text{PCf}} \times 100$$

Legenda: PRtec. = peso relativo dos tecidos; g = gramas; PAtec. = peso absoluto dos tecidos; PCf = peso corporal final. Fonte: Adaptado de Antunes et al. (2018).

5.13 Coleta de sangue e análises bioquímicas

Com os animais ainda sob anestesia, mas antes do processo de exsanguinação por punção cardíaca, amostras de sangue foram coletadas do coração em tubos específicos para soro. O sangue foi deixado coagular durante, aproximadamente, 20 minutos e, em seguida, foi centrifugado a 1.000 G por 10 minutos em temperatura ambiente. O soro foi coletado e armazenado até o momento da medição. Os níveis séricos de glicose e beta-hidroxibutirato (β -OHB) foram medidos na tira de teste de um monitor de glicose ou cetona Abbot Freestyle Optium Neo® (Abbot Brasil, São Paulo, Brasil) (IRFANNUDDIN et al, 2021; MCCARTHY et al., 2021; SUI et al., 2022). Para estas análises foi utilizado um número menor de animais e por esse motivo não foi realizada a comparação entre machos e fêmeas. O total de animais para estes parâmetros foi de $n = 31$, distribuídos em: controle ($n = 6$); jejum intermitente ($n = 9$); exercício físico ($n = 8$) e jejum + exercício ($n = 8$).

5.14 Análise estatística

Todos os dados coletados foram organizados em planilhas do Excel® (2019) e em seguida exportados para os *softwares* de análise estatística. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) e foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$. A fim de verificar a normalidade de distribuição dos dados, foram realizados os testes de Kolgomorov-Smirnov ($n = < 7$) e de Shapiro-Wilk ($n \geq 7$) (RAZALI; WAH, 2011). Uma vez que os resultados apresentaram distribuição normal foram utilizados testes paramétricos.

Para as análises das medidas murinométricas, comportamento, DAC, peso dos tecidos e testes bioquímicos foi utilizado o programa *Sigmastat* versão 3.5 e aplicado o teste ANOVA de duas vias (considerando o jejum intermitente e o exercício físico como fatores), seguido do teste *post-hoc* de Holm-Sidak, para identificação dos contrastes significantes. Os dados de peso corporal e consumo alimentar foram analisados no *GraphPad Prism* versão 8.0.2 (GraphPad Software Inc., San Diego, Califórnia) utilizando-se o teste ANOVA de duas vias para as comparações múltiplas intra-grupo (ao longo das semanas) e inter-grupos (controle, jejum, exercício, jejum+exercício), seguido do teste *post-hoc* de Holm-Sidak. De maneira semelhante, realizou-se as comparações entre ratos machos e fêmeas, considerando as diferenças observadas para o sexo e para os grupos experimentais.

6 RESULTADOS

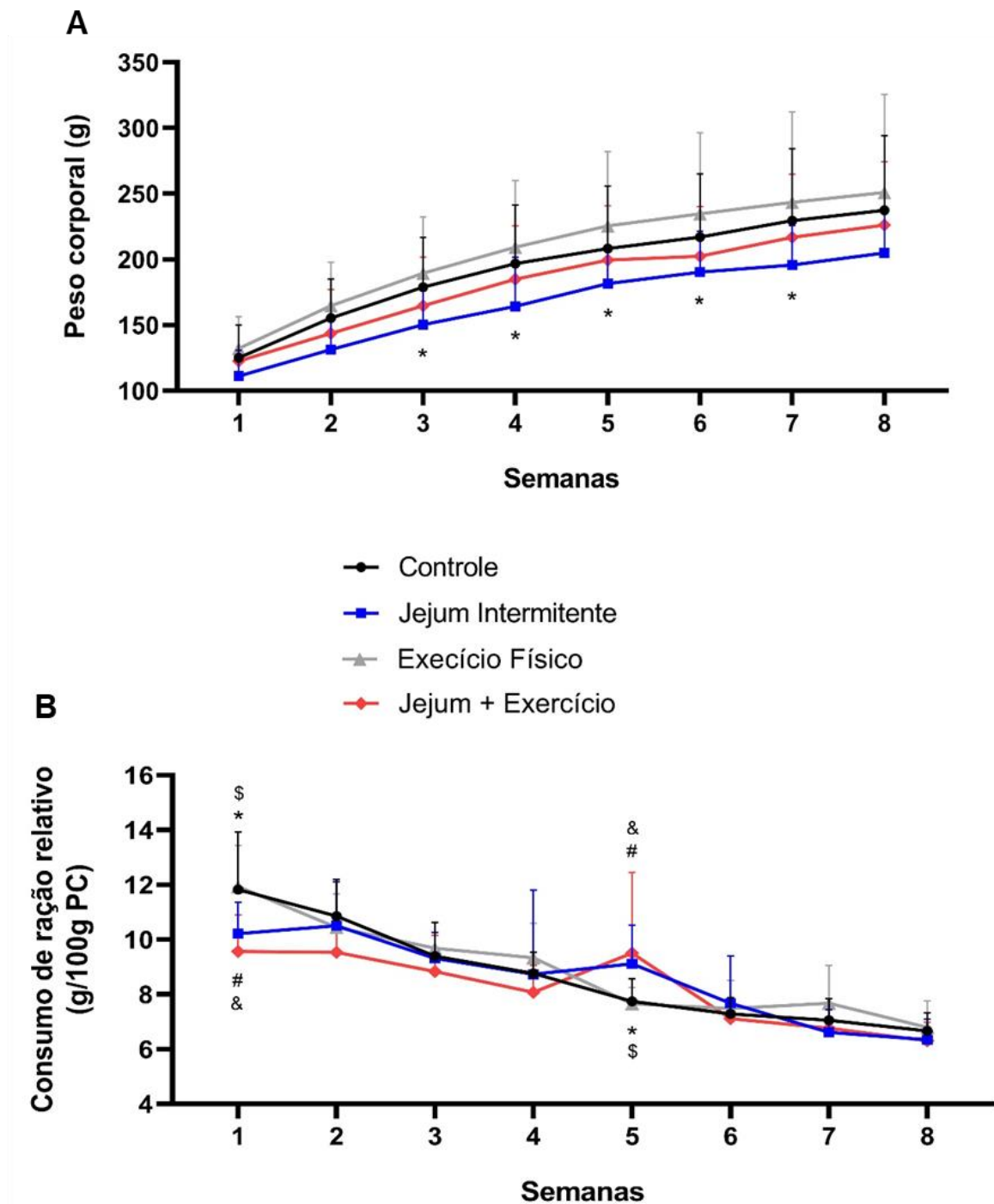
6.1 Peso corporal e consumo de ração

Para registro e análise dos resultados referentes ao efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre o peso corporal e o consumo de ração dos animais, foram selecionados os dados registrados no DPN 31, DPN 38, DPN 45, DPN 52, DPN 59, DPN 66, DPN 73 e DPN 80, indicando cada semana do experimento (semanas de 1 a 8) (**Figura 8**).

A **Figura 8A** mostra que para o peso corporal o grupo jejum intermitente e exercício físico diferiram entre si significativamente ($p < 0,001$) a partir da 3ª e até a 7ª semana. Não foi observado diferença estatisticamente significativa entre os demais grupos. Para o consumo de ração (**Figura 8B**) pode-se observar que, de modo geral, os grupos de jejum, isoladamente ou combinado com exercício, diferiram estatisticamente ($p < 0,001$) dos grupos controle e exercício físico (isolado) nas semanas 1 e 5.

Os grupos experimentais eram formados com quantidades próximas de animais machos e fêmeas e o parâmetro de peso corporal foi superior nos machos em relação as fêmeas. Na comparação entre os sexos ao longo do tempo, houve diferença ($p < 0,05$) entre todos os grupos experimentais nas 8 semanas avaliadas para o peso corporal (**Tabela 1**). No consumo de ração, só foi possível observar diferença ($p < 0,05$) entre os animais machos e fêmeas no grupo exercício físico na semana 7 (**Tabela 2**).

Figura 8 - Peso corporal e consumo de ração relativo nas 8 semanas de experimento.



Em **(A)** está apresentado o peso corporal (g) e em **(B)** o consumo de ração relativo dos animais (g/100g de peso corporal), avaliados em cada semana de experimento (semanas de 1 a 8). Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; n = 14, 6 machos), jejum intermitente (JI; n = 20; 10 machos), exercício físico (EF; n = 15; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; n = 15; 7 machos). Valores significativos com $p < 0,001$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak. * JI vs. EF; # EF vs. JI+EF; \$ C vs. JI; & C vs. JI+EF. Legenda: PC = peso corporal.

Tabela 1 - Peso corporal dos machos e fêmeas de cada grupo ao longo das 8 semanas de experimento.

Semanas	Peso corporal (g)							
	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F *	M (6)	F *	M (10)	F *	M (7)	F *	M (7)
1	111,2 ±	143,6 ±	101,6 ±	120,8 ±	121,5 ±	149,8 ±	106,2 ±	136,8 ±
	18,6	20,5	15,9	18,8	14,4	23,2	24,0	22,5
2	134,8 ±	182,8 ±	115,4 ±	147,4 ±	144,2 ±	196,0 ±	121,0 ±	163,5 ±
	11,2	22,7	18,1	20,5	13,6	21,0	25,4	26,5
3	149,8 ±	217,5 ±	133,0 ±	167,5 ±	161,1 ±	233,5 ±	137,7 ±	188,1 ±
	10,1	20,7	15,9	22,4	14,5	21,2	23,6	30,2
4	161,5 ±	243,6 ±	147,4 ±	191,2 ±	175,0 ±	262,5 ±	150,8 ±	214,7 ±
	8,0	21,5	13,4	23,2	14,6	26,5	21,7	26,6
5	169,8 ±	259,5 ±	159,5 ±	203,7 ±	185,2 ±	286,2 ±	162,2 ±	231,8 ±
	6,4	18,5	12,3	23,5	12,4	23,9	17,3	24,4
6	178,0 ±	268,8 ±	166,9 ±	213,6 ±	193,6 ±	299,1 ±	169,2 ±	231,1 ±
	8,6	16,1	13,0	25,4	15,2	37,0	18,1	22,9
7	184,5 ±	289,1 ±	173,1 ±	218,3 ±	200,3 ±	312,8 ±	172,7 ±	242,6 ±
	7,9	15,6	14,5	23,7	15,6	49,9	14,9	45,6
8	191,3 ±	298,5 ±	178,6 ±	231,1 ±	203,0 ±	327,2 ±	181,2 ±	265,2 ±
	12,0	17,4	14,3	23,6	13,4	52,1	14,1	26,8

Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34). Os dados estão representados como média ± desvio padrão. * Significativamente diferente dos valores masculinos correspondentes, $p < 0,05$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

Tabela 2 - Consumo de ração relativo dos machos e fêmeas de cada grupo ao longo das 8 semanas de experimento.

Consumo de ração relativo (g/100g PC)								
Semanas	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
1	11,7 ±	11,9 ±	10,2 ±	10,2 ±	11,6 ±	12,3 ±	10,1 ±	9,0 ±
	2,6	1,2	1,3	1,0	1,6	1,1	1,0	1,3
2	10,9 ±	10,7 ±	10,3 ±	10,6 ±	10,4 ±	10,4 ±	9,7 ±	9,3 ±
	1,6	1,1	2,0	1,0	1,4	0,7	1,0	1,2
3	9,4 ±	9,3 ±	9,3 ±	9,31 ±	9,5 ±	9,8 ±	9,3 ±	8,3 ±
	1,4	0,9	0,8	1,0	1,1	0,6	0,7	1,5
4	8,8 ±	8,6 ±	9,2 ±	8,2 ±	8,9 ±	9,8 ±	7,8 ±	8,2 ±
	0,7	0,9	4,3	0,8	0,9	1,5	1,0	0,9
5	8,1 ±	7,1 ±	8,7 ±	9,5 ±	7,7 ±	7,4 ±	9,4 ±	9,5 ±
	0,7	0,4	1,1	1,6	0,6	0,5	3,7	2,3
6	7,5 ±	6,9 ±	7,1 ±	8,1 ±	7,6 ±	7,2 ±	7,2 ±	6,9 ±
	0,5	0,5	0,6	2,3	1,2	0,6	0,4	0,7
7	7,5 ±	6,4 ±	6,5 ±	6,6 ±	8,3 ±	6,6 ±	6,7 ±	6,7 ±
	0,6	0,2	0,9	0,7	1,2 *	0,7	0,4	0,8
8	7,1 ±	6,0 ±	6,2 ±	6,4 ±	7,1 ±	6,2 ±	6,5 ±	6,1 ±
	0,3	0,5	0,7	0,7	1,0	0,6	0,5	0,7

Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34). Os dados estão representados como média ± desvio padrão. * Significativamente diferente do valor masculino correspondente, $p < 0,05$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

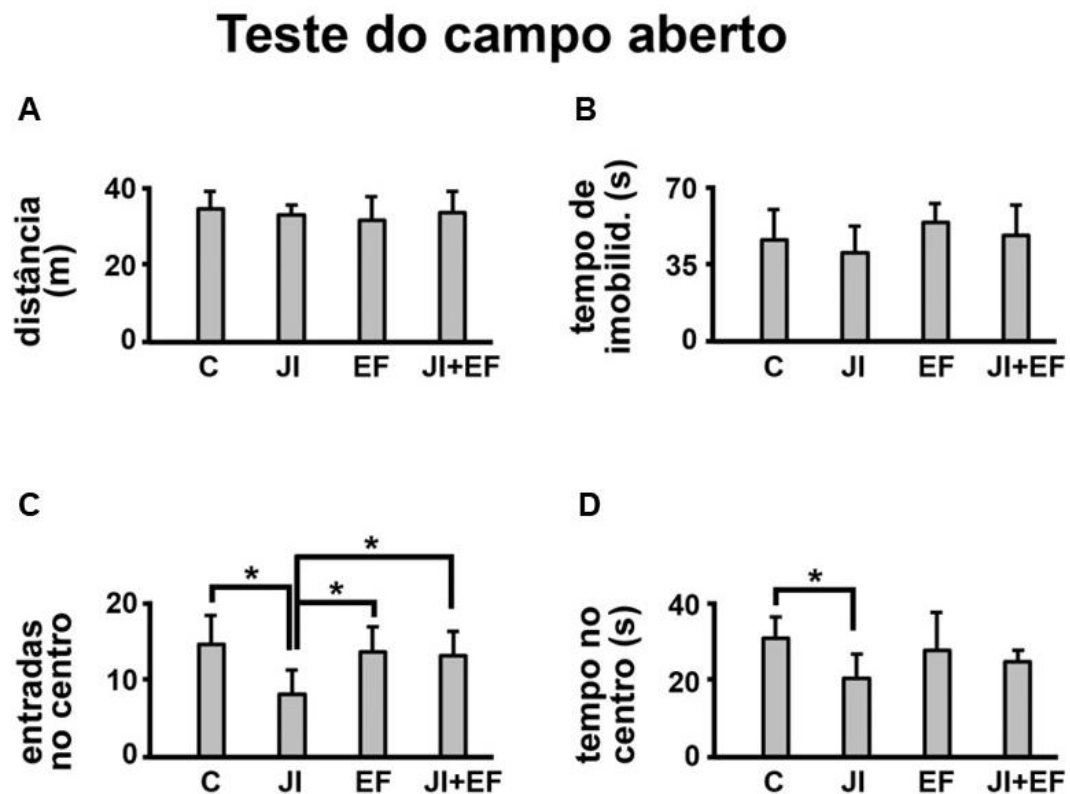
6.2 Atividades comportamentais

6.2.1 Comportamento indicativo de ansiedade

A ação do jejum intermitente e do exercício físico no comportamento sugestivo de ansiedade a partir do teste de campo aberto (exploração) é mostrada na **Figura 9**. Os parâmetros de distância percorrida (C: $34,2 \pm 4,4$ m vs. JI: $32,6 \pm 2,6$ m vs. EF: $31,3 \pm 6,1$ m vs. JI+EF: $33,2 \pm 5,5$ m) (**Figura 9A**) e tempo de imobilidade (C: $45,4 \pm 13,8$ s vs. JI: $39,7 \pm 11,9$ s vs. EF: $58,7 \pm 18,6$ s vs. JI+EF: $43,8 \pm 11,7$ s) (**Figura 9B**)

não sofreram interferência das variáveis estudadas. O jejum intermitente reduziu, significativamente ($p < 0,001$), o número de entradas no centro do aparelho (C: $14,5 \pm 3,7$ vs. JI: $9,3 \pm 3,9$) e o tempo de permanência no centro (C: $30,5 \pm 5,5$ s vs. JI: $21,9 \pm 6,9$ s) quando comparado ao grupo controle. Ao contrário, o exercício físico, sozinho ou combinado ao jejum, aumentou a quantidade de entradas no centro (EF: $13,5 \pm 3,3$ vs. JI+EF: $13,0 \pm 3,2$), igualando-se ao controle (**Figuras 9C-D**). Não houve diferença estatística para o tempo de permanência no centro entre os grupos com exercício físico e o demais (EF: $27,4 \pm 9,6$ s vs. JI+EF: $22,1 \pm 4,2$ s) (**Figura 9D**).

Figura 9 - Efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre a atividade comportamental de ansiedade no teste do campo aberto.



(A) Distância percorrida (m). (B) Tempo de imobilidade (s). (C) Número de entradas no centro. (D) Tempo de permanência no centro (s). Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; $n = 14$; 6 machos), jejum intermitente (JI; $n = 20$; 10 machos), exercício físico (EF; $n = 15$; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; $n = 15$; 7 machos). * $p < 0,001$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

Na comparação entre os sexos, não houve diferença significativa entre machos e fêmeas para o teste indicativo de ansiedade do campo aberto (exploração) (**Tabela 3**), o que permitiu, sem maiores prejuízos, que estes dados fossem analisados juntos em cada grupo experimental.

Tabela 3 - Representação dos parâmetros do teste do campo aberto – exploração para machos e fêmeas.

Teste do Campo Aberto - Exploração								
Parâmetros	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
Distância	31,1 ±	37,4 ±	31,1 ±	34,1 ±	29,4 ±	34,0 ±	31,1 ±	35,6 ±
(m)	3,2	2,9	2,6	1,6	6,8	4,0	4,7	5,8
Imobilidade	36,2 ±	54,7 ±	31,3 ±	48,2 ±	59,4 ±	57,7 ±	38,7 ±	49,6 ±
(s)	6,2	13,1	5,3	10,5	24,5	3,2	10,2	11,2
Entradas	12,3 ±	16,7 ±	7,2 ±	12,6 ±	12,1 ±	15,5 ±	11,4 ±	14,4 ±
no centro	2,9	3,1	2,6	3,0	2,8	3,1	2,5	3,2
Tempo no	26,8 ±	34,3 ±	19,2 ±	25,8 ±	23,5 ±	33,4 ±	20,1 ±	24,4 ±
centro (s)	2,6	5,1	5,5	7,3	8,8	7,9	4,5	2,4

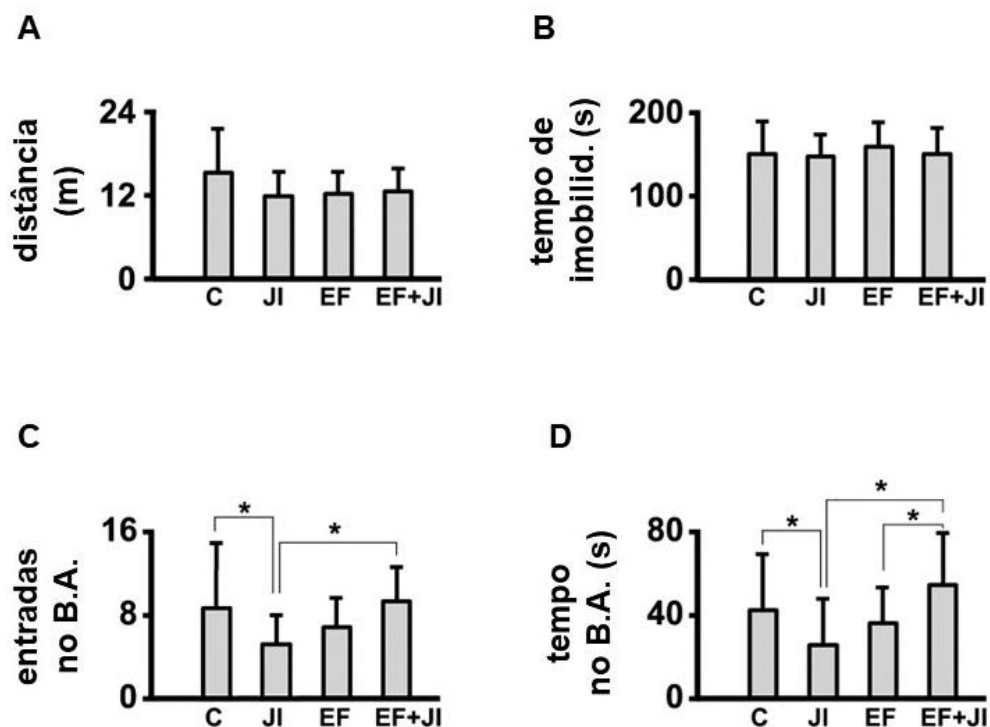
Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34) para os parâmetros distância percorrida (m), tempo de imobilidade (s), número de entradas e tempo de permanência no centro (s) do teste do campo aberto - exploração. Os dados estão representados como média ± desvio padrão. As diferenças entre machos e fêmeas, em cada grupo, não são significativas.

O comportamento indicativo de ansiedade também pode ser observado no teste do labirinto em cruz elevado (**Figura 10**). Semelhante ao campo aberto, não houve diferença entre os grupos para os parâmetros de distância percorrida (C: 15,2 ± 6,3 m vs. JI: 11,9 ± 3,5 m vs. EF: 12,2 ± 3,1 m vs. JI+EF: 12,6 ± 3,2 m) e tempo de imobilidade (C: 141,8 ± 53,4 s vs. JI: 147,9 ± 26,4 s vs. EF: 159,3 ± 29,2 s vs. JI+EF: 150,2 ± 31,2 s) (**Figuras 10A-B**). Mais uma vez, o jejum intermitente reduziu o número de entradas nos braços abertos (JI: 5,4 ± 3,0) e o tempo de permanência (JI: 25,7 ± 22,2 s) nesses braços, em comparação com o grupo controle (8,1 ± 6,3 entradas e tempo de permanência de 42,4 ± 26,9 s). De modo geral, o exercício físico promoveu aumento no número de entradas (EF: 6,9 ± 2,8 vs. JI+EF: 9,3 ± 3,2) e no tempo de permanência (EF: 36,0 ± 17,4 s vs. JI+EF: 54,3 ± 25,0 s) nos braços abertos, sendo esse efeito mais intenso no grupo em que se associou o JI com o EF, quando

comparado ao grupo JI, mas igualou-se, estatisticamente, ao grupo controle (**Figuras 10C-D**).

Figura 10 - Efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre a atividade comportamental de ansiedade no teste do labirinto em cruz elevado.

Labirinto em cruz elevado



(**A**) Distância percorrida (m). (**B**) Tempo de imobilidade (s). (**C**) Número de entradas nos braços abertos. (**D**) Tempo de permanência nos braços abertos (s). Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; $n = 14$; 6 machos), jejum intermitente (JI; $n = 20$; 10 machos), exercício físico (EF; $n = 15$; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; $n = 15$; 7 machos). * $p < 0,001$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak. Legenda: B.A. = braços abertos.

Novamente, a variável sexo (macho/fêmea) dos animais não interferiu nos resultados observados para o teste indicativo de ansiedade no labirinto em cruz elevado (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Representação dos parâmetros do teste do labirinto em cruz elevado para machos e fêmeas.

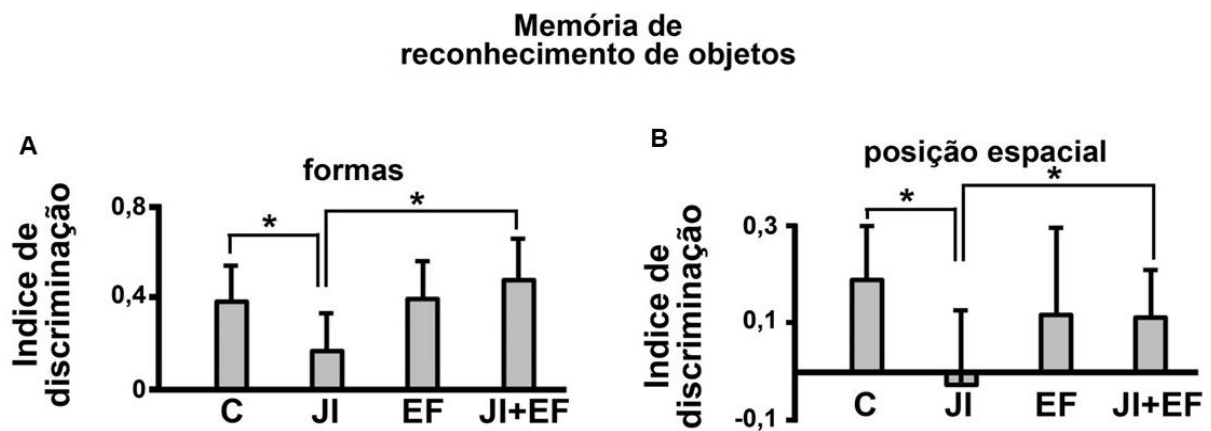
Teste do Labirinto em Cruz Elevado								
Parâmetros	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
Distância	11,4 ±	20,4 ±	9,6 ±	14,7 ±	11,0 ±	14,2 ±	11,0 ±	14,5 ±
(m)	3,6	5,4	2,5	2,3	2,7	3,0	2,4	3,4
Imobilidade	106,8 ±	188,4 ±	129,4 ±	170, ±	150,5 ±	172,4 ±	140,7 ±	161,1 ±
(s)	40,3	23,6	11,4	21,1	30,2	24,0	23,7	19,2
Entradas nos braços abertos	4,4 ±	14,4 ±	4,0 ±	8,6 ±	6,0 ±	8,2 ±	7,5 ±	10,6 ±
	2,3	6,6	1,8	2,3	2,3	3,1	2,9	3,0
Tempo nos braços abertos (s)	23,5 ±	67,6 ±	15,0 ±	41,7 ±	29,3 ±	46,1 ±	40,6 ±	66,4 ±
	14,1	16,3	13,0	24,2	15,0	16,9	21,7	22,1

Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34) para os parâmetros distância percorrida (m), tempo de imobilidade (s), número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos (s) do teste labirinto em cruz elevado. Os dados estão representados como média ± desvio padrão. As diferenças entre machos e fêmeas, em cada grupo, não são significativas.

6.2.2 Comportamento indicativo de memória

Tanto para o teste de memória de reconhecimento de uma forma nova (**Figura 11A**) como de uma posição espacial nova de objetos (**Figura 11B**), os animais do grupo jejum intermitente apresentaram valores menores para o índice de discriminação ($0,17 \pm 0,16$ para forma e $-0,02 \pm 0,15$ para posição espacial) em relação aos grupos controle ($0,38 \pm 0,15$ para forma e $0,19 \pm 0,11$ para posição espacial) e jejum intermitente + exercício físico ($0,48 \pm 0,18$ para forma e $0,11 \pm 0,10$ para posição espacial). Já o grupo de exercício físico não diferiu dos demais ($0,39 \pm 0,16$ para forma e $0,12 \pm 0,18$ para posição espacial). Também para os testes indicativos de memória, não houve diferença estatística entre os dados de machos e fêmeas, permitindo juntá-los nos mesmos grupos sem prejuízos para as análises (**Tabela 5**).

Figura 11 - Efeito do jejum intermitente e do exercício físico sobre a atividade comportamental de memória nos testes de reconhecimento de objetos.



(A) Índice de discriminação no teste de reconhecimento de formas. (B) Índice de discriminação no teste de reconhecimento de posição espacial. Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; n = 14; 6 machos), jejum intermitente (JI; n = 20; 10 machos), exercício físico (EF; n = 15; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; n = 15; 7 machos). * p < 0,001, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

Tabela 5 - Valores de índice de discriminação dos testes de memória de reconhecimento de objetos de machos e fêmeas.

Testes de Memória de Reconhecimento de Objetos								
Índice de discriminação	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
Formas	0,269 $\pm$	0,496 $\pm$	0,083 $\pm$	0,290 $\pm$	0,336 $\pm$	0,456 $\pm$	0,413 $\pm$	0,570 $\pm$
	0,123	0,080	0,159	0,066	0,167	0,141	0,163	0,162
Posição espacial	0,124 $\pm$	0,273 $\pm$	- 0,077	0,041 $\pm$	0,062 $\pm$	0,180 $\pm$	0,071 $\pm$	0,138 $\pm$
	0,085	0,080	$\pm$ 0,142	0,137	0,135	0,205	0,070	0,105

Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34) para os índices de discriminação nos testes de memória de reconhecimento de objetos (forma e posição espacial). Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. As diferenças entre machos e fêmeas, em cada grupo, não são significativas.

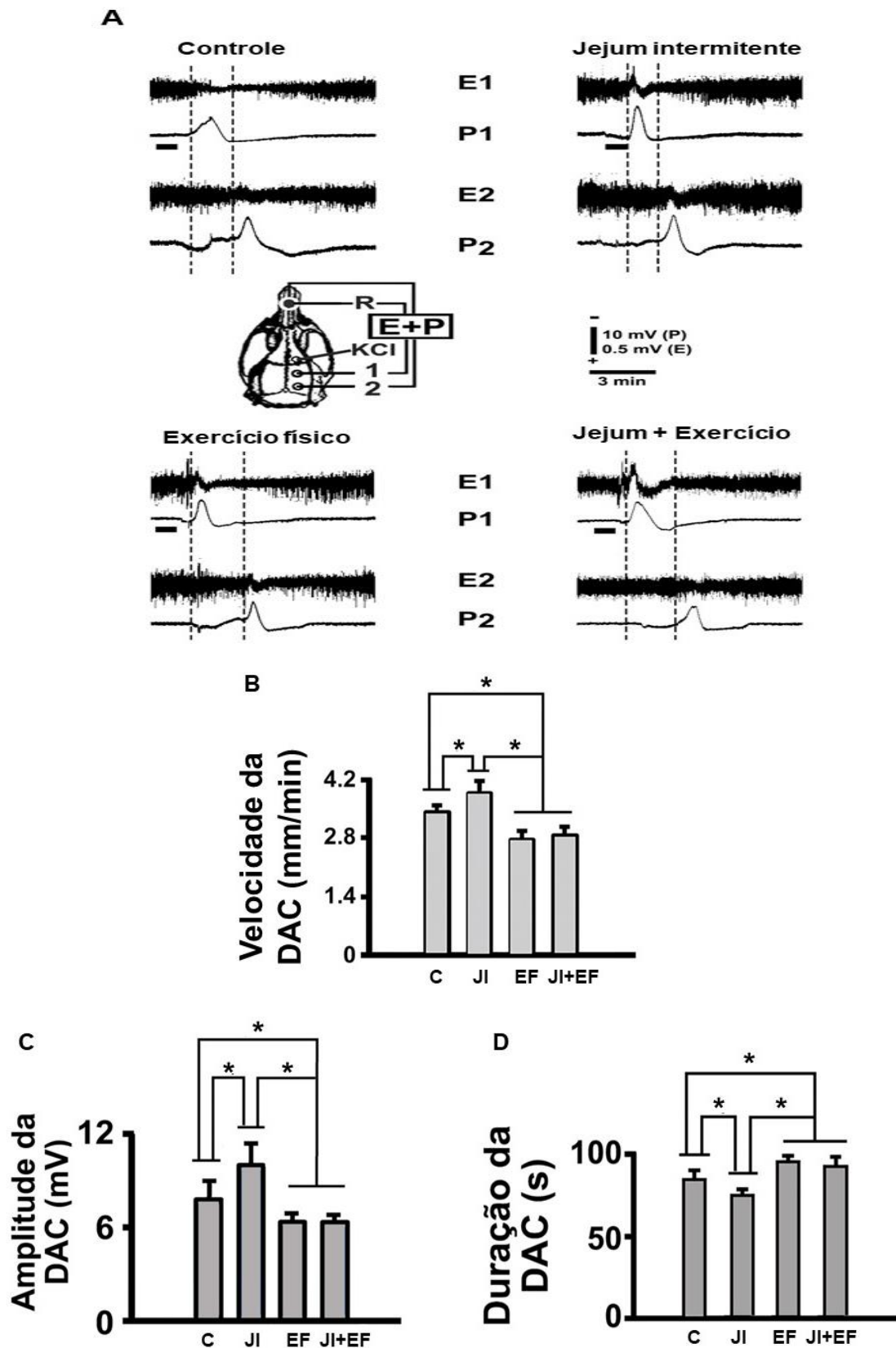
6.3 Parâmetros da depressão alastrante cortical

A estimulação química pela aplicação tópica de uma bolinha de algodão (1 a 2 mm de diâmetro) embebida com cloreto de potássio (KCl) a 2% (aproximadamente

270 mM) no córtex frontal, por 1 minuto, a cada 20 minutos, promoveu, em regra, um único episódio de DAC que se propagou e foi registrado pelos dois eletrodos localizados sobre o córtex parietal (ver métodos). O registro da variação lenta de voltagem (VLV) e a redução no eletrocorticograma (ECoG) confirmaram a presença da DAC após a estimulação com KCl (**Figura 12A**).

No parâmetro de velocidade da DAC, observou-se que o jejum intermitente acelerou (JI: $3,84 \pm 0,28$ mm/min), significativamente ($p < 0,001$), o fenômeno em comparação ao grupo controle (C: $3,35 \pm 0,15$ mm/min), enquanto que o exercício físico, isolado (EF: $2,74 \pm 0,20$ mm/min) e associado ao jejum (JI+EF: $2,86 \pm 0,24$ mm/min), desacelerou a propagação da DAC (**Figura 12B**). De modo semelhante, a amplitude da DAC foi maior no grupo de jejum (JI: $10,03 \pm 0,97$ mV) quando comparado ao controle (C: $7,61 \pm 1,09$ mV), no entanto, os grupos de exercício físico exibiram menores amplitudes para a DAC (EF: $5,98 \pm 0,29$ mV vs. JI+EF: $6,01 \pm 0,31$ mV) (**Figura 12C**). A duração, por sua vez, foi, significativamente ($p < 0,001$), reduzida pelo jejum intermitente (JI: $72,4 \pm 5,0$ s), ao passo que foi aumentada pelo exercício físico (EF: $93,0 \pm 3,1$ s vs. JI+EF: $91,7 \pm 5,9$ s), em relação ao grupo controle (C: $83,2 \pm 4,6$ s) (**Figura 12D**).

Figura 12 - Representações qualitativas e quantitativas dos registros eletrofisiológicos da DAC.



(A) Eletrocorticograma (E) e variação lenta de potencial (P) em dois pontos da superfície do hemisfério direito, mostrando a passagem da DAC. O diagrama do crânio mostra as posições 1 e 2 dos eletrodos

do registro, a posição do eletrodo de referência comum (R) no osso nasal e o ponto de aplicação do estímulo deflagrador da DAC (KCl). As linhas verticais tracejadas indicam a latência da DAC para cruzar a distância entre os eletrodos e as barras horizontais representam a escala temporal de 3 minutos. **(B)** Velocidade da DAC (mm/min). **(C)** Amplitude da DAC (mV). **(D)** Duração da DAC (s). Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; n = 14; 6 machos), jejum intermitente (JI; n = 20; 10 machos), exercício físico (EF; n = 15; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; n = 15; 7 machos). * $p < 0,001$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

Considerando que não foi observada diferença estatística entre os sexos nos parâmetros de DAC avaliados (velocidade, amplitude e duração), foi possível incluir e analisar machos e fêmeas juntos para cada grupo experimental (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Representação quantitativa dos parâmetros da DAC em machos e fêmeas de cada grupo experimental.

Parâmetros DAC	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
Velocidade (mm/min)	3,39 $\pm$ 0,13	3,29 $\pm$ 0,16	3,91 $\pm$ 0,28	3,75 $\pm$ 0,27	2,74 $\pm$ 0,22	2,74 $\pm$ 0,18	2,89 $\pm$ 0,30	2,82 $\pm$ 0,18
Amplitude (mV)	7,47 $\pm$ 1,31	7,79 $\pm$ 0,79	10,00 $\pm$ 0,89	10,06 $\pm$ 1,11	5,88 $\pm$ 0,30	6,12 $\pm$ 0,23	5,92 $\pm$ 0,36	6,15 $\pm$ 0,13
Duração (s)	81,00 $\pm$ 4,41	86,23 $\pm$ 3,10	72,70 $\pm$ 5,91	71,30 $\pm$ 4,22	92,87 $\pm$ 2,20	93,20 $\pm$ 4,15	91,32 $\pm$ 6,62	92,46 $\pm$ 4,50

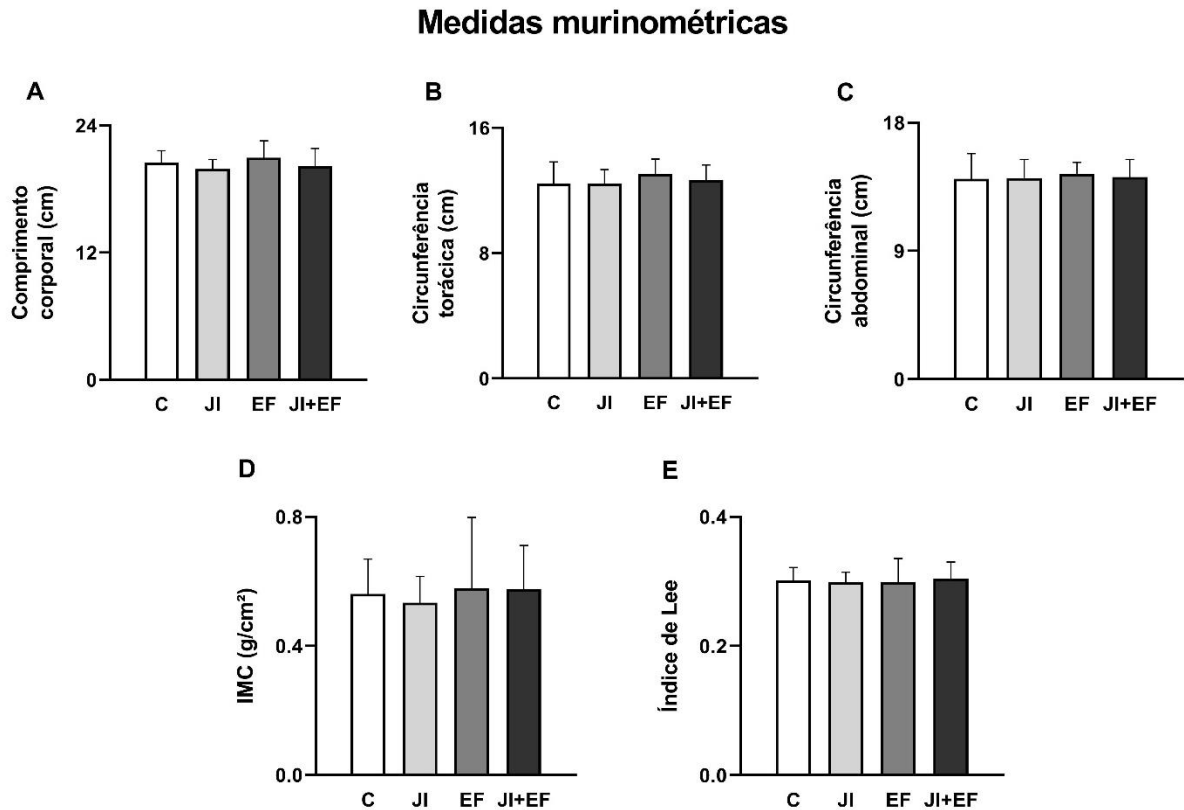
Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34) para os parâmetros da DAC (velocidade, amplitude e duração). Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. As diferenças entre machos e fêmeas, em cada grupo, não são significativas.

6.4 Medidas murinométricas

Os parâmetros murinométricos avaliados após as 8 semanas de intervenção com jejum intermitente e exercício físico em esteira estão mostrados na **Figura 13**. Não houve diferença estatística para as medidas de comprimento corporal, circunferências torácica e abdominal, IMC e Índice de Lee em nenhum dos grupos analisados (**Figuras 13A-E**). Na comparação entre machos e fêmeas observa-se diferenças estatísticas ($p < 0,05$) pontuais entre os parâmetros. No grupo controle, o

sexo influenciou as medidas de circunferência torácica e abdominal. No grupo jejum intermitente, a diferença foi observada na circunferência abdominal, apenas, e para o grupo de exercício físico, o IMC diferiu entre machos e fêmeas (**Tabela 7**).

Figura 13 - Medidas murinométricas após 8 semanas de jejum e exercício.



(A) Comprimento corporal (cm). (B) Circunferência torácica (cm). (C) Circunferência abdominal (cm). (D) IMC (g/cm²) e (E) Índice de Lee. Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; n = 14; 6 machos), jejum intermitente (JI; n = 20; 10 machos), exercício físico (EF; n = 15; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; n = 15; 7 machos). Não há diferenças significantes entre os grupos.

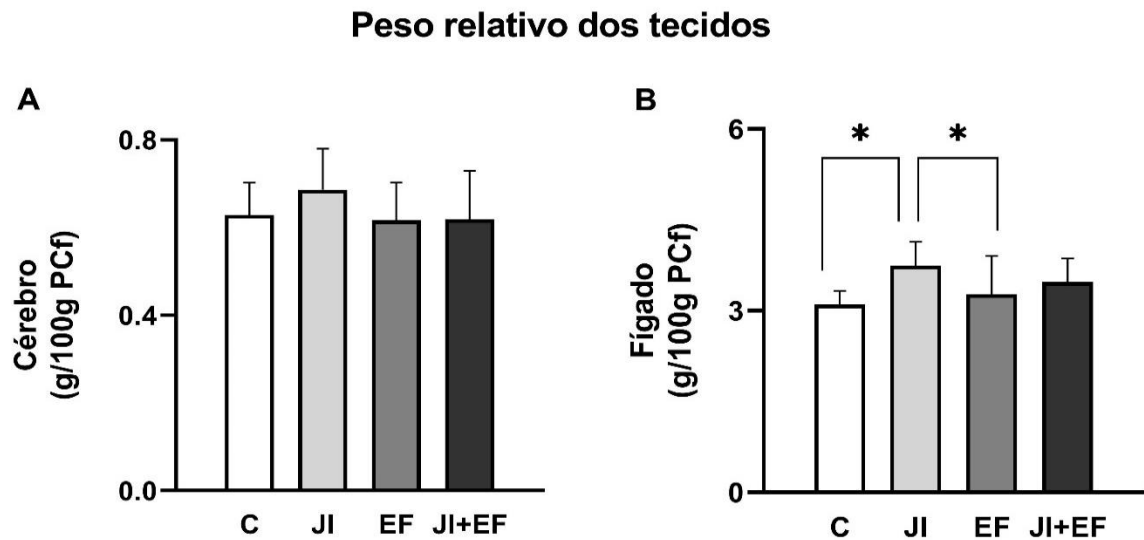
Tabela 7 - Medidas murinométricas de machos e fêmeas de cada grupo experimental.

Medidas murinométricas	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
Comprimento Corporal (cm)	20,0 ± 1,0	21,1 ± 1,1	19,3 ± 0,8	20,5 ± 0,6	20,5 ± 0,6	22,0 ± 2,5	19,6 ± 1,0	21,0 ± 2,3
Circunferência Torácica (cm)	11,7 ± 1,4 *	13,4 ± 0,7	12,0 ± 1,0	12,9 ± 0,5	12,7 ± 0,5	13,9 ± 1,2	12,1 ± 1,1	13,2 ± 0,5
Circunferência Abdominal (cm)	13,0 ± 1,5 *	15,4 ± 1,0	13,4 ± 1,4 *	15,0 ± 0,5	14,1 ± 0,5	15,0 ± 1,0	13,6 ± 1,4	14,9 ± 0,60
IMC (g/cm²)	0,49 ± 0,06	0,66 ± 0,07	0,48 ± 0,05	0,59 ± 0,06	0,48 ± 0,05 *	0,77 ± 0,30	0,51 ± 0,05	0,67 ± 0,17
Índice de Lee	0,29 ± 0,02	0,31 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,33 ± 0,06	0,30 ± 0,01	0,32 ± 0,04

Comparação, entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34), das seguintes medidas murinométricas: comprimento corporal, circunferências torácica e abdominal, IMC e Índice de Lee. Os dados estão representados como média ± desvio padrão. * Significativamente diferente dos valores masculinos correspondentes, $p < 0,05$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

6.5 Peso relativo do cérebro e fígado

Os pesos relativos do cérebro e fígado estão representados na **Figura 14**. O jejum intermitente, o exercício físico e sua associação não interferiram no peso do cérebro (C: $0,63 \pm 0,07$ g vs. JI: $0,69 \pm 0,09$ g vs. EF: $0,62 \pm 0,09$ g vs. JI+EF: $0,62 \pm 0,11$ g) (**Figura 14A**). Por outro lado, observou-se que o jejum intermitente, isoladamente, promoveu aumento ($p < 0,05$) no peso do fígado em relação aos animais controle. Já o grupo de exercício físico reduziu ($p < 0,05$) o peso desse órgão a níveis semelhantes dos animais que não sofreram intervenção (C: $3,10 \pm 0,23$ g vs. JI: $3,74 \pm 0,39$ g vs. EF: $3,27 \pm 0,64$ g vs. JI+EF: $3,47 \pm 0,39$ g) (**Figura 14B**). A variável sexo (macho/fêmea), mais uma vez, não interferiu no peso relativo dos órgãos avaliados (**Tabela 8**).

Figura 14 - Peso relativo do cérebro e do fígado após 8 semanas de jejum e exercício.

Pesos relativos do cérebro em **(A)** e do fígado em **(B)** determinados por g de tecido/100g de peso corporal final. Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; n = 14; 6 machos), jejum intermitente (JI; n = 20; 10 machos), exercício físico (EF; n = 15; 7 machos) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; n = 15; 7 machos). * p < 0,05, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak. Legenda: PCf = peso corporal final.

Tabela 8 - Valores referentes aos pesos relativos do cérebro e do fígado em machos e fêmeas de cada grupo.

Peso relativo (g)	Grupos/Sexo (n)							
	C (14)		JI (20)		EF (15)		JI+EF (15)	
	F	M (6)	F	M (10)	F	M (7)	F	M (7)
Cérebro	0,66 $\pm$ 0,08	0,59 $\pm$ 0,05	0,73 $\pm$ 0,09	0,64 $\pm$ 0,07	0,65 $\pm$ 0,08	0,56 $\pm$ 0,08	0,67 $\pm$ 0,11	0,55 $\pm$ 0,08
Fígado	3,10 $\pm$ 0,21	3,10 $\pm$ 0,27	3,66 $\pm$ 0,32	3,83 $\pm$ 0,46	3,18 $\pm$ 0,29	3,44 $\pm$ 1,09	3,44 $\pm$ 0,16	3,52 $\pm$ 0,57

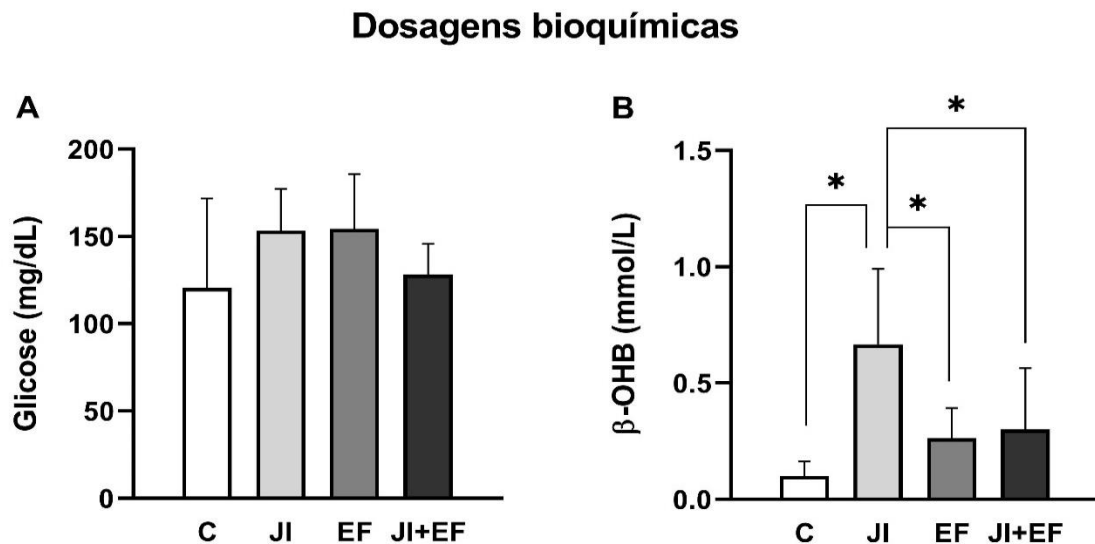
Comparação entre machos (n = 30) e fêmeas (n = 34) para os pesos relativos do cérebro e do fígado. Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Não há diferenças significativas entre machos e fêmeas, em cada grupo.

6.6 Concentrações séricas de glicose e β -hidroxibutirato

As variáveis estudadas não interferiram nas concentrações séricas de glicose, avaliada após o fim dos protocolos (C: 120,5 $\pm$ 51,2 mg/dL vs. JI: 153,2 $\pm$ 24,0 mg/dL vs. EF: 154,4 $\pm$ 31,3 mg/dL vs. JI+EF: 128,0 $\pm$ 18,0 mg/dL) (**Figura 15A**). Para as

dosagens séricas de beta-hidroxibutirato (β -OHB), observou-se que o jejum intermitente foi responsável por aumentar ($p < 0,05$) essas concentrações em relação aos demais grupos, enquanto que o exercício físico reduziu ($p < 0,05$), tornando-se semelhante aos níveis do grupo controle (C: $0,10 \pm 0,06$ mmol/L vs. JI: $0,67 \pm 0,32$ mmol/L vs. EF: $0,26 \pm 0,13$ mmol/L vs. JI+EF: $0,30 \pm 0,26$ mmol/L) (**Figura 15B**). As comparações entre machos e fêmeas não foram realizadas para esses parâmetros devido ao menor número de animais utilizados.

Figura 15 - Níveis séricos de glicose e β -OHB (beta-hidroxibutirato) após 8 semanas de jejum intermitente e exercício físico.



Concentrações séricas de glicose (mg/dL) em **(A)** e de beta-hidroxibutirato [β -OHB] (mmol/L) em **(B)** determinadas após o fim das 8 semanas de intervenção com jejum intermitente e exercício físico. Os dados estão representados como média $\pm$ desvio padrão. Os grupos são denominados controle (C; $n = 6$), jejum intermitente (JI; $n = 9$), exercício físico (EF; $n = 8$) e jejum intermitente + exercício físico (JI+EF; $n = 8$). * $p < 0,05$, two-way ANOVA, seguido do pós-teste de Holm-Sidak.

6.7 Artigo publicado

Os dados experimentais aqui expostos originaram a publicação do artigo científico intitulado “*Treadmill Exercise Reverses the Adverse Effects of Intermittent Fasting on Behavior and Cortical Spreading Depression in Young Rats*” (**Apêndice**) na revista indexada *Brain Sciences* (fator de impacto = 3,4), volume 13, em 2023, propiciando uma maior divulgação dos achados e contribuindo para a ampliação do conhecimento no âmbito científico.

7 DISCUSSÃO

Como aspecto de inovação, este estudo relata o efeito do jejum intermitente (JI), sozinho ou combinado ao exercício físico (EF), sobre comportamentos indicativos de ansiedade e memória, bem como sobre a excitabilidade cerebral, avaliada pela depressão alastrante cortical (DAC). Nossos principais achados sugerem que, quando iniciado em idade precoce nos ratos, o JI piora os comportamentos relacionados à ansiedade (aumentando-a) e memória (diminuindo-a). Adicionalmente, torna o cérebro mais propenso a propagar a DAC, acelerando-a, a julgar pelas mais altas velocidades de propagação do fenômeno. Por outro lado, o EF, combinado ao JI, parece reverter os efeitos negativos deste, promovendo melhora na ansiedade e memória, bem como desacelerando a propagação da DAC.

Na literatura, o JI está comumente associado à perda de peso corporal e é, muitas vezes, apontado como uma estratégia alimentar interessante para o tratamento do sobrepeso e obesidade, haja visto os resultados obtidos em alguns estudos realizados com ratos adultos (DAVIS et al., 2021; SMYERS et al., 2021; GARCÍA-LUNA et al., 2023;). No entanto, no presente trabalho só foi possível observar que o JI favoreceu a redução do peso corporal dos animais quando confrontado com o grupo de exercício físico, mas não em relação ao controle. Da mesma forma, o EF não promoveu alterações no peso corporal em relação ao grupo controle, como também demonstrado anteriormente (MONTEIRO et al., 2015; CARVALHO et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2021).

Atrelado a isso, não foram observados efeitos importantes das intervenções avaliadas sobre o consumo de ração relativo e medidas murinométricas. Em contrapartida, destacaram-se apenas efeitos pontuais do JI, EF e do sexo dos animais no consumo, circunferências torácica e abdominal e IMC, sendo necessário maiores investigações para um melhor entendimento desses resultados. Além disso, foi demonstrado anteriormente que o JI promoveu deposição lipídica no fígado e proliferação de hepatócitos (YIN et al., 2023; SARKAR et al., 2023), o que pode, em parte (embora não avaliado neste estudo), explicar o aumento do peso relativo do fígado no grupo submetido ao jejum, e indicar que os efeitos do JI são mais pronunciados no fígado do que no cérebro (SOROCHYNSKA et al., 2019).

Certamente o sexo é uma variável importante a ser considerada nos estudos, uma vez que pode ser responsável por promover variabilidade nos parâmetros

avaliados, como foi observado aqui para o peso corporal e também demonstrado por outros autores (POOLEY et al., 2018; FORIGHT et al., 2020). No entanto, ao considerar a comparação entre machos e fêmeas para as variáveis mais importantes do presente estudo, comportamento e DAC, foi possível observar que o sexo não gerou efeito adicional sobre os dados avaliados, permitindo agrupar os animais sem maiores prejuízos para a análise desses parâmetros. Adicionalmente, isso reforça a importância de investigar e padronizar a fase do ciclo estral em que se encontram as ratas, uma vez que foi observado no proestro, por exemplo, níveis de ansiedade semelhantes aos encontrados nos machos e igual suscetibilidade à DAC (EBINE et al., 2016; ROCKS; CHAM; KUNDAKOVIC, 2022).

Os dados obtidos a partir dos testes utilizados para detectar comportamentos ligados à ansiedade, demonstraram que os animais do grupo jejum intermitente entraram menos e gastaram menos tempo no centro do campo aberto e nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (LCE), o que sugere um efeito ansiogênico do jejum intermitente, nessa idade. Atrelado a isso, a redução do índice de discriminação nos testes indicativos de memória, ou seja, a menor exploração das posições e objetos novos, sugere uma piora da memória causada pelo JI.

Os efeitos ansiogênico e de piora da memória do JI, propostos aqui, contrastam com as evidências mais comumente citadas na literatura. Esses resultados discordantes podem ser atribuídos a alguns fatores metodológicos que os diferenciam, como por exemplo, a espécie avaliada (*camundongo versus rato*). Embora camundongos e ratos sejam evolutivamente semelhantes, existem diferenças significativas entre as espécies, inclusive em relação a estrutura dos neurônios (exemplos: comprimento total dendrítico, tamanho e densidade da espinha dendrítica, potencial de membrana em repouso etc.), o que dificulta as comparações diretas (CHEN et al., 2022).

Camundongos fêmeas com oito semanas de idade submetidos a JI por três meses exibiram melhor retenção de memória de longo prazo (DIAS et al., 2021). Por outro lado, o jejum em dias alternados durante seis semanas não afetou a formação da memória em ratos machos (KHABOUR et al., 2013). Além disso, em humanos, as evidências permanecem inconclusivas, uma vez que o Ramadã foi responsável por ora melhorar, ora não interferir na ansiedade, bem-estar ou humor, e ainda, promover recaídas nos episódios de transtorno bipolar e piorar os sintomas de esquizofrenia

(AKBARI et al., 2022; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2022; FAWZI et al., 2015; EDDAHBY; KADRI; MOUSSAOUI, 2014).

Como já mencionado, jejum intermitente consiste em um termo guarda-chuva, que abrange uma série de protocolos distintos de restrição alimentar (ver Quadro 1), o que dificulta a padronização da metodologia utilizada entre os estudos, proporcionando resultados heterogêneos. Além disso, grande parte dos estudos utiliza modelos experimentais de determinada doença, diferente dos animais utilizados nesta pesquisa, que estavam clinicamente saudáveis. Liu, Z. et al. (2020) observaram, a partir do labirinto aquático de Morris, que o JI em intervalos de 24 horas durante 28 dias, melhorou a memória espacial de camundongos diabéticos com 3 meses de idade. Jejum de 18 horas diárias por 3 meses reduziu a ansiedade de ratos controles e diabéticos com 12-14 semanas de vida (ELESAWY et al., 2021), avaliada pelo teste do labirinto em cruz elevado (LCE). Zhang et al. (2020) demonstraram, também em LCE, que camundongos (7-8 semanas) com colite tiveram os sintomas de ansiedade atenuados após JI de 16 horas por 36 dias.

Outro fator que pode contribuir para a diversidade dos resultados é a idade dos animais. Diferente da maioria dos estudos disponíveis na literatura, que utilizam animais adultos ou idosos, nossa análise focou os efeitos do JI no período de desenvolvimento. Esta fase é considerada crítica para o neurodesenvolvimento, uma vez que o sistema nervoso se desenvolve durante um longo período, desde a fase embrionária até a puberdade, tanto em ratos como em humanos (RICE; JUNIOR, 2000). Fatores ambientais, incluindo aspectos dietéticos, podem interferir no desenvolvimento do cérebro durante o início da vida, trazendo efeitos duradouros e muitas vezes irreversíveis ao desenvolvimento cognitivo e à saúde mental. Portanto, os efeitos do JI em um organismo em desenvolvimento podem ser considerados de forma diferente daqueles efeitos no cérebro já desenvolvido (KADOSH et al., 2021; SCHMITT et al., 2014). Embora o JI pareça benéfico na idade adulta, o mesmo não acontece nos organismos em desenvolvimento.

Além disso, a nutrição materna durante a gravidez afeta profundamente o crescimento e desenvolvimento da prole ao longo da vida (NEVINS et al., 2021). Considerando o período embrionário como crítico no neurodesenvolvimento e análogo à fase perinatal, é relevante considerar as alterações provocadas pelo JI na gestação. No entanto, esses efeitos sobre o desenvolvimento e a saúde fetal ainda não estão bem definidos. Embora as mulheres muçulmanas grávidas estejam isentas de jejuar

durante o Ramadã, muitas delas ainda optam por participar (ALMOND; MAZUMDER, 2011). Logo, os estudos que submetem os animais ao modelo de JI do Ramadã resultam em um perfil alterado de metabólitos placentários, redução do transporte de aminoácidos placentários e restrição do crescimento fetal (ALKHALEFAH et al., 2021). O comprometimento da função placentária e do crescimento fetal pode interferir no desenvolvimento, com efeitos potencialmente duradouros na fisiologia da prole mais tarde na vida e uma maior predisposição para doenças (ALKHALEFAH et al., 2022).

Nossos achados também apontam a ação do JI na modulação da excitabilidade cerebral, aumentando a velocidade de propagação da DAC. Até onde sabemos, este é o primeiro relato do efeito acelerador do JI no fenômeno da depressão alastrante em ratos jovens. A literatura disponível que mais se aproxima trata do efeito do jejum agudo de 24 horas no aumento da excitabilidade da atividade neural, especificamente no bulbo olfatório de camundongos com oito semanas de idade (WU, J. et al., 2020). Por outro lado, dietas cetogênicas e JI estão associadas à redução da excitabilidade neuronal em animais (BOUGH; SCHWARTZKROIN; RHO, 2003), o que difere dos dados atuais. Como os resultados são controversos e os mecanismos exatos ainda precisam ser totalmente determinados, são necessários mais estudos.

Um corpo crescente de evidências científicas indica que o EF promove efeitos benéficos na saúde física e mental em humanos e modelos animais (JIMÉNEZ-PAVÓN; BARBONELL-BAEZA; LAVIE, 2020; MELO et al., 2019; CASSILHAS et al., 2012; CASSILHAS et al., 2010). Nossos achados indicaram que o EF em esteira melhorou a memória e reduziu o comportamento semelhante à ansiedade dos ratos em comparação ao JI. Em concordância com esses resultados, a literatura tem demonstrado que o EF, seja voluntário em roda de atividade ou forçado em esteira, alivia o comportamento de ansiedade e recupera a memória em roedores (REN; ZHANG; ZHANG, 2022; FAN et al., 2022; WU, C. et al., 2020; TAI et al., 2020). O efeito benéfico do nosso paradigma de exercício moderado sobre o comportamento foi menor do que se poderia esperar dos dados da literatura. Um paradigma de exercício mais intenso ou duradouro provavelmente produziria efeitos mais evidentes no comportamento.

Potenciais mecanismos envolvidos nos benefícios do EF sobre a atividade cerebral, incluem: neurogênese e angiogênese no hipocampo, ativação e modulação de neurotrofinas e fatores de crescimento (SOUSA et al., 2021). O EF potencializa a

geração de novos neurônios (neurogênese) e estimula a formação de novos vasos (angiogênese), o que contribui para a memória e aprendizagem espacial (CASSILHAS; TUFIK; MELLO, 2016). Dessa forma, o EF vem recebendo mais interesse como um método não medicamentoso de manter a saúde do cérebro e tratar condições neurodegenerativas e/ou psiquiátricas.

Os mecanismos acima citados também ajudam a compreender o papel do EF na atividade eletrofisiológica do cérebro, a partir da análise da DAC. Acredita-se que o EF, ao estimular a neurogênese, angiogênese e sinaptogênese, melhora o fluxo sanguíneo local e aumenta a distância a ser percorrida pela comunicação célula-célula, possivelmente desacelerando a DAC (MONTEIRO et al., 2011). Esses dados estão de acordo com estudos anteriores que mostram que o EF em esteira pode antagonizar a propagação da DAC em ratos (BATISTA-DE-OLIVEIRA et al., 2012; MONTEIRO et al., 2015).

O EF tem sido associado à melhora da neurotoxicidade e alívio do estresse oxidativo no cérebro (VITOR-DE-LIMA et al., 2017; SHAHANDEH et al., 2013). Foi demonstrado que a corrida em esteira inibiu o estado oxidativo e aumentou a capacidade antioxidante no hipocampo de ratos (CECHETTI et al., 2012). Estudos anteriores envolvendo excitabilidade neuronal mostraram que a administração de agentes antioxidantes está associada a redução da velocidade de propagação da DAC (ABADIE-GUEDES et al., 2012; 2016; MENDES-DA-SILVA et al., 2014; 2018). Embora não investigado neste estudo, mas baseado na literatura disponível (LIMA et al., 2014), a modulação do estado redox por meio de vias glutamato/GABA dependentes, pode indicar outro mecanismo pelo qual o EF exerce efeitos sobre a excitabilidade neuronal e, conseqüentemente, influencia a DAC.

Tomados de maneira geral, os resultados apresentados neste estudo demonstram que o EF teve uma tendência de reverter e contrastar os efeitos promovidos pelo JI. Não foi diferente na avaliação do peso do fígado e na dosagem das concentrações séricas de beta-hidroxibutirato (β -OHB). O β -OHB é um corpo cetônico que pode ser utilizado como indicador de cetogênese, uma vez que, em condições basais, encontra-se duas vezes mais abundante do que o acetatoacetato (MARCOUX et al., 2022). Dessa forma, as concentrações elevadas de β -OHB no grupo JI (Figura 15) podem ser justificadas pelo aumento da conversão de ácidos graxos oriundos da lipólise em corpos cetônicos desencadeado pelo jejum prolongado (SUI et al., 2022; VELDSCHOLTE et al., 2023).

Por outro lado, o EF, sozinho ou combinado com JI, não demonstrou alterações nos níveis de β -OHB quando comparado ao grupo controle, semelhante ao observado por Kwak et al. (2021) em camundongos idosos. Já os estudos de Kim et al. (2023) e Vieira et al. (2022) demonstraram que uma sessão única de EF e EF associado ao JI, respectivamente, foram capazes de aumentar as concentrações de β -OHB em roedores. Dessa forma, resta saber, ainda, se as alterações desencadeadas pelo EF sobre intermediários metabólicos (por exemplo: β -OHB) dependem do tipo e da intensidade do exercício.

Em resumo, o JI em ratos jovens piora o comportamento semelhante à ansiedade e a memória e acelera a DAC, enquanto o EF melhora os aspectos comportamentais da ansiedade e da memória e desacelera a DAC. Além disso, o EF, quando associado ao JI, poderia reverter seus efeitos adversos sobre o cérebro, como já demonstrado anteriormente (SOARES et al., 2021; CHERIF et al., 2016). Portanto, esses achados indicam que combinar tais fatores é a escolha mais indicada, uma vez que o EF interage com elementos dietéticos, modulando o metabolismo energético e a plasticidade sináptica, o que promove efeitos positivos no funcionamento cerebral.

8 CONCLUSÃO

Com base nos achados deste estudo pode-se concluir que o jejum intermitente piora os comportamentos relacionados à memória e à ansiedade quando utilizado em ratos jovens, bem como acelera o fenômeno da DAC. Além disso, este estudo reforça dados anteriores em relação ao efeito protetor do exercício físico sobre o cérebro, melhorando os comportamentos de memória e ansiedade e desacelerando a DAC. E, ainda, indica que a associação entre o jejum intermitente e o exercício físico pode ser importante para a saúde cerebral, uma vez que o exercício, quando combinado ao jejum, é capaz de reverter seus efeitos negativos. No entanto, os mecanismos subjacentes a estes efeitos ainda não estão totalmente elucidados, principalmente em se tratando de idades mais jovens, o que faz necessário mais investigações nesse contexto.

REFERÊNCIAS

- ABADIE-GUEDES, R.; BEZERRA, R. de S.; GUEDES, R. C. A. Alpha-Tocopherol Counteracts the Effect of Ethanol on Cortical Spreading Depression in Rats of Various Ages, with and without Ethanol Abstinence. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 40, 2016.
- ABADIE-GUEDES, R.; GUEDES, R. C. A.; BEZERRA, R. S. The Impairing Effect of Acute Ethanol on Spreading Depression is Antagonized by Astaxanthin in Rats of two Young-Adult Ages. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 36, 2012.
- ACCIOLLY, N. E. et al. Ovariectomy in the Developing Rat Decelerates Cortical Spreading Depression in Adult Brain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, 2012.
- ACCIOLLY, N. E.; GUEDES, R. C. A. Topical Cortical Application of Ovarian Hormones and Modulation of Brain Electrical Activity: Analysis of Spreading Depression in Well-nourished and Malnourished Female Rats. **Nutrition Neuroscience**, v. 23, 2019.
- AKBARI, H. A.; 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, 2022.
- ALKHALEFAH, A. et al. Impact of Maternal Intermittent Fasting During Pregnancy on Cardiovascular, Metabolic and Renal Function in Adult Rat Offspring. **PLoS One**, v. 17, 2022.
- ALKHALEFAH, A. et al. Maternal Intermittent Fasting During Pregnancy Induces Fetal Growth Restriction and Down-Regulated Placental System A Amino Acid Transport in the Rat. **Clinical Science**, v. 135, 2021.
- ALKURD, R. et al. Effect of Calorie Restriction and Intermittent Fasting Regimens on Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels and Cognitive Function in Humans: A Systematic Review. **Medicina**, v. 60, 2024.
- ALI, A. M.; KUNUGI, H. Intermittent Fasting, Dietary Modifications, and Exercise for the Control of Gestational Diabetes and Maternal Mood Dysregulation: A Review and a Case Report. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, 2020.
- ALLARD, J. S. et al. APOE4 Impacts Up-Regulation of Brain-Derived Neurotrophic Factor After Six-Month Stretch and Aerobic Exercise Intervention in Mild Cognitively Impaired Elderly African Americans: A Pilot Study. **Experimental Gerontology**, v. 87, 2017.
- AMARAL-DE-BRITO, A. P. et al. *Valeriana officinalis* Counteracts Rotenone Effects on Spreading Depression in the Rat Brain *in vivo* and Protects Against Rotenone Cytotoxicity Toward Rat Glioma C6 Cells *in vitro*. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, 2020.

ALMOND, D.; MAZUMDER, B. Health Capital and the Prenatal Environment: The Effect of Ramadan Observance During Pregnancy. **American Economic Journal: Applied Economics**, v. 3, 2011.

ANDREOTTI, D. Z. et al. Effects on Physical Exercise on Autophagy and Apoptosis in Aged Brain: Human and Animal Studies. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, 2020.

ANTUNES, M. M. et al. Adipose Tissue is Less Responsive to Food Restriction Anti-Inflammatory Effects Than Liver, Muscle, and Brain in Mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, 2018.

ANTUNES, M.; BIALA, G. The Novel Object Recognition Memory: Neurobiology, Test Procedure, and its Modifications. **Cognitive Processing**, v. 13, 2012.

BAGHERNIYA, M. et al. The Effect of Fasting or Calorie Restriction on Autophagy Induction: A Review of the Literature. **Ageing Research Reviews**, v. 47, 2018.

BAHAMMAM, A. S.; ALMENEESSIER, A. S. Recent Evidence on the Impact of Ramadan Diurnal Intermittent Fasting, Mealtime, and Circadian Rhythm on Cardiometabolic Risk: A Review. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, 2020.

BAHR, L. S. et al. Ketogenic Diet and Fasting Diet as Nutritional Approaches in Multiple Sclerosis (NAMS): Protocol of a Randomized Controlled Study. **Trials**, v. 21, 2020.

BATISTA-DE-OLIVEIRA, M. et al. Aging-Dependent Brain Electrophysiological Effects in Rats After Distinct Lactation Conditions, and Treadmill Exercise: A Spreading Depression Analysis. **Experimental Gerontology**, v. 47, 2012.

BELFIORE, P. et al. Adapted Physical Activity and Stroke: A Systematic Review. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 58, 2018.

BENEVIDES, R. D. L. 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. **Nutrition Neuroscience**, v. 11, 2020.

BÍBLIA, A. T. Josué. In: **Bíblia Sagrada**. Tradução de Antonio Carlos; Donizete, José Ademar e Luiz Gonzaga. 3ª Edição. São Paulo - SP: Editora Paulus, 2013.

BOUJELBANE, M. A. et al. Time-Restricted Feeding and Cognitive Function in Sedentary and Physically Active Elderly Individuals: Ramadan Diurnal Intermittent Fasting as a Model. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022.

BOUGH, K. J.; SCHWARTZKROIN, P. A.; RHO, J. M. Calorie Restriction and Ketogenic Diet Diminish Neuronal Excitability in Rat Dentate Gyrus In Vivo. **Epilepsia**, v. 44, 2003.

BRAZ, G. R. et al. Effect of Moderate Exercise on Peritoneal Neutrophils from Juvenile Rats. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 40, 2015.

BROCCHI, A. et al. Effects of Intermittent Fasting on Brain Metabolism. **Nutrients**, v. 14, 2022.

BYRNE, N. M. et al. Intermittent Energy Restriction Improves Weight Loss Efficiency in Obese Men: The MATADOR Study. **International Journal of Obesity**, v. 42, 2018.

CALZA, A. et al. Neonatal Exposure to Estradiol in Rats Influences Neuroactive Steroid Concentrations, GABA_A Receptor Expression, and Behavioral Sensitivity to Anxiolytic Drugs. **Journal of Neurochemistry**, v. 113, 2010.

CAO, Q. et al. Exercise Ameliorates Fluoride-induced Anxiety- and Depression-like Behavior in Mice: Role of GABA. **Biological Trace Element Research**, v. 200, 2022.

CARLSON, A. P. et al. Cortical Spreading Depression Occurs During Elective Neurosurgical Procedures. **Journal of Neurosurgery**, v. 11, 2017.

CARTERI, R. B. et al. Intermittent Fasting Promotes Anxiolytic-Like Effects Unrelated to Synaptic Mitochondrial Function and BDNF Support. **Behavioral Brain Research**, v. 404, 2021.

CARVALHO, A. dos S. et al. Exercício Físico e seus Benefícios para a Saúde das Crianças: Uma Revisão Narrativa. **Revista CPAQV - Centro de Pesquisas Avançadas em Qualidade de Vida**, v. 13, 2021.

CARVALHO, F. P. de. et al. Central and Peripheral Effects of Physical Exercise without Weight Reduction in Obese and Lean Mice. **Bioscience Reports**, v. 28, 2018.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. F.; CHRISTENSON, G. M. Physical Activity, Exercise and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. **Public Health Reports**, v. 100, 1985.

CASSILHAS, R. C. et al. Mood, Anxiety, and Serum IGF-1 in Elderly Men Given 24 Weeks of High Resistance Exercise. **Perceptual and Motor Skills**, v. 110, 2010.

CASSILHAS, R. C. et al. Spatial Memory is Improved by Aerobic and Resistance Exercise Through Divergent Molecular Mechanisms. **Neuroscience**, v. 202, 2012.

CASSILHAS, R. C.; TUFIK, S.; MELLO, M. T. de. Physical Exercise, Neuroplasticity, Spatial Learning and Memory. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, 2016.

CAVALCANTE, L. P. et al. Intermittent Fasting Compromises the Performance of Eutrophic Rats Submitted to Resistance Training. **Nutrition**, v. 86, 2021.

CECHETTI, F. et al. Forced Treadmill Exercise Prevents Oxidative Stress and Memory Deficits Following Chronic Cerebral Hypoperfusion in the Rat. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 97, 2012.

CERDÁ, B. et al. Gut Microbiota Modification: Another Piece in the Puzzle of the Benefits of Physical Exercise in Health? **Frontiers in Physiology**, v. 7, 2016.

CHAMORRO, A. L. J. et al. The Effects of Intermittent Fasting in the Wistar Rats' Biochemical Parameters. **Ensaio e Ciência**, v. 23, 2019.

CHARLES, A. C.; BACA, S. M. Cortical Spreading Depression and Migraine. **Nature Reviews Neurology**, v. 9, 2013.

CHEN, B. et al. Transient Neuroinflammation Following Surgery Contributes to Long-Lasting Cognitive Decline in Elderly Rats Via Dysfunction of Synaptic NMDA Receptor. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, 2022.

CHEN, W. L. et al. Functional Near-Infrared Spectroscopy and its Clinical Application in the Field of Neuroscience: Advances and Future Directions. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, 2020.

CHEN, Y. et al. Effect of Intermittent versus Chronic Calorie Restriction on Tumor Incidence: A Systematic Review and Meta-Analysis of Animal Studies. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.

CHEN, Y. et al. Physical Exercise Attenuates Age-Related Muscle Atrophy and Exhibits Anti-Ageing Effects Via the Adiponectin Receptor 1 Signaling. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 14, 2023.

CHERIF, A. et al. Effects of Intermittent Fasting, Caloric Restriction, and Ramadan Intermittent Fasting on Cognitive Performance at Rest and During Exercise in Adults. **Sports Medicine**, v. 46, 2016.

CHOI, I. Y. et al. A Diet Mimicking Fasting Promotes Regeneration and Reduces Autoimmunity and Multiple Sclerosis Symptoms. **Cell Reports**, v. 15, 2016.

CIGNARELLA, F. et al. Intermittent Fasting Confers Protection in CNS Autoimmunity by Altering the Gut Microbiota. **Cell Metabolism**, v. 27, 2018.

COLLADO-MATEO, D. et al. Key Factors Associated with Adherence to Physical Exercise in Patients with Chronic Diseases and Older Adults: An Umbrella Review. **International Journal of Environment Research and Public Health**, v. 18, 2021.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA - CFMV. **Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados**. Brasília, 2013.

CONSORTI, A.; MARCO, I.; SANSEVERO, G. Physical Exercise Modulates Brain Physiology Through a Network of Long- and Short-Range Cellular Interactions. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 14, 2021.

CONTARTEZE, R. V. L. et al. Stress Biomarkers in Rats Submitted to Swimming and Treadmill Running Exercises. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 151, 2008.

COSTA-CRUZ, R. R. G.; GUEDES, R. C. A. Cortical Spreading Depression During Streptozotocin-Induced Hyperglycemia in Nutritionally Normal and Early-Malnourished Rats. **Neuroscience Letters**, v. 303, 2001.

COZZOLINO, O. et al. Understanding Spreading Depression from Headache to Sudden Unexpected Death. **Frontiers in Neurology**, v. 9, 2018.

CUNNANE, S. C. et al. Brain Energy Rescue: An Emerging Therapeutic Concept for Neurodegenerative Disorders of Ageing. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 19, 2020.

DAUWAN, M. et al. Physical Exercise Improves Quality of Life, Depressive Symptoms, and Cognition Across Chronic Brain Disorders: A Transdiagnostic Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Journal of Neurology**, v. 268, 2019.

DAVIS, A. E. et al. Differential Weight Loss with Intermittent Fasting or Daily Calorie Restriction in Low- and High-Fitness Phenotypes. **Experimental Physiology**, v. 106, 2021.

DE ALMEIDA, A. A. et al. Resistance Exercise Reduces Seizure Occurrence, Attenuates Memory Deficits and Restores BDNF Signaling In Rats With Chronic Epilepsy. **Neurochemical Research**, v. 42, 2017.

DIAS, G. P. et al. Intermittent Fasting Enhances Long-Term Memory Consolidation, Adult Hippocampal Neurogenesis, and Expression of Longevity Gene Klotho. **Molecular Psychiatry**, v. 26, 2021.

DOMICIANO, A. M. de O.; ARAÚJO, A. P. S. de; MACHADO, V. H. R. Treinamento Aeróbico e Anaeróbico: Uma Revisão. **UNINGÁ Review**, v. 3, 2010.

DONG, T. A. et al. Intermittent Fasting: A Heart Healthy Dietary Pattern? **The American Journal of Medicine**, v. 133, 2020.

DREIER, J. P. The Role of Spreading Depression, Spreading Depolarization and Spreading Ischemia in Neurological Disease. **Nature Medicine**, v. 17, 2011.

EBINE, T. et al. Alterations in the Threshold of the Potassium Concentration to Evoke Cortical Spreading Depression During the Natural Estrous Cycle in Mice. **Neuroscience Research**, v. 1, 2016.

EDDAHBY, S.; KADRI, N.; MOUSSAOUI, D. Fasting During Ramadan is Associated with a Higher Recurrence Rate in Patients with Bipolar Disorder. **World Psychiatry**, v. 13, 2014.

EDDAHBY, S.; KADRI, N.; MOUSSAOUI, D. Ramadan and Bipolar Disorder: Example of Circadian Rhythm Disturbance and its Impact on Patients With Bipolar Disorders. **L'Encéphale**, v. 39, 2013.

ELDOMIATY, M. A. et al. Voluntary Running Improves Depressive Behaviors and the Structure of the Hippocampus in Rats: A Possible Impact of Myokines. **Brain Research**, v.1657, 2017.

ELESAWY, B. H. 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, 2021.

FANN, D. Y. W. et al. Positive Effects of Intermittent Fasting in Ischemic Stroke. **Experimental Gerontology**, v. 89, 2017.

FAN, Y. et al. Different Exercise Time on 5-HT and Anxiety-Like Behavior in the Rat with Vascular Dementia. **American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias**, v. 37, 2022.

FARIS, M. A. I. E. et al. Impact of Diurnal Intermittent Fasting During Ramadan on Inflammatory and Oxidative Stress Markers in Healthy People: Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism**, v. 15, 2019.

FAWZI, M. H. et al. Effect of Ramadan Fasting on Anthropometric, Metabolic, Inflammatory and Psychopathology Status of Egyptian Male Patients with Schizophrenia. **Psychiatry Research**, v. 225, 2015.

FERNANDES, J. et al. A Single Bout of Resistance Exercise Improves Memory Consolidation and Increases the Expression of Synaptic Proteins in the Hippocampus. **Hippocampus**, v. 26, 2016.

FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, R. et al. Does Intermittent Fasting Impact Mental Disorders? A Systematic Review with Meta-Analysis. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 1, 2022.

FORIGHT, R. M. et al. Compensatory Eating Behaviors in Male and Female Rats in Response to Exercise Training. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 319, 2020.

FRANCISCO, E. S.; GUEDES, R. C. A. Neonatal Taurine and Alanine Modulate Anxiety-Like Behavior and Decelerate Cortical Spreading Depression in Rats Previously Suckled Under Different Litter Sizes. **Amino Acids**, v. 47, 2015.

FRANCISCO, E. S.; GUEDES, R. C. A. Sub-Convulsing Dose Administration of Pilocarpine Reduces Glycemia, Increases Anxiety-Like Behavior and Decelerates Cortical Spreading Depression in Rats Suckled on Various Litter Sizes. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, 2018.

GARCÍA-LUNA, C. et al. Effects of Intermittent Fasting on Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis, Palatable Food Intake, and Body weight in Stressed Rats. **Nutrients**, v. 15, 2023.

GANESAN, K.; HABBOUSH, Y.; SULTAN, S. Intermittent Fasting: The Choice for a Healthier Lifestyle. **Cureus**, v. 10, 2018.

GIBBONS, T. D. et al. Fasting for 20 h Does not Affect Exercise-Induced Increases in Circulating BDNF in Humans. **The Journal of Physiology**, v. 1, 2023.

GOH, J.; LADIGES, W. Voluntary Wheel Running in Mice. **Current Protocols in Mouse Biology**, v. 5, 2016.

GOLBIDI, S. et al. Health Benefits of Fasting and Caloric Restriction. **Current Diabetes Reports**, v. 17, 2017.

GONDIM-SILVA, K. R. et al. Neonatal Pyridoxine Administration Long Lastingly Accelerates Cortical Spreading Depression in Male Rats, without Affecting Anxiety-Like Behavior. **Nutritional Neuroscience**, v. 0, 2019.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, S. A. et al. Exercise Exacerbates the Transcriptional Profile of Hypoxia, Oxidative Stress and Inflammation in Rats with Adjuvant-Induced Arthritis. **Cells**, v. 8, 2019.

GOTTHARDT, J. D. et al. Intermittent Fasting Promotes Fat Loss with Lean Mass Retention, Increased Hypothalamic Norepinephrine Content, and Increased Neuropeptide Y Gene Expression in Diet-Induced Obese Male Mice. **Endocrinology**, v. 157, 2016.

GRAJOWER, M. M.; HORNE, B. D. Clinical Management of Intermittent Fasting in Patients with Diabetes Mellitus. **Nutrients**, v. 11, 2019.

GRASDALSMOEN, M. et al. Physical Exercise, Mental Health Problems, and Suicide Attempts in University Students. **BMC Psychiatry**, v. 20, 2020.

GUBERT, C. et al. Exercise Diet and Stress as Modulators of Gut Microbiota: Implications for Neurodegenerative Diseases. **Neurobiology of Disease**, v. 134, 2020.

GUDDEN, J.; VASQUEZ, A. A.; BLOEMENDAAL, M. The Effects of Intermittent Fasting on Brain and Cognitive Function. **Nutrients**, v. 13, 2021.

GUEDES, R. C. A. et al. Early Malnutrition Attenuates the Impairing Action of Naloxone on Spreading Depression in Young Rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 16, 2013.

GUEDES, R. C. A. et al. Evidence of an Inverse Correlation Between Serotonergic Activity and Spreading Depression Propagation in the Rat Cortex. **Brain Research**, v. 1672, 2017.

GUEDES, R. C. A.; ABADIE-GUEDES, R. Brain Aging and Electrophysiological Signaling: Revisiting the Spreading Depression Model. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 11, 2019.

GUEDES, R. C. A.; AMORIM, L. F.; TEODÓSIO, N. R. Effect of Aging on Cortical Spreading Depression. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 29, 1996.

GUEDES, R. C. A.; BARRETO, J. M. Effect of Anesthesia on the Propagation of Cortical Spreading Depression in Rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 25, 1992.

GUEDES, R. C. A.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; TEODÓSIO, N. R. Nutrição Adequada: A Base do Funcionamento Cerebral. **Ciência e Cultura**, v. 56, 2004.

GUEDES, R. Chapter 148 – Cortical Spreading Depression: A Model for Studying Brain Consequences of Malnutrition. *In*: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.; MARTIN, C. R. **Handbook of Behavior, Food and Nutrition**. V. 1, Springer, 2011.

HANJANI, N. H. 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**, v. 36, 2022.

HARTMAN, A. L.; RUBENSTEIN, J. E.; KOSSOFF, E. H. Intermittent Fasting: A “New” Historical Strategy for Controlling Seizures? **Epilepsy Research**, v. 104, 2013.

HAZZAA, S. 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, 2020.

IFTIKHAR, W. et al. Migrainous Infarction and Cortical Spreading Depression. **Discoveries**, v. 8, 2020.

INTZANDT, B.; BECK, E. N.; SILVEIRA, C. R. A. The Effects of Exercise on Cognition and Gait in Parkinson’s Disease: A Scoping Review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 95, 2018.

IRFANNUDDIN, I. et al. The Effect of Ketogenic Diets on Neurogenesis and Apoptosis in the Dentate Gyrus of the Male Rat Hippocampus. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 71, 2021.

IZQUIERDO-ALVENTOSA, R. et al. Low-Intensity Physical Exercise Improves Pain Catastrophizing and Other Psychological and Physical Aspects in Women with Fibromyalgia: A Randomized Controlled Trial. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, 2020.

JEONG, J. H. et al. Intermittent Fasting is Neuroprotective in Focal Cerebral Ischemia by Minimizing Autophagic Flux Disturbance and Inhibiting Apoptosis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 12, 2016.

JIMÉNEZ-PAVÓN, D.; CARBONELL-BAEZA, A.; LAVIE, C. J. Physical Exercise as Therapy to Fight Against the Mental and Physical Consequences of COVID-19 Quarantine: Special Focus in Older People. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 63, 2020.

JOSLIN, P. M. N.; BELL, R. K.; SWOAP, S. J. Obese Mice on a High-Fat Alternate-Day Fasting Regimen Lose Weight and Improve Glucose Tolerance. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, 2017.

KADOSH, K. C. et al. Nutritional Support of Neurodevelopment and Cognitive Function in Infants and Young Children – An Update and Novel Insights. **Nutrients**, v. 13, 2021.

KANDOLA, A. et al. Physical Activity and Depression: Towards Understanding the Antidepressant Mechanisms of Physical Activity. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 107, 2019.

KANDOLA, A.; STUBBS, B. Chapter 23 – Exercise and Anxiety. *In*: XIAO, J. **Physical Exercise for Human Health (Advances in Experimental Medicine and Biology)**. V. 1228, Springer, 2020.

KAZEMINIA, M. et al. The Effect of Exercise on Anxiety in the Elderly Worldwide: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Health and Quality of Life Outcomes**, v. 18, 2020.

KELLEY, E. et al. Cardiorespiratory Fitness Is Inversely Associated with Clustering of Metabolic Syndrome Risk Factors: The Ball State Adult Fitness Program Longitudinal Lifestyle Study. **Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes**, v.8, 2018.

KERNDT, P. R. et al. Fasting: The History, Pathophysiology and Complications. **The Western Journal of Emergency Medicine**, v. 137, 1982.

KHABOUR, O. F. et al. Changes in Spatial Memory and BDNF Expression to Simultaneous Dietary Restriction and Forced Exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 90, 2013.

KIM, S. et al. Contribution of High-Intensity Interval Exercise in the Fasted State to Fat Browning: Potential Roles of Lactate and β -Hydroxybutyrate. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 55, 2023.

KRAEUTER, A.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. Chapter 9 – The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *In*: GUEST, P. C. **Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols (Methods in Molecular Biology 1916)**. V. 1916, Humana Press, 2018.

KRAMER, D. R. et al. Cortical Spreading Depolarization: Pathophysiology, Implications, and Future Directions. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 24, 2016.

KREGEL, K. C. et al. Chapter 3 – Exercise Protocols Using Rats and Mice. *In*: KREGEL, K. C. et al. **Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols**. V. 68, The American Physiological Society, 2006.

KWAK, S. E. et al. Effects of Exercise-Induced Beta-Hydroxybutyrate on Muscle Function and Cognitive Function. **Physiological Reports**, v. 9, 2021.

LAI, Z. et al. Appropriate Exercise Level Attenuates Gut Dysbiosis and Valeric Acid Increase to Improve Neuroplasticity and Cognitive Function After Surgery in Mice. **Molecular Psychiatry**, v. 26, 2021

LAPMANEE, S. et al. Agomelatine, Venlafaxine, and Running Exercise Effectively Prevent Anxiety- and Depression-Like Behaviors and Memory Impairment in Restraint Stressed Rats. **PLoS One**, v. 12, 2017.

LARSEN, M.K.; MATCHKOV, V.V. Hypertension and Physical Exercise: The Role of Oxidative Stress. **Medicina**, v. 2, 2016.

LAURITZEN, M. et al. Clinical Relevance of Cortical Spreading Depression in Neurological Disorders: Migraine, Malignant Stroke, Subarachnoid and Intracranial Hemorrhage, and Traumatic Brain Injury. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 31, 2011.

LEAL, G.; COMPRIDO, D.; DUARTE, C. B. BDNF-Induced Local Protein Synthesis and Synaptic Plasticity. **Neuropharmacology**, v. 76, 2014.

LEÃO, A. A. Further Observations on the Spreading Depression of Activity in the Cerebral Cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 10, 1947.

LEÃO, A. A. Pial Circulation and Spreading Depression of Activity in the Cerebral Cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 7, 1944b.

LEÃO, A. A. Spreading Depression of Activity in the Cerebral Cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 7, 1944a.

LEÃO, A. A.; MORISON, R. S. Propagation of Spreading Cortical Depression. **Journal of Neurophysiology**, v. 8, 1945.

LEMES, I.R. et al. Sedentary Behavior is Associated with Diabetes Mellitus in Adults: Findings of a Cross-Sectional Analysis from the Brazilian National Health System. **Journal of Public Health**, v.41, 2018.

LESSAN, N.; ALI, T. Energy Metabolism and Intermittent Fasting: The Ramadan Perspective. **Nutrients**, v. 11, 2019.

LIDFORS, L. et al. Enriched Cages for Groups of Laboratory Male Rats and Their Effects on Behavior, Weight Gain and Adrenal Glands. **Laboratory Animals**, v. 48, 2014.

LIMA, C. B. et al. Spreading Depression Features and Iba1 Immunoreactivity in the Cerebral Cortex of Developing Rats Submitted to Treadmill Exercise After Treatment with Monosodium Glutamate. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 33, 2014.

LIMA, D. S. C. et al. L-glutamine Supplementation During the Lactation Period Facilitates Cortical Spreading Depression in Well-Nourished and Early-Malnourished Rats. **Life Sciences**, v. 85, 2009.

LIN, T. W.; KUO, Y. M. Exercise Benefits Brain Function: The Monoamine Connection. **Brain Sciences**, v. 3, 2013.

LIRA, C. A. B. et al. Frequency and Intensity of Gastrointestinal Symptoms in Exercisers Individuals at Rest and During Physical Exercise: An Internet-Based Survey. **Intestinal Research**, v. 17, 2019.

LIU, B. et al. Intermittent Fasting Increases Energy Expenditure and Promotes Adipose Tissue Browning in Mice. **Nutrition**, v. 66, 2019.

LIU, Y. et al. SIRT3 Mediates Hippocampal Synaptic Adaptations to Intermittent Fasting and Ameliorates Deficits in APP Mutant Mice. **Nature Communications**, v. 10, 2019.

LIU, Z. et al. Gut Microbiota Mediates Intermittent-Fasting Alleviation of Diabetes-Induced Cognitive Impairment. **Nature Communications**, v. 11, 2020.

LU, Y. et al. Treadmill Exercise Exerts Neuroprotection and Regulates Microglial Polarization and Oxidative Stress in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. **International Journal of Alzheimer's Disease**, v. 56, 2017.

MACEDO, A. P. A. et al. Murinometric Measurements and Retroperitoneal Adipose Tissue in Young Rats Exposed to the High-Fat Diet: Is there Correlation? **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, 2021.

MADDOCK, R. J. Acute Modulation of Cortical Glutamate and GABA Content by Physical Activity. **The Journal of Neuroscience**, v. 36, 2016.

MAHALAKSHMI, B. et al. Possible Neuroprotective Mechanisms of Physical Exercise in Neurodegeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, 2020.

MANCHISHI, S. M. et al. Effect of Caloric Restriction on Depression. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 22, 2018.

MANZANARES, G.; BRITO-DA-SILVA, G.; GANDRA, P.G. Voluntary Wheel Running: Patterns and Physiological Effects in Mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.52, 2019.

MANZANERO, S. et al. Intermittent Fasting Attenuates Increases in Neurogenesis After Ischemia and Reperfusion and Improves Recovery. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 34, 2014.

MARCOUX, C. et al. The Effect of Acute Intermittent and Continuous Hypoxia on Plasma Circulating β OH levels Under Different Feeding Statuses in Humans. **Frontiers in Physiology**, v. 13, 2022.

MATHEW, A. A.; PANONNUMMAL, R. Cortical Spreading Depression: Culprits and Mechanisms. **Experimental Brain Research**, v. 240, 2022.

MATTOS, S. M. et al. Recomendações de Atividade Física e Exercício Físico Durante a Pandemia Covid-19: Revisão de Escopo sobre Publicações no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 25, 2020.

MATTSON, M. P. Energy Intake and Exercise as Determinants of Brain Health and Vulnerability to Injury and Disease. **Cell Metabolism**, v. 16, 2012.

MATTSON, M. P. et al. Impact of Intermittent Fasting on Health and Disease Processes. **Ageing Research Reviews**, v. 29, 2018.

MCCARTHY, C. et al. Ketone Body β -hydroxybutyrate is an Autophagy-Dependent Vasodilator. **JCI Insight**, v. 6, 2021.

MCCOMAS, A. J.; UPTON, A. R. M. Depressão Alastrante Cortical na Enxaqueca – Hora de Reconsiderar? **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 73, 2015.

MEJÍAS-PEÑA, Y. et al. Impact of Resistance Training on the Autophagy-Inflammation-Apoptosis Crosstalk in Elderly Subjects. **Aging**, v. 9, 2017.

MELO, C. S. et al. A Single Session of High-Intensity Interval Exercise Increases Antioxidants Defenses in the Hippocampus of Wistar Rats. **Physiology & Behavior**, v. 211, 2019.

MENDES-DA-SILVA, R. F. et al. Prooxidant *Versus* Antioxidant Brain Action of Ascorbic Acid in Well-Nourished and Malnourished Rats as a Function of Dose: A Cortical Spreading Depression and Malondialdehyde Analysis. **Neuropharmacology**, v. 86, 2014.

MENDES-DA-SILVA, R. F. et al. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Oil During Pregnancy and Lactation Influences Brain Excitability and Cortex Oxidative Status in the Rat Offspring. **Nutritional Neuroscience**, v. 21, 2018.

MIRMIRAN, P. et al. Effects of Ramadan Intermittent Fasting on Lipid and Lipoprotein Parameters: An Updated Meta-Analysis. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 29, 2019.

MONTEIRO, H. M. C., et al. Differential Effects of Physical Exercise and L-Arginine on Cortical Spreading Depression in Developing Rats. **Nutrition Neuroscience**, v. 14, 2011.

MONTEIRO, H. M. C. et al. Physical Exercise Counteracts the Increase in Velocity of Propagation of Cortical Spreading Depression Imposed by Early Over-Nutrition in Rats. **Nutrition Neuroscience**, v. 23, 2018.

MONTEIRO, H. M. C., et al. Physical Exercise Versus Fluoxetine: Antagonistic Effects on Cortical Spreading Depression in Wistar Rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 762, 2015.

MORGAN, J. A. et al. The Effects of Aerobic Exercise on Depression-Like, Anxiety-Like, and Cognition-Like Behaviors Over the Healthy Adult Lifespan of C57BL/6 Mice. **Behavioral Brain Research**, v. 337, 2018.

MU, L. et al. Treadmill Exercise Prevents Decline in Spatial Learning and Memory in 3xTg-AD Mice Through Enhancement of Structural Synaptic Plasticity of the Hippocampus and Prefrontal Cortex. **Cells**, v. 11, 2022.

NASARUDDIN, M. L.; HALIM, S. A. S. A.; KAMARUZZAMAN, M. A. Studying the Relationship of Intermittent Fasting and β -Amyloid in Animal Model of Alzheimer's Disease: A Scoping Review. **Nutrients**, v. 12, 2020.

NEVINS, J. E. H. et al. Omega-3 Fatty Acid Dietary Supplements Consumed During Pregnancy and Lactation and Child Neurodevelopment: A Systematic Review. **The Journal of Nutrition**, v. 151, 2021.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, 1979.

OKUYAMA, J. et al. Mental Health and Physical Activity among Children and Adolescents during the COVID-19 Pandemic. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 253, 2021.

OOI, S. L.; PAK, S. Short-Term Intermittent Fasting for Weight Loss: A Case Report. **Cureus**, v. 11, 2019.

PARK, S.; SHIN, B. K. 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, 2021.

PATEL, H. et al. Aerobic vs Anaerobic Exercise Training Effects on the Cardiovascular System. **World Journal of Cardiology**, v. 9, 2017.

PATTERSON, R. E.; SEARS, D. D. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. **Annual Review of Nutrition**, v. 37, 2017.

PINI, R. T. B. et al. Effects of Cafeteria Diet and Intake on Anxiety, Learning and Memory in Adult Male Rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 20, 2016.

POOLEY, A. E. et al. Sex Differences in the Traumatic Stress Response: PTSD Symptoms in Women Recapitulated in Female Rats. **Biology of Sex Differences**, v. 9, 2018.

RAZALI, N. M.; WAH, Y. B. Power Comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling Tests. **Journal of Statistical Modeling and Analytics**, v. 2, 2011.

REN, H.; ZHANG, Z.; ZHANG, J. Physical Exercise Exerts Neuroprotective Effect on Memory Impairment by Mitigate the Decline of Striatum Catecholamine and Spine Density in a Vascular Dementia Rat Model. **American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias**, v. 37, 2022.

RICE, D.; JUNIOR, S. B. Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, 2000.

ROCHA, A. K. A. de A. et al. Plasticidade do Sistema Nervoso Central Influenciado pelo Exercício Físico: Importância Clínica. **Revista Brasília Médica**, v. 51, 2014.

ROCHA-DE-MELO, A. P. et al. Manipulation of Rat Litter Size During Suckling Influences Cortical Spreading Depression After Weaning and at Adulthood. **Nutritional Neuroscience**, v. 9, 2006.

ROCKS, D.; CHAM, H.; KUNDAKOVIC, M. Why the Estrous Cycle Matters for Neuroscience. **Biology of Sex Differences**, v. 13, 2022.

RUBOVITCH, V. et al. Dietary Energy Restriction Ameliorates Cognitive Impairment in a Mouse Model of Traumatic Brain Injury. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 67, 2019.

RYNDERS, C. A. et al. Effectiveness of Intermittent Fasting and Time-Restricted Feeding Compared to Continuous Energy Restriction for Weight Loss. **Nutrients**, v. 11, 2019.

SANDERS, L. M. J. et al. Effects of Low- and High-Intensity Physical Exercise on Physical and Cognitive Function in Older Persons with Dementia: A Randomized Controlled Trial. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 12, 2020.

SANTOS, H.; MACEDO, R. Impact of Intermittent Fasting on the Lipid Profile: Assessment Associated with Diet and Weight Loss. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 24, 2018.

SARKAR, A. et al. Intermittent Fasting Induces Rapid Hepatocyte Proliferation to Restore the Hepatostat in the Mouse Liver. **Elife**, v. 12, 2023.

SCHEFFER, D. L.; LATINI, A. Exercise-Induced Immune System Response: Anti-inflammatory Status on Peripheral and Central Organs. **BBA – Molecular Basis of Disease**, v. 1866, 2020.

SCHELLINCK, H. M.; CYR, D. P.; BROWN, R. E. Chapter 7 - How Many Ways Can Mouse Behavioral Experiments Go Wrong? Confounding Variables in Mouse Models of Neurodegenerative Diseases and How to Control Them. *In*: BROCKMANN, H. J. et al. **Advances in the Study of Behavior**. V. 41, Academic Press, 2010.

SCHMITT, A. et al. The Impact of Environmental Factors in Severe Psychiatric Disorders. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, 2014.

- SCHOLL, J. L. et al. Sex Differences in Anxiety-Like Behaviors in Rats. **Physiology & Behavior**, v. 211, 2019.
- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, 1968.
- SEGABINAZI, E. et al. Effects of Maternal Physical Exercise on Global DNA Methylation and Hippocampal Plasticity of Rat Male Offspring. **Neuroscience**, v. 418, 2019.
- SELVARAJI, S. et al. Time-Restricted Feeding Modulates the DNA Methylation Landscape, Attenuates Hallmark Neuropathology and Cognitive Impairment in a Mouse Model of Vascular Dementia. **Theranostics**, v. 12, 2022.
- SHAHANDEH, M. et al. Chronic Exercise Training *Versus* Acute Endurance Exercise in Reducing Neurotoxicity in Rats Exposed to Lead Acetate. **Neural Regeneration Research**, v. 8, 2013.
- SHANG, Y.; XIE, H.; YANG, S. The Relationship Between Physical Exercise and Subjective Well-Being in College Students: The Mediating Effect of Body Image and Self-Esteem. **Frontiers in Psychology**, v. 12, 2021.
- SHARP, J. L. et al. Stress-Like Responses to Common Procedures in Male Rats Housed Alone or With Other Rats. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 41, 2002.
- SHEKARCHIAN, M.; PEERI, M.; AZARBAYJANI, M. A. Physical Activity in a Swimming Pool Attenuates Memory Impairment by Reducing Glutamate and Inflammatory Cytokines and Increasing BDNF in the Brain of Mice with Type 2 Diabetes. **Brain Research Bulletin**, v. 201, 2023.
- SHIN, B. K. et al. Intermittent Fasting Protects Against the Deterioration of Cognitive Function, Energy Metabolism and Dyslipidemia in Alzheimer's Disease-Induced Estrogen Deficient Rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, 2018.
- SHOJAIE, M.; GHANBARI, F.; SHOJAIE, N. Intermittent Fasting Could Ameliorate Cognitive Function Against Distress by Regulation of Inflammatory Response Pathway Intermittent Fasting Could Ameliorate Cognitive Function Against Distress. **Journal of Advanced Research**, v. 8, 2017.
- SILVERMAN, M. N.; DEUSTER, P. A. Biological Mechanisms Underlying the Role of Physical Fitness in Health and Resilience. **Interface Focus**, v. 4, 2014.
- SMYERS, M. E. et al. Enhanced Weight and Fat Loss from Long-Term Intermittent Fasting in Obesity-Prone, Low-Fitness Rats. **Physiology & Behavior**, v. 230, 2021.
- SOARES, N. L. 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, 2021.

SOROCHYNSKA, O. M. et al. Every-Other-Day Feeding Decreases Glycolytic and Mitochondrial Energy-Producing Potentials in the Brain and Liver of Young Mice. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 2019.

SOUSA, R. A. L. de. et al. Physical Exercise Effects on the Brain During COVID-19 Pandemic: Links Between Mental and Cardiovascular Health. **Neurological Sciences**, v. 42, 2021.

STAPLES, M. C.; SOMKUWAR, S. S.; MANDYAM, C. D. Developmental Effects of Wheel Running on Hippocampal Glutamate Receptor Expression in Young and Mature Adult Rats. **Neuroscience**, v. 305, 2015.

STEKOVIC, S. et al. Alternate Day Fasting Improves Physiological and Molecular Markers of Aging in Healthy, Non-obese Humans. **Cell Metabolism**, v. 30, 2019.
STOCKMAN, M. C. et al. Intermittent Fasting: Is the Wait Worth the Weight? **Current Obesity Reports**, v. 7, 2018.

STUBBS, B. et al. An Examination of the Anxiolytic Effects of Exercise for People with Anxiety and Stress-Related Disorders: A Meta-Analysis. **Psychiatry Research**, 2017.

STURMAN, O.; GERMAIN, P.; BOHACEK, J. Exploratory Rearing: A Context- and Stress-Sensitive Behavior Recorded in the Open-Field Test. **The International Journal on the Biology of Stress**, v. 21, 2018.

SUI, X. et al. Hepatic Metabolite Responses to 4-Day Complete Fasting and Subsequent Refeeding in Rats. **PeerJ**, v. 10, 2022.

SUJKOWSKI, A. et al. The Protective Role of Exercise Against Age-Related Neurodegeneration. **Ageing Research Reviews**, v. 74, 2022.

SUN, B. et al. The Study on Mechanism of the Modified Chinese Herbal Compound, Jianpijiedu, on a Mouse Model of Hepatic Carcinoma Cachexia. **Molecular Medicine Reports**, v. 14, 2016.

SWAIN, R. A. et al. Prolonged Exercise Induces Angiogenesis and Increases Cerebral Blood Volume in Primary Motor Cortex of the Rat. **Neuroscience**, v. 117, 2003.

TAI, F. et al. Treadmill Exercise Ameliorates Chronic REM Sleep Deprivation-Induced Anxiety-Like Behavior and Cognitive Impairment in C57BL/6J Mice. **Brain Research Bulletin**, v. 164, 2020.

TAMIM, I. et al. Have You Tried Restarting it? Cortical Spreading Depression Shuts Down Seizures by Short-Circuiting Electrical Propagation. **Epilepsy Currents**, v. 22, 2021.

TANG, Y. et al. Effects of Treadmill Exercise on Cerebral Angiogenesis and MT1-MMP Expression after Cerebral Ischemia in Rats. **Brain and Behavior**, v. 8, 2018.

TAVARES, R. L. et al. *Mucuna pruriens* Administration Minimizes Neuroinflammation and Shows Anxiolytic, Antidepressant and Slimming Effects in Obese Rats. **Molecules**, v. 25, 2020.

TÉGLÁS, T. et al. Effects of Long-Term Moderate Intensity Exercise on Cognitive Behaviors and Cholinergic Forebrain in the Aging Rat. **Neuroscience**, v. 411, 2019.

TEMPLEMAN, I. et al. Intermittent Fasting, Energy Balance and Associated Health Outcomes in Adults: Study Protocol for a Randomized Controlled Trial. **Trials**, v. 19, 2018.

TRINDADE-FILHO, E. M.; VASCONCELOS, C. A.; GUEDES, R. C. A. Acute Tryptophan Administration Impairs Cortical Spreading Depression Propagation in REM Sleep Deprived and non-Deprived Adult Rats. **Psychology & Neuroscience**, v. 2:235-241, 2009.

VAN PRAAG, H. et al. Exercise Enhances Learning and Hippocampal Neurogenesis in Aged Mice. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, 2005.

VARMA, V. R. et al. Low-Intensity Daily Walking Activity is Associated with Hippocampal Volume in Older Adults. **Hippocampus**, v. 25, 2015.

VASIM, I.; MAJEED, C. N.; DEBOER, M. D. Intermittent Fasting and Metabolic Health. **Nutrients**, v. 14, 2022.

VELDSCHOLTE, K. et al. Intermittent Feeding with an Overnight Fast Versus 24-h Feeding in Critically Ill Neonates, Infants, and Children: An Open-Label, Single-Centre, Randomized Controlled Trial. **Clinical Nutrition**, v. 42, 2023.

VERONESE, et al. Role of Physical Activity in Ameliorating Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer Disease: A Narrative Review. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v.34, 2018.

VERONESE, N.; REGINSTER, J. Y. The Effects of Calorie Restriction, Intermittent Fasting and Vegetarian Diets on Bone Health. **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 31, 2019.

VIANA, L. C. et al. Litter Size, Age-Related Memory Impairments, and Microglial Changes in Rat Dentate Gyrus: Stereological Analysis and Three-Dimensional Morphometry. **Neuroscience**, v. 238, 2013.

VIEIRA, R. F. L. et al. Time-Restricted Feeding Combined with Aerobic Exercise Training Can Prevent Weight Gain and Improve Metabolic Disorders in Mice Fed a High-Fat Diet. **The Journal of Physiology**, v. 600, 2022.

VITOR-DE-LIMA, S. M. et al. Monosodium Glutamate and Treadmill Exercise: Anxiety-Like Behavior and Spreading Depression Features in Young Adult Rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 22, 2017.

VORKAPIC-FERREIRA, C. et al. Nascidos para Correr: A Importância do Exercício para a Saúde do Cérebro. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 23, 2017.

WELTON, S. et al. Systematic Review - Intermittent Fasting and Weight Loss. **Canadian Family Physician**, v. 66, 2020.

WILLETT, J. A. et al. The Estrous Cycle Modulate Rat Caudate-Putamen Medium Spiny Neuron Physiology. **European Journal of Neuroscience**, v. 52, 2020.

WU, C. et al. Effects of Exercise Training on Anxious-Depressive-Like Behavior in Alzheimer Rat. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 52, 2020.

WU, F. et al. The Effect of Physical Exercise on the Elderly's Anxiety: Based on Systematic Reviews and Meta-Analysis. **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, v. 2022, 2022.

WU, J. et al. Excitability of Neural Activity is Enhanced, but Neural Discrimination of Odors is Slightly Decreased, in the Olfactory Bulb of Fasted Mice. **Genes**, v. 11, 2020.

XIE, K. et al. Every-Other-Day Feeding Extends Lifespan but Fails to Delay Many Symptoms of Aging in Mice. **Nature Communications**, v. 8, 2017.

XIONG, J. et al. Effects of Physical Exercise on Executive Function in Cognitively Healthy Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **International Journal of Nursing Studies**, v. 114, 2021.

YAN, L. et al. Physical Exercise Prevented Stress-Induced Anxiety via Improving Brain RNA Methylation. **Advanced Science**, v. 9, 2022.

YANG, W. et al. Moderate-Intensity Physical Exercise Affects the Exercise Performance and Gut Microbiota of Mice. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, 2021.

YIN, W. et al. Maternal Intermittent Fasting Deteriorates Offspring Metabolism Via Suppression of Hepatic mTORC1 Signaling. **The FASEB Journal**, v. 37, 2023.

YOON, G.; SONG, J. Intermittent Fasting: A Promising Approach for Preventing Vascular Dementia. **Journal of Lipid and Atherosclerosis**, v. 8, 2019.

ZHANG, M. et al. Depression and Anxiety Behavior in a Rat Model of Chronic Migraine. **The Journal of Headache and Pain**, v. 18, 2017.

ZHANG, X. 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, 2020.

ZHOU, Y. et al. Regular Aerobic Exercise Attenuates Pain and Anxiety in Mice by Restoring Serotonin-Modulated Synaptic Plasticity in the Anterior Cingulate Cortex. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 54, 2021.

ZHOU, Z. L. et al. Neuroprotection of Fasting Mimicking Diet on MPTP-Induced Parkinson's Disease Mice via Gut Microbiota and Metabolites. **Neurotherapeutics**, v. 16, 2019.

ZSUGA, J. et al. FND5/Irisin, a Molecular Target for Boosting Reward-Related Learning and Motivation. **Medical Hypotheses**, v. 90, 2016.

ZUBRZYCKI, A. et al. The Role of Low-Calorie Diets and Intermittent Fasting in the Treatment of Obesity and Type-2 Diabetes. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, 2018.

APÊNDICE A - Artigo publicado



Article

Treadmill Exercise Reverses the Adverse Effects of Intermittent Fasting on Behavior and Cortical Spreading Depression in Young Rats

Amanda Ferraz Braz ¹, Maria Luísa Figueira de Oliveira ², Dominique Hellen Silva da Costa ¹, Francisco Leonardo Torres-Leal ³ and Rubem Carlos Araújo Guedes ^{1,*}

¹ Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife 50670-901, PE, Brazil

² Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Pernambuco, Recife 50670-901, PE, Brazil

³ Metabolic Diseases, Exercise and Nutrition Research Group (DOMEN), Department of Biophysics and Physiology, Federal University of Piauí, Teresina 64049-550, PI, Brazil

* Correspondence: guedes.rca@gmail.com or rubem.guedes@ufpe.br

Abstract: Intermittent fasting (IF) and physical exercise (PE) have beneficial psychological and physiological effects, improving memory and anxiety-like behavior. However, the impact of this combination on brain electrophysiological patterns is unknown. We aimed to evaluate the behavior and parameters of a brain excitability-related phenomenon named cortical spreading depression (CSD) in young rats (31–87 days of life) submitted to IF and treadmill PE for eight weeks. Sixty-four male and female Wistar rats aged 24 days were randomized into control, IF, PE, and IF+PE groups. Behavioral tests (open field (OF), object recognition, and elevated plus maze (EPM)) were performed, and the CSD propagation features were recorded. IF caused behavioral responses indicative of anxiety (lower number of entries and time spent in the OF center and EPM open arms). IF also reduced the discrimination index for object recognition memory tests and increased the propagation velocity of CSD. PE rats displayed more entries into the OF center and lowered CSD propagation speed. Data suggest that IF worsens anxiety-like behavior and memory and accelerates CSD in young rats. In contrast, PE reverted the unfavorable effects of IF. The brain effects of IF and PE at younger ages are recommended for study.

Keywords: periodic fasting; physical activity; anxiety-like behavior; memory; electrophysiological phenomenon



Citation: Braz, A.F.; Figueira de Oliveira, M.L.; Costa, D.H.S.d.; Torres-Leal, F.L.; Guedes, R.C.A. Treadmill Exercise Reverses the Adverse Effects of Intermittent Fasting on Behavior and Cortical Spreading Depression in Young Rats. *Brain Sci.* **2023**, *13*, 1726. <https://doi.org/10.3390/brainsci13121726>

Academic Editor: Simran Sidhu

Received: 14 November 2023

Revised: 14 December 2023

Accepted: 16 December 2023

Published: 17 December 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Intermittent fasting (IF) is a clinical and experimental feeding strategy in which periods of restricted or absent caloric intake are interspersed with periods of unlimited consumption [1]. This strategy is based on an old voluntary or obligatory practice used worldwide for religious and health-improving purposes [2]. Regular IF and physical exercise (PE) induce positive psychological and physiological effects, contributing to mental and physical health [3].

IF and PE's "metabolic switch" has been implicated in regulating the brain's functions related to neuroplasticity, learning, and memory capacity [4]. Treadmill exercise increased open arm entries in elevated plus maze in mice, suggesting the amelioration of anxiety-like behavior [5]. PE in rodents acts on the release of serotonin and improves synaptic transmission, promoting anxiolytic effects [6]. Furthermore, PE, through mechanisms such as angiogenesis, autophagy, and the reduction of inflammatory markers, also contributes to the delay of brain aging and preservation of memory [7].

Data on the behavioral effects of IF are limited and sometimes controversial; a study in mice subjected to IF demonstrated enhanced memory, consolidating long-term memories

and improving dentate gyrus neurogenesis [8]. Different IF protocols attenuated anxiety-like behavior in healthy and colitis mice and alleviated neuroinflammation and oxidative stress [9]. However, in a human meta-analysis, it was demonstrated that IF did not modify the scores related to anxiety or mood [10].

There is a lack of studies relating IF behavioral changes to electrophysiological patterns assessed by the excitability-related phenomenon known as cortical spreading depression (CSD). CSD consists of a depolarizing “wave-like” reduction (depression) in spontaneous and evoked neuronal activity elicited by an electrical, mechanical, or chemical stimulus at one point of the cerebral cortex. This reversible response spreads slowly concentrically to remote cortical regions while the eliciting point recovers [11]. Considering that the brain’s electrical activity controls its primary functions, studying CSD represents an essential tool for understanding brain functioning in health and disease [12].

A series of nutritional and non-nutritional variables of clinical interest have already been identified as facilitating or hindering the spread of CSD and influencing behavior [12]. However, more information is needed regarding the implications of combining IF and PE on CSD. Thus, our primary goal was to evaluate the impact of IF and PE on the behavioral parameters of anxiety and short-term memory retention and CSD electrophysiological parameters.

2. Material and Methods

2.1. Ethical and Animal Aspects

This study was approved by the Ethical Committee for using animals in scientific research of the Federal University of Pernambuco (protocol no. 006/2021, 2 July 2021), whose norms comply with the norms established by the National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Bethesda, MD, USA). A total of 64 Wistar rats of both sexes (30 males and 34 females) aged 24 days were obtained from our department’s vivarium. Animals were separated by sex, housed in polypropylene cages (51 cm × 35.5 cm × 18.5 cm) with four rats per cage, and maintained in an environment with controlled conditions of temperature (23 ± 1 °C) and lighting (light-dark cycle of 12 h, with the lights on at 6:00 a.m.). All efforts were made to minimize animal suffering and to use the minimum number of animals to obtain valid results.

2.2. Experimental Protocol

Animals were randomly distributed into four groups: (a) the control, which was sedentary and with free access to a laboratory chow diet ($n = 14$, of which 6 were males) and were not subjected to intermittent fasting or to exercise; (b) intermittent fasting (IF) ($n = 20$; 10 males); (c) physical exercise (PE) ($n = 15$; 7 males); and (d) intermittent fasting + physical exercise ($n = 15$; 7 males). We used a physical method of randomization: pieces of paper with the group’s names written on them were placed in a receptacle, mixed, and withdrawn repeatedly, so each rat was allocated to one of the four groups. First, the animals were familiarized with the study protocols for one week. After that, the main experiment of IF and PE on a treadmill lasted eight weeks. Body weight and food intake were monitored weekly and recorded on postnatal days (PND) 33, 57, and 80. At last, the animals were subjected to behavioral tests to evaluate anxiety and memory, followed by the recording of CSD and, after that, euthanasia. Figure 1 presents the time diagram of the various experimental procedures and their respective ages.

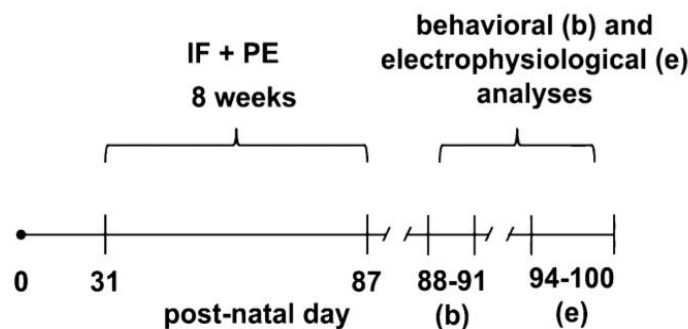


Figure 1. Time diagram showing the various experimental procedures and the respective ages when they occurred. IF = intermittent fasting; PE = physical exercise. We classified the animals as young because the rats were subjected to IF and PE at 31 to 87 PND.

2.3. Intermittent Fasting

All rats were fed a standard laboratory chow diet (Nuvilab[®], with 25% protein; Quimtia, Colombo, Paraná State, Brazil) and had free access to water. During six days (PND 25–30), animals were familiarized with the feeding/fasting regimes inserted. In the IF group, fasting was started at PND 31 during 24 h for three non-consecutive d/wk [1]; food was removed from the cage at 08:00 a.m. to start the fasting day and then put back in the cage at the same time the following day to begin the feeding day. The fast was interrupted at the end of eight weeks, and the standard lab chow diet was then freely available. Body weight and food intake were monitored weekly at the same time in the morning. Food intake was determined from the average consumption found for each cage.

2.4. Exercise Program

Rats were distributed into sedentary and exercised groups; those in the exercise group were familiarized with the treadmill for six days (from PND 25 to 30). Physical exercise was used for rodents (running on a motorized treadmill; INSIGHT, model EP-131). Each familiarization session included placing the rats on the treadmill switched off for 10 min and then turning on the treadmill at 8 m/min for 5 min [13]. Moderate-intensity exercise was performed in sessions of 40 min a day, three times a week, for eight weeks (from PND31 to 87), according to the following protocol [14]: 5 min warming up at a speed of 12 ± 2 m/min, 30 min at a main speed of 20 ± 2 m/min, and 5 min cooling down at a speed of 12 ± 2 m/min. No aversive stimulus was used, and the rats that refused to run were stimulated with gentle touches; if persistent in refusing, they were discarded from the study. Animals from the sedentary groups were placed on the treadmill switched off for the same period as the trained animals in each session [15].

2.5. Identification of Estrous Cycle

To standardize the hormonal physiological environment of the females, before the behavioral tests and the CSD recording, the phase of the estrous cycle was identified. To this, the smear technique was performed by collecting vaginal mucosal cells as previously described [16]. Vaginal secretions were collected with a flexible rod with a cotton tip soaked with 0.9% NaCl. The smear was transferred to a clean glass slide and visualized in a light microscope for cytology. Three cell types were used for determination: epithelial cells, cornified cells, and leucocytes. Proestrus was mainly characterized by nucleated epithelial cells and was a determinant for conducting behavioral tests and CSD recording procedures [16].

2.6. Behavioral Tests

The test room had sound attenuation and low light intensity. Before each test, the animals remained in the room for 20 min to adapt to the environment. All rat movements

were recorded for 5 min of the test by a digital camera located vertically above the test device. The device was cleaned with a 70% ethanol–water solution between the sessions to minimize distinct olfactory signals. The video-recorded activity was stored on a computer and analyzed using the ANYmaze® software (4.99 m version) [11].

2.7. Open Field Test

Rats were placed in the center of a circular arena (89 cm diameter) surrounded by a wall (52 cm height) made of wood. The floor was painted with lines to distinguish four quadrants, and the center was defined by a circle (62 cm diameter). The evaluated parameters were distance traveled, immobility time, central zone entries, and central zone time [17].

2.8. Object Recognition Tests

Novel object recognition tests were evaluated as described previously [15] and were tested in the OF arena. In the first session (training session), rats explored two identical objects for 5 min. These objects were placed in the arena at equal distances from the wall in an asymmetric position regarding the center. After a 40 min inter-session interval, the rats were returned to the arena (test session). They had to recognize that one of the objects was moved to a novel spatial position (day 1) or that another object had replaced one with a different shape (day 2). Based on the exploration times on novel (N) and familiar (F) objects/positions, we calculated the discrimination index (DI) using the formula $DI = (TN - TF)/(TN + TF)$, where TN and TF are the time spent with the novel object/position and the familiar object/position, respectively [15].

2.9. Elevated plus Maze Test

The EPM apparatus was cross-shaped and made of varnished wood, elevated 55 cm above the floor, with two open arms and two closed arms, each measuring 49 cm long × 10 cm wide. The closed arms, with side walls measuring 50 cm high, were arranged perpendicular to the open ones. A central 10 × 10 cm square platform joined the arms of the apparatus. The test began with each rat placed individually in the central platform, facing one of the open arms, and freely exploring the maze for 5 min [17]. The parameters considered were the distance traveled, immobility time, open arm entries, and open arm time [17].

2.10. CSD Recording

On PND 94–100, each animal was weighed and anesthetized with an intraperitoneal injection of a mixture containing 1 g/kg urethane and 40 mg/kg chloralose. The head of the rat was secured in a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA), and three trephine holes (2–4 mm diameter) were drilled on the right side of the skull aligned in the frontal-to-occipital direction and parallel to the midline. One hole was positioned on the frontal bone and was used to apply the stimulus to elicit CSD. The other two holes were drilled in the parietal bone and were used to record the propagating waves. At 20 min intervals, CSD was elicited by a 1 min application of a cotton ball (1–2 mm diameter) soaked with a 2% KCl solution to the anterior hole. The ECoG depression and the direct current (DC) slow potential change accompanying CSD were recorded for 4 h on the cortical surface through a digital recording system (Biopac MP 150, Goleta, CA, USA) [18]. Rectal temperature was continuously recorded and maintained at $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. The CSD propagation was monitored in the two exposed cortical portions on the parietal surface of the cerebral cortex using two Ag–AgCl electrodes against a common reference electrode of the same type placed on the nasal bones. The electrodes consisted of chlorided silver wires inserted into plastic pipettes (5 cm long, 5 mm diameter at the opening top, and 0.5 mm inner diameter at the tip) filled with Ringer's solution solidified with the addition of 0.5% agar. We calculated the CSD velocity of propagation based on the time spent by a wave to pass the distance between the two cortical recording electrodes gently placed on the dura

mater. We also calculated the amplitude and duration of the DC slow potential change of the CSD waves.

2.11. Statistical Analysis

Results are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). The statistical software used was Sigmapstat version 3.10. A p -value < 0.05 was considered statistically significant. A two-way ANOVA test (considering intermittent fasting and physical exercise as factors) was used, followed by the Holm–Sidak post hoc test, to identify significant contrasts.

3. Results

3.1. Body Weight and Food Intake

The animals' body weight and food intake were recorded and analyzed at three time points during the experiment: PND 33, 57, and 80 (the initial, intermediate, and final periods, respectively). Our findings confirmed data from the literature regarding a higher body weight (Table 1) and greater food ingestion in male rats than females (Table 2).

Table 1. Body weights (g; mean $\pm$ standard deviation) of 30 male (M) and 34 female rats (F) randomly allocated in the following four experimental groups: control ($n = 14$, from which six were males), intermittent fasting ($n = 20$; 10 males), physical exercise ($n = 15$; 7 males) and intermittent fasting+physical exercise ($n = 15$; 7 males). Weights were evaluated on PND 38, 57, and 80. * Significantly different from the corresponding female values ($p < 0.05$; ANOVA followed by the Holm–Sidak post hoc test).

Group	38 d		57 d		80 d	
	M *	F	M *	F	M *	F
Control ($n = 14$; 6 M)	155.0 $\pm$ 22.3	118.5 $\pm$ 16.5	258.3 $\pm$ 19.5	168.9 $\pm$ 7.4	298.5 $\pm$ 17.4	191.4 $\pm$ 12.1
IF ($n = 20$; 10 M)	128.8 $\pm$ 21.2	104.3 $\pm$ 11.4	194.5 $\pm$ 21.6	152.3 $\pm$ 12.4	231.1 $\pm$ 23.7	176.5 $\pm$ 13.0
PE ($n = 15$; 7 M)	181.3 $\pm$ 19.1	130.0 $\pm$ 12.4	277.7 $\pm$ 27.0	179.5 $\pm$ 16.4	327.3 $\pm$ 52.1	196.8 $\pm$ 15.7
IF+PE ($n = 15$; 7 M)	136.1 $\pm$ 17.2	105.4 $\pm$ 17.4	215.6 $\pm$ 21.0	150.5 $\pm$ 14.4	260.7 $\pm$ 25.5	178.0 $\pm$ 11.3

Table 2. Food intake (g; mean $\pm$ standard deviation) of 30 male (M) and 34 female rats (F), as described in Table 1 above. * Significantly different from the corresponding female values ($p < 0.05$; ANOVA followed by the Holm–Sidak post hoc test).

Group	38 d		57 d		80 d	
	M *	F	M *	F	M *	F
Control ($n = 14$; 6 M)	17.8 $\pm$ 0.8	13.9 $\pm$ 1.2	20.2 $\pm$ 0.1	14.5 $\pm$ 0.3	18.2 $\pm$ 2.3	13.6 $\pm$ 0.9
IF ($n = 20$; 10 M)	13.0 $\pm$ 2.7	9.8 $\pm$ 1.1	15.9 $\pm$ 4.6	13.2 $\pm$ 2.5	14.7 $\pm$ 0.7	12.4 $\pm$ 1.3
PE ($n = 15$; 7 M)	21.1 $\pm$ 0.5	17.8 $\pm$ 5.9	21.5 $\pm$ 1.9	15.5 $\pm$ 1.4	20.3 $\pm$ 1.8	14.2 $\pm$ 1.6
IF+PE ($n = 15$; 7 M)	12.8 $\pm$ 1.1	10.6 $\pm$ 1.3	15.5 $\pm$ 1.4	11.0 $\pm$ 1.5	16.1 $\pm$ 1.8	11.8 $\pm$ 0.7

As all groups contained nearly an equal number of males and females and considering that no difference between sexes was observed in the other parameters (behavior and CSD), we analyzed those parameters by including males and females in a single group. ANOVA revealed a main effect of IF on body weight at PND 33 ($F[3, 60] = 10.143$; $p = 0.002$), PND 57 ($F[3, 64] = 8.808$; $p = 0.004$) and PND 80 ($F[3, 60] = 4.478$; $p = 0.038$). The Holm–Sidak post hoc test indicated that the IF animals displayed lower weights than the control animals ($p < 0.05$).

PE mainly affected body weight at PND 33 ($F[3, 60] = 4.781$; $p = 0.033$), and the Holm–Sidak post hoc test showed that the exercised group had higher body weights than the sedentary group ($p < 0.05$).

Regarding the food intake, ANOVA demonstrated that IF reduced the amount of food ingested at PND 33 ($F[3, 60] = 37.011$; $p < 0.001$), at PND 57 ($F[3, 60] = 18.934$; $p < 0.001$), and at PND 80 ($F[3, 60] = 14.900$; $p < 0.001$). In contrast, PE increased body weight at PND 33 ($F[3, 60] = 8.216$; $p = 0.006$).

3.2. Anxiety-like Behavior

The effects of IF and PE on anxiety-like behavior in the open field (OF) test are in Figure 2. The parameters of traveled distance (Figure 2A) and immobility time (Figure 2B) did not suffer interference from the studied variables. The IF rats displayed fewer entries into the center ($F[3, 60] = 17.328$; $p < 0.001$) and spent a shorter time in the center of the open field ($F[3, 60] = 5.646$; $p = 0.021$). On the other hand, PE increased the number of entries into the center ($F[3, 60] = 5.646$; $p = 0.021$). There was no statistical difference in time spent in the center between the PE and other groups (Figure 2C,D).

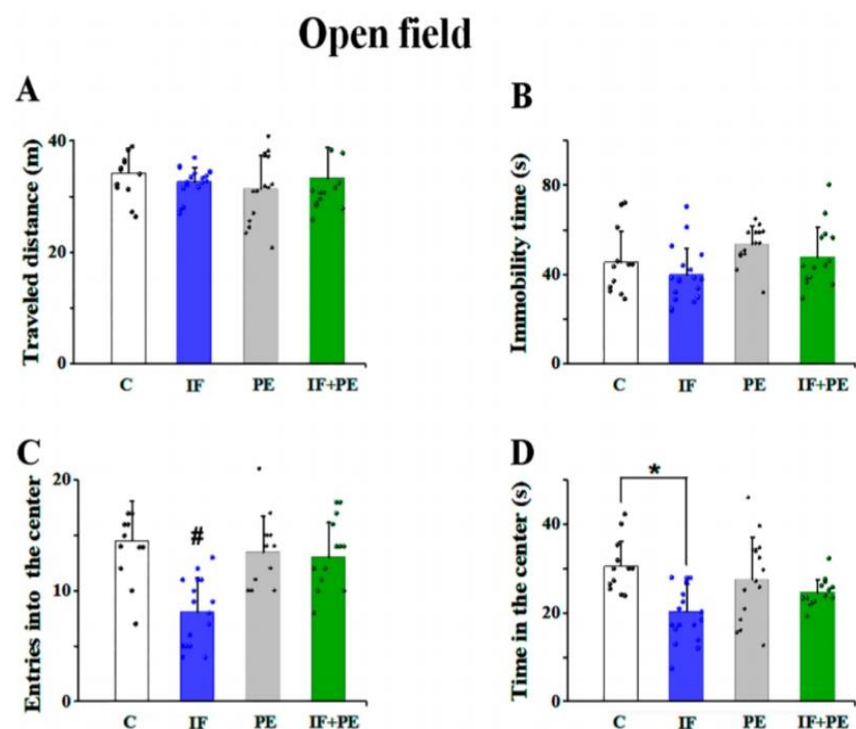


Figure 2. Anxiety-like behavior in the open field test. (A) Distance traveled in meters. (B) Immobility time in seconds. (C) Number of entries into the center. (D) Time spent in the center. Values are mean $\pm$ SD of 14–20 animals per group. [#] Significantly different from the other three groups. ^{*} $p < 0.001$, two-way ANOVA followed by the Holm–Sidak post hoc test.

Anxiety-like behavior was also observed in the elevated plus maze (EPM) test (Figure 3). Similar to OF, groups did not differ for traveled distance and immobility time (Figure 3A,B). ANOVA revealed an interaction between IF and PE regarding the number of entries into the open arms ($F[3, 60] = 20.098$; $p < 0.001$) and the time spent in the open arms ($F[3, 60] = 9.101$; $p = 0.004$). Intermittent fasting reduced the number of entries and time spent in the open arms compared to the C group and IF+PE group ($p < 0.05$). PE was associated with increased entries into the open arms and a long duration of time spent in the open arms, which was more intense in the IF+PE group. However, although significantly higher than the IF group, it was statistically equal to the C group (Figure 3C,D).

Elevated plus maze

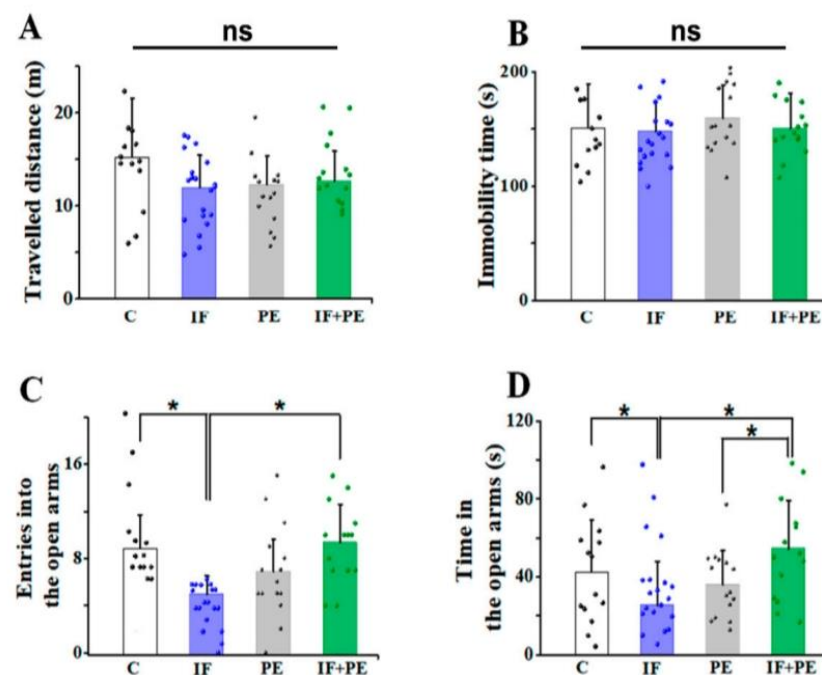


Figure 3. Anxiety-like behavior in the elevated plus maze (EPM) test. (A) Distance traveled in meters. (B) Immobility time in seconds. (C) Number of entries into the open arms. (D) Time spent in the open arms. Values are mean $\pm$ SD of 14–20 animals per group. Non-significant differences are indicated by ns. * $p < 0.05$, two-way ANOVA, followed by the Holm–Sidak post hoc test.

3.3. Object Recognition Memory

The data of the shape and spatial position recognition tests are shown in Figure 4. ANOVA revealed that IF reduced short-term memory retention, as evaluated by the reduced discrimination index for novel shape ($F[3, 60] = 4.191$; $p = 0.045$) and spatial position ($F[3, 60] = 9.764$; $p = 0.003$) compared to the C and IF+PE groups (Figure 4A,B). The PE group did not differ from the others.

3.4. CSD Features

The topical application of a cotton ball soaked with 2% KCl on the frontal cortex promoted a single CSD wave that propagated and was recorded by two electrodes located on the parietal bone. A third electrode positioned on the nasal bone was a common reference for the other two. The recording of the slow voltage change and the reduction in the electrocorticogram confirmed CSD (Figure 5A).

Object recognition tests

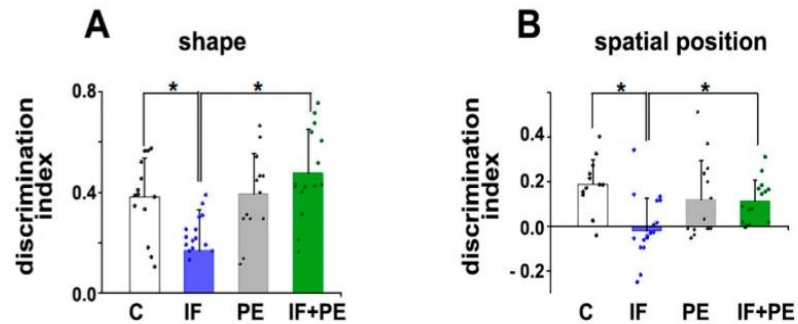


Figure 4. Memory evaluation by object recognition tests. (A) Discrimination index for the shape recognition test. (B) Discrimination index for the spatial position recognition test. Values are mean $\pm$ SD of 14–20 animals per group. * $p < 0.05$, two-way ANOVA followed by the Holm–Sidak post hoc test.

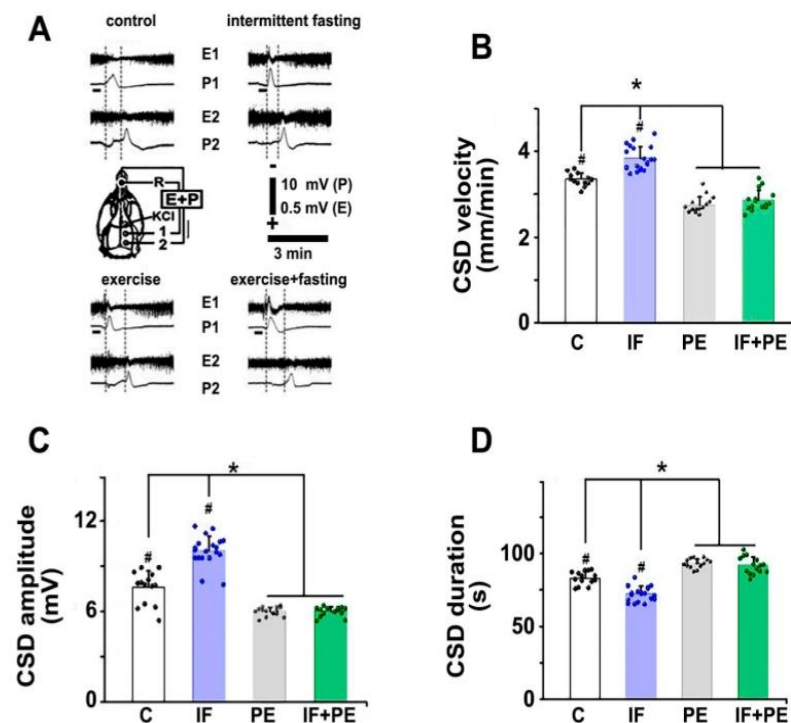


Figure 5. Qualitative (A) and quantitative representations (B–D) of cortical spreading depression (CSD) propagation. (A) Electrocorticogram (E) and slow potential change (P) at two points on the surface of the right hemisphere. The skull diagram shows the positions 1 and 2 of the recording electrodes, the common reference electrode (R) position on the nasal bone, and the CSD-eliciting stimulus (KCl) application point. The dashed vertical lines indicate the latency of the CSD to cross the distance between the electrodes, and the horizontal bar represents the 3 min time scale. (B) CSD velocity in mm/min. (C) CSD amplitude in millivolts. (D) CSD duration in seconds. Values are mean $\pm$ SD of 14–20 animals per group. # Significantly different from the other three groups. * $p < 0.001$, two-way ANOVA followed by the Holm–Sidak post hoc test.

IF significantly accelerated the CSD propagation compared to the C group ($F[3, 60] = 27.631; p < 0.001$), while PE slowed down the spread of CSD ($F[3, 60] = 188.559; p < 0.001$, Figure 5B). Similarly, the amplitude of CSD was greater in IF compared to the C group ($F[3, 60] = 23.589; p < 0.001$). However, the PE groups exhibited smaller CSD amplitudes ($F[3, 60] = 209.387; p < 0.001$, Figure 5C). The CSD's duration was significantly reduced by IF ($F[3, 60] = 25.639; p < 0.001$) but increased by PE ($F[3, 60] = 145.728; p < 0.001$, Figure 5D).

4. Discussion

The present study provides evidence of the role of IF combined with PE on anxiety and memory behavior and the brain excitability-related CSD phenomenon. Our main findings suggest that when started early in life, IF worsens anxiety-like behavior and memory. Furthermore, IF makes the brain more likely to propagate CSD by accelerating it. On the other hand, PE reverses the harmful effects of IF by improving anxiety-like behavior and memory and slowing down CSD propagation. To our knowledge, this is the first study analyzing the interaction of IF and PE on anxiety behavior, memory, and CSD in developing rats.

We have currently demonstrated that animals subjected to IF had reduced food intake and body weight. Similar results were also previously observed in adult rats [19], suggesting that IF could be an exciting strategy for helping treat adult obesity. PE did not promote changes in the body weight of animals compared to the control group, as previously demonstrated [20], and the increase in food consumption probably compensated for the higher energy expenditure resulting from the exercise.

The data obtained from anxiety-like behavior tests demonstrated that the animals from the IF group entered less and spent less time in the center of the OF test (Figure 2) and the open arms of EPM (Figure 3), which suggests an anxiogenic effect of IF at this age. Moreover, the reduction in the discrimination index in short-term memory tests (Figure 4), that is, less exploration of new spatial positions and objects, suggests a worsening of memory caused by IF.

The effects of IF on behavior observed here contrast with some evidence in the literature. Eight-week-old female mice subjected to IF for three months exhibited improved long-term memory retention [8]. On the other hand, every-other-day fasting for six weeks did not affect memory formation in male rats [21]. Sixteen hours of food deprivation daily for three months reduced anxiety-like behavior in diabetic male rats aged 12–14 weeks [22]. Twenty-four-hour IF every other day for 28 days improved the spatial memory of three-month-old diabetic mice [23]. Mice (7–8 weeks old) with colitis had attenuated anxiety symptoms after 16 h of IF for 36 days [9]. These contrasting results can be attributed to methodological factors, such as different IF regimens, animal species and ages, and associated pathologies. IF comprises an umbrella term surrounding other dietary restriction protocols, making it difficult to standardize the methodology and provide heterogeneous results. In addition, most studies use experimental models of associated pathology, contrasting with the clinically healthy animals used here.

Although mice and rats are evolutionarily similar, there are significant differences between the species regarding morpho-functional brain features, including, for example, dendritic length, dendritic spine size, and resting membrane potential, which makes direct comparisons difficult [24]. Even though several studies with rodents show beneficial effects of IF on memory, anxiety-like behavior, and neurological diseases [25], the evidence remains discreet and conflicting in humans. Ramadan, for example, was responsible for improving or not interfering with anxiety-like behavior, well-being, or mood and promoting relapses in episodes of bipolar disorder and worsening symptoms of schizophrenia [10,26,27].

Another factor that may contribute to the diversity of results is the age of the animals. Unlike most studies in the literature, which use adult or older animals, our analysis focused on the effects of IF in the development period. This phase is considered critical for neurodevelopment since the nervous system develops over a long period, from embryonic

to puberty, in rats and humans [28]. Environmental factors, including dietary aspects, can interfere with brain development during early life, bringing lasting and often irreversible effects to cognitive development and mental health. Therefore, the effects of IF and PE on a developing organism might be considered differently from those effects on the developed brain [29]. While IF and PE appear beneficial in adulthood, the same is not in developing organisms.

Furthermore, maternal nutrition during pregnancy profoundly affects the growth and development of offspring throughout life [30]. However, the role of IF during pregnancy on fetal development and health is not yet well defined. Even though pregnant Muslim women are exempt from fasting during Ramadan, many of them still choose to participate [31]. For this reason, some animal studies replicate this model of Ramadan fasting during pregnancy. The reported effects are related to an altered profile of placental metabolites, reduced transport of placental amino acids, and fetal growth restriction [32,33]. Impairment of placental function and fetal growth can interfere with development with potentially long-lasting effects on offspring physiology later in life and a greater predisposition to diseases [33].

Our findings also point out the action of IF in modulating brain excitability, increasing CSD's propagation velocity. As far as we know, this is the first report of the accelerating effect of IF on the CSD phenomenon in young rats. The closest available literature is the effect of acute 24 h fasting on the increase in the excitability of neural activity, specifically in the olfactory bulb of eight-week-old mice [34]. Conversely, ketogenic diets and IF are associated with reduced neuronal excitability in animals [35], which differs from the present data. Since the results are controversial and the exact mechanisms still need to be fully determined, further studies are required. Nutritional deficiency early in life facilitates CSD propagation in the rat cortex (12). In the present study, the lower body weight and food intake observed in the IF group (Tables 1 and 2) suggest a certain degree of nutritional deficiency, which is in line with CSD facilitation in these animals (Figure 5).

On the other hand, there is a growing body of scientific evidence that PE promotes beneficial effects on physiological and mental health in humans and animal models [36,37]. In line with the literature [5,38], our findings indicated that treadmill PE associated with IF improved memory and anxiety-like behavior in rats compared to IF (see Figure 3D). The CSD phenomenon also shows a clear effect of exercise (see Figure 5B). The beneficial effect of our moderate exercise paradigm on behavior was less than one could expect from the literature data. A more intense or lasting exercise paradigm would probably produce more conspicuous effects on behavior.

Potential mechanisms involved in the benefits of PE on brain activity include neurogenesis and angiogenesis in the hippocampus and the activation and modulation of neurotrophins and growth factors [39]. PE enhances the generation of new neurons and stimulates the formation of new vessels, which contributes to memory and spatial learning [40]. Thus, PE is receiving more interest as a non-drug method of maintaining brain health and treating neurodegenerative and psychiatric conditions.

Those mechanisms mentioned above also help to understand the role of PE in the brain's electrophysiological activity based on the analysis of CSD. By stimulating neurogenesis, angiogenesis, and synaptogenesis, PE improves local blood flow and increases the distance to be covered by cell–cell communication, possibly influencing brain excitability and slowing down CSD [41]. These data agree with a previous study showing that treadmill PE can antagonize the spread of CSD in rats [20].

Summarily, IF in young rats worsens anxiety-like behavior and memory and accelerates CSD, while PE improves the behavioral aspects of anxiety and memory and slows CSD. Furthermore, PE, when associated with IF, could reverse its adverse effects on the brain, similar to those previously demonstrated [42]. Therefore, these findings indicate that combining such factors is the most stated choice since PE interacts with dietary elements, modulating energy metabolism, and synaptic plasticity, which promotes positive effects on brain functioning.

5. Conclusions

Our findings suggest that IF worsens anxiety-like behavior and memory and accelerates CSD when initiated in developing rats. We reinforce the protective effect of PE on the brain, improving anxiety-like behavior and memory and slowing down CSD. These results indicate that the association between IF and PE may be necessary for brain health since PE can reverse IF's harmful effects. However, the underlying mechanisms still need to be fully elucidated, especially at younger ages, being necessary for further investigations.

Author Contributions: Conceptualization, A.F.B. and R.C.A.G.; methodology, A.F.B.; validation, R.C.A.G.; formal analysis, R.C.A.G.; investigation, A.F.B., M.L.F.d.O. and D.H.S.d.C.; resources, R.C.A.G. and F.L.T.-L.; data curation, R.C.A.G.; writing—original draft preparation, A.F.B.; writing—review and editing, R.C.A.G.; visualization, A.F.B.; supervision, R.C.A.G. and F.L.T.-L.; project administration, R.C.A.G. and F.L.T.-L.; funding acquisition, A.F.B. and R.C.A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported by the Pernambuco State Science and Technology Support Foundation (FACEPE, grant number IBPG: 0486-4.05/20), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq no. 40.6495/2018-1), and Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (projeto: “Doenças cerebrais, excitotoxicidade e neuroproteção”—Edital INCT/MCT/CNPq). RG is a research fellow from CNPq (no. 30.5998/2018-8).

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the Ethical Committee for using animals in scientific research of the Federal University of Pernambuco (protocol no. 006/2021), approved on 2 July 2021.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data supporting this study's findings are available from the corresponding author upon reasonable request. Data are not publicly available because dissemination has yet to be explicitly foreseen by the local ethics committee.

Conflicts of Interest: The authors declare they have no conflict of interest.

References

1. Liu, B.; Page, A.J.; Hutchison, A.T.; Wittert, G.A.; Heilbronn, L.K. Intermittent fasting increases energy expenditure and promotes adipose tissue browning in mice. *Nutrition* **2019**, *66*, 38–43. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Mo'ez Al-Islam, E.F.; Jahrami, H.A.; Obaideen, A.A.; Madkour, M.I. Impact of diurnal intermittent fasting during Ramadan on inflammatory and oxidative stress markers in healthy people: Systematic review and meta-analysis. *J. Nutr. Intermed. Metab.* **2019**, *15*, 18–26.
3. Díaz-Noguera, M.D.; Hervás-Gómez, C.; De la Calle-Cabrera, A.M.; López-Meneses, E. Influence of physical exercise on psychological well-being of young adults: A quantitative study. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2022**, *19*, 654. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Gibbons, T.D.; Cotter, J.D.; Ainslie, P.N.; Abraham, W.C.; Mockett, B.G.; Campbell, H.A.; Jones, E.M.W.; Jenkins, E.J.; Thomas, K.N. Fasting for 20 h does not affect exercise-induced increases in circulating BDNF in humans. *J. Physiol.* **2023**, *601*, 2121–2137. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Tai, F.; Wang, C.; Deng, X.; Li, R.; Guo, Z.; Quan, H.; Li, S. Treadmill exercise ameliorates chronic REM sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and cognitive impairment in C57BL/6J mice. *Brain Res. Bull.* **2020**, *164*, 198–207. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Zhou, Y.-S.; Meng, F.-C.; Cui, Y.; Xiong, Y.-L.; Li, X.-Y.; Niu, Z.-X.; Zheng, J.-X.; Quan, Y.-Q.; Wu, S.-X.; Han, Y.; et al. Regular Aerobic Exercise Attenuates Pain and Anxiety in Mice by Restoring Serotonin-Modulated Synaptic Plasticity in the Anterior Cingulate Cortex. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2021**, *54*, 566–581. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Sujkowski, A.L.; Hong, L.; Wessells, R.; Todi, S.V. The protective role of exercise against age-related neurodegeneration. *Ageing Res. Rev.* **2022**, *74*, 101543. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Dias, G.P.; Murphy, T.; Stangl, D.; Ahmet, S.; Morisse, B.; Nix, A.; Aimone, L.J.; Aimone, J.B.; Kuro-O, M.; Gage, F.H.; et al. Intermittent fasting enhances long-term memory consolidation, adult hippocampal neurogenesis, and expression of longevity gene Klotho. *Mol. Psychiatry* **2021**, *26*, 6365–6379. [\[CrossRef\]](#)
9. Zhang, X.; Zou, Q.; Zhao, B.; Zhang, J.; Zhao, W.; Li, Y.; Liu, R.; Liu, X.; Liu, Z. Effects of alternate-day fasting, time-restricted fasting and intermittent energy restriction DSS-induced on colitis and behavioral disorders. *Redox Biol.* **2020**, *32*, 101535. [\[CrossRef\]](#)

10. Fernández-Rodríguez, R.; Martínez-Vizcaíno, V.; E Mesas, A.; Notario-Pacheco, B.; Medrano, M.; Heilbronn, L.K. Does intermittent fasting impact mental disorders? A systematic review with meta-analysis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022**, *63*, 11169–11184. [\[CrossRef\]](#)
11. Leao, A.A.P.; de Baaij, J.H.F.; Hoenderop, J.G.J.; Bindels, R.J.M.; Funke, F.; Kron, M.; Dutschmann, M.; Müller, M.; Goadsby, P.J.; Mayevsky, A.; et al. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* **1944**, *7*, 359–390. [\[CrossRef\]](#)
12. Guedes, R.C.A. Cortical Spreading Depression: A Model for Studying Brain Consequences of Malnutrition. In *Handbook of Behavior, Food and Nutrition*; Preedy, V.R., Watson, R.R., Martin, C.R., Eds.; Springer: London, UK, 2011; pp. 2343–2355. [\[CrossRef\]](#)
13. Braz, G.R.; Ferreira, D.S.; Pedroza, A.A.; da Silva, A.I.; Sousa, S.M.; Pithon-Curi, T.C.; Lagranha, C. Effect of moderate exercise on peritoneal neutrophils from juvenile rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2015**, *40*, 959–962. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Téglás, T.; Németh, Z.; Koller, Á.; Van der Zee, E.A.; Luiten, P.G.; Nyakas, C. Effects of Long-Term Moderate Intensity Exercise on Cognitive Behaviors and Cholinergic Forebrain in the Aging Rat. *Neuroscience* **2019**, *411*, 65–75. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Scholl, J.L.; Afzal, A.; Fox, L.C.; Watt, M.J.; Forster, G.L. Sex differences in anxiety-like behaviors in rats. *Physiol. Behav.* **2019**, *211*, 112670. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Accioly, N.E.; Benevides, R.d.D.L.; Costa, B.L.d.S.A.d.; Guedes, R.C.A. Ovariectomy in the developing rat decelerates cortical spreading depression in adult brain. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2012**, *30*, 405–410. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Accioly, N.E.; Guedes, R.C.A. Topical cortical application of ovarian hormones and modulation of brain electrical activity: Analysis of spreading depression in well-nourished and malnourished female rats. *Nutr. Neurosci.* **2019**, *23*, 887–895. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. e Silva-Gondim, M.B.; de Souza, T.K.M.; Rodrigues, M.C.A.; Guedes, R.C.A. Suckling in litters with different sizes, and early and late swimming exercise differentially modulates anxiety-like behavior, memory and electrocorticogram potentiation after spreading depression in rats. *Nutr. Neurosci.* **2017**, *22*, 464–473. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. García-Luna, C.; Prieto, I.; Soberanes-Chávez, P.; Alvarez-Salas, E.; Torre-Villalvazo, I.; Matamoros-Trejo, G.; de Gortari, P. Effects of in-termittent fasting on hypothalamus-pituitary-thyroid axis, palatable food intake, and body weight in stressed rats. *Nutrients* **2023**, *15*, 1164. [\[CrossRef\]](#)
20. Monteiro, H.M.C.; Barreto-Silva, N.L.; dos Santos, G.E.; Santos, A.d.S.; Sousa, M.S.B.; Amâncio-Dos-Santos, Â. Physical exercise versus fluoxetine: Antagonistic effects on cortical spreading depression in Wistar rats. *Eur. J. Pharmacol.* **2015**, *762*, 49–54. [\[CrossRef\]](#)
21. Khabour, O.F.; Alzoubi, K.H.; Alomari, M.A.; Alzubi, M.A. Changes in spatial memory and BDNF expression to simultaneous dietary restriction and forced exercise. *Brain Res. Bull.* **2013**, *90*, 19–24. [\[CrossRef\]](#)
22. Elesawy, B.H.; Raafat, B.M.; Al Muqbali, A.; Abbas, A.M.; Sakr, H.F. 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 Sci.* **2021**, *11*, 242. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Liu, Z.; Dai, X.; Zhang, H.; Shi, R.; Hui, Y.; Jin, X.; Zhang, W.; Wang, L.; Wang, Q.; Wang, D.; et al. Gut microbiota mediates intermittent-fasting alleviation of diabetes-induced cognitive impairment. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 855. [\[CrossRef\]](#)
24. Chen, Z.-Y.; Peng, L.; Zhao, M.; Li, Y.; Takahiko, M.; Tao, L.; Zou, P.; Zhang, Y. Differences in action potential propagation speed and axon initial segment plasticity between neurons from Sprague-Dawley rats and C57BL/6 mice. *Zool. Res.* **2022**, *43*, 615–633. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Park, S.; Shin, B.K. 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. *Br. J. Nutr.* **2021**, *127*, 55–67. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Eddahby, S.; Kadri, N.; Moussaoui, D. Fasting during Ramadan is associated with a higher recurrence rate in patients with bipolar disorder. *World Psychiatry* **2014**, *13*, 97. [\[CrossRef\]](#)
27. Fawzi, M.H.; Fawzi, M.M.; Said, N.S.; Fawzi, M.M.; Fouad, A.A.; Abdel-Moety, H. Effect of Ramadan fasting on anthropometric, metabolic, inflammatory and psychopathology status of Egyptian male patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* **2015**, *225*, 501–508. [\[CrossRef\]](#)
28. Rice, D.; Júnior, S.B. Critical periods of Vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environ. Health Perspect.* **2000**, *108*, 511–533.
29. Kadosh, K.C.; Muhandi, L.; Parikh, P.; Basso, M.; Mohamed, H.J.J.; Prawitasari, T.; Samuel, F.; Ma, G.; Geurts, J.M.W. Nutritional Support of Neurodevelopment and Cognitive Function in Infants and Young Children—An Update and Novel Insights. *Nutrients* **2021**, *13*, 199. [\[CrossRef\]](#)
30. Nevins, J.E.H.; Donovan, S.M.; Snetselaar, L.; Dewey, K.G.; Novotny, R.; Stang, J.; Taveras, E.M.; E Kleinman, R.; Bailey, R.L.; Raghavan, R.; et al. Omega-3 Fatty Acid Dietary Supplements Consumed During Pregnancy and Lactation and Child Neurodevelopment: A Systematic Review. *J. Nutr.* **2021**, *151*, 3483–3494. [\[CrossRef\]](#)
31. Almond, D.; Mazumder, B. Health Capital and the Prenatal Environment: The Effect of Ramadan Observance During Pregnancy. *Am. Econ. J. Appl. Econ.* **2011**, *3*, 56–85. [\[CrossRef\]](#)
32. Alkhalefah, A.; Dunn, W.B.; Allwood, J.W.; Parry, K.L.; Houghton, F.D.; Ashton, N.; Glazier, J.D. Maternal intermittent fasting during pregnancy induces fetal growth restriction and down-regulated placental system A amino acid transport in the rat. *Clin. Sci.* **2021**, *135*, 1445–1466. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

33. Alkhalefah, A.; Eyre, H.J.; Hussain, R.; Glazier, J.D.; Ashton, N. Impact of maternal intermittent fasting during pregnancy on cardiovascular, metabolic and renal function in adult rat offspring. *PLoS ONE* **2022**, *17*, e0258372. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Wu, J.; Liu, P.; Chen, F.; Ge, L.; Lu, Y.; Li, A. Excitability of neural activity is enhanced, but neural discrimination of odors is slightly decreased in the olfactory bulb of fasted mice. *Genes* **2020**, *11*, 433. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Bough, K.J.; Schwartzkroin, P.A.; Rho, J.M. Calorie Restriction and Ketogenic Diet Diminish Neuronal Excitability in Rat Dentate Gyrus In Vivo. *Epilepsia* **2003**, *44*, 752–760. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Jiménez-Pavón, D.; Carbonell-Baeza, A.; Lavie, C.J. Physical exercise as therapy to fight against the mental and physical consequences of COVID-19 quarantine: Special focus in older people. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2020**, *63*, 386–388. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Melo, C.S.; Rocha-Vieira, E.; Freitas, D.A.; Soares, B.A.; Rocha-Gomes, A.; Riul, T.R.; Mendonça, V.A.; Lacerda, A.C.R.; Camargos, A.C.R.; Carvalho, L.E.D.; et al. A single session of high-intensity interval exercise increases antioxidants defenses in the hippocampus of Wistar rats. *Physiol. Behav.* **2019**, *211*, 112675. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Ren, H.; Zhang, Z.; Zhang, J. Physical Exercise Exerts Neuroprotective Effect on Memory Impairment by Mitigate the Decline of Striatum Catecholamine and Spine Density in a Vascular Dementia Rat Model. *Am. J. Alzheimer's Dis. Other Dementias* **2022**, *37*, 15333175221144367. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Shahroodi, A.; Mohammadi, F.; Vafaei, A.A.; Miladi-Gorji, H.; Bandegi, A.R.; Rashidy-Pour, A. Impact of different intensities of forced exercise on deficits of spatial and aversive memory, anxiety-like behavior, and hippocampal BDNF during morphine abstinence period in male rats. *Metab. Brain Dis.* **2019**, *35*, 135–147. [[CrossRef](#)]
40. Cassilhas, R.C.; Tufik, S.; Mello, M.T. Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning, and memory. *Cell Mol. Life Sci.* **2016**, *73*, 975–983. [[CrossRef](#)]
41. Monteiro, H.M.C.; Silva, D.D.L.E.; de França, J.P.B.D.; Maia, L.M.S.D.S.; Angelim, M.K.C.; Santos, Â.A.D.; Guedes, R.C.A. Differential effects of physical exercise and l-arginine on cortical spreading depression in developing rats. *Nutr. Neurosci.* **2011**, *14*, 112–118. [[CrossRef](#)]
42. Cherif, A.; Roelands, B.; Meeusen, R.; Chamari, K. Effects of Intermittent Fasting, Caloric Restriction, and Ramadan Intermittent Fasting on Cognitive Performance at Rest and During Exercise in Adults. *Sports Med.* **2015**, *46*, 35–47. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

ANEXO A - Aprovação do comitê de ética animal



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 Ciências da Saúde

Departamento 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	<i>Rattus norvegicus albinus</i> , 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

